(11) Número de Publicação: **PT 2231636 E**

(51) Classificação Internacional:
C07D 401/04 (2011.01) ***C07D 401/14*** (2011.01)
C07D 403/04 (2011.01) ***C07D 403/14*** (2011.01)
C07D 407/14 (2011.01) ***A61K 31/4439*** (2011.01)
A61K 31/506 (2011.01) ***A61P 35/00*** (2011.01)

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

(22) Data de pedido: **2008.12.08**

(30) Prioridade(s): **2007.12.07 US 12276**

(43) Data de publicação do pedido: **2010.09.29**

(45) Data e BPI da concessão: **2011.09.14**
001/2012

(73) Titular(es):
NOVARTIS AG **CH**
LICHTSTRASSE 35 4056 BASEL
ASTEX THERAPEUTICS LTD. **GB**

(72) Inventor(es):
YOUNG SHIN CHO **US**
CHRISTOPHER THOMAS BRAIN **US**
YING HOU **US**
MOO SUNG **US**

(74) Mandatário:
ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS
RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA **PT**

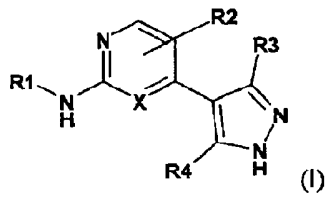
(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE PIRAZOLE E A SUA UTILIZAÇÃO A TÍTULO DE INIBIDORES DE QUINASES DEPENDENTES DE CICLINA**

(57) Resumo:
ESTE PEDIDO DESCREVE NOVOS COMPOSTOS ORGÂNICOS COM A FÓRMULA (I) QUE SÃO ÚTEIS PARA O TRATAMENTO, A PREVENÇÃO E/OU A MELHORIA DE DOENÇAS, EM ESPECIAL COMPOSTOS DE PIRAZOLE E SEUS DERIVADOS QUE INIBEM PROTEÍNA QUINASES. OS COMPOSTOS ORGÂNICOS SÃO ÚTEIS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS PROLIFERATIVAS.

RESUMO

"DERIVADOS DE PIRAZOLE E A SUA UTILIZAÇÃO A TÍTULO DE INIBIDORES DE QUINASES DEPENDENTES DE CICLINA"

Este pedido descreve novos compostos orgânicos com a fórmula (I) que são úteis para o tratamento, a prevenção e/ou a melhoria de doenças, em especial compostos de pirazole e seus derivados que inibem proteína quinases. Os compostos orgânicos são úteis para o tratamento de doenças proliferativas.



(I)

DESCRIÇÃO

"DERIVADOS DE PIRAZOLE E A SUA UTILIZAÇÃO A TÍTULO DE INIBIDORES DE QUINASES DEPENDENTES DE CICLINA"

A investigação de novos agentes terapêuticos tem sido muito auxiliada nos últimos anos por uma melhor compreensão da estrutura dos enzimas e de outras biomoléculas associadas a doenças. Uma classe importante de enzimas que tem sido o tema de estudos extensivos é a das proteína quinases.

As proteína quinases constituem uma grande família de enzimas estruturalmente relacionados que são responsáveis pelo controlo de uma série de processos de transdução de sinais dentro da célula. (Hardie, G. e Hanks, S. The Proteína quinase Facts Book, I e II, Academic Press, San Diego, Calif.: 1995). Crê-se que as proteína quinases terão evoluído a partir de um gene ancestral em comum devido à conservação da sua estrutura e da sua função catalítica. Quase todas as quinases contêm um domínio catalítico com 250 a 300 aminoácidos que é semelhante. Podem caracterizar-se as quinases em famílias por intermédio dos substratos que fosforilam (por exemplo, proteína-tirosina, proteína-serina/treonina, lípidos, etc.). Já foram identificados motivos de sequências que correspondem em geral a cada uma destas famílias de quinase (Veja-se,

por exemplo, Hanks, S. K., Hunter, T., FASEB J. 1995, **9**, 576-596; Knighton *et al.*, Science 1991, **253**, 407-414; Hiles *et al.*, Cell 1992, **70**, 419-429; Kunz *et al.*, Cell 1993, **73**, 585-596; Garcia-Bustos *et al.*, EMBO J. 1994, **13**, 2352-2361).

Em geral, as proteína quinases mediam a sinalização intracelular ao afectar a transferência de fosforilo de um trifosfato de nucleósido para uma proteína aceitadora que se encontra envolvida num caminho de sinalização. Estes acontecimentos de fosforilação actuam como interruptores moleculares ligados/desligados que conseguem modular ou regulara função biológica da proteína alvo. Estes acontecimentos de fosforilação são em última análise despoletados em resposta a uma série de estímulos extracelulares e outros estímulos. Incluem-se nos exemplos desses estímulos os sinais de stress ambiental e químico (por exemplo, choque osmótico, choque térmico, radiação ultravioleta, endotoxinas bacterianas, e H_2O_2), citoquinas (por exemplo, interleuquina-1 (IL-1) e factor de necrose tumoral α (TNF-α)), bem como factores de crescimento (por exemplo, factor estimulante de colónias de macrófagos granulócitos (GM-CSF), e factor de crescimento de fibroblastos (FGF)). Um estímulo extracelular pode afectar uma ou mais respostas celulares relacionadas com o crescimento da célula, a migração, a diferenciação, a secreção de hormonas, a activação dos factores de transcrição, a contracção muscular, o metabolismo da glucose, o controlo da síntese proteica, e a regulação dos ciclos celulares.

Muitas doenças estão associadas com respostas celulares anormais despoletadas por acontecimentos mediados por proteína quinase tal como se descreveram acima. Incluem-se nestas doenças, sem que a estas elas se limitem, doenças auto-imune, doenças inflamatórias, doenças de ossos, doenças metabólicas, doenças neurológicas e neurodegenerativas, cancro, doenças cardiovasculares, alergias e asma, doença de Alzheimer, e doenças relacionadas com as hormonas. Tem portanto existido um esforço substancial na química medicinal, no sentido de se encontrarem inibidores de proteína quinase que sejam eficazes a título de agentes terapêuticos.

A iniciação, a progressão, e o acabamento do ciclo celular nos mamíferos são reguladas por diversos complexos de quinases dependentes de ciclinas (CDK), que são factores críticos para o crescimento das células. Inclui-se nestes complexos pelo menos uma subunidade catalítica (a CDK ela própria) e outra reguladora (a ciclina). Alguns dos complexos mais importantes para a regulação do ciclo celular incluem a ciclina A (CDK1, também denominada cdc2, e CDK2), as ciclinas B1-B3 (CDK1) e as ciclinas D1-D3 (CDK2, CDK4, CDK5, CDK6), a ciclina E (CDK2). Todos estes complexos estão envolvidos em fases específicas do ciclo celular. No entanto, nem todos os membros da família CDK estão envolvidos exclusivamente no controlo do ciclo celular. Deste modo as CDK 7, 8, e 9 estão implicadas na regulação da transcrição, e a CDK5 desempenha um papel nas funções das células neuronais e segregativas.

A actividade das CDK é regulada pós-translacionalmente, por associações efémeras com outras proteínas, e por alterações das suas localizações intracelulares. O desenvolvimento de tumores está intimamente associado a alterações genéticas e à desregulação das CDK e dos seus reguladores, o que sugere que os inibidores de CDK podem constituir terapêuticas úteis contra o cancro. De facto, os primeiros resultados sugerem que as células normais e as transformadas diferem quanto às suas necessidades de, por exemplo, ciclina A/CDK2 e que pode ser possível desenvolver novos agentes antineoplásicos isentos da toxicidade geral que se tem observado nos fármacos citotóxicos e citoestáticos convencionais. Enquanto a inibição das CDK relacionadas com o ciclo é claramente relevante para, por exemplo, aplicações oncológicas, isto pode não ser o caso para a inibição das CDK que regulam a ARN polimerase. Por outro lado, a inibição da função da CDK9/ciclina T foi recentemente ligada à prevenção da replicação do HIV e portanto a descoberta de nova biologia das CDK continua a abrir novas indicações terapêuticas para os inibidores de CDK (Sausville, E. A. Trends Molec. Med. 2002, **8**, S32-S37).

A função das CDK é fosforilar e deste modo activar ou desactivar determinadas proteínas, incluindo por exemplo as proteínas do retinoblastoma, as laminas, a histona H1, e componentes da roca mitótica. O passo catalítico mediado pelas CDK envolve uma reacção de fosfotransferência do ATP para o enzima macromolecular

substrato. Verificou-se que diversos conjuntos de compostos (revistos por exemplo em Fischer, P. M. Curr. Opin. Drug Discovery Dev. 2001, **4**, 623-634) possuíam propriedades anti-proliferativas atento o seu antagonismo contra ATP para CDK específicas.

A um nível molecular a mediação da actividade dos complexos cdk/ciclina necessita de uma série de acontecimentos de fosforilação ou desfosforilação estimuladores e inibidores. A fosforilação de cdk é levada a cabo por um conjunto de quinases que activam cdk (CAK) e/ou por quinases tais como wee1, Myt1 e Mik1. A desfosforilação é levada a cabo por fosfatases tais como a cdc25(a & c), a pp2a, ou a KAP.

A actividade dos complexos cdk/ciclina pode também ser regulada por duas famílias de inibidores proteicos endógenos celulares: a família Kip/Cip, ou a família INK. As proteínas INK ligam-se especificamente a cdk4 e a cdk6. O $p16^{ink4}$ (também denominado MTS1) é um gene com potencial para supressão de tumores que se encontra mutado, ou excluído, num grande número de cancros primários. A família Kip/Cip contém proteínas tais como $p21^{Cip1,Waf1}$, $p27^{Kip1}$ e $p57^{kip2}$. Tal como se descreveu anteriormente, a p21 é induzida pela p53 e é capaz de inactivar os complexos cdk2/ciclina(E/A) e cdk4/ciclina(D1/D2/D3). Níveis atipicamente pequenos de expressão da p27 têm sido observados em cancros da mama, do cólon e da próstata. De uma forma inversa, tem-se correlacionado uma sobre expressão da ciclina

E em tumores sólidos nos pacientes cujos prognósticos são pessimistas. Uma sobre expressão da ciclina D1 tem sido associada com carcinomas do esófago, da mama, escamosos, e de células não pequenas do pulmão.

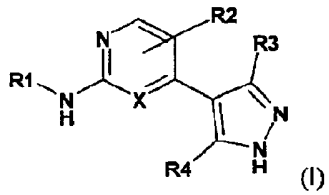
Os papéis essenciais das cdk, bem como das proteínas com elas associadas, na coordenação e na condução do ciclo celular das células em proliferação, foram delineados acima. Alguns dos caminhos bioquímicos nos quais as cdk desempenham um papel chave também foram descritos. É portanto potencial e altamente desejável o desenvolvimento de monoterapias para o tratamento de doenças proliferativas, tais como cancros, utilizando terapêuticas que em geral alvejem as cdk, um cdk específicas. Os inibidores de cdk poderiam também concebivelmente ser utilizados para tratar outros estados tais como infecções virais, doenças auto-imunes e doenças neuro-degenerativas, entre outras. Terapêuticas que alvejem cdk também podem proporcionar benefícios clínicos no tratamento das doenças anteriormente descritas quando forem utilizados em terapias de combinação quer com agentes já existentes, quer com novos agentes terapêuticos. As terapias contra o cancro alvejando cdk poderiam potencialmente ter vantagens em relação a muitos agentes contra o cancro actuais uma vez que não interactuariam directamente com o ADN e deveriam portanto diminuir o risco do desenvolvimento de tumores secundários.

Existe portanto uma necessidade presente de se encontrarem novos agentes terapêuticos para tratar doenças

humanas. A necessidade do desenvolvimento de inibidores de proteína quinases, tais como as CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 and CDK9, é portanto actual.

Sumário da Invenção

Mantém-se a necessidade de novos tratamentos e terapias para patologias associadas a proteína quinases. Existe também uma necessidade de compostos úteis para o tratamento ou a prevenção ou melhoria de um ou mais dos sintomas do cancro, de rejeições de transplantes, e de doenças auto-imunes. Além disto, existe uma necessidade de métodos para modular a actividade de proteína quinases, tais como as CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 e CDK9, utilizando os compostos que se proporcionam neste documento. Num aspecto, a invenção presente proporciona um composto com a Fórmula I:



(I)

ou de um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, na qual

R^1 seja alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-14}, um grupo ciclo-heteroalquilo com 3-14 membros, arilo C_{6-14}, alcoxilo C_{1-6}, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, alquil C_{1-6}-cicloalquilo C_{3-14},

alquil C_{1-6}-grupo heterocíclico com 3-14 membros, alquil C_{1-6}-grupo heteroarilo com 5-14 membros, alquil C_{1-6}-OR^7, alquil C_{1-6}-NR^5R^6, alcoxil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, alquil C_{1-6}-CN, ou alquil C_{1-6}-$C(O)OR^7$, que possam ser substituídos ou não substituídos com um ou mais de entre of alquilo C_{1-6}, arilo C_{6-14}, hidroxilo, haloalquilo C_{1-6}, haloalcoxilo C_{1-6}, halo, alcoxilo C_{1-6}-, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, $C(O)OR^8$, CN, oxo, ou NR^9R^{10};

R^2 seja H, alquilo C_{1-6}, alcenilo C_{2-6}, alcinilo C_{2-6}, hidroxilo, ou halo;

R^3 e R^4 sejam independentemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-14}, ou halo, que possam ser substituídos ou não substituídos;

R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, e R^{10} sejam independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6}, alcenilo C_{2-6}, alcinilo C_{2-6}, cicloalquilo C_{3-14}, um grupo heteroarilo com 5-14 membros, arilo C_{6-14}, $C(O)OR^{11}$, ou $C(O)R^{11}$, que possam ser substituídos ou não substituídos;

X seja N ou CR^{12} em que R^{11} e R^{12} sejam independentemente H, halogéneo, ou alquilo C_{1-6}.

Num aspecto da invenção, a proteína quinase é uma proteína tirosina quinase. Numa concretização, a proteína quinase é seleccionada de entre o conjunto constituído por abl, ATK, ber-abl, Blk, Brk, Btk, c-fms, e-kit, c-met, c-

src, CDK, cRafl, CSFIR, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, ERK, Fak, fes, FGFRI, 25 FGFR2, FGFR3, FGFR4, FGFR5, Fgr, FLK-4, flt-1, Fps, Frk, Fyn, GSK, Gst-FIkI, Hck, Her-2, Her-4, IGF- IR, INS-R, Jak, JNK, KDR, Lck, Lyn, MEK, p38, PANHER, PDGFR, PLK, PKC, PYK2, Raf, Rho, ros, SRC, t'ell t'e2, TRK, TYK2, UL97, VEGFR, Yes, e Zap70. Noutra concretização, a proteína quinase é seleccionada de entre o conjunto constituído por CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 e CDK9. Noutra concretização ainda, a proteína quinase é CDK4.

Noutro aspecto da invenção, a proteína quinase está uma cultura de células. Noutro aspecto ainda, a proteína quinase está nu mamífero.

Noutro aspecto, a invenção proporciona uma quantidade aceitável do ponto de vista farmacêutico de um composto com a Fórmula I para utilização no tratamento de uma patologia associada a proteína quinase, num sujeito que dela necessite. Numa concretização, a proteína quinase é seleccionada de entre o conjunto constituído por CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8, e CDK9. Numa concretização específica, a proteína quinase é a CDK4.

Noutro aspecto, a invenção proporciona uma quantidade aceitável do ponto de vista farmacêutico de um composto com a Fórmula I para utilização numa patologia associada com serina treonina quinase, num sujeito que dela necessite. Numa concretização, a patologia é seleccionada

de entre o conjunto constituído por CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8, e CDK9. Numa concretização específica, a proteína quinase é a CDK4.

Noutra concretização, a patologia associada a proteína quinase é seleccionada de entre o conjunto constituído por patologias proliferativas de vasos sanguíneos, patologias fibróticas, patologias proliferativas de células mesangiais, patologias metabólicas, alergias, asma, trombose, doenças do sistema nervoso e cancro.

Noutra concretização, a patologia associada a proteína quinase é cancro. Noutra concretização ainda, o cancro é seleccionado de entre o conjunto constituído por cancro da mama, do estômago, do ovário, do cólon, do pulmão, cerebral, da laringe, do sistema linfático, do tracto génito-urinário (incluindo a bexiga ou a próstata), do ovário, gástrico, dos ossos, e pancreático.

Noutra concretização, a patologia associada a proteína quinase é seleccionada de entre o conjunto constituído por rejeição de transplante de um órgão, xenotransplantações, lúpus, esclerose múltipla, artrite reumatóide, psoríase, diabetes do Tipo I e as complicações da diabetes, cancro, asma, dermatite atópica, patologias autoimunes da tiróide, colite ulcerosa, doença de Crohn, doença de Alzheimer e leucemia.

Noutra concretização ainda, a doença é seleccio-

nada de entre uma resposta imunológica, uma doença auto-imune, uma doença neurodegenerativa, ou uma lesão maligna sólida ou hematológica. Noutra concretização ainda, a doença é seleccionada de entre uma reacção alérgica ou de hipersensibilidade do tipo I, asma, doença de enxerto contra o hospedeiro, artrite reumatóide, esclerose amiotrófica lateral, esclerose múltipla, esclerose amiotrófica lateral familiar, leucemia, ou linfoma.

Também se podem utilizar os compostos da invenção de acordo com a fórmula I para o tratamento de uma doença auto-imune. Pode seleccionar-se a doença auto-imune de entre o conjunto constituído por anemia hemolítica auto-imune, trombocitopénia neonatal auto-imune, púrpura trombocitopénica idiopática, autoimunocitopénia, anemia hemolítica, síndrome anti fosfolípidos, dermatite, encefalomielite alérgica, miocardite, policondrite com recaídas, doença cardíaca reumática, glomerulonefrite, esclerose múltipla, neurite, uveíte, oftalmia, poliendocrinopatias, púrpura, Doença de Reiter, Síndrome de Stiff-Man, inflamação pulmonar auto-imune, autismo, Síndrome de Guillain-Barre, diabetes mellitus dependente da insulina, olho inflamatório auto-imune, tiroidite auto-imune, hipotiroidismo, lúpus eritematoso sistémico, síndrome de Goodpasture, Pênfigo, auto-imunidades de receptores, anemia hemolítica auto-imune, púrpura trombocitopénica auto-imune, artrite reumatóide, doença mista do tecido conjuntivo, polimiosite/dermatomiosite, anemia perniciosa, doença idiopática de Addison, infertilidade, glomerulonefrite, penfigóide bolho-

so, síndrome de Sjogren, diabetes mellitus, resistência a fármacos nas supra-renais, hepatite activa crónica, cirrose biliar primária, vitiligo, vasculite, pós-MI, síndrome de cardiotomia, urticária, dermatite atópica, asma, miopatias inflamatórias, hepatite activa crónica, cirrose biliar crónica e doenças de hipersensibilidade mediada por células T.

Noutro aspecto, a invenção proporciona uma quantidade aceitável do ponto de vista farmacêutico de um composto com a Fórmula I para utilização no tratamento do cancro. Numa concretização, o cancro é seleccionado de entre o conjunto constituído por cancro da bexiga, da cabeça e pescoço, da mama, do estômago, do ovário, do cólon, do pulmão, cerebral, da laringe, do sistema linfático, do tracto génito-urinário, gastrointestinal, do ovário, da próstata, gástrico, dos ossos, do pulmão de células pequenas, glioma, colo-rectal e pancreático.

Pode administrar-se o composto com a Fórmula I ou um seu sal, em simultâneo ou sequencialmente, com um anti-inflamatório, um agente antiproliferativo, um agente quimioterapêutico, um agente imunossupressor, um agente contra o cancro, um agente citotóxico ou um inibidor de quinase que não seja um composto com a Fórmula I ou um seu sal. Pode administrar-se o composto com a Fórmula I ou um seu sal, em simultâneo ou sequencialmente, com um ou mais de entre um inibidor de PTK, ciclosporina A, CTLA4-Ig, anticorpos seleccionados de entre anti-ICAM-3, anti-IL-2 receptor, anti-CD45RB, anti-CD2, anti-CD3, anti-CD4, anti-

CD80, anti-CD86, e anticorpo monoclonal OKT3, agentes que bloqueiem a interacção entre CD40 e gp39, e proteínas de fusão construídas a partir de CD40 e gp39, inibidores da função de NF-κ B, fármacos anti-inflamatórios não esteróides, esteróides, compostos de ouro, agentes antiproliferativos, FK506, micofenolato, mofetil, fármacos citotóxicos, inibidores de TNF-α, anticorpos anti-TNF ou receptor solúvel de TNF, rapamicina, leflunimida, inibidores de ciclo-oxigenase-2, paclitaxel, cis-platina, carboplatina, doxorrubicina, carminomicina, daunorrubicina, aminopterina, metotrexato, metopterina, mitomicina C, ecteinascidina 743, porfiromicina, 5-fluorouracilo, 6-mercaptopurina, gemcitabina, arabinósido da citosina, podofilotoxina, etoposido, fosfato de etoposido, teniposido, melfalan, vinblastina, vincristina, leurosidina, epotilona, vindesina, leurosina, ou seus derivados.

Podem proporcionar-se os compostos da invenção can numa embalagem que contenha um composto que module a proteína quinase com a Fórmula I, embalado com instruções para se utilizar uma quantidade eficaz do composto modulador da proteína quinase para tratar uma patologia associada com a proteína quinase.

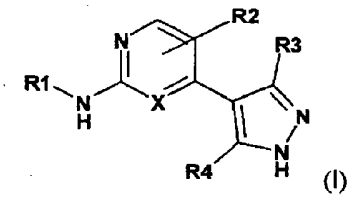
Descrição Pormenorizada da Invenção

Esta invenção diz respeito a compostos, por exemplo a compostos de pirazolilpiridina e de pirazolilpirimidina, e a intermediários para a sua síntese, bem como a

composições farmacêuticas contendo estes compostos, para utilização no tratamento de patologias associadas a proteína quinases. Esta invenção também diz respeito aos compostos da invenção ou a suas composições como moduladores de Jak1, Jak2 e Jak3, bem como de CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 e CDK9. A invenção presente também diz respeito à utilização dos compostos ou das composições farmacêuticas, ou a estojos que as contenham, da invenção presente, em métodos de terapia de combinação para inibir a actividade de proteína quinases em células, ou para tratar, evitar ou melhorar um ou mais sintomas do cancro, de rejeições de transplantes, e em doenças auto-imunes.

Num aspecto, a invenção proporciona

compostos com a Fórmula I:



(I)

ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, na qual

R^1 seja alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-14}, um grupo ciclo-heteroalquilo com 3-14 membros, arilo C_{6-14}, alcoxilo C_{1-6}, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, alquil C_{1-6}-cicloalquilo C_{3-14}, alquil C_{1-6}-grupo ciclo-heteroarilo com 3-14 membros, alquil

C_{1-6}-grupo heteroarilo com 5-14 membros, alquil C_{1-6}-OR^7, alquil C_{1-6}-NR^5R^6, alcoxil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, alquil C_{1-6}-CN, ou alquil C_{1-6}-$C(O)OR^7$, que pode ser não substituído ou ser substituído com um ou mais de entre alquilo C_{1-6}, arilo C_{6-14}, hidroxilo, haloalquilo C_{1-6}, haloalcoxilo C_{1-6}, halo, alcoxilo C_{1-6}, alquilC_{1-6}-arilo C_{6-14}, $C(O)OR^8$, CN, oxo, ou NR^9R^{10};

R^2 seja H, alquilo C_{1-6}, alcenilo C_{2-6}, alcinilo C_{2-6}, hidroxilo, ou halo;

R^3 e R^4 sejam independentemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-14}, ou halo, que podem ser não substituídos ou ser substituídos;

R^6, R^6, R^7, R^8, R^9, e R^{10} sejam independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6}, alcenilo C_{2-6}, alcinilo C_{2-8}, cicloalquilo C_{3-14}, um grupo heteroarilo com 5-14 membros, arilo C_{6-14}, $C(O)OR^{11}$, ou $C(O)R^{11}$, que podem ser não substituídos ou ser substituídos;

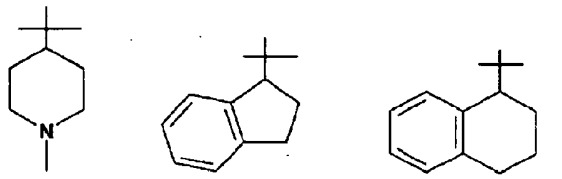
X seja N ou CR^{12} em que R^{11} e R^{12} sejam independentemente H, halogéneo, ou alquilo C_{1-6}.

Numa concretização adicional, a invenção inclui um composto com a Fórmula I na qual R^1 seja alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-14}, arilo C_{6-14}, um grupo heterociclilo com 3-14 membros, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, alquil C_{1-6}-cicloalquilo C_{3-14}, alquil C_{1-6}-grupo ciclo-heteroalquilo com

3-14 membros, ou alquil C_{1-6}-grupo heteroarilo com 5-14 membros, que podem ser não substituídos ou ser substituídos com um ou mais de entre alquilo C_{1-6}, arilo C_{6-14}, hidroxilo, haloalquilo C_{1-6}, halo, alcoxilo C_{1-6}, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}.

Noutra concretização preferida dos compostos com a Fórmula I, R^1 é cialoalquilo C_{3-14}, arilo C_{6-14}, um grupo ciclo-heteroarilo com 3-14 membros, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, ou alquil C_{1-6}-cicloalquilo C_{3-14}, que podem ser não substituídos ou substituídos com um ou mais de entre alquilo C_{1-6} ou arilo C_{6-14}.

Numa concretização adicional, a invenção inclui um composto com a Fórmula I na qual R^1 é seleccionado de entre:



e

R^3 é metilo ou isopropilo.

Noutra concretização preferida dos compostos com a Fórmula I, R^3 e R^4 são independentemente H, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-14}.

Noutra concretização preferida dos compostos com a Fórmula I, um de entre R^3 e R^4 é H e o outro de entre R^3 e R^4 é alquilo C_{1-6}, ou cicloalquilo C_{3-14}.

Noutra concretização preferida dos compostos com a Fórmula I, R^4 é H e R^3 é metilo, etilo, ou propilo. Noutra concretização preferida, R^3 é isopropilo.

Noutra concretização preferida dos compostos com a Fórmula I, X é N ou CH. Noutra concretização preferida dos compostos com a Fórmula I, X é N.

Noutra concretização, a invenção inclui uma composição farmacêutica incluindo uma quantidade eficaz do ponto de vista terapêutico de um composto com a Fórmula I.

Noutra concretização, a invenção presente inclui compostos com a Fórmula I para medicina, em especial para o cancro.

Noutra concretização, a invenção inclui um composto com a Fórmula I para utilização no tratamento de um mamífero que sofra de uma doença proliferativa. Noutra concretização ainda, a invenção inclui um composto com a Fórmula I para utilização na inibição de uma proliferação de células numa célula ou num mamífero que dele necessitem.

Em determinadas concretizações, o composto da invenção presente é também caracterizado como um modulador de proteína quinase, incluindo mas não se limitando a, proteína quinases seleccionadas de entre o conjunto constituído por abl, ATK, ber-abl, Blk, Brk, Btk, c-fms, e-

kit, c- met, c-src, CDK, cRafl, CSFIR, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, ERK, Fak, fes, FGFRI, 25 FGFR2, FGFR3, FGFR4, FGFR5, Fgr, FLK-4, flt-1, Fps, Frk, Fyn, GSK, Gst-FIkI, Hck, Her-2, Her-4, IGF- IR, INS-R, Jak, JNK, KDR, Lck, Lyn, MEK, p38, PANHER, PDGFR, PLK, PKC, PYK2, Raf, Rho, ros, SRC, t'ell t'e2, TRK, TYK2, UL97, VEGFR, Yes, e Zap70.

Numa concretização preferida, a proteína quinase é seleccionada de entre o conjunto constituído por CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 e CDK9. Noutra concretização preferida, a proteína quinase é seleccionada de entre o conjunto constituído por Jak1, Jak2 e Jak3. Numa concretização especialmente preferida, a proteína quinase é seleccionada de entre o conjunto constituído por Jak3 e CDK4.

Noutras concretizações, os compostos da invenção presente são utilizados para o tratamento de patologias associadas a proteína quinase. Tal como se utiliza neste documento, o termo "patologia associada a proteína quinase" inclui patologias e estados (por exemplo, um estado de doença) que estejam associados com a actividade de uma proteína quinase, por exemplo CDK4 e Jak3. Incluem-se nos exemplos não limitativos de uma patologia associada a uma proteína quinase as patologias proliferativas de vasos sanguíneos, as patologias fibróticas, as patologias proliferativas de células mesangiais, as patologias metabólicas, aa alergias, a asma, a trombose, as doenças do sistema nervoso, a rejeição de transplantes de órgãos, as doenças

auto-imunes, e o cancro. Noutra concretização, o composto da invenção presente é caracterizado também por ser um modulador de uma combinação de proteína quinases, *por exemplo* Jak3 e CDK4.

Em determinadas concretizações, utiliza-se um composto da invenção presente para doenças associadas a proteína quinases, e a utilização do composto da invenção presente é como inibidor de qualquer uma ou mais proteína quinases. Considera-se que a utilização pode ser um tratamento consistindo em inibir uma ou mais isoformas de proteína quinases.

Os compostos da invenção são inibidores de enzimas quinase dependentes de ciclina (CDK). Sem que signifique uma submissão a uma teoria qualquer, a inibição do complexo CDK4/ciclina D1 bloqueia a fosforilação do complexo Rb/E2F inactivo, evitando deste modo a libertação de E2F activado e em última análise bloqueando a transcrição de ADN dependente de E2F. Isto tem como efeito Isto tem como efeito induzir a paragem do ciclo de células G_1. Em especial, demonstrou-se que o caminho CDK4 apresenta uma desregulação e efeitos citotóxicos específicos para tumores.

Além disto, os compostos desta invenção têm o potencial para bloquear a expansão de células T auto-reactivas ou alo-reactivas, e portanto têm efeitos benéficos sobre as doenças auto-imune bem como sobre rejeições de transplantes.

Os compostos da invenção presente são destinados a uma utilização no tratamento de um ou mais sintomas de cancro, de rejeição de transplantes, e em doenças auto-imunes, bem como de patologias associadas a proteína quinases, tal como se descreveram acima, mas não se pretende que a invenção se limite ao modo por intermédio do qual o composto leva a cabo a função que se pretende que ele desempenhe de tratamento de uma doença. O tratamento de doenças que se descreve neste documento inclui qualquer maneira que permita a ocorrência do tratamento, por exemplo no cancro, nas rejeições de transplantes, e nas doenças auto-imunes.

Em determinadas concretizações, a invenção proporciona uma composição farmacêutica de qualquer um dos compostos da invenção presente. Numa concretização relacionada, a invenção proporciona uma composição farmacêutica de qualquer um dos compostos da invenção presente e um veículo ou excipiente aceitável do ponto de vista farmacêutico para qualquer um dos compostos referidos. Em determinadas concretizações, a invenção inclui os compostos na qualidade de novas entidades químicas.

Os compostos da invenção podem ser proporcionados como embalagens de tratamentos de patologias associadas a proteína quinases. O tratamento embalado inclui um composto da invenção embalado em conjunto com instruções para se utilizar uma quantidade eficaz do composto da invenção para uma sua utilização pretendida para ele.

Os compostos da invenção presente são adequados a título de agentes activos em composições farmacêuticas que são eficazes em especial para o tratamento de patologias associadas a proteína quinases, por exemplo o cancro, as rejeições de transplantes, e as doenças auto-imunes. A composição farmacêutica em diversas concretizações apresenta uma quantidade eficaz do ponto de vista farmacêutico do agente activo presente em conjunto com outros excipientes, cargas, veículos, diluentes aceitáveis do ponto de vista farmacêutico, e outros semelhantes. A frase "quantidade eficaz do ponto de vista farmacêutico" tal como se utiliza neste documento, indica uma quantidade que é necessário administrar a um indivíduo, ou a uma célula, num determinado caso, ou a um órgão de um indivíduo, para se conseguir um resultado terapêutico, em particular a actividade de regular, modular, ou inibir a actividade de proteína quinase, por exemplo a inibição *da actividade da* proteína quinase, ou o tratamento do cancro, das rejeições de transplantes, ou das doenças auto-imunes.

Noutras concretizações, a invenção presente proporciona a utilização dos compostos da invenção presente para inibir a actividade de uma proteína quinase. O método inclui levar-se ao contacto uma célula com qualquer um dos compostos da invenção presente. Numa concretização relacionada, o método também proporciona que o composto esteja presente numa quantidade eficaz para inibir selectivamente a actividade da proteína quinase.

Noutras concretizações, a invenção presente proporciona a utilização de qualquer um dos compostos da invenção para o fabrico de um medicamento para tratar o cancro, as rejeições de transplantes, ou doenças auto-imunes num sujeito.

Noutras concretizações, a invenção proporciona um método de fabrico de um medicamento, incluindo formular-se qualquer um dos compostos da invenção presente para o tratamento de um sujeito.

Definições

O termo "tratar", "tratado/a", "tratando" ou "tratamento" inclui a diminuição ou alívio de pelo menos um sintoma associado ou provocado pelo estado, patologia ou doença que se esteja a tratar. Em determinadas concretizações, o tratamento inclui a indução da patologia associada a uma proteína quinase, seguido pela activação do composto da invenção, que em seguida irá diminuir ou aliviar pelo menos um sintoma associado ou provocado pela patologia associada à proteína quinase que se estiver a tratar. Por exemplo, o tratamento pode consistir na diminuição de um ou de diversos sintomas da patologia ou na terminação completa da patologia.

Pretende-se que o termo "sujeito" inclua organismos, por exemplo procariotas e eucariotas, que sejam

capazes de sofrer de ou estar afectados por uma doença, uma patologia ou um estado associado com a actividade de uma proteína quinase. Incluem-se como exemplos de sujeitos mamíferos, por exemplo seres humanos, cães, vacas, cavalos, porcos, ovelhas, cabras, gatos, murganhos, coelhos, ratos, e animais transgénicos não humanos. Em determinadas concretizações, o sujeito é um ser humano, por exemplo um ser humano que sofra de, em risco de vir a sofrer de, ou potencialmente capaz de vir a sofrer de cancro, rejeição de transplantes, e doenças auto-imunes, e de outras doenças e estados descritos neste documento. Noutra concretização, o sujeito é uma célula.

A expressão "composto modulador de proteína quinases", "modulador de proteína quinases" ou "inibidor de proteína quinases" refere-se a compostos que modulam, por exemplo inibem, ou alteram de outra forma, a actividade de uma proteína quinase. Incluem-se nos exemplos de compostos que modulam proteína quinases os compostos com a Fórmula I, bem como os das Tabelas 1 e 2, e outros exemplos tal como se definem neste documento (incluindo os seus sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico, bem como os seus enantiómeros, estereoisómeros, rotâmeros, tautómeros, diastereómeros, atropoisómeros ou racematos).

Além disto, inclui-se num método desta especificação administrar-se a um sujeito uma quantidade eficaz de um composto modulador de proteína quinases da invenção, por exemplo compostos moduladores de proteína quinases com

a Fórmula I, bem como os das Tabelas 1 e 2, e outros exemplos tais como se descrevem neste documento (incluindo os seus sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico, bem como os seus enantiómeros, estereoisómeros, rotâmeros, tautómeros, diastereómeros, atropoisómeros ou racematos).

O termo "alquilo", tal como se utiliza neste documento, inclui grupos alifáticos saturados, incluindo grupos alquilo com cadeia linear (por exemplo metilo, etilo, propilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, etc.), grupos alquilo com cadeia ramificada (isopropilo, *terc*-butilo, etc.), grupos cicloalquilo (alicíclicos) (ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-heptilo, ciclo-octilo), grupos cicloalquilo substituídos com alquilo, e grupos alquilo substituídos com cicloalquilo.

Tal como se utiliza neste documento, "cicloalquilo" refere-se a grupos carbocíclicos não aromáticos incluindo grupos alquilo, alcenilo, e alcinilo ciclizados. Um grupo cicloalquilo pode ser monocíclico (por exemplo ciclo-hexilo) ou policíclico (por exemplo, contendo sistemas anelares fundidos, em ponte, e/ou espiro), no qual os átomos de carbono estejam localizados dentro ou fora do sistema anelar. Um grupo cicloalquilo pode conter ao todo 3 a 14 átomos de carbono anelares (por exemplo entre 3 e 8 átomos de carbono de um grupo cicloalquilo monocíclico e entre 7 e 14 átomos de carbono para um grupo cicloalquilo policíclico). Qualquer das posições anelares do grupo cicloalquilo pode ligar-se covalentemente à estrutura quí-

mica definida. Incluem-se nos exemplos de grupos cicloalquilo, os grupos ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-heptilo, ciclopentenilo, ciclo-hexenilo, ciclo-hexadienilo, ciclo-heptatrienilo, norbornilo, norpinilo, norcarilo, adamantilo, e espiro[4.5]decanilo, bem como os seus homólogos, isómeros, e outros semelhantes. Em algumas concretizações, os grupos cicloalquilo podem opcionalmente ser substituídos com até quatro grupos seleccionados independentemente de entre -L'-R^5 e -L'-R^{10}, em que L', R^5, e R^{10} sejam tal como se descrevem neste documento. Por exemplo, os grupos cicloalquilo podem ser substituídos com um ou mais grupos oxo.

Tal como se utiliza neste documento, "heteroátomo" refere-se a um átomo de qualquer elemento diferente de carbono ou hidrogénio e inclui, por exemplo, azoto, oxigénio, enxofre, fósforo, e selénio.

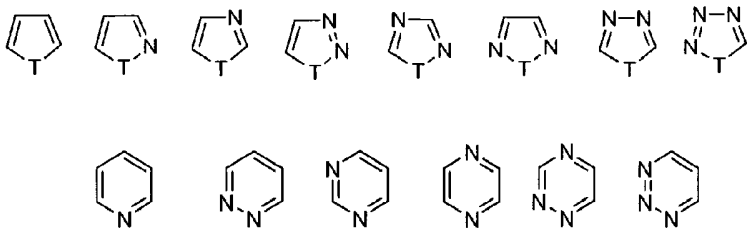
Tal como se utiliza neste documento, "ciclo-heteroalquilo" refere-se a um grupo cicloalquilo não aromático que contenha pelo menos um (por exemplo um, dois, três, quarto ou cinco) heteroátomos anelares seleccionados de entre O, N, e S, e opcionalmente contenha uma ou mais (por exemplo uma, duas ou três) ligações duplas ou triplas. Um grupo ciclo-heteroalquilo, pode conter ao todo entre 3 e 14 átomos anelares e contém entre 1 e 5 heteroátomos anelares (por exemplo, entre 3-6 átomos anelares para um grupo ciclo-heteroalquilo monocíclico e entre 7 e 14 átomos anelares para um grupo ciclo-heteroalquilo policíclico). O

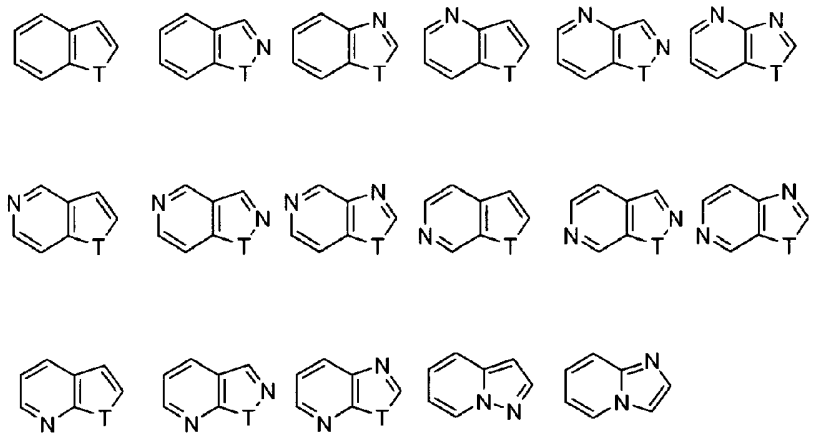
grupo ciclo-heteroalquilo pode ser ligado covalentemente à estrutura química definida por quaisquer heteroátomo(s) ou átomos de carbono de cuja ligação resulte uma estrutura estável. Um ou mais átomos de N ou de S num anel ciclo-heteroalquilo pode estar oxidado (por exemplo, N-óxido de morfolina, S-óxido de tiomorfolina, S,S-dióxido de tiomorfolina). Em algumas concretizações, os átomos de azoto dos grupos ciclo-heteroalquilo podem ser portadores de um substituinte, por exemplo, um grupo -L'-R^5 ou -L'-R^{10}, em que L', R^5, e R^{10} sejam como descritos neste documento. Os grupos ciclo-heteroalquilo também podem conter um ou mais grupos oxo, tais como ftalimidilo, piperidonilo, oxazolidinonilo, 2,4(1*H*,3*H*)-dioxo-pirimidinilo, piridin-2(1H)-onilo, e outros semelhantes. Incluem-se nos exemplos de grupos ciclo-heteroalquilo, entre outros, morfolinilo, tiomorfolinilo, piranilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, oxazolidinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, tetra-hidrofuranilo, tetra-hidrotienilo, piperidinilo, piperazinilo, e outros semelhantes. Em algumas concretizações, os grupos ciclo-heteroalquilo podem ser opcionalmente substituídos com até quatro grupos seleccionados independentemente de entre -L'-R^5 e -L'-R^{10}, em que L', R^5, e R^{10} sejam tal como descritos neste documento.

Tal como se utiliza neste documento, "arilo" refere-se a um hidrocarboneto, sistema anelar monocíclico aromático ou sistema anelar policíclico no qual pelo menos um dos anéis do sistema anelar seja um anel de hidrocarboneto aromático e os outros anéis aromáticos do sistema

anelar contenham apenas hidrocarbonetos. Em algumas concretizações, um grupo arilo monocíclico pode conter entre 6 e 14 átomos de carbono e um grupo arilo policíclico pode conter entre 8 e 14 átomos de carbono. O grupo arilo pode estar ligado covalentemente à estrutura química definida por qualquer um ou mais seus átomos de carbono desde que resulte uma estrutura estável. Em algumas concretizações, um grupo arilo pode conter apenas anéis carbocíclicos aromáticos, por exemplo nos grupos fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, antracenilo, fenantrenilo, e outros semelhantes. Noutras concretizações, um grupo arilo pode ser um sistema anelar policíclico no qual pelo menos um anel carbocíclico aromático esteja fundido (isto é, possua uma ligação em comum com) um ou mais anéis cicloalquilo ou ciclo-heteroalquilo. Incluem-se nos exemplos de tais grupos arilo, entre outros, os derivados benzo de ciclopentanos (isto é, um grupo indanilo, que é um sistema anelar bicíclico alifático/aromático em 5,6), ciclo-hexano (isto é, um grupo tetra-hidronaftilo, que é um sistema anelar bicíclico alifático/aromático em 6,6), imidazolina (isto é, um grupo benzimidazolinilo, que é um sistema anelar bicíclico ciclo-heteroalquil/aromático em 5,6), e pirano (isto é, um grupo cromenilo, que é um sistema anelar bicíclico ciclo-heteroalquil/aromático em 6,6). Incluem-se em outros exemplos de grupos arilo os grupos benzodioxanilo, benzodioxolilo, cromanilol, indolinilo, e outros semelhantes. Em algumas concretizações, cada um dos grupos arilo pode ser opcionalmente substituído com até quatro grupos seleccionados independentemente de entre -L'-R^5 e -L'-R^{10}, em que L', R^5, e R^{10} são tal como se descrevem neste documento.

Tal como se utiliza neste documento, "heteroarilo" refere-se a um sistema anelar monocíclico aromático contendo pelo menos um heteroátomo anelar seleccionado de entre O, N, e S, ou um sistema anelar policíclico no qual pelo menos um dos anéis deste sistema anelar seja aromático e contenha pelo menos um heteroátomo anelar. Um grupo heteroarilo pode conter ao todo entre 5 e 14 átomos anelares e conter 1-5 heteroátomos anelares. Em algumas concretizações, incluem-se nos grupos heteroarilo anéis heteroarilo monocíclicos fundidos a um ou mais anéis carbocíclico aromáticos, ou anéis carbocíclicos não aromáticos, ou anéis ciclo-heteroalquílicos não aromáticos. O grupo heteroarilo pode ligar-se covalentemente à estrutura química definida por qualquer seu heteroátomo ou átomo de carbono, desde que resulte uma estrutura estável. Em geral, os anéis heteroarilo não contêm ligações O-O, S-S, nem S-O. No entanto, um ou mais átomos N ou S de um grupo heteroarilo podem estar oxidados (por exemplo no N-óxido de piridina, no S-óxido de tiofeno, no S,S-dióxido de tiofeno). Incluem-se nos exemplos de grupos heteroarilo, por exemplo, os sistemas monocíclicos com 5 membros e com 6 membros, bem como os sistemas anelares bicíclicos em 5,6 que se ilustram adiante:





Nos quais T seja O, S, NH, N-L'-R^5, ou N-L'-R^{10}, em que L', R^5, e R^{10} sejam tal como se definem neste documento. Incluem-se nos exemplos destes anéis heteroarilo os grupos pirrolilo, furilo, tienilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, pirazinilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, imidazolilo, isotiazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, isoxazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, indolilo, isoindolilo, benzofurilo, benzotienilo, quinolilo, 2-metilquinolilo, isoquinolilo, quinoxalilo, quinazolilo, benzotriazolilo, benzimidazolilo, benzotiazolilo, benzisotiazolilo, benzisoxazolilo, benzoxadiazolilo, benzoxazolilo, cinolinilo, 1H-indazolilo, 2H-indazolilo, indolizinilo, isobenzofurilo, naftiridinilo, ftalazinilo, pteridinilo, purinilo, oxazolopiridinilo, tiazolopiridinilo, imidazopiridinilo, furopiridinilo, tienopiridinilo, piridopirimidinilo, piridopirazinilo, piridopiridazinilo, tienotiazolilo, tienoxazolilo, tienoimidazolilo, e outros semelhantes. Incluem-se em exemplos adicionais de grupos heteroarilo, os grupos 4,5,6,7-tetra-hidroindolilo, tetra-hidroquinolinilo,

benzotienopiridinilo, benzofuropiridinilo, e outros semelhantes. Em algumas concretizações, os grupos heteroarilo podem ser substituídos com até quatro grupos seleccionados independentemente de entre -L'-R^5 ou -L'-R^{10}, em que L', R^5, e R^{10} sejam tal como se descrevem neste documento.

Quando dois substituintes formarem em conjunto com o átomo de azoto a que ambos se ligam um anel **het**, entende-se que o anel heterocíclico resultante é um anel contendo azoto, tal como aziridina, azetidina, azole, piperidina, piperazina, morfolina, pirrole, pirazole, tiazole, oxazole, piridina, pirimidina, isoxazole, e outros semelhantes, em que o **het** referido pode ser não substituído, ou ser substituído tal como se define acima neste documento.

"Het", tal como se utiliza neste documento, refere-se a compostos heteroarilo e heterocíclicos contendo pelo menos um heteroátomo anelar S, O ou N. Mais especificamente, "Het" é um anel heterocíclico com 5-7 membros contendo 1-4 heteroátomos seleccionados de entre N, O e S, ou um sistema anelar fundido com 8-12 membros anelares, incluindo pelo menos um anel heterocíclico com 5-7 membros contendo 1, 2 ou 3 heteroátomos seleccionados de entre N, O, e S. Incluem-se nos exemplos de **het**, tal como se utiliza neste documento, sem que se limitem a estes, os grupos pirrolidilo, tetra-hidrofurilo, tetra-hidrotiofurilo, piperidilo, piperazilo, purinilo, tetra-hidropiranilo, morfolino, 1,3-diazapanilo, 1,4-diazapanilo, 1,4-oxazepanilo, 1,4-oxatiapanilo, furilo, tienilo, pirrolilo, pirrolilo,

pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, indazolilo, oxadiazolilo, imidazolilo, pirrolidilo, pirrolidinilo, tiazolilo, oxazolilo, piridilo, pirazolilo, pirazinilo, pirimidinilo, isoxazolilo, pirazinilo, quinolilo, isoquinolilo, piridopirazinilo, pirrolopiridilo, furopiridilo, indolilo, benzofurilo, benzotiofurilo, benzoindolilo, benzotienilo, pirazolilo, piperidilo, piperazinilo, indolinilo, morfolinilo, benzoxazolilo, pirroloquinolilo, pirrolo[2,3-b]piridinilo, benzotriazolilo, oxobenzo-oxazolilo, benzo[1,3]-dioxolilo, benxzoimidazolilo, quinolinilo, indanilo, não substituídos e substituídos, e outros semelhantes. Os heteroarilos estão incluídos na definição de **het**. São exemplos de heteroarilos os grupos piridilo, pirimidinilo, quinolilo, tiazolilo e benzotiazolilo. Os **het** mais preferidos são piridilo, pirimidinilo e tiazolilo. O **het** pode ser não substituído ou substituído tal como se descreve neste documento. Prefere-se que seja não substituído ou que, se for substituído, seja substituído num átomo de carbono com um halogéneo, em particular fluoro ou cloro, com hidroxilo, com alquilo C_1-C_4, tal como metilo e etilo, com alcoxilo C_1-C_4, em particular metoxilo e etoxilo, com nitro, com -O-C(O)-alquilo C_1-C_4 ou com -C(O)-O-alquilo C_1-C_4, com SCN ou com nitro, ou num átomo de azoto com alquilo C_1-C_4, em particular metilo ou etilo, com -O-C(O)-alquilo C_1-C_4 ou com -C(O)-O-alquilo C_1-C_4, tal como carbometoxilo ou carboetoxilo.

Quando dois substituintes, em conjunto com um átomo de azoto a que ambos se liguem, formarem **het**, enten-

de-se que o anel heterocíclico resultante é um anel contendo azoto, tal como aziridina, azetidina, azole, piperidina, piperazina, morfolina, pirrole, pirazole, tiazole, oxazole, piridina, pirimidina, isoxazole, e outros semelhantes, em que o referido **het** pode ser não substituído ou substituído tal como se define acima neste documento.

"Halo", ou halogéneo é fluoro, cloro, bromo ou iodo, em particular fluoro e cloro.

A não ser aonde se especificar algo em contrário, "alquilo", quer por si só, quer em combinação, inclui grupos alquilo com cadeia linear ou ramificada, tais como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, n-pentilo e pentilo ramificado, n-hexilo e hexilo ramificado, e outros semelhantes.

Pretende-se que não substituído signifique que apenas existem átomos de hidrogénio a título de substituintes.

Excepto nos casos descritos neste documento, qualquer dos grupos definidos acima arilo, het, alquilo, alcenilo, alcinilo, ou cicloalquilo, podem ser não substituídos ou substituídos com até quatro, preferivelmente um, dois ou três substituintes, seleccionados de entre o conjunto constituído por: halo (tal como Cl ou Br); hidroxilo; alquilo inferior (tal como alquilo C_1-C_3); alquilo inferior que possa ser substituído com qualquer um dos substituintes

definidos neste documento; alcenilo inferior; alcinilo inferior; alcanoílo inferior; alcoxilo inferior (tal como metoxilo); arilo (tal como fenilo ou naftilo); arilo substituído (tal como fluorofenilo ou metoxifenilo); aril-aquilo inferior tal como benzilo, amino, monoalquilamino inferior ou dialquilamino inferior (tal como dimetilamino); alcanoílamino inferior tal como acetilamino; aminoalcoxilo inferior (tal como etoxiamino); nitro; ciano; cianoalquilo inferior; carboxilo; carbalcoxilo inferior (tal como metoxicarbonilo; n-propoxicarbonilo ou *iso*-propoxicarbonilo), ariloílo inferior, tal como benzoílo; carbamoílo; N-mono-alquilo inferior-carbamoílo ou N,N di-alquilo inferior-carbamoílo; éster alquílico inferior de ácido carbâmico; amidino; guanidino; ureído; mercapto; sulfo; alquiltio inferior; sulfoamino; sulfonamido; benzossulfonamido; sulfonato; sulfanil-alquilo inferior (tal como metilsulfanilo); sulfoamino; arilsulfonamido; arilsulfonato substituído com halogéneo ou não substituído (tal como clorofenilsulfonato); alquilsulfinilo inferior; arilsulfinilo; aril-alquilsulfinilo inferior; alquilarilsulfinilo inferior; alcanossulfonilo inferior; arilsulfonilo; aril-alquilsulfonilo inferior; aril-alquilo inferior; alquil-arilsulfonilo inferior; halogenoalquilmercapto inferior; halogenoalquilsulfonilo inferior; tal como trifluorometanossulfonilo; fosfono ($-P(=O)(OH)_2$); hidroxialquilfosforilo inferior ou dialcoxifosforilo inferior; ureia e ureia substituída; ésteres alquilcarbâmicos ou carbamatos (tais como N-fenil-carbamato de etilo); ou alquilo inferior (por exemplo metilo, etilo ou propilo).

Numa concretização, os grupos alquilo, cicloalquilo e arilo mencionados acima são independentemente não substituídos ou substituídos com alquilo inferior, arilo, arilalquilo inferior, carboxilo, carbalcoxilo inferior e em particular com halogéneo, -OH, -SH, $-OCH_3$, - SCH_3, -CN, -SCN ou nitro.

Tal como se utiliza neste documento, o termo "alquilarilo" refere-se a um grupo arilo ligado à cadeia principal por um grupo alquileno em ponte. Incluem-se como exemplos não limitativos benzilo, fenetilo, naftilmentilo, e outros semelhantes. De forma semelhante, um grupo alquilciano refere-se a um grupo ciano ligado à cadeia principal por um grupo alquileno em ponte. Também de forma semelhante, alquilcicloalquilo refere-se a um grupo cicloalquilo ligado à cadeia principal por um grupo alquileno em ponte. Um grupo "alquil-het" refere-se a um grupo **het** ligado à cadeia principal por um grupo alquileno em ponte.

O termo "arilalquilo", por outro lado, refere-se a um grupo alquilo ligado à cadeia principal por um grupo arilo, tal como um grupo fenileno. Incluem-se nos exemplos não limitativos metilfenilo, etilfenilo, e outros semelhantes. De forma semelhante, um grupo "arilcicloalquilo" refere-se a um grupo cicloalquilo ligado à cadeia principal por um grupo arilo.

O termo "hetcicloalquilo" refere-se a um grupo cicloalquilo ligado à cadeia principal por um grupo **het**. Um grupo "cicloalquilarilo" refere-se a um grupo arilo ligado à cadeia principal por um grupo cicloalquilo, e um grupo "cicloalquil-het" refere-se a um grupo **het** ligado à cadeia principal por um grupo cicloalquilo. Todos os grupos "hetcicloalquilo", "cicloalquilarilo", e "cicloalquil-het" podem ser anéis fundidos dos dois grupos.

O termo "alcoxilo" refere-se a um grupo alquilo tal como se define neste documento, ligado à cadeia principal por um átomo de oxigénio. Um grupo "alcoxilo" também se refere a um grupo alquilo com uma funcionalidade de éter inserida dentro dele; isto é, um grupo alquilo com um oxigénio -O- incluído na cadeia principal em qualquer posição. Incluem-se nos exemplos sem que a estes eles se limitem, metoxilo, etoxilo, e outros semelhantes.

Deve entender-se que a terminologia C(O) se refere a um grupo -C=O, quer se trate de uma cetona, de um aldeído, ou de um ácido ou derivado de um ácido. De forma semelhante, S(O) refere-se a um grupo -S=O. Um grupo "hidroxilo" refere-se a um grupo -OH.

Utilização no cancro em doenças auto-imunes

Os compostos da invenção presente têm propriedades farmacológicas valiosas e são úteis no tratamento de doenças. Em determinadas concretizações, os compostos da

invenção são úteis para o tratamento de uma doença proliferativa, ou do cancro.

Uma doença proliferativa é sobretudo uma doença tumoral (ou cancro) (e/ou quaisquer metástases). Os compostos inventivos são especialmente úteis para tratar um tumor que seja um cancro da mama, um cancro génito-urinário, cancro do pulmão, cancro gastrointestinal, cancro epidermóide, mieloma múltiplo, melanoma, cancro do ovário, cancro do pâncreas, neuroblastoma, cancro do nariz, cancro da cabeça e/ou do pescoço ou cancro da bexiga, ou num sentido mais geral, cancro renal, cerebral ou gástrico; em especial (i) um tumor na mama; um tumor epidermóide, tal como um tumor epidermóide da cabeça e/ou do pescoço ou um tumor da boca; um tumor do pulmão, por exemplo um tumor do pulmão de células pequenas ou de células não pequenas; um tumor gastrointestinal, por exemplo, um tumor colo-rectal; ou um tumor génito-urinário, por exemplo, um tumor da próstata (em particular um tumor prostático refractário a hormonas); ou (ii) uma doença proliferativa que seja refractária ao tratamento com outros quimioterapêuticos; ou (iii) um tumor que seja refractário ao tratamento com outros quimioterapêuticos devido a apresentar resistência a múltiplos fármacos.

Num sentido mais largo da invenção, uma doença proliferativa pode também ser um estado hiperproliferativo tal como as leucemias, as hiperplasias, as fibroses (em particular pulmonar, mas também outros tipos de fibrose,

tais como a fibrose renal), angiogénese, psoríase, aterosclerose e proliferação de músculo liso nos vasos sanguíneos, tal como estenose ou restenose após a angioplastia.

Quando se menciona um tumor, uma doença tumoral, um carcinoma ou um cancro, também se incluem as metástases no órgão ou tecido de origem e/ou em qualquer outro local em alternativa ou adicionalmente, qualquer que seja a localização do tumor e/ou da metástase.

O composto inventivo é selectivamente tóxico ou mais tóxico para células em proliferação rápida do que para células normais, em especial para células de cancro humanas, por exemplo em tumores cancerosos o composto tem efeitos antiproliferativos significativos e promove a diferenciação, por exemplo através de paragem do ciclo celular e da apoptose.

Noutras concretizações ainda, os compostos da invenção são úteis no tratamento de doenças auto-imunes. Incluem-se nos exemplos de doenças auto-imunes a serem tratadas pelos compostos da invenção, sem que a estas elas se limitem, a anemia hemolítica auto-imune, a trombocitopenia neonatal auto-imune, a púrpura trombocitopénica idiopática, a autoimunocitopénia, a anemia hemolítica, a síndrome anti fosfolípidos, a dermatite, a encefalomielite alérgica, a miocardite, a policondrite com recaídas, a doença cardíaca reumática, a glomerulonefrite, a esclerose

múltipla, a neurite, a uveíte, a oftalmia, as poliendocrinopatias, a púrpura, a Doença de Reiter, a Síndrome de Stiff-Man, a inflamação pulmonar auto-imune, o autismo, a Síndrome de Guillain-Barre, a diabetes mellitus dependente da insulina, o olho inflamatório auto-imune, a tiroidite auto-imune, o hipotiroidismo, o lúpus eritematoso sistémico, a síndrome de Goodpasture, o Pênfigo, as auto-imunidades de receptores, a anemia hemolítica auto-imune, a púrpura trombocitopénica auto-imune, a artrite reumatóide, a doença mista do tecido conjuntivo, a polimiosite/dermatomiosite, a anemia perniciosa, a doença idiopática de Addison, a infertilidade, a glomerulonefrite, o penfigóide bolhoso, a síndrome de Sjogren, a diabetes mellitus, a resistência a fármacos nas supra-renais, a hepatite activa crónica, a cirrose biliar primária, o vitiligo, a vasculite, a pós-MI, a síndrome de cardiotomia, a urticária, a dermatite atópica, a asma, as miopatias inflamatórias, a hepatite activa crónica, a cirrose biliar crónica e as doenças de hipersensibilidade mediada por células T.

Também é contemplado que os compostos da invenção presente sejam úteis no tratamento de doenças oftálmicas incluindo a degenerescência macular relacionada com a idade.

O termo "utilização" inclui qualquer uma ou mais das seguintes concretizações da invenção, respectivamente: a utilização no tratamento de patologias associadas a proteína quinases; a utilização para o fabrico de compo-

sições farmacêuticas para utilização no tratamento destas doenças, por exemplo no fabrico de um medicamento; métodos de utilização dos compostos da invenção no tratamento destas doenças; preparações farmacêuticas contendo compostos da invenção para o tratamento destas doenças; e compostos da invenção para utilização no tratamento destas doenças; tal como seja apropriado e expediente, quando não se afirmar algo em contrário. Em especial, as doenças a ser tratadas e que são portanto preferida para utilização de um composto da invenção presente são seleccionadas de entre cancro, rejeições de transplantes, ou doenças auto-imunes, bem como aquelas doenças que dependam da actividade de proteína quinases. O termo "utilização" também inclui concretizações de composições neste documento, as quais se ligam a uma proteína quinase suficientemente de modo a servirem como marcadores ou rótulos, de modo que quando acopladas com uma entidade fluorescente ou de outra forma servindo de rótulo, ou tornadas radioactivas, elas possam ser utilizadas a título de reagentes de investigação ou para diagnóstico ou como agentes de criação de uma imagem.

Ensaios

A inibição da actividade de proteína quinase pelos compostos da invenção pode ser medida utilizando diversos ensaios disponíveis na técnica. São descritos exemplos destes ensaios na secção de Exemplificação adiante.

Composições Farmacêuticas

A expressão "quantidade eficaz" do composto é a quantidade necessária ou suficiente para tratar ou para evitar uma patologia associada a uma proteína quinase, por exemplo para evitar os diversos sintomas morfológicos e somáticos da patologia associada à proteína quinase, e/ou a uma doença ou a um estado descritos neste documento. Num exemplo, uma quantidade eficaz do composto da invenção é a quantidade suficiente para tratar uma patologia associada a uma proteína quinase num sujeito. A quantidade eficaz pode variar consoante factores tais como a dimensão e o peso do sujeito, o tipo de doença, ou o composto da invenção especificamente utilizado. Por exemplo, a selecção do composto da invenção pode afectar aquilo que constitui uma "quantidade eficaz". Um indivíduo com conhecimentos médios da técnica seria capaz de estudar os factores contidos neste documento e de fazer a determinação respeitante à quantidade eficaz dos compostos da invenção, sem ter que fazer experiências demais.

O regime de administração pode afectar aquilo que constitui uma quantidade eficaz. O composto da invenção pode ser administrado ao sujeito quer antes, quer depois do início da manifestação da patologia associada a proteína quinase. Além disto, podem administrar-se diariamente ou sequencialmente diversas doses divididas, bem como dosagens alternadas, ou pode infundir-se a dose em contínuo, ou pode administrar-se uma injecção de um *bolus*. Além disto, as

dosagens do(s) composto(s) da invenção pode(m) ser aumentada(s) ou diminuída(s) proporcionalmente, consoante a indicação das exigências da situação terapêutica ou profilática.

Podem utilizar-se os compostos da invenção no tratamento de estados, patologias ou doenças tal como se descrevem neste documento, ou para o fabrico de composições farmacêuticas para utilização no tratamento destas doenças. Os métodos de utilização dos compostos da invenção presente no tratamento destas doenças, ou de preparações farmacêuticas contendo compostos da invenção presente para o tratamento destas doenças.

A expressão "composição farmacêutica" inclui preparações adequadas para administração a mamíferos, por exemplo a seres humanos. Quando os compostos da invenção presente são administrados a mamíferos, por exemplo a seres humanos a título de produtos farmacêuticos, eles podem ser utilizados por si próprios ou sob a forma de uma composição farmacêutica contendo, por exemplo, 0,1 a 99,5 % (mais preferivelmente, 0,5 a 90 %) do ingrediente activo em combinação com um veículo aceitável do ponto de vista farmacêutico.

A frase "veículo aceitável do ponto de vista farmacêutico" é reconhecida na técnica e inclui um material, uma composição ou um veículo aceitável do ponto de vista farmacêutico, adequados para a administração de

compostos da invenção presente a mamíferos. Incluem-se nos materiais líquidos ou sólidos que sejam cargas, diluentes, excipientes, solventes ou encapsulantes, envolvidos na veiculação ou no transporte do agente em questão de um órgão, ou porção, do corpo, para outro órgão ou porção do corpo. Cada veículo tem que ser "aceitável" o que significa ser compatível com os restantes ingredientes da formulação e não provocar danos ao paciente. Alguns exemplos de materiais que podem server como veículo aceitável do ponto de vista farmacêutico incluem: açúcares, tais como lactose, glucose e sacarose; amidos, tais como amido de milho e amido de batata; celulose, e os seus derivados, tais como carboximetilcelulose sódica, etilcelulose e acetato de celulose; goma de tragacanto em pó; malte; gelatina; talco; excipientes, tais como manteiga de cacau e ceras para supositórios; óleos, tais como óleo de amendoim, óleo de semente de algodão, óleo de cártamo, óleo de gergelim, azeite, óleo de milho e óleo de soja; glicóis, tais como propilenoglicol; polióis, tais como glicerina, sorbitol, manitol e polietilenoglicol; ésteres, tais como oleato de etilo e laurato de etilo; agar; agentes tamponizantes, tais como hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio; ácido algínico; água isenta de pirogénios; soro salino isotónico; solução de Ringer; álcool etílico; soluções de tampão fosfato; e outras substâncias não tóxicas compatíveis empregues nas formulações farmacêuticas.

Também podem estar presentes nas composições agentes molhantes, emulsionantes e lubrificantes, tais como

laurilsulfato de sódio e estearato de magnésio, bem como agentes corantes, agentes de libertação, agentes de revestimento, edulcorantes, agentes de sabor e agentes perfumantes, conservantes e antioxidantes.

Incluem-se nos exemplos de antioxidantes aceitáveis do ponto de vista farmacêutico: antioxidantes solúveis em água, tais como o ácido ascórbico, o cloridrato de cisteína, o bissulfato de sódio, o metabissulfito de sódio, o sulfito de sódio e outros semelhantes; antioxidantes solúveis em óleo, tais como o palmitato de ascorbilo, o hidroxianisole butilado (BHA), o hidroxitolueno butilado (BHT), a lecitina, o galato de propilo, o α-tocoferol, e outros semelhantes; e agentes quelantes de metais, tais como o ácido cítrico, o ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA), o sorbitol, o ácido tartárico, o ácido fosfórico, e outros semelhantes.

Incluem-se nas formulações da invenção presente as que são adequadas para administração pelas vias oral, nasal, tópica, bucal, sublingual, rectal, vaginal e/ou parenteral. As formulações podem convenientemente ser apresentadas sob uma forma de unidades de dosagem, e podem ser preparadas por quaisquer métodos bem conhecidos na técnica de farmácia. A quantidade do ingrediente activo que se pode combinar com um material de transporte para se produzir uma determinada forma de dosagem será em geral aquela quantidade de composto que produz um efeito terapêutico. Em geral, na base de cem por cento, esta

quantidade poderá variar entre cerca de 1 por cento e cerca de noventa e nove por cento do ingrediente activo, preferivelmente entre cerca de 5 por cento e cerca de 70 por cento, de preferência entre cerca de 10 por cento e cerca de 30 por cento.

Inclui-se nos métodos de preparar estas formulações ou composições o passo de se proporcionar a associação entre um composto da invenção presente e o veículo e, opcionalmente, com um ou mais ingredientes acessórios. Em geral, preparam-se as formulações associando de modo uniforme e íntimo um composto da invenção presente com veículos líquidos ou com veículos sólidos em partículas muito pequenas, ou ambos, e em seguida, caso tal seja necessário, proporcionando uma forma ao produto.

As formulações da invenção adequadas para administração oral podem assumir a forma de cápsulas, hóstias, pílulas, comprimidos, pastilhas (utilizando uma base com sabor, habitualmente sacarose e goma-arábica ou de tragacanto), pós, grânulos, ou a de uma solução ou de uma suspensão num líquido aquoso ou não aquoso, ou sob a forma de uma emulsão líquida de água em óleo ou de óleo em água, ou como um elixir ou xarope, ou como pastilhas (recorrendo a uma base inerte, tal como gelatina e glicerina, ou sacarose e goma-arábica) e/ou como lavagens bucais e outras formas semelhantes, contendo qualquer uma destas uma quantidade previamente determinada de um composto da invenção presente a título de ingrediente activo. Também se pode

administrar um composto da invenção presente sob a forma de um *bolus*, electuário ou pasta.

Nas formas de dosagem sólidas da invenção para administração oral (cápsulas, comprimidos, pílulas, drageias, pós, grânulos e outras semelhantes), o ingrediente activo está misturado com um ou mais veículos aceitáveis do ponto de vista farmacêutico, tais como citrato de sódio ou fosfato dicálcico, e/ou com quaisquer dos que se seguem: cargas ou inertes, tais como amidos, lactose, sacarose, glucose, manitol, e/ou ácido silícico; aglomerantes, tais como, por exemplo, carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarose e/ou goma-arábica; humectantes, tais como glicerol; agentes desintegrantes tais como agar-agar, carbonato de cálcio, amido de batata ou de mandioca, ácido algínico, determinados silicatos, e carbonato de sódio; agentes que atrasem a dissolução, tais como parafina; aceleradores da absorção, tais como compostos quaternários de amónio; agentes molhantes, tais como, por exemplo, álcool cetílico e monoestearato de glicerol; absorventes, tais como caulino e argila tipo bentonite; lubrificantes, tais como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietilenoglicóis sólidos, laurilsulfato de sódio, e misturas destes; e agentes corantes. No caso das cápsulas, dos comprimidos e das pílulas, as composições farmacêuticas também podem incluir agentes tamponizantes. Podem empregar-se composições sólidas de um tipo semelhante como cargas em cápsulas de gelatina duras ou moles com enchimentos, utilizando excipientes

tais como a lactose ou açúcares de leite, bem como polietilenoglicóis de elevada massa molecular e outros semelhantes.

Pode fabricar-se um comprimido por compressão ou por moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Podem preparar-se comprimidos por compressão utilizando um aglomerante (por exemplo, gelatina ou hidroxipropilmetilcelulose), lubrificante, diluente inerte, conservante, desintegrante (por exemplo, amidoglicolato de sódio ou carboximetilcelulose com ligações cruzadas), agente tensioactivo ou de dispersão. Podem fabricar-se comprimidos moldados moldando numa máquina apropriada uma mistura do composto em pó humedecido com um diluente inerte líquido.

Os comprimidos, e outras formas de dosagem sólidas das composições farmacêuticas da invenção presente, tais como drageias, cápsulas, pílulas e grânulos, podem opcionalmente conter ranhuras ou ser preparados com revestimentos e cascas, tais como revestimentos entéricos e outros revestimentos bem conhecidos na técnica da formulação farmacêutica. Também podem ser formulados de modo a proporcionarem uma libertação lenta ou controlada do ingrediente activo contido utilizando, por exemplo, hidroxipropilmetilcelulose em proporções diversas para proporcionar o perfil de libertação pretendido, outras matrizes poliméricas, lipossomas e/ou microesferas. Elas podem ser esterilizadas por, por exemplo, filtração através de um

filtro que retenha bactérias, ou por incorporação de agentes esterilizantes sob a forma de composições sólidas estéreis que se podem dissolver em água estéril, ou em algum outro meio estéril injectável, logo antes de serem utilizadas. Estas composições também podem opcionalmente conter agentes opacificantes e podem ser de uma composição que liberte o(s) ingrediente(s) activo(s) apenas, ou preferencialmente, numa parte seleccionada do tracto gastrointestinal, opcionalmente, de uma forma a prazo. Incluem-se como exemplos de composições embebentes que se podem utilizar substâncias poliméricas e ceras. O ingrediente activo também pode estar sob uma forma microencapsulada, caso seja apropriado, com um ou mais dos excipientes referidos acima.

Incluem-se nas formas de dosagem líquidas para administração oral dos compostos da invenção emulsões, soluções, suspensões, microemulsões xaropes e elixires aceitáveis do ponto de vista farmacêutico. Além do ingrediente activo, as formas de dosagem líquidas podem conter diluente inerte dos habitualmente utilizados na técnica, tais como, por exemplo, água ou outros solventes, agentes solubilizantes e emulsionantes, tais como álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, álcool benzílico, benzoato de benzilo, propilenoglicol, 1,3-butilenoglicol, óleos (em especial, de sementes de algodão, de amendoim, de milho, de gérmen, azeite, de rícinos e de gergelim), glicerol, álcool tetra-hidrofurílico, polietilenoglicóis e ésteres de ácidos gordos de sorbitano, bem como misturas de todos estes.

Para além de diluentes inertes, as composições orais também podem incluir adjuvantes tais como agentes molhantes, emulsionantes, de suspensão, agentes edulcorantes, sabores, corantes, perfumes e agentes conservantes.

As suspensões, para além dos compostos activos, podem conter agentes de suspensão, por exemplo, álcoois isoestearílicos etoxilados, polioxietileno-sorbitol e ésteres de sorbitano, celulose microcristalina, meta-hidróxido de alumínio, bentonite, agar-agar e goma de tragacanto, bem como misturas de todos estes.

As formulações das composições farmacêuticas da invenção para administração rectal ou vaginal podem ser apresentadas como um supositório, que pode ser preparado misturando um ou mais compostos da invenção com um ou mais excipientes ou veículos mais adequados não irritantes incluindo, por exemplo, manteiga de cacau, polietilenoglicol, uma cera para supositórios ou um salicilato, e que seja sólida à temperatura ambiente, mas líquida à temperatura do corpo e, portanto, que funda no recto ou na cavidade vaginal libertando o composto activo.

As formulações da invenção presente que são adequadas para administração vaginal também incluem pessários, tampões, cremes, geles, pastas, espumas ou formulações em aerossol, contendo veículos tais como aqueles que são conhecidos na técnica como sendo apropriados.

Incluem-se nas formas de dosagem para a administração tópica ou transdérmica de um composto desta invenção, pós, aspersões, unguentos, pastas, cremes, loções, geles, soluções, pachos e inalantes. O composto activo pode ser misturado em condições estéreis com um veículo farmacêutico aceitável do ponto de vista, e com quaisquer conservantes, tampões, ou fluidos de arrastamento que possam ser necessários.

Os unguentos, pastas, cremes e geles podem conter, para além de um composto active desta invenção, excipientes, tais como gorduras animais e vegetais, óleos, ceras, parafinas, amido, tragacanto, derivados de celulose, polietilenoglicóis, silicones, bentonites, ácido silícico, talco e óxido de zinco, ou misturas de todos estes.

Os pós e as aspersões podem conter, para além de um composto desta invenção, excipientes tais como lactose, talco, ácido silícico, hidróxido de alumínio, silicatos de cálcio e pós de poliamida, ou misturas destas substâncias. As asperses podem conter adicionalmente os fluidos de arrastamento adicionais, tais como clorofluoro-hidrocarbonetos e hidrocarbonetos não substituídos voláteis, tais como butano e propano.

Os pachos transdérmicos têm a vantagem adicional de proporcionar uma libertação controlada de um composto da invenção presente no corpo. Estas formas de dosagem podem

ser feitas dissolvendo ou dispersando o composto no meio adequado. Também se podem utilizar incrementadores de absorção para aumentar o caudal do composto através da pele. A taxa do caudal referido pode ser controlada quer proporcionando uma membrana de controlo da taxa, quer dispersando o composto activo numa matriz polimérica ou num gel.

As formulações oftálmicas, os unguentos para olhos, os pós, soluções e outros semelhantes, são também contemplados como estando adentro do âmbito desta invenção.

As composições farmacêuticas desta invenção adequadas para administração parenteral incluem um ou mais compostos da invenção em combinação com uma ou mais de entre soluções aquosas isotónicas estéreis ou não aquosas, dispersões, suspensões, emulsões, ou pós estéreis que se podem reconstituir a soluções ou suspensões estéreis para injecções logo antes da utilização, aceitáveis do ponto de vista farmacêutico, que podem conter antioxidantes, tampões, bacteriostáticos, solutos que tornem a solução isotónica com o sangue do indivíduo a que se destinam ou agentes de suspensão ou espessantes.

Incluem-se nos exemplos de veículos aquosos e não aquosos que se podem empregar nas composições farmacêuticas da invenção, água, etanol, polióis (tais como glicerol, propilenoglicol, polietilenoglicol, e outros semelhantes), e misturas adequadas destes, óleos vegetais, tais como

azeite, e ésteres orgânicos injectáveis, tais como oleato de etilo. Consegue manter-se uma fluidez apropriada, por exemplo, através da utilização de materiais de revestimento, tais como lecitina, da manutenção das dimensões de partícula que são apropriadas no caso das dispersões, e pela utilização de tensioactivos.

Estas composições também podem conter adjuvantes tais como conservantes, agentes molhantes, agentes emulsionantes e agentes dispersantes. Pode assegurar-se a prevenção da actuação de micro-organismos através da inclusão de vários agentes antibacterianos e antifúngicos, por exemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenolsórbico, e outros semelhantes. Também pode ser desejável incluir agente isotonificantes nas soluções, tais como açúcares, cloreto de sódio, e outros semelhantes. Além disto, a absorção prolongada da forma farmacêutica injectável pode ser conseguida através da inclusão de agentes que atrasam a absorção, tais como monoestearato de alumínio e gelatina.

Em alguns casos, para se prolongar o efeito de um fármaco, é desejável tornar mais lenta a absorção do fármaco a partir da injecção subcutânea ou intramuscular. Isto pode ser conseguido através da utilização de uma suspensão líquida de material cristalino ou amorfo que tenha uma pequena solubilidade em água. A velocidade de absorção do fármaco depende neste caso da sua velocidade de dissolução que, por sua vez, pode depender da dimensão dos cristais e da forma cristalina utilizada. Em alternativa,

consegue-se uma absorção a prazo da forma de droga administrada por via parenteral, dissolvendo ou suspendendo o fármaco num veículo oleoso.

Fabricam-se formas injectáveis de longa duração formando matrizes microencapsulantes dos compostos de interesse em polímeros biodegradáveis tais como poli-lactido-poliglicolido. Dependendo da razão entre fármaco e polímero, e da natureza do polímero especificamente empregue, a velocidade da libertação do fármaco pode ser controlada. Incluem-se nos exemplos de outros polímeros biodegradáveis os poli(ortoésteres) e os poli(anidridos). Também se preparam formulações injectáveis de longa duração de absorção armadilhando o fármaco em lipossomas ou em microemulsões que sejam compatíveis com o tecido do corpo.

As preparações da invenção presente podem ser administradas pela via oral, parenteral, tópica, ou rectal. Elas são claramente administradas em formas adequadas às vias de administração seleccionadas. Por exemplo, elas são administradas sob forma de comprimidos ou de cápsula, por injecção, por inalação, em loções para olhos, unguentos, supositórios, etc., administração por injecção, infusão ou inalação; tópicas com loções ou unguento; e rectal por supositórios. Prefere-se a administração oral e/ou endo-venosa.

As frases "administração parenteral" e "adminis-trado por via parenteral", tal como se utilizam neste

documento, significam modos de administração diferentes dos de administração entérica e tópica, em geral por injecção, e incluem, sem limitação, a injecção e a infusão endovenosa, intramuscular, intra-arterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutânea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnóide, intraespinal e intraesternal.

As frases "administração sistémica", "administrado sistemicamente", "administração periférica" e "administrado perifericamente", tal como se utilizam neste documento, significam a administração de um composto, fármaco ou outro material, em locais que não sejam directamente o sistema nervoso central, de tal forma que entre no sistema do paciente e, deste modo, seja sujeito ao metabolismo e a outros processos semelhantes, por exemplo a administração subcutânea.

Estes compostos podem ser administrados a seres humanos e a outros animais para terapia, por qualquer via de administração adequada, incluindo a via oral, nasal, tal como, por exemplo, uma aspersão, rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal e tópica, tal como com pós, unguentos ou gotas, incluindo por via bucal e sublingual.

Independentemente da via de administração seleccionada, os compostos da invenção presente, que se podem utilizar sob formas hidratadas adequadas, e/ou as compo-

sições farmacêuticas da invenção presente, são formuladas em formas de dosagem aceitáveis do ponto de vista farmacêutico por métodos convencionais conhecidos dos especialistas da técnica.

Os níveis de dosagem reais dos ingredientes activos nas composições farmacêuticas desta invenção podem ser variados de modo a obter-se uma quantidade do ingrediente activo que seja eficaz para se conseguir a resposta terapêutica pretendida, a composição, e o modo de administração para um paciente específico, sem que se exista toxicidade para o paciente.

O nível de dosagem seleccionado dependerá de uma variedade de factores, incluindo a actividade do composto específico da invenção presente que se empregar, ou o seu éster, sal ou amida, a via de administração, a altura da administração, a velocidade de excreção do composto específico que se esteja a empregar, a duração do tratamento, outros fármacos, compostos e/ou materiais que se utilizem em combinação com o composto específico que se empregar, a idade, o sexo, o peso, o estado, a situação geral de saúde e o historial médico anterior do paciente que se estiver a tratar, e de factores semelhantes bem conhecidos dos especialistas em técnicas medicinais.

Um médico ou um médico veterinário com conhecimentos médios da técnica conseguirá facilmente determinar e prescrever a quantidade eficaz da composição farmacêutica

que é necessária. Por exemplo, o médico ou médico veterinário poderá começar por doses dos compostos da invenção empregues na composição farmacêutica a níveis inferiores aos necessários para conseguir o efeito terapêutico pretendido, e aumentar gradualmente a dosagem até que se consiga efeito pretendido.

Em geral, uma dose diária adequada de um composto da invenção será a quantidade do composto que seja a dose mais pequena eficaz para produzir um efeito terapêutico. Uma tal dose eficaz dependerá em geral dos factores descritos acima. Em geral, as doses endovenosas e subcutâneas dos compostos desta invenção para um paciente, quando são utilizados para os efeitos analgésicos indicados, serão de entre cerca de 0,0001 e cerca de 100 mg por quilograma d emassa corporal ao dia, mais preferivelmente de entre cerca de 0,01 e cerca de 50 mg por kg ao dia, e ainda mais preferivelmente de entre cerca de 1,0 e cerca de 100 mg por kg ao dia. Uma quantidade eficaz é aquela quantidade que trata uma patologia associada a proteína quinase.

Caso tal se pretenda, a dose diária eficaz do composto activo pode ser administrada em duas, três, quatro, cinco, seis ou mais sub-doses administradas em separado a intervalos adequados ao longo do dia, opcionalmente sob formas de unidade de dosagem.

Embora seja possível administrar um composto da

invenção presente por si só, é preferível administrar esse composto sob a forma de uma composição farmacêutica.

Processo Sintético

Preparam-se os compostos da invenção presente a partir de compostos em geral disponíveis utilizando processos conhecidos dos especialistas da técnica, incluindo qualquer uma ou mais das seguintes condições, sem limitação: Adentro do âmbito deste texto, só um grupo facilmente removível que não seja constituinte do produto final específico pretendido de entre os compostos da invenção presente é designado como um "grupo protector", a não ser que o contexto indique algo em contrário. A protecção de grupos funcionais por esses grupos protectores, os grupos protectores eles próprios, e as reacções para a sua clivagem, estão descritos por exemplo em trabalhos padrão de referência, tais como por exemplo, Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformation. Georg Thieme Verlag, Estugarda, Alemanha, 2005. pág. 41627 (URL: http://www.science-of-synthesis.com (Versão electrónica, 48 Volumes)); em J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Londres e Nova Iorque 1973, em T. W. Greene e P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Terceira Edição, Wiley, Nova Iorque 1999, em "The Peptides"; Volume 3 (editores: E. Gross e J. Meienhofer), Academic Press, Londres e Nova Iorque 1981, em "Methoden der organischen Chemie" (Métodos da Química Orgânica), Houben Weyl, 4ª

edição, Volume **15**/1, Georg Thieme Verlag, Estugarda 1974, em H.-D. Jakubke e H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Aminoácidos, Péptidos, Proteínas), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, e Basileia 1982, e em Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Química dos hidratos de Carbono: Monosacáridose Derivados), Georg Thieme Verlag, Estugarda 1974. Uma característica dos grupos protectores é que eles podem ser facilmente removidos (isto é, sem que ocorram reacções secundárias indesejáveis) por exemplo por solvólise, redução, fotólise ou alternativamente em condições fisiológicas(por exemplo por clivagem enzimática).

Podem preparar-se de uma maneira conhecida por si própria os sais dos compostos da invenção presente que possuam pelo menos um grupo formador de sal. Por exemplo, podem formar-se sais dos compostos da invenção presente que possuam grupos ácido, por exemplo, tratando os compostos com compostos metálicos, tais como sais de ácidos carboxílicos orgânicos adequados com metais alcalinos, por exemplo o sal sódico de ácido 2-etil-hexanóico, com compostos orgânicos de metais alcalinos ou alcalino-terrosos, tais como os correspondentes hidróxidos, carbonatos ou hidrogenocarbonatos, tais como hidróxido ou carbonato ou hidrogenocarbonato de sódio ou de potássio, com os correspondentes compostos de cálcio ou com amoníaco ou uma amina orgânica adequada, sendo preferivelmente utilizadas quantidades estequiométricas ou apenas um pequeno excesso do agente formador do sal. Os sais de

adição a ácido dos compostos da invenção presente são obtidos de uma maneira habitual, por exemplo tratando os compostos com um ácido ou com um reagente de permuta aniónica. Os sais internos dos compostos da invenção presente contendo grupos ácidos e grupos básicos formadores de sal, por exemplo um grupo carboxilo livre e um grupo amino, podem ser formados por exemplo por neutralização dos sais, tais como sais de adição a ácidos, até ao seu ponto isoeléctrico, por exemplo com bases fracas, ou por tratamento com agentes de permuta iónica.

Podem converter-se os sais nos compostos livres da maneira habitual; os sais metálicos e de amónio podem ser transformados, por exemplo, por tratamento com ácidos adequados, e em os sais de adição a ácidos, por exemplo, por tratamento com um agente básico adequado.

Podem separar-se as misturas de isómeros que se podem obter de acordo com a invenção de uma maneira conhecida por si própria, nos isómeros individuais; podem separar-se os diastereómeros, por exemplo, por partição entre misturas de solventes polifásicas, por recristalização e/ou por separação cromatográfica, por exemplo sobre silicagel ou por, por exemplo, cromatografia líquida a uma pressão média *e sobre uma coluna de fase reversa*, e podem separar-se os racematos, por exemplo, através da formação de sais com reagentes formadores de sais que sejam opticamente puros, seguindo-se uma separação da mistura dos diastereómeros que dessa forma se podem obter, por exemplo

por intermédio de uma cristalização fraccionada, ou por cromatografia sobre materiais opticamente activos na coluna. Pode isolar-se e/ou purificar-se os intermediários e os produtos finais recorrendo métodos padrão, por exemplo utilizando métodos cromatográficos, métodos de distribuição, (re-)cristalização, e outros semelhantes.

Condições gerais de processo

Quanto se segue aplica-se em geral a todos os processos mencionados ao longo de toda esta descrição.

Os passos do processo de síntese dos compostos da invenção podem ser levados a cabo em condições reaccionais que são conhecidas por si próprias, incluindo aquelas que se mencionam especificamente, na ausência ou, habitualmente, na presença de solventes ou de diluentes, incluindo, por exemplo, solventes ou diluentes que sejam inertes em relação aos reagentes utilizados e os dissolvam, na ausência ou na presença de catalisadores, de agentes de condensação ou de neutralização, por exemplo agentes de permuta iónica, tais como de permuta catónica, por exemplo sob a sua forma H^+, dependendo da natureza da reacção e/ou dos reagentes, com quantidades diminuídas de reagentes, a uma temperatura menor, normal ou mais elevada, por exemplo numa gama de temperaturas de entre cerca de -100°C e cerca de 190°C, incluindo, por exemplo, entre cerca de -80°C e cerca de 150°C, por exemplo a entre -80 e -60°C, à temperatura ambiente, a entre -20 e 40°C ou à temperatura

de refluxo, à pressão atmosférica ou num reactor selado, quando apropriado sob pressão, e/ou sob uma atmosfera inerte, por exemplo sob uma atmosfera de árgon ou de azoto.

Em todos os passos das reacções, são formadas misturas de isómeros que se podem separar nos isómeros individuais, por exemplo diastereómeros ou enantiómeros, ou nas misturas de isómeros que se pretendam, por exemplo racematos ou misturas de diastereómeros, por exemplo de forma análoga aos métodos descritos em Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformation. Georg Thieme Verlag, Estugarda, Alemanha, 2005.

Os solventes de entre os quais se podem seleccionar os solventes que sejam adequados para qualquer reacção específica incluem os especificamente mencionados ou, por exemplo, água, ésteres, tais como alcanoatos inferiores de alquilos inferiores, por exemplo acetato de etilo, éteres, tais como éteres alifáticos, por exemplo éter dietílico, ou éteres cíclicos, por exemplo tetrahidrofurano ou dioxano, hidrocarbonetos aromáticos líquidos, tais como benzeno ou tolueno, álcoois, tais como metanol, etanol ou 1-propoanol ou 2-propanol, nitrilos, tais como acetonitrilo, hidrocarbonetos halogenados, tais como cloreto de metileno ou clorofórmio, amidas de ácidos, tais como dimetilformamida ou dimetilacetamida, bases, tais como bases heterocíclicas azotadas, por exemplo piridina ou N-metilpirrolidin-2-ona, anidridos de ácidos carboxílicos, tais como anidridos de ácidos alcanóicos inferiores, por exemplo anidrido acético, hidrocarbonetos cíclicos,

lineares ou ramificados, tais como ciclo-hexano, hexano ou isopentano, ou misturas daqueles solventes, por exemplo soluções aquosas, a não ser quando se indicar algo em contrário na descrição dos processos. Estas misturas de solventes também podem ser utilizadas no isolamento dos produtos, por exemplo por cromatografia ou em partição.

Os compostos, incluindo os seus sais, também podem ser obtidos sob a forma de hidratos, ou os seus cristais podem, por exemplo, incluir o solvente utilizado para a cristalização. Podem estar presentes diversas formas cristalinas.

A invenção também diz respeito àquelas formas de processo nas quais se utiliza a título de matéria-prima nos restantes passos do processo um composto que se pode obter a título de intermediário num qualquer passo do processo, ou nos quais se forma nas condições reaccionais uma matéria-prima, ou se utiliza sob uma forma de um seu derivado, por exemplo sob uma forma protegida ou sob a forma de um sal, ou em que se produz um composto que se pode obter pelo processo de acordo com a invenção nas condições de processo, e se submete a um processo subsequente *in situ*.

Combinações

Um composto da invenção presente também pode ser utilizado em combinação com outros agentes, por exemplo com um inibidor adicional de proteína quinase que seja ou que

não seja um composto da invenção, para o tratamento de uma patologia associada a uma proteína quinase, num sujeito.

Com o termo "combinação" pretende significar-se quer uma combinação fixa numa forma de unidade de dosagem, quer um estojo com as partes destinadas a uma administração combinada em que um composto da invenção presente e um parceiro de combinação possam ser administrados independentemente na mesma altura ou em separado adentro de intervalos de tempo que permitam em particular que os parceiros de combinação demonstrem um efeito cooperativo, por exemplo sinergístico, ou qualquer combinação destas.

Podem administrar-se os compostos da invenção, em simultâneo ou sequencialmente, com um agente anti-inflamatório, antiproliferativo, quimioterapêutico, com um agente imunossupressor, anti cancro, citotóxico ou com um inibidor de quinase que não seja um composto com a Fórmula I nem um seu sal. Incluem-se nos exemplos adicionais de agentes que se podem administrar em combinação com os compostos da invenção, sem que eles se limitem a estes, um inibidor de PTK, ciclosporina A, CTLA4-Ig, anticorpos seleccionados de entre anti-ICAM-3, anti receptor IL-2, anti-CD45RB, anti-CD2, anti-CD3, anti-CD4, anti-CD80, anti-CD86, e anticorpo monoclonal OKT3, agentes que bloqueiem a interacção entre CD40 e gp39, proteínas de fusão construídas a partir de CD40 e gp39, inibidores da função de NF-κ B, fármacos anti-inflamatórios não esteróides,

esteróides, compostos de ouro, agentes antiproliferativos, FK506, micofenolato mofetil, fármacos citotóxicos, inibidores de TNF-α, anticorpos anti-TNF ou receptor de TNF solúvel, rapamicina, leflunimida, inibidores de ciclo-oxigenase-2, paclitaxel, cis-platina, carboplatina, doxorrubicina, carminomicina, daunorrubicina, aminopterina, metotrexato, metopterina, mitomicina C, ecteinascidina 743, porfiromicina, 5-fluorouracilo, 6-mercaptopurina, gemcitabina, arabinósido da citosina, podofilotoxina, etoposido, fosfato de etoposido, teniposido, melfalan, vinblastina, vincristina, leurosidina, epotilona, vindesina, leurosina, ou seus derivados.

O composto da invenção e qualquer agente adicional podem ser formulados em formas de dosagem em separado. Em alternativa, para diminuir o número de formas de dosagem administradas a um paciente, podem formular-se o composto da invenção e qualquer agente adicional em conjunto em qualquer combinação. Por exemplo, pode formular-se o composto da invenção, inibidor, numa forma de dosagem, e formular-se qualquer agente adicional em conjunto noutra forma de dosagem. Podem administrar-se quaisquer formas de dosagem em separado na mesma altura ou em alturas diferentes.

Em alternativa, uma composição desta invenção inclui um agente adicional tal como se descreve neste documento. Cada componente pode estar presente numa

composição individual, podem estar presentes em composições de combinação, ou numa única composição.

Exemplificação da invenção

A invenção é também mais ilustrada pelos exemplos que se seguem, e que não devem ser considerados como constituindo qualquer sua limitação. A prática da invenção presente empregará, a não ser quando se indique algo em contrário, técnicas convencionais de biologia celular, de cultura de células, de biologia molecular, de biologia transgénica, de microbiologia e de imunologia, que se encontram incluídas no estado da técnica.

MÉTODOS GERAIS DE SÍNTESE

Todas as matérias-primas, blocos de construção, reagentes, ácidos, bases, agentes desidratantes, solventes, e catalisadores utilizados na síntese dos compostos da invenção presente estão comercialmente disponíveis, ou então podem ser produzidos facilmente por métodos de síntese orgânica conhecidos de quem tenha conhecimentos médios da técnica (Houben-Weyl 4ª Ed. 1952, Methods of Organic Synthesis, Thieme, Volume **21**). Além disto, podem produzir-se os compostos da invenção presente por métodos de síntese orgânica conhecidos por indivíduos com conhecimentos médios da técnica, tal como se ilustra nos exemplos que se seguem.

LISTA DE ABREVIATURAS

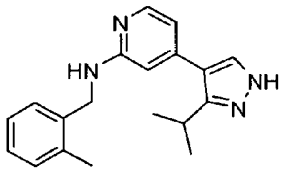
BINAP	(±)-(1,1'-binaftaleno-2-2'-di-ilo)bis(difenilfosfina)
DIEA	Dietilamina
DIPEA	Di-isoproiletilamina
DMF	Dimetilformamida
HPLC	Cromatografia líquida sob alta pressão
HRMS	Espectrometria de massa de alta resolução
HBTU	Hexafluorofosfato de *O*-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetramethilurónio
HOBt	1-Hidroxi-1H-benzotriazol
LC/MS	Cromatografia líquida/espectroscopia de massa
NMM	N-metilmorfolina
NMP	N-metilpirrolidina
TA	Temperatura ambiente
THF	Tetra-hidrofurano
Et	Etilo
NBS	N-Bromossuccinimida
DIAD	Azodicarboxilato de di-iso-propilo
Ts	Tosilo
TBAF	Fluoreto de tetra-n-butilamónio

Exemplos

Podem preparar-se os compostos da invenção presente de acordo com os seguintes métodos.

Exemplos 1 e 14

[4-(5-Isopropil-1H-pirazol-4-il)-piridin-2-il]-(2-metil-benzil)-amina



Adiciona-se gota a gota a uma solução de di-isopropilamina (12,6 mL, 89,9 mmol) em THF anidro (50 mL), n-butil-lítio (42,2 mL de uma solução 1,6 M em hexano), a 0°C. Passados 30 minutos a 0°C, adiciona-se-lhe 2-fluoro-4-metilpiridina (5 g, 45 mmol). Agita-se a mistura resultante a 0°C durante 30 minutos. Depois da adição de isobutirato de metilo (5,4 mL, 47,3 mmol) a 0°C, agita-se a mistura reaccional de um dia para o outro. Termina-se a reacção adicionando à mistura reaccional, a 0°C, ácido acético, dilui-se com água, e extrai-se com éter dietílico. Seca-se a fase orgânica sobre sulfato de sódio e concentra-se em vazio. Purifica-se o resíduo por cromatografia rápida (SiO_2, EtOAc/heptano de 7:93 a 60:40), para se obterem 4,8 g de 1-(2-fluoro-piridin-4-il)-3-metil-butan-2-ona sob a forma de um sólido amarelado claro.

LCMS: 182 $(M+H)^+$

Adiciona-se a uma solução de 1-(2-fluoro-piridin-

4-il)-3-metil-butan-2-ona (4,8 g, 26,5 mmol) em tolueno anidro (20 mL), dimetilacetal da N,N-dimetilformamida (16,0 mL, 120,6 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 90°C durante 4 h. Concentra-se a mistura em vazio para se obter o produto em bruto, 1-dimetilamino-2-(2-fluoro-piridin-4-il)-4-metil-pent-1-en-3-ona. Utiliza-se o produto em bruto tal como se obteve.

LCMS: 237 $(M+H)^+$

Adiciona-se a uma solução de 1-dimetilamino-2-(2-fluoro-piridin-4-il)-4-metil-pent-1-en-3-ona (em bruto, 26,5 mmol) em metanol (50 mL), hidrazina (0,84 mL, 26,5 mmol), a 0°C. Agita-se a mistura reaccional durante 4 h, dilui-se com EtOAc, e lava-se com água. Lava-se a fase orgânica com salmoura, seca-se sobre sulfato de sódio, e concentra.se em vazio. Uma purificação por cromatografia rápida (SiO_2, EtOAc/heptano a 5:1) proporcionou 3,8 g de 2-fluoro-4-(5-isopropil-1H-pirazol-4-il)-piridina sob a forma de um sólido branco.

LCMS: 206 $(M+H)^+$

RMN de ^1H: (CDCl3, 400 MHz) δ 8,18 (d, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,18 (m, 1H), 3,29 (m, 1H), 1,33 (d, 6H).

Adiciona-se a uma solução de 2-fluoro-4-(5-isopropil-1H-pirazol-4-il)-piridina (30 mg, 0,15 mmol) em DMSO anidro (0,25 mL), 2-metil-benzilamina (37 μL, 0,3

mmol). Agita-se a mistura reaccional a 150°C de um dia para o outro, dilui-se com EtOAc, e lava-se com água e com salmoura. Seca-se a fase orgânica sobre sulfato de sódio e concentra-se em vazio. Purifica-se o produto em bruto por HPLC preparativa para se obterem 18,8 mg de [4-(5-isopropil-1H-pirazol-4-il)-piridin-2-il]-(2-metil-benzil)-amina. (Exemplo 1)

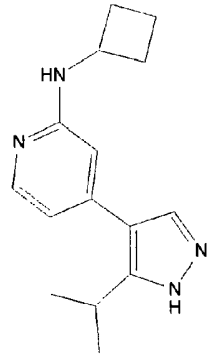
LCMS: 307 $(M+H)^+$

Exemplos 2-82

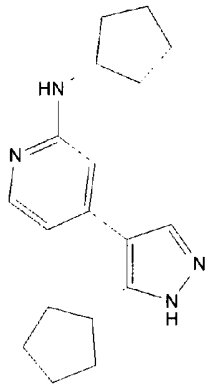
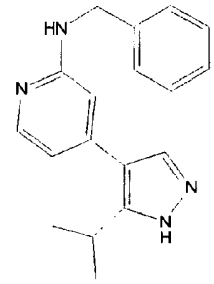
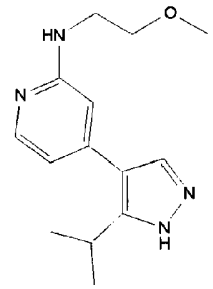
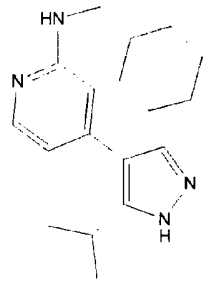
Repetindo os processos descritos no exemplo 1, partindo de matérias-primas adequadas, obtêm-se os seguintes compostos.

Compostos

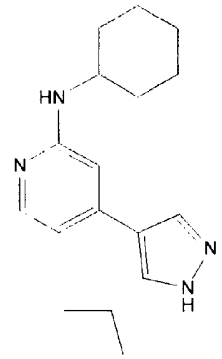
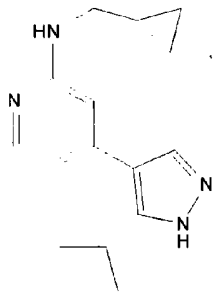
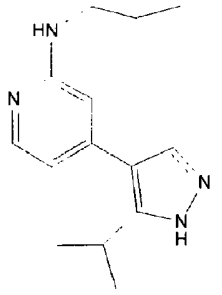
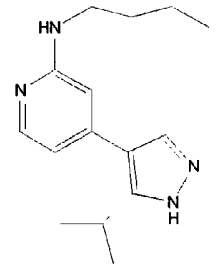
TABELA 1

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	2	<0,5	<0,5	<0,5	<1

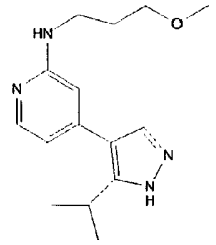
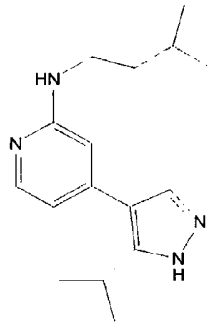
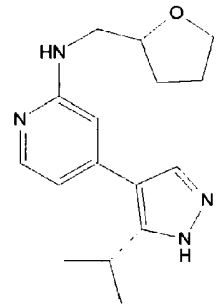
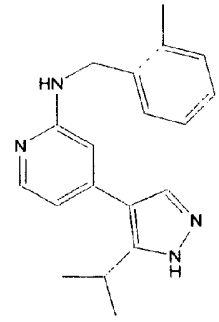
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	3	<0,5	<0,5	<1	
	4	<1	<5	<5	
	5	<5	<10	<10	
	6	<5	<5	<5	

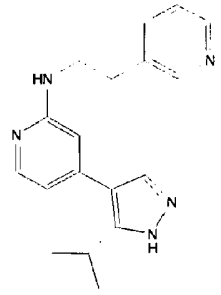
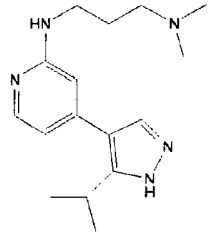
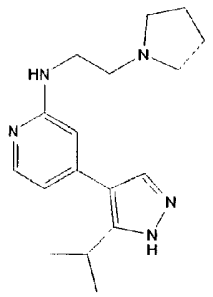
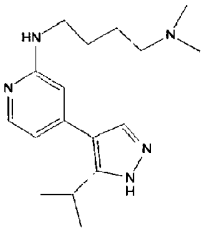
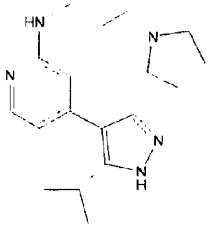
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	7	<0,5	<0,5	<1	
	8	<0,5	<5	<5	
	9	<0,5	<0,5	<0,5	
	10	<0,5	<5	<5	

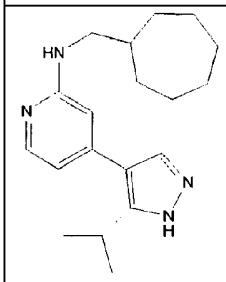
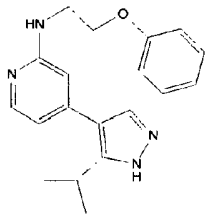
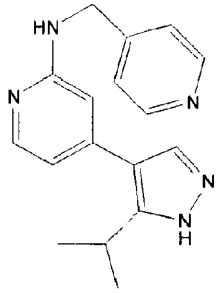
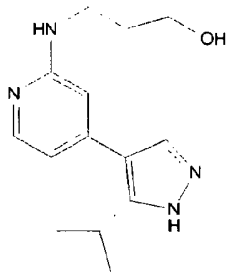
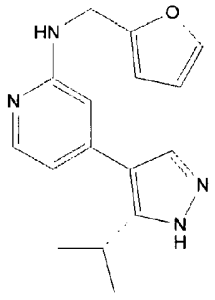
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	11	<1	<5	<5	
	12	<1	<5	<5	
	13	<5	<10	<5	
	14	<0,1	<5	<5	

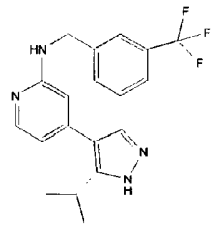
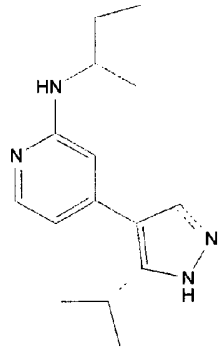
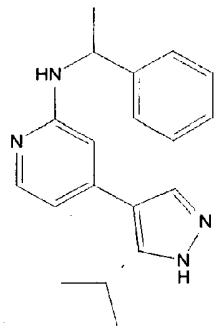
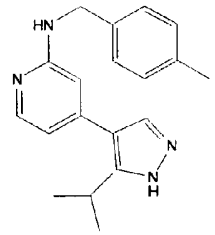
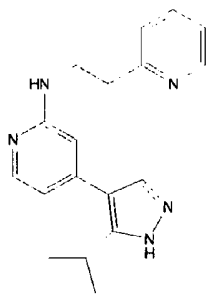
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	15	<0,5	<5	<5	
	16	<5	15	15	<15
	17	<5	15	15	<15
	18	<5	15	15	
	19	<10	15	15	

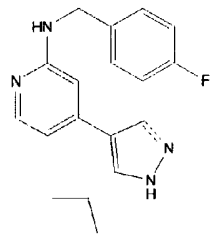
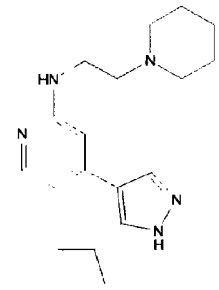
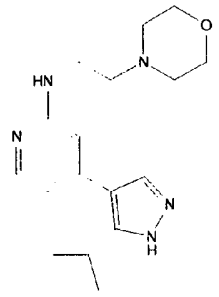
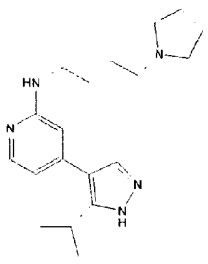
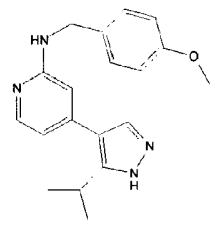
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	20	<5	<5	<5	
	21	<5	<10	<10	<15
	22	<5	<5	<5	<0,5
	23	<5	<5	<5	
	24	<1	<5	<5	

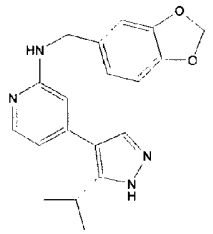
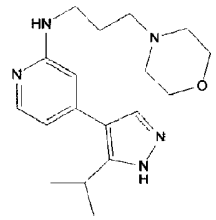
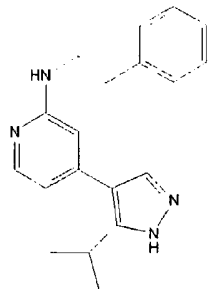
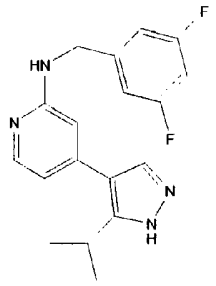
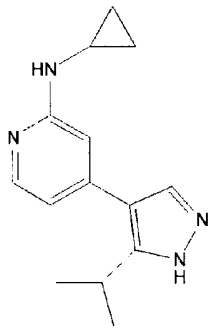
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	25	<5	<5	<5	<0,1
	26	<0,5	<1	<5	
	27	<1	<5	<5	
	28	<5	<5	<5	
	29	<1	<5	<10	

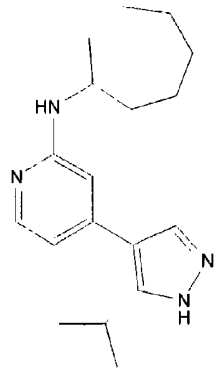
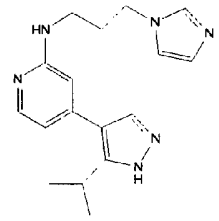
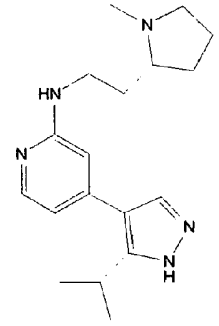
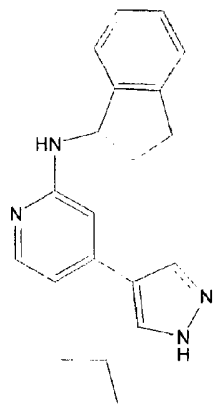
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	30	<5	<5	<5	
	31	<5	15	15	<15
	32	<5	<10	15	<15
	33	<5	15	15	
	34	<5	<5	<5	

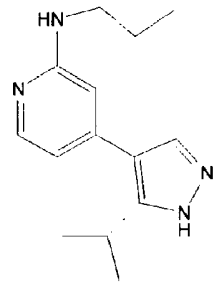
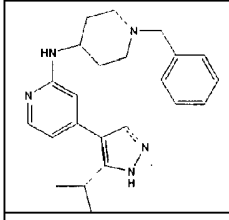
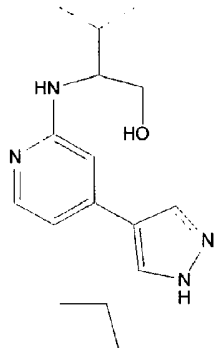
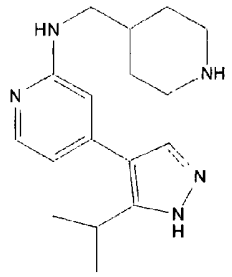
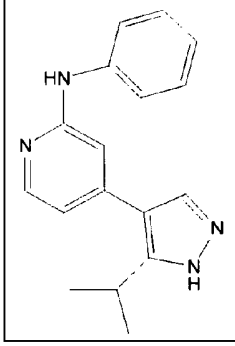
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	35	<5	<5	<5	<15
	36	<10	15	15	<15
	37	<0,5	<1	<5	
	38	<1	<5	<5	
	39	<0,5	<1	<5	

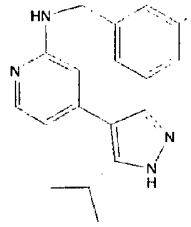
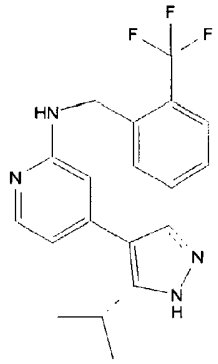
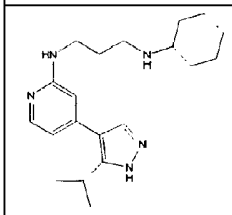
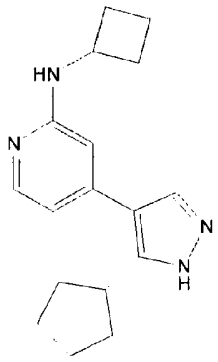
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	40	<0,5	<0,5	<1	
	41	<5	<1	<0,5	
	42	<5	15	15	<15
	43	<0,5	<5	<5	

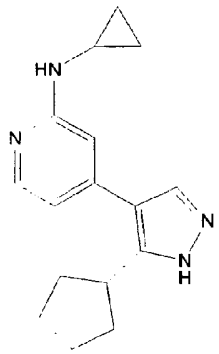
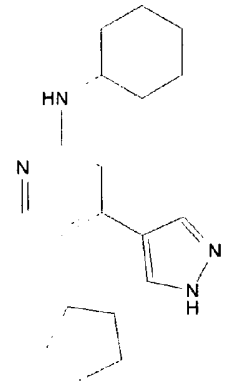
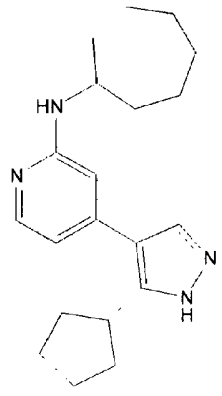
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	44	<0,5	<5	<5	
	45	<0,5	15	<15	
	46	<0,5	<15	<10	
	47	<10	15	15	<15
	48	<0,1	<0,05	<0,1	<1

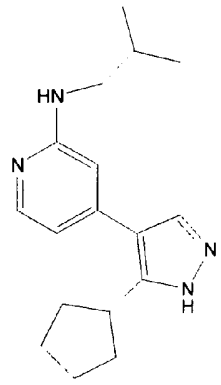
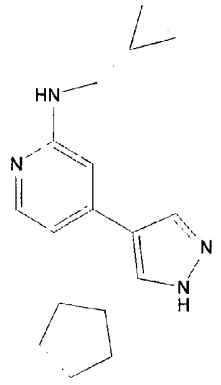
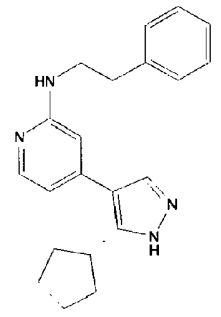
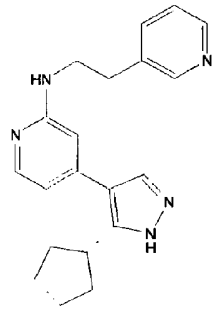
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	49	<5	<5	<5	
	50	<1	<5	<5	
	51	<5	15	15	<15
	52	<0,5	<0,5	<5	

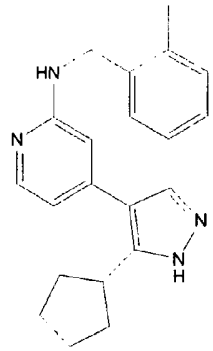
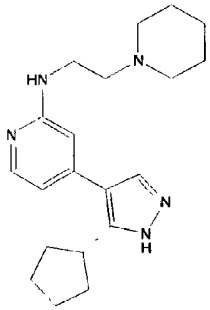
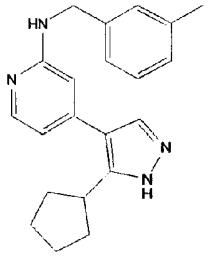
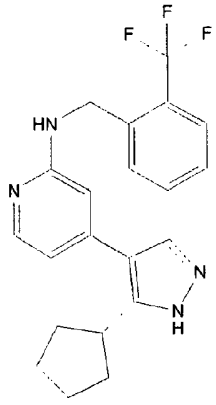
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	53	<0,5	<1	<5	
	54	<0,5	<1	<5	
	55	<0,5	<1	<5	

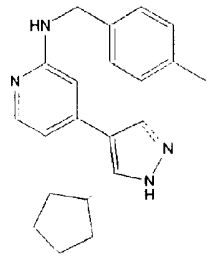
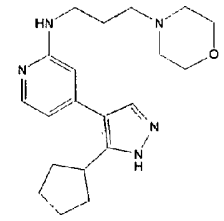
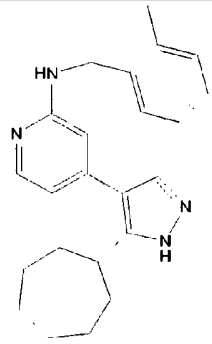
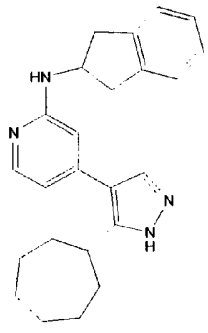
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	56	<0,5	<1	<5	
	57	<1	<5	<5	
	58	<0,5	<5	<5	
	59	<0,5	<5	<5	

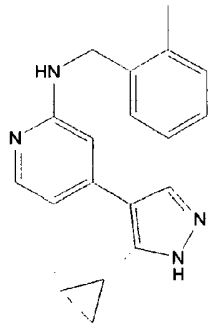
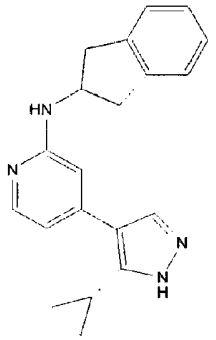
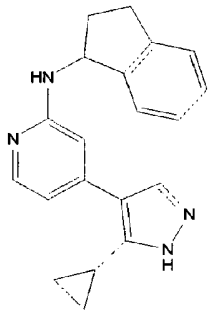
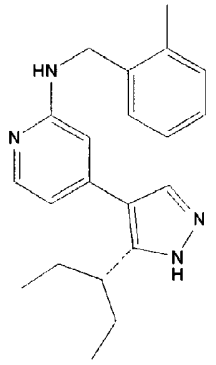
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	60	<0,5	<5	<5	
	61	<5	15	15	<15
	62	<5	<5	<5	
	63	<10	<5	<5	

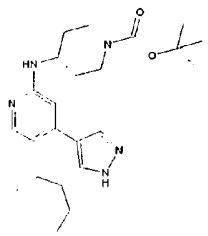
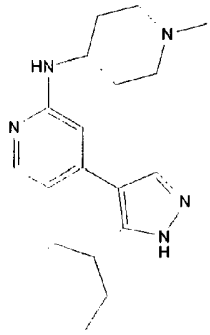
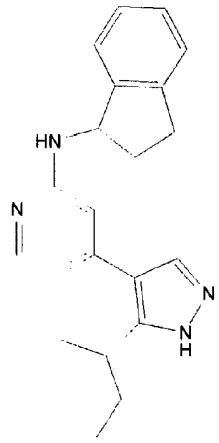
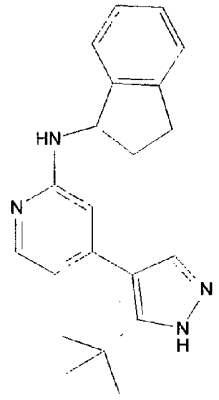
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	64	<10	<5	<5	<5
	65	<5	15	15	<15
	66	<5	<10	<10	<15
	67	<5	<1	<5	

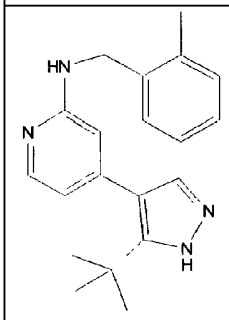
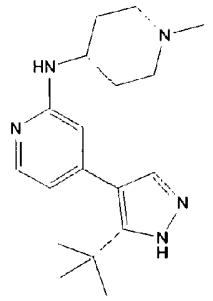
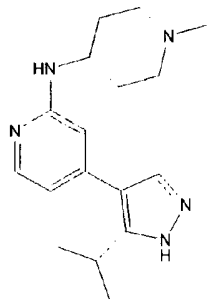
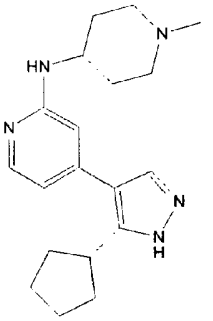
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	68	<0,1	<5	<5	
	69	<0,1	<1	<1	
	70	<0,5	<5	<5	
	71	<0,5	<5	<5	

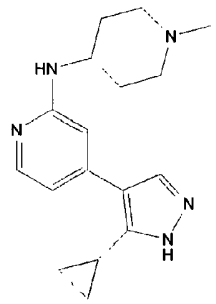
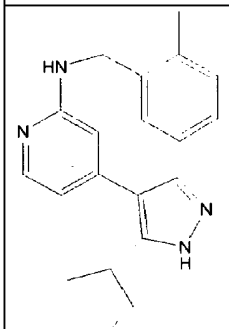
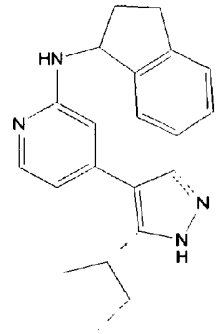
(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	72	<1	<5	<1	
	73	<1	<10	<5	
	74	<5	<5	<5	
	75	<15	15	15	

(continuação)

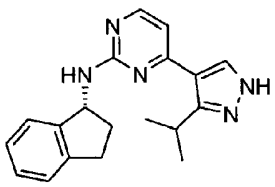
Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	76	<10	15	<15	
	77	<15	<15	15	
	78	<0,5	<15	<10	
	79	<5	15	<10	

(continuação)

Estrutura	Exemplo N°.	CDK4 HTRF	CDK2 cyA IMAP	hCDK1/B IC_{50}	Ensaio ELISA CDK4 IC_{50}
	80	<0,5	15	<15	
	81	<1	<5	<5	
	82	<5	<5	<5	

Exemplos 83 e 176

(*R*)-Indan-1-il-[4-(3-isopropil-1H-pirazol-4-il)-pirimidin-2-il]-amina



Adiciona-se gota a gota, a uma solução de di-isopropilamina (10,1 mL, 71,8 mmol) em THF anidro (50 mL) *n*-butil-lítio (33,6 mL de uma solução 1,6 M em hexano), a 0°C. Passados 30 minutos a 0°C, adiciona-se 4-metil-2-(metiltio)pirimidina (5 mL, 35,9 mmol). Agita-se a mistura resultante a 0°C durante 30 minutos. Depois de se adicionar isobutirato de metilo (4,3 mL, 37,7 mmol) a 0°C, agita-se a mistura reaccional de um dia para o outro. Termina-se a reacção adicionando à mistura reaccional ácido acético, a 0°C, dilui-se com água, e extrai-se com éter dietílico. Seca-se a fase orgânica sobre sulfato de sódio e concentra-se em vazio. Purifica-se o resíduo por cromatografia rápida (SiO_2, EtOAc/heptano de 7:93 a 40:60) para se obterem 4,3 g de 3-metil-1-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-butan-2-ona.

LCMS: 211,1 $(M+H)^+$

Adiciona-se a uma solução de 3-metil-1-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-butan-2-ona (4,3 g, 20,5 mmol) em tolueno anidro (20 mL), dimetilacetal da N,N-dimetilformamida (15,0 mL, 112,9 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 90°C durante 4 h. Concentra-se a mistura em vazio para se obter o produto em bruto, 1-dimetilamino-4-metil-2-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-pent-1-en-3-ona. Utiliza-se o produto em bruto tal qual se obteve.

LCMS: 266,3 $(M+H)^+$

Adiciona-se a uma solução de 1-dimetilamino-4-metil-2-(2-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-pent-1-en-3-ona (em bruto, 20,5 mmol) em metanol (20 mL), hidrazina (0,65 mL, 20,5 mmol), a 0°C. Agita-se a mistura reaccional durante 4 h, dilui-se com EtOAc, e lava-se com água. Lava-se a fase orgânica com salmoura, seca-se sobre sulfato de sódio, e concentra-se em vazio. Uma purificação por cromatografia rápida (SiO_2, EtOAc/heptano a 5:1) proporcionou 4,28 g de 4-(3-isopropil-1H-pirazol-4-il)-2-metilsulfanil-pirimidina sob a forma de um sólido amarelo.

LCMS: 235,1 $(M+H)^+$

Adiciona-se a uma solução de 4-(3-isopropil-1H-pirazol-4-il)-2-metilsulfanil-pirimidina (2,0 g, 8,5 mmol) em diclorometano (25 mL), mCPBA (5,2 g, 21,3 mmol) a 0°C. Agita-se a mistura reaccional durante 2 h, termina-se adicionando à mistura reaccional uma solução aquosa de $Na_2S_2O_3$ a 20 %, e extrai-se com diclorometano. Lava-se o extracto com uma solução saturada de $NaHCO_3$ e com salmoura, seca-se sobre sulfato de sódio, e concentra-se em vazio. Purifica-se o resíduo por cromatografia rápida (SiO_2, EtOAc/heptano a 10:1) para se obterem 1,79 g de 4-(3-isopropil-1H-pirazol-4-il)-2-metanossulfonil-pirimidina sob a forma de um sólido branco.

LCMS: 267,1 $(M+H)^+$

Adiciona-se a uma solução de 4-(3-isopropil-1H-

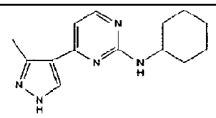
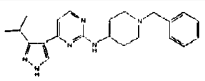
pirazol-4-il)-2-metanossulfonil-pirimidina (40 mg, 0,15 mmol) em DMSO anidro (0,25 mL), (R)-indan-1-ilamina (58 µL, 0,45 mmol). Agita-se a mistura reaccional a 150°C de um dia para o outro, dilui-se com diclorometano, e lava-se com água. Seca-se a fase orgânica sobre sulfato de sódio e concentra-se em vazio. Purifica-se o produto em bruto por HPLC preparativa para se obterem 20 mg de (R)-indan-1-il-[4-(3-isopropil-1H-pirazol-4-il)-pirimidin-2-il]-amina. (Exemplo 83).

LCMS: 320,2 $(M+H)^+$

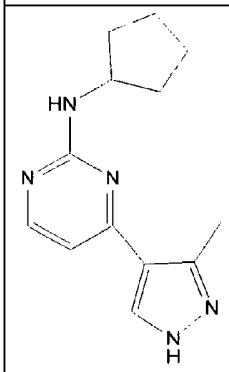
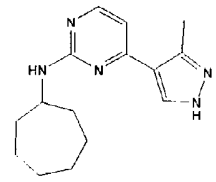
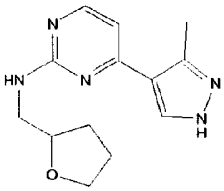
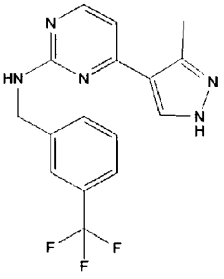
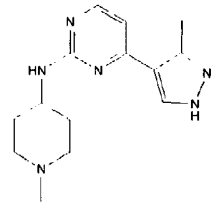
Exemplos 84-191

Repetindo os processos descritos para o exemplo 83, partindo de matérias-primas apropriadas, obtêm-se os seguintes compostos.

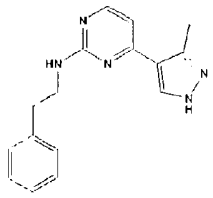
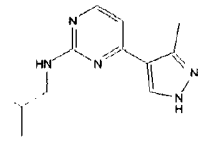
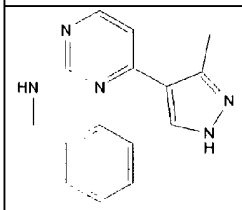
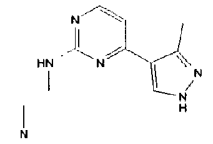
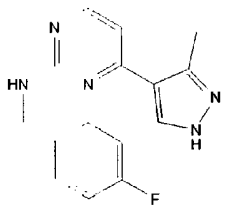
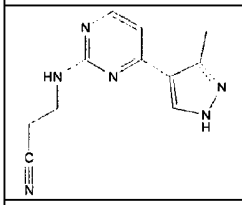
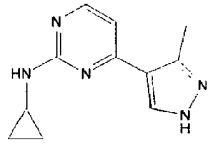
TABELA 2

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	84	<1	<5	<5	
	85	<0,05	<0,5	<1	<10

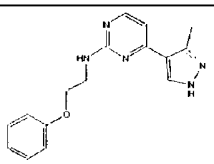
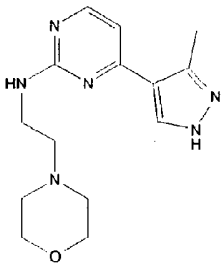
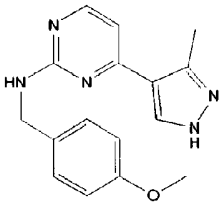
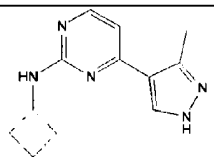
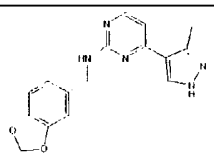
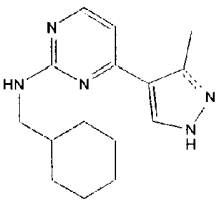
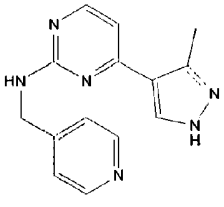
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	86	<1	<5	<5	
	87	<1	<5	<5	
	88	<15	<15	15	<15
	89	<5	<10	<10	<15
	90	<0,5	<15	<15	

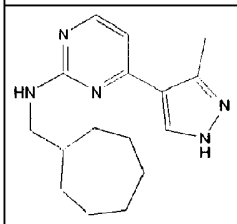
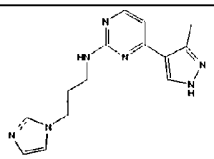
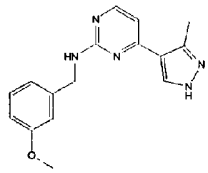
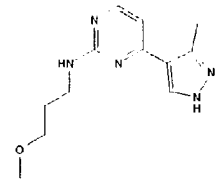
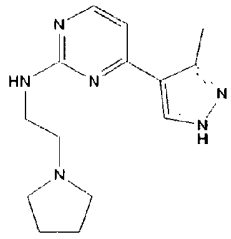
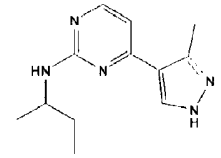
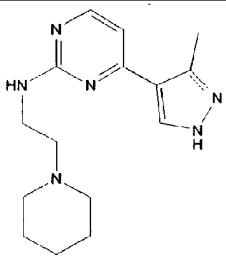
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [$\mu mol\ L^{-1}$]	hCDK1/B/ IC_{50} [$\mu mol\ L^{-1}$]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [$\mu mol\ L^{-1}$]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [$\mu mol\ L^{-1}$]
	91	<1	<10	<10	<15
	92	<5	<5	<5	
	93	<5	<10	<15	<15
	94	<10	15	15	<15
	95	<5	<10	<10	<15
	96	<5	<15	<15	<15
	97	<5	<10	<10	<15

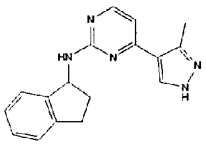
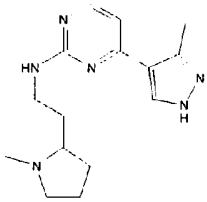
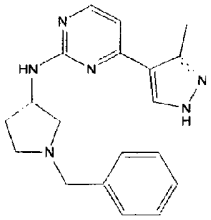
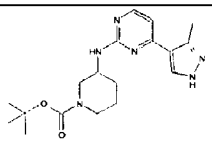
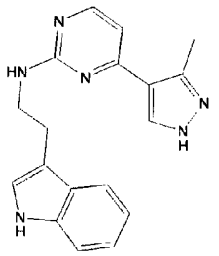
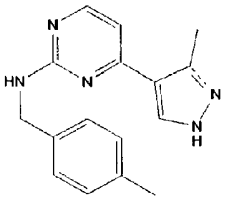
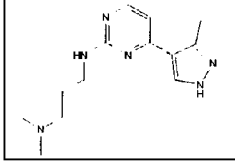
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [$\mu mol\ L^{-1}$]	hCDK1/B/ IC_{50} [$\mu mol\ L^{-1}$]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [$\mu mol\ L^{-1}$]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [$\mu mol\ L^{-1}$]
	98	<5	<15	<15	<15
	99	<10	15	15	<15
	100	<5	<15	<15	<15
	101	<1	<5	<5	<15
	102	<5	<10	<10	<15
	103	<5	<10	<10	<15
	104	<5	<15	<15	<15

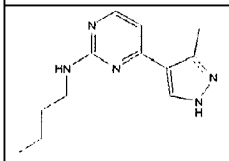
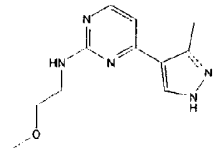
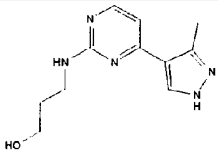
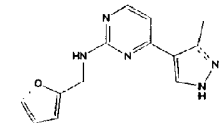
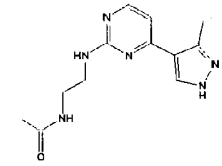
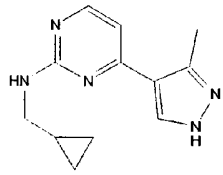
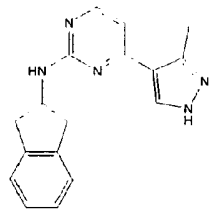
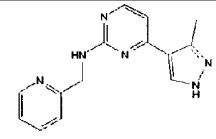
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	105	<5	<10	<15	<15
	106	<5	<5	<10	
	107	<10	15	15	<15
	108	<5	<15	15	<15
	109	<10	15	15	<15
	110	<1	<10	<5	<15
	111	<10	15	15	<15

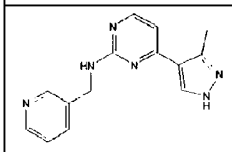
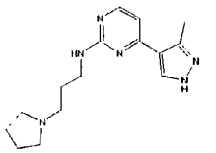
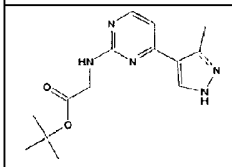
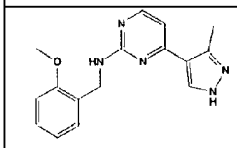
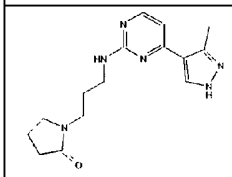
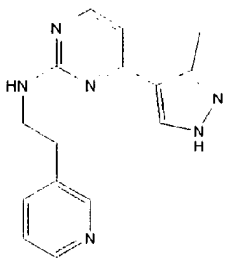
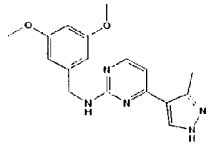
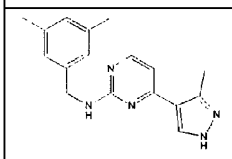
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	112	<0,5	<10	<10	
	113	<10	15	15	<15
	114	<1	<10	<10	
	115	<10	15	15	<15
	116	<5	<5	<10	<15
	117	<10	15	15	<15
	118	<15	15	15	<15

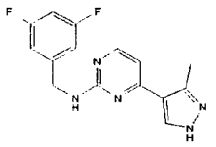
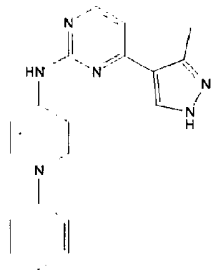
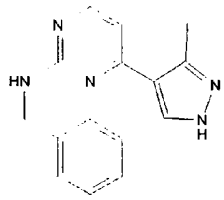
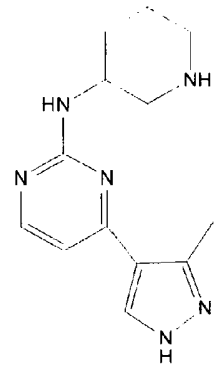
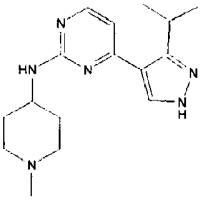
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	119	<5	<10	<10	<15
	120	<15	15	15	<15
	121	<5	<15	<15	<15
	122	<10	15	15	<15
	123	<5	<15	<15	<15
	124	<5	<10	<10	<15
	125	<0,5	<5	<5	
	126	<15	15	15	<15

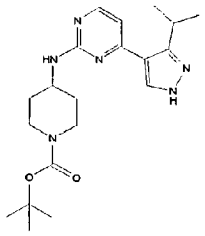
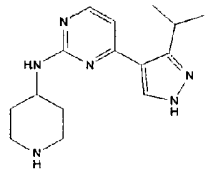
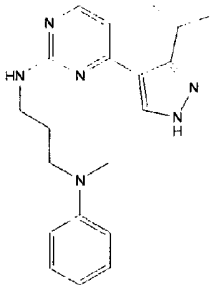
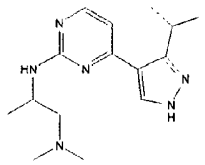
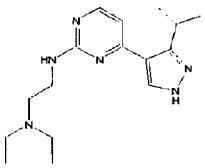
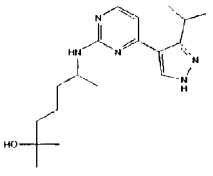
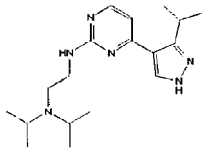
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	127	<10	<15	<10	<15
	128	<15	15	15	<15
	129	<15	15	15	<15
	130	<5	<10	<15	<15
	131	<15	15	15	<15
	132	<1	<10	<10	
	133	<15	15	15	<15
	134	<5	15	15	<15

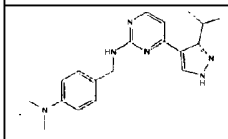
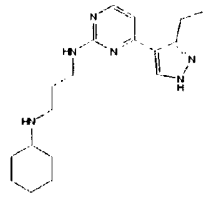
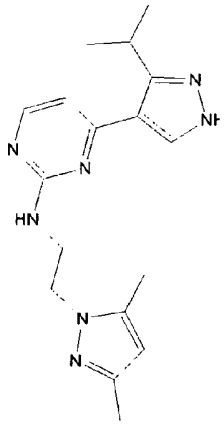
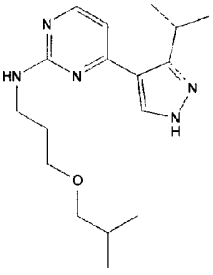
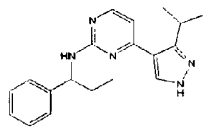
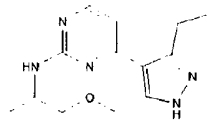
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	135	<1	<5	<5	<15
	136	<0,5	<5	<5	
	137	<5	<10	<10	
	138	<1	<5	<5	
	139	<0,05	<0,5	<1	<5

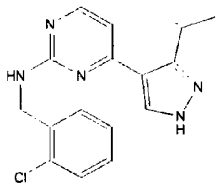
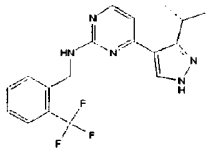
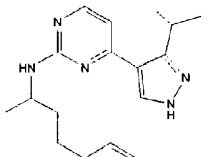
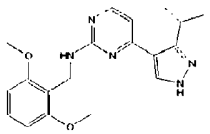
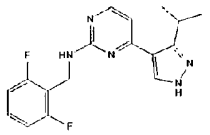
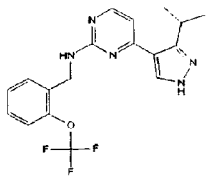
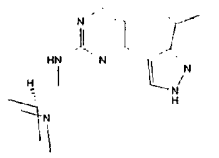
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	140	<0,05	<0,5	<1	
	141	<0,05	<0,5	<1	<5
	142	<5	<1	<5	
	143	<0,5	<10	15	
	144	<5	15	15	<15
	145	<0,5	<1	<5	
	146	<5	<5	15	<15

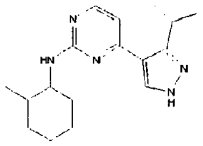
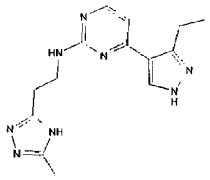
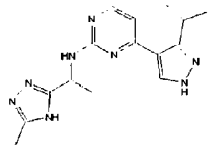
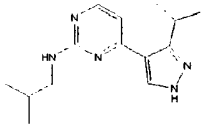
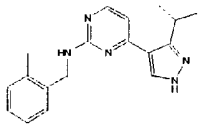
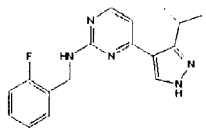
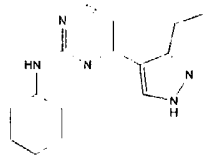
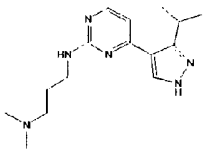
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	147	<5	<5	<5	
	148	<5	<15	<10	
	149	<5	<10	<15	<15
	150	<0,5	<1	<5	
	151	<0,5	<1	<5	<10
	152	<0,5	<1	<1	

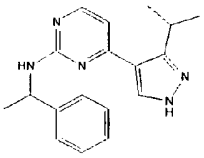
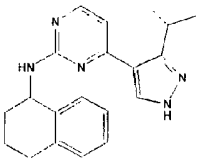
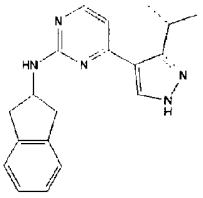
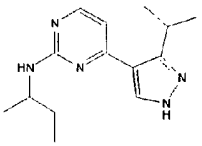
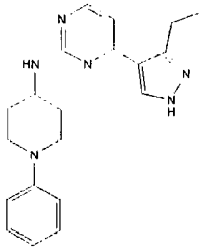
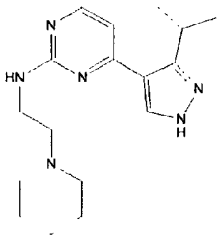
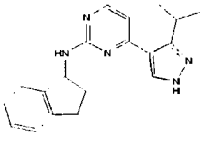
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	153	<5	<1	<1	
	154	<5	<5	<5	
	155	<1	<5	<5	
	156	<15	15	15	<15
	157	<1	<1	<5	
	158	<15	<5	15	
	159	<0,05	<0,5	<5	<5

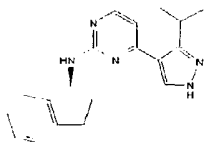
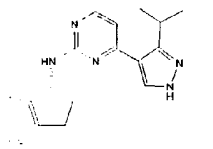
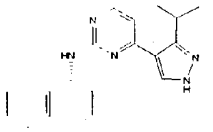
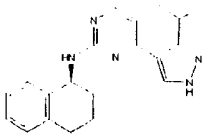
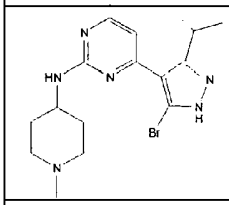
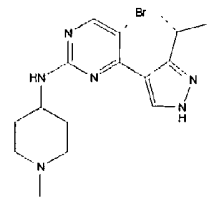
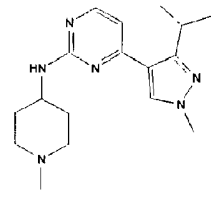
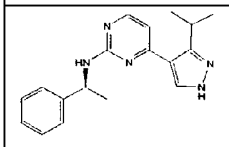
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	160	<0,1	<0,5	<1	<5
	161	<0,5	<5	<5	
	162	<0,5	<10	<15	
	163	<0,1	<0,5	<0,1	<5
	164	<0,5	<0,5	<1	
	165	<1	<0,5	<0,5	
	166	<0,05	<0,05	<0,05	<1
	167	<1	<5	<10	

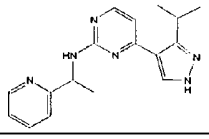
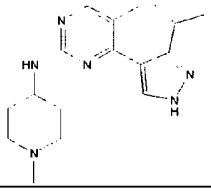
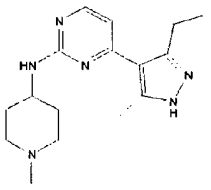
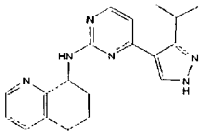
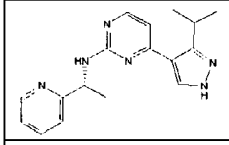
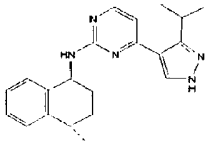
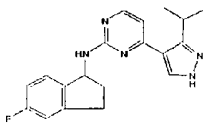
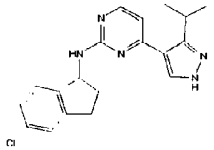
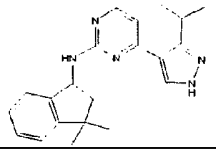
(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	168	<0,05	<1	<5	
	169	<0,05	<5	<1	<5
	170	<0,05	<0,5	<0,5	<5
	171	<0,05	<0,5	<0,5	
	172	<0,05	<0,5	<0,5	
	173	<0,5	<15	15	
	174	<0,05	<1	<1	<5

(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [µmol L^{-1}]	hCDK1/B/ IC_{50} [µmol L^{-1}]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [µmol L^{-1}]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [µmol L^{-1}]
	175	<1	<5	<5	
	176	<0,05	<0,5	<0,5	<1
	177	<0,05	<5	<0,5	<1
	178	<5	<10	15	<15
	179	<0,1	<5	<5	<1
	180	<1	<5	<5	
	181	<0,5	<5	<5	
	182	<10	<5	<10	

(continuação)

Estrutura	Exemplo Número	CDK4 HTRF /IC_{50} [$\mu mol\ L^{-1}$]	hCDK1/B/ IC_{50} [$\mu mol\ L^{-1}$]	CDK2cyA IMAP/IC_{50} [$\mu mol\ L^{-1}$]	p_pRb Cap EL /IC_{50}_ppRbinh [$\mu mol\ L^{-1}$]
	183	<0,5	<10	<10	
	184	<0,5	<5	<5	
	185	<5	15	15	
	186	<0,5	15	>15	
	187	<0,1	<5	<5	
	188	<0,1	15	15	<5
	189	<0,1	<0,5	<0,5	<1
	190	<0,5	<5	<0,5	<5
	191	<0,5	<5	<5	

Actividade Biológica

Ensaio Celular ELISA p-pRb/S780

Revestem-se placas Maxisorp (Nunc 442404) com 50 µL de anticorpo (4H1 Cell Signaling 9309L) contra Proteína Retinoblast fosfolada total a 1 µg/mL (pRb), diluído em DPBS (Soro Salino tamponizado com Fosfato), de um dia para o outro a 4°C. No dia seguinte bloqueiam-se as placas com Superblock em TBST (Pierce 37535) durante entre uma hora e de um dia para o outro - mudando o bloqueante uma vez durante esse período de tempo. Plaqueiam-se as células até 50-60 % de confluência numa laca de 96 poços (Corning 3585) em 100 µL de meio completo (meio contendo soro fetal de bovino (Gibco 1600-044), 2 mM em L-Glutamina (Gibco 25030), e com 1 % de Penicilina/Estreptomicina (Gibco 15140-122), cultivando-se de um dia para o outro numa câmara humidificada a 37°C e sob 5 % de CO_2. Diluem-se os compostos (em DMSO) em meio, para criar uma série de diluições de composto com 7 pontos, com concentrações variando entre 110 µM e 0,027 µM. Adicionam-se às células 10 µL de compostos diluídos, com concentrações finais de células de entre 10 µM e 0,002 µM. Tratam-se as células durante 24 horas numa câmara humidificada a 37°C e sob 5 % de CO_2. A seguir à incubação com composto, lisam-se as células com 40 µL/poço de tampão de lise (Tris-HCL 50 mM, pH 7,5 (Invitrogen 15567-027), 120 mM em NaCl (Promega V4221), 1 mM em EDTA (Gibco 15575-038), 6 mM em EGTA (Fisher 02783-100), com 1 %

Nonidet P40 (Fluka R02771). Colocam-se as placas num agitador Titerplate (Labline, modelo 4625) durante 5 minutos a 4°C para se lisarem as células. Depois da lise, 10 μL de lisado de células e 50 μL de 1xPBS/10 % de Superblock (Gibco 10010 e Pierce 37535) são adicionados a cada poço da placa Maxisorp previamente revestida e bloqueada, para se ligarem, á temperatura ambiente, durante 2 horas num agitador Oribtron Rotator II (Boekel Industries, Modelo 260250). Lavam-se então as placas 3 x com 1 x TBST (Teknova T9201) utilizando um lavador de placas Biotek equipado com um Biostack. Não se aspira a última lavagem. Remove-se a última lavagem inclinando a placa e batendo-a suavemente sobre toalhetes de papel. Dilui-se o anticorpo ppRbS780 (Cell Signaling 9307L) a 1:1.000 em 1 x PBS/10 % de Superblock (Gibco 10010 e Pierce 37535) e adicionam-se 50 μL a cada poço. Incubam-se então as placas durante 1 hora num agitador Oribtron Rotator II (Boekel Industries, Modelo 260250). Lavam-se então as placas tal como se descreveu acima. Dilui-se HRP de cabra anti-coelho (Promega W401 B) a 1:2.500 com 1 x PBS/10 % de Superblock (Gibco 10010 e Pierce 37535) e adicionam-se 50 μL a cada poço. Incubam-se então as placas durante 30 minutos num agitador Oribtron Rotator II. Lavam-se então as placas tal como se descreveu acima. Adicionam-se então a cada poço 50 μL de ELISA Ultra TMB (Pierce 34028). Incubam-se as placas durante 5-20 minutos, até se desenvolver uma cor azul. Adicionam-se a cada poço 50 μL de ácido sulfúrico

2 M (Mallinckrodt 2468-46) para se parar a reacção. Lê-se a absorvância de cada placa a 450 nm num Spectramax Plus (Molecular Devices). Os resultados deste ensaio encontram-se resumidos nas Tabelas 1 e 2.

Ensaio BrdU

Utilizou-se neste ensaio um Estojo de Proliferação Celular ELISA BrdU (colorimétrico) da Roche Diagnostics (Cat. #: 11647229001, 9115 Hague Road, Indianapolis, IN 50414). Em suma, plaqueiam-se as células em placas de 96 poços a 50-60 % de confluência, em meio RMPI 1640. No dia seguinte, tratam-se as células com compostos a uma gama de concentrações pretendida e depois incubam-se durante 24 horas numa câmara humidificada a 37°C e sob 5 % de CO_2. Seguindo o protocolo proporcionado com o estojo, marcam-se as células com agente de marcação BrdU durante 2 horas, e depois fixam-se com 200 μL de FixDenat durante 30 minutos á temperatura ambiente. Adicionam-se 100 μL de anticorpo anti-BrdU à células e incuba-se durante 2 horas à temperatura ambiente. Lavam-se então as células três vezes com 200 μL/poço de PBS, e depois adiciona-se a cada poço 100 μL de solução para o desenvolvimento de cor. Passados 5-10 minutos de incubação, Lê-se a absorvância a 370 nM utilizando um Spectramax Plus (Molecular Devices). Os resultados deste ensaio estão resumidos nas Tabelas 1 e 2.

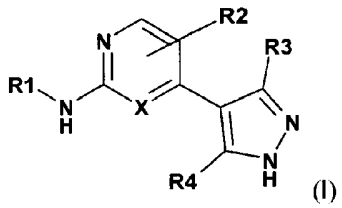
As concretizações preferidas acima foram incluí-

das para ilustrar o âmbito e o espírito da invenção presente. As descrições que este documento proporciona tornarão aparentes aos especialistas da técnica outras concretizações e exemplos. Estas outras concretizações e exemplos estão incluídos no âmbito da invenção presente. Portanto, a invenção presente só deve ser limitada pelas reivindicações apensas.

Lisboa, 13 de Dezembro de 2011

REIVINDICAÇÕES

1. **Um** composto com a Fórmula I:



(I)

ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, no qual

R^1 seja alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-14}, um grupo ciclo-heteroalquilo com 3-14 membros, arilo C_{6-14}, alcoxilo C_{1-6}, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, alquil C_{1-6}-cicloalquilo C_{3-14}, alquil C_{1-6}-grupo heterocíclico com 3-14 membros, alquil C_{1-6}-grupo heteroarilo com 5-14 membros, alquil C_{1-6}-OR^7, alquil C_{1-6}-NR^5R^6, alcoxil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, alquil C_{1-6}-CN, ou alquil C_{1-6}-$C(O)OR^7$, que possam ser substituídos ou não substituídos com um ou mais de entre alquilo C_{1-6}, arilo C_{6-14}, hidroxilo, haloalquilo C_{1-6}, haloalcoxilo C_{1-6}, halo, alcoxilo C_{1-6}, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, $C(O)OR^8$, CN, oxo, ou NR^9R^{10};

R^2 seja H, alquilo C_{1-6}, alcenilo C_{2-6}, alcinilo C_{2-6}, hidroxilo, ou halo;

R^3 e R^4 sejam independentemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-14}, ou halo, que possam ser substituídos ou não substituídos;

R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, e R^{10} sejam independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6}, alcenilo C_{2-6}, alcinilo C_{2-6}, cicloalquilo C_{3-14}, um grupo heteroarilo com 5-14 membros, arilo C_{6-14}, $C(O)OR^{11}$, ou $C(O)R^{11}$, que possam ser substituídos ou não substituídos;

X seja N ou CR^{12} em que R^{11} e R^{12} sejam independentemente H, halogéneo, ou alquilo C_{1-6}.

2. O composto com a Fórmula I de acordo com a reivindicação 1, no qual R^1 seja alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-14}, arilo C_{6-14}, um grupo ciclo-heteroalquilo com 3-14 membros, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, alquil C_{1-6}-cicloalquilo C_{3-14}, alquil C_{1-6}-grupo ciclo-heteroalquilo com 3-14 membros, ou alquil C_{1-6}-grupo heteroarilo com 5-14 membros, que podem ser não substituídos ou ser substituídos com um ou mais de entre alquilo C_{1-6}, arilo C_{6-14}, hidroxilo, haloalquilo C_{1-6}, halo, alcoxilo C_{1-6}, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}.

3. O composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 2, no qual R^1 seja cicloalquilo C_{3-14}, arilo C_{6-14}, um grupo ciclo-heteroalquilo com 3-14 membros, alquil C_{1-6}-arilo C_{6-14}, ou alquil C_{1-6}-cicloalquilo C_{3-14}, que podem ser não substituídos ou substituídos com um ou mais de entre alquilo C_{1-6} ou arilo C_{6-14}.

4. O composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 no qual R^3 e R^4 sejam independentemente H, alquilo C_{1-6}, ou cicloalquilo C_{3-14}.

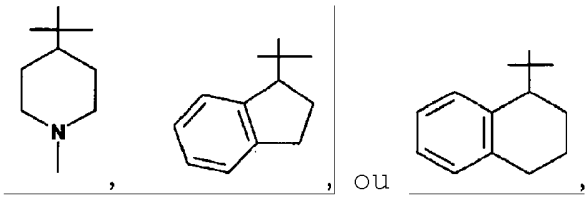
5. O composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 no qual um de entre R^3 e R^4 seja H e o outro de entre R^3 e R^4 seja alquilo C_{1-6}, ou cicloalquilo C_{3-14}.

6. O composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5 no qual R^4 seja H e R^3 seja metilo, etilo ou propilo.

7. O composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6 no qual X seja N ou CH.

8. O composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7 no qual X seja N.

9. O composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8 no qual R^1 seja seleccionado de entre:



e

R^3 seja metilo ou isopropilo.

10. Uma composição farmacêutica que inclua uma quantidade eficaz do ponto de vista terapêutico de um composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-9.

11. Um composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, para utilização no tratamento de uma doença proliferativa.

12. Um composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, para utilização na inibição da proliferação celular, numa célula ou num mamífero que dele necessitem.

13. Um composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, para utilização em medicina.

14. Um composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, para utilização no cancro.

15. Um composto com a Fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, em combinação com um outro agente.

Lisboa, 13 de Dezembro de 2011