

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2008.05.16	(73) Titular(es): GLAXOSMITHKLINE LLC ONE FRANKLIN PLAZA 200 NORTH 16TH STREET PHILADELPHIA, PA 19102 US
(30) Prioridade(s): 2007.05.18 US 938761 P	
(43) Data de publicação do pedido: 2010.03.17	
(45) Data e BPI da concessão: 2013.03.06 078/2013	(72) Inventor(es): NICHOLAS D. ADAMS US JOELL LORRAINE BURGESS US MICHAEL GERARD DARCY US CARLA A. DONATELLI US STEVEN DAVID KNIGHT US
	(74) Mandatário: ANTÓNIO INFANTE DA CÂMARA TRIGUEIROS DE ARAGÃO RUA DO PATROCÍNIO, Nº 94 1399-019 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE QUINOLINA COMO INIBIDORES DE PI3 CINASE**

(57) Resumo:

É INVENTADO UM MÉTODO DE INIBIÇÃO DA ACTIVIDADE/FUNÇÃO DE PI3 CINASES UTILIZANDO DERIVADOS DE QUINOLINA. TAMBÉM É INVENTADO UM MÉTODO DE TRATAMENTO DE UM OU MAIS ESTADOS DE DOENÇA SELECIONADOS DE: DISTÚRBIOS AUTO-IMUNES, DOENÇAS INFLAMATÓRIAS, DOENÇAS CARDIOVASCULARES, DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS, ALERGIA, ASMA, PANCREATITE, FALÊNCIA MULTIORGÂNICA, DOENÇAS RENAIIS, AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA, CANCRO, MOTILIDADE DE ESPERMA, REJEIÇÃO DE TRANSPLANTAÇÃO, REJEIÇÃO DE ENXERTO E LESÕES PULMONARES PELA ADMINISTRAÇÃO DE DERIVADOS DE QUINOLINA.

RESUMO

"DERIVADOS DE QUINOLINA COMO INIBIDORES DE PI3 CINASE"

É inventado um método de inibição da actividade/função de PI3 cinases utilizando derivados de quinolina. Também é inventado um método de tratamento de um ou mais estados de doença seleccionados de: distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, cancro, motilidade de esperma, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e lesões pulmonares pela administração de derivados de quinolina.

DESCRIÇÃO

"DERIVADOS DE QUINOLINA COMO INIBIDORES DE PI3 CINASE"

Campo da invenção

Esta invenção refere-se à utilização de um derivado de quinolina para a modulação, de um modo notável a inibição da actividade ou função da família de fosfoinositídeo 3' OH cinase (a seguir PI3 cinases), adequadamente, PI3K α , PI3K δ , PI3K δ e/ou PI3K γ , particularmente PI3K α . Adequadamente, a presente invenção refere-se à utilização de um derivado de quinolina no tratamento de um ou mais estados de doença seleccionados de: distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, cancro, motilidade de esperma, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e lesões pulmonares, particularmente cancro.

Antecedentes da invenção

As membranas celulares representam uma grande reserva de segundos mensageiros quem podem ser utilizados numa variedade de vias de transdução de sinal. No que respeita à função e regulação de enzimas efectoras nas vias de sinalização de fosfolípidos, estas enzimas geram segundos mensageiros dos agregados fosfolipídicos de membrana (PI3 cinases de classe I (e. g., PI3K α) são enzimas de cinase de especificidade dual, significando que exibem: actividade de cinase de lípido

(fosforilação de fosfoinositídeos), assim como de cinase de proteína, que se mostrou ser capaz de fosforilação de proteína como substrato, incluindo autofosforilação como mecanismo regulador intramolecular. Estas enzimas de sinalização de fosfolípidos são activadas em resposta a uma variedade de sinais extracelulares, tais como factores de crescimento, mitogénios, integrinas (interacções célula-célula) hormonas, citocinas, vírus e neurotransmissores, tal como descritos no Esquema I a seguir e também por regulação intracelular por outras moléculas de sinalização (comunicação cruzada, onde o sinal original pode activar algumas vias paralelas que, numa segunda etapa, transmitem sinais para eventos de sinalização intracelular de PI3K), tais como, por exemplo, pequenas GTPases, cinases ou fosfatases. A regulação intracelular também pode ocorrer como resultado de expressão aberrante ou ausência de expressão de oncogenes celulares ou supressores tumorais. As vias de sinalização intracelular de inositol fosfolípido (fosfoinositídeos) começam com activação de moléculas de sinalização (ligandos extracelulares, estímulos, dimerização de receptor, transactivação por receptor heterólogo (e. g., receptor tirosina cinase) e o recrutamento e activação de PI3K, incluindo o envolvimento de receptor transmembranar ligado a proteína G na membrana plasmática.

A PI3K converte o fosfolípido $PI(4,5)P_2$ de membrana em $PI(3,4,5)P_3$ que funciona como um segundo mensageiro. Os PI e $PI(4)P$ também são substratos de PI3K e podem ser fosforilados e convertidos em PI3P e $PI(3,4)P_2$, respectivamente. Além disso, estes fosfoinositídeos podem ser convertidos noutros fosfoinositídeos por fosfatases específicas de 5' e específicas de 3', deste modo, a actividade enzimática de PI3K resulta, directa ou indirectamente, na geração de dois subtipos de 3'-

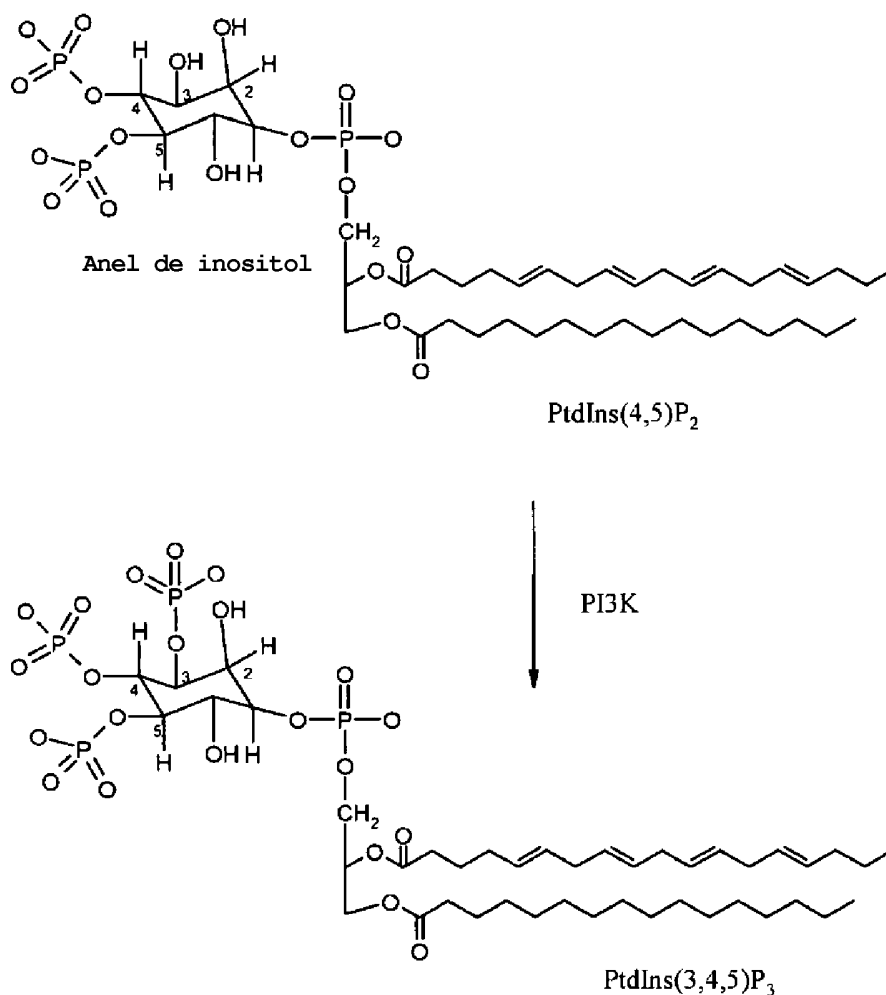
fosfoinositídeos que funcionam como 2^{os} mensageiros em vias de transdução de sinal intracelulares (*Trends Biochem. Sci.* 22(7) p. 267-72 (1997) por Vanhaesebroeck *et al.*: *Chem. Rev.* 101(8) p. 2365-80 (2001) por Leslie *et al.*, (2001); *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 17p, 615-75 (2001) por Katso *et al.* e *Cell. Mol. Life Sci.* 59(5) p. 761-79 (2002) por Toker *et al.*). As múltiplas isoformas de PI3K categorizadas pelas suas subunidades catalíticas, sua regulação por correspondentes subunidades reguladoras, padrões de expressão e funções específicas de sinalização (p110 α , β , δ e γ) efectuem esta reacção enzimática (*Exp. Cell. Res.* 25 (1) p. 239-54 (1999) por Vanhaesebroeck e Katso *et al.*, 2001, acima).

As isoformas p110 α e β estreitamente relacionadas são ubiquamente expressas, enquanto δ e γ são mais especificamente expressas no sistema celular haematopoiético, células de músculo liso, miócitos e células endoteliais (*Trends Biochem. Sci.* 22(7) p. 267-72 (1997) por Vanhaesebroeck *et al.*). A sua expressão também poderá ser regulada num modo indutível, dependendo do tipo de tecido e estímulos celulares, assim como contexto de doença. A inducibilidade da expressão de proteína inclui a síntese de proteína, assim como estabilização de proteína que é regulada, em parte, pela associação com subunidades reguladoras.

Até à data, foram identificadas oito PI3K de mamífero, divididas em três classes principais (I, II e III), com base na homologia de sequência, estrutura, parceiros de ligação, modo de activação e preferência de substrato. As PI3K de classe I, *in vitro*, podem fosforilar fosfatidilinositol (PI), fosfatidilinositol-4-fosfato (PI4P) e fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PI(4,5)P₂) para produzir fosfatidilinositol-3-fosfato (PI3P), fosfatidilinositol-3,4-bifosfato (PI(3,4)P₂) e

fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PI(3,4,5)P₃, respectivamente. As PI3K de classe II fosforilam PI e fosfatidilinositol-4-fosfato. As PI3K de classe III podem apenas fosforilar PI (Vanhaesebroeck *et al.*, 1997, acima; Vanhaesebroeck *et al.*, 1999, acima e Leslie *et al.*, 2001, acima)

Esquema I: Conversão de PI(4,5)P₂ em PIP₃



Como ilustrado no Esquema A acima, as fosfoinositídeo 3-cinases (PI3K) fosforilam o hidroxilo do terceiro carbono do anel de inositol. A fosforilação de fosfoinositídeos que gera

PtdIns em 3,4,5-trisfosfato (PtdIns(3,4,5)P₃), PtdIns(3,4)P₂ e PtdIns(3)P produz segundos mensageiros para uma variedade de vias de transdução de sinal, incluindo as essenciais à proliferação celular, diferenciação celular, crescimento celular, sobrevivência celular, apoptose, adesão, motilidade celular, migração celular, quimiotaxia, invasão, rearranjo citosquelético, alterações de forma celular, tráfico de vesícula e via metabólica (Katso et al., 2001, acima e *Mol. Med. Today* 6(9) p. 347-57 (2000) por Stein). Os receptores ligados a proteína G medeiam a activação de fosfoinositídeo 3'OH-cinase por meio de pequenas GTPases, tais como Gβγ e Ras, e consequentemente a sinalização de PI3K desempenha um papel central no estabelecimento e coordenação da polaridade celular e organização dinâmica do citosqueleto - que, em conjunto, proporciona a força motriz para a movimentação das células.

A quimiotaxia - o movimento dirigido de células para um gradiente de concentração de atractores químicos, também denominados quimiocinas, está envolvida em muitas doenças importantes, tais como inflamação/auto-imunidade, neurodegeneração, antiogénese, invasão/metástase e cicatrização de ferida (*Immunol. Today* 21(6) p. 260-4 (2000) por Wyman et al.; *Science* 287(5455) p. 1049-53 (2000) por Hirsch et al.; *FASEB J.* 15(11) p. 2019-21 (2001) por Hirsch et al. e *Nat. Immunol.* 2(2) p. 108-15 (2001) por Gerard et al.).

Os avanços utilizando abordagens genéticas e ferramentas farmacológicas têm proporcionado a compreensão das vias sinalização e moleculares que medeiam a quimiotaxia, em resposta a receptores ligados a proteína G activados por quimioatractores. A PI3-Cinase, responsável pela geração destes

produtos de sinalização fosforilados, foi originalmente identificada como uma actividade associada a oncoproteínas virais e tirosinas cinases de receptor de factor de crescimento que fosforilam fosfatidilinositol (PI) e seus derivados fosforilados no 3'-hidroxilo do anel de inositol (Panayotou *et al.*, *Trends Cell Biol.* 2, p. 358-60 (1992)). Contudo, estudos bioquímicos mais recentes revelaram que as PI3 cinases de classe I (e. g., isoforma PI3K γ de classe IB) são enzimas cinases específicas duais, significando que exibem actividade de cinase de lípido e cinase de proteína, que mostraram ser capazes de fosforilação de outras proteínas como substratos, assim como autofosforilação como um mecanismo regulador intramolecular.

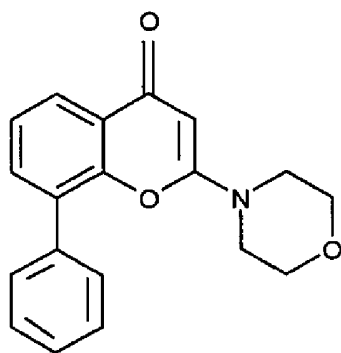
Por conseguinte, considera-se que a activação de PI3-cinase está envolvida numa gama de respostas celulares, incluindo crescimento, diferenciação e apoptose celulares (Parker *et al.*, *Current Biology*, 5 p. 577-99 (1995); Yao *et al.*, *Science*, 267 p. 2003-05 (1995)). A PI3-cinase parece estar envolvida num número de aspectos da activação de leucócitos. Demonstrou-se que a actividade de PI3-cinase associada a p85 se associa fisicamente ao domínio citoplasmático de CD28, que é uma importante molécula co-estimulatória para a activação de células T em resposta a antigénio (Pages *et al.*, *Nature*, 369 p. 327-29 (1994); Rudd, *Immunity* 4 p. 527-34 (1996)). A activação de células T através de CD28 diminui o limiar para activação por antigénio e aumenta a magnitude e duração da resposta proliferativa. Estes efeitos estão ligados a aumentos na transcrição de um número de genes incluindo interleucina-2 (IL2), uma importante factor de crescimento de célula T (Fraser *et al.*, *Science* 251 p. 313-16 (1991)). A mutação de CD28 de modo a que não consiga interagir com PI3-cinase conduz a uma incapacidade em iniciar a produção de IL2, sugerindo um papel

crítico para PI3-cinase na activação de célula T. O PI3K γ foi identificado como um mediador da regulação dependente de G beta-gama da actividade de JNK e as G beta-gama são subunidades de proteínas G heterotriméricas (Lopez-Illasaca *et al.*, *J. Biol. Chem.* 273(5) p. 2505-8 (1998)). Os processos celulares nos quais as PI3K desempenham um papel essencial incluem a supressão de apoptose, reorganização do esqueleto de actina, crescimento de miócitos cardíacos, estimulação da glicogénio sintase pela insulina, iniciação de neutrófilos mediada por TNF α e geração de superóxido e migração e adesão de leucócitos a células endoteliais.

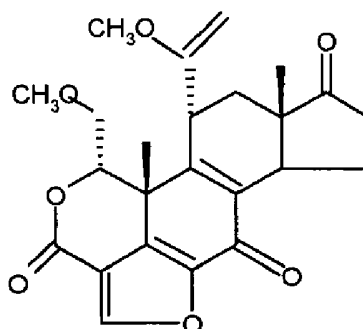
Recentemente, (Laffargue *et al.*, *Immunity* 16(3) p. 441-51 (2002)) foi descrito que a PI3K γ retransmite sinais inflamatórios através de diversos receptores ligados a G(i) e é central para a função de mastócitos, estímulos no contexto de leucócitos, a imunologia inclui citocinas, quimiocinas, adenosinas, anticorpos, integrinas, factores de agregação, factores de crescimento, vírus ou hormonas, por exemplo (*J. Cell. Sci.* 114(Pt 16) p. 2903-10 (2001) por Lawlor *et al.*; Laffargue *et al.*, 2002, acima e *Curr. Opinion Cell Biol.* 14(2) p. 203-13 (2002) por Stephens *et al.*).

Os inibidores específicos contra membros individuais de uma família de enzimas proporcionam ferramentas valiosas para decifrar as funções de cada enzima. Dois compostos, LY294002 e vortmanina (cf a seguir), têm sido largamente utilizados como inibidores de PI3-cinase. Estes compostos são inibidores de PI3K não específicos, visto que não distinguem entre os quatro membros de PI3-cinases de Classe I. Por exemplo, os valores de IC₅₀ de vortmanina contra cada das diversas PI3-cinases de Classe I estão na gama de 1-10 nM. De modo semelhante, os

valores de IC_{50} para LY294002 contra cada destas PI3-cinases são cerca de 15-20 μM (Fruman *et al.*, *Ann. Rev. Biochem.*, 67, p. 481-507 (1998)), também 5-10 μM na proteína cinase CK2 e alguma actividade inibidora nas fosfolipases. A vortmanina é um metabolito fúngico que inibe irreversivelmente a actividade de PI3K pela ligação covalente ao domínio catalítico desta enzima. A inibição da actividade de PI3K pela vortmanina elimina a subsequente resposta celular ao factor extracelular. Por exemplo, os neutrófilos respondem à quimiocina fMet-Leu-Phe (fMLP) pela estimulação de PI3K e síntese de PtdIns (3, 4, 5) P_3 . Esta síntese correlaciona-se com a activação da explosão respiratória envolvida na destruição de neutrófilos de microrganismos invasores. O tratamento de neutrófilos com vortmanina previne a resposta da explosão respiratória induzida por fMLP (Thelen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, p. 4960-64 (1994)). De facto, estas experiências com vortmanina, assim como outra evidência experimental, mostram que a actividade de PI3K em células da linhagem hematopoiética, particularmente neutrófilos, monócitos e outros tipos de leucócitos, está envolvida em muitas das respostas imunitárias de não memória associadas a inflamação aguda e crónica.



LY294002



Vortmanina

Com base em estudos utilizando wortmanina, existe evidência de que a função de PI3-quinase também é requerida para alguns aspectos da sinalização de leucócitos através de receptores ligados a proteína G (Thelen et al., 1994, acima). Além disso, demonstrou-se que a wortmanina e LY294002 bloqueiam a migração de neutrófilos e libertação de superóxido. Os derivados de benzofurano inibindo a ciclo-oxigenase são divulgados por John M. Janusz et al., em *J. Med. Chem.* 1998; Vol. 41, Nº 18.

É agora bem compreendido que a desregulação de oncogenes e genes supressores de tumores contribui para a formação de tumores malignos, por exemplo por meio do aumento do crescimento e proliferação celulares ou sobrevivência celular aumentada. Também é agora bem conhecido que as vias de sinalização mediadas pela família de PI3K têm um papel central num número de processos celulares, incluindo proliferação e sobrevivência, e a desregulação destas vias é um factor causativo para um amplo espectro de cancros humanos e outras doenças (Katso et al., Annual Rev. Cell Dev. Biol., 2001, 17: 615-617 e Foster et al., J. Cell Science, 2003, 116: 3037-3040).

A PI3K de Classe I é um heterodímero consistindo numa subunidade catalítica p110 e uma subunidade reguladora e a família está, ainda, dividida em enzimas de classe Ia e Classe Ib com base em parceiros reguladores e mecanismo de regulação. As enzimas de Classe Ia consistem em três subunidades catalíticas distintas (p110 α , p110 β e p110 δ) que dimerizam com cinco subunidades reguladoras distintas (p85 α , p55 α , p50 α , p85 β e p55 γ), com todas as subunidades catalíticas sendo capazes de interagir com todas as subunidades reguladoras para formar uma variedade de heterodímeros. A PI3K de Classe Ia é, em geral, activada em resposta à estimulação de factor de crescimento de

tirosina cinases receptoras, por meio de interacção dos domínios de SH2 de subunidades reguladoras com resíduos de fosfotirosina específicos das proteínas receptoras ou adaptadoras activadas, tal como IRS-1. As pequenas GTPases (ras, como um exemplo) também estão envolvidas na activação de PI3K em conjunto com a activação de tirosina cinase receptora. As p110 α e p110 β são expressas de modo constitutivo em todos os tipos de células, ao passo que a expressão de p110 δ está mais restringida a populações de leucócitos e algumas células epiteliais. Em contraste, a enzima de Classe Ib única consiste numa subunidade catalítica p110 γ que interage com uma subunidade reguladora p101. Além disso, a enzima de Classe Ib é activada em resposta a sistemas de receptores ligados a proteína G (GPCR) e a sua expressão parece estar limitada a leucócitos.

Há agora evidência considerável indicando que as enzimas PI3K de Classe Ia contribuem para a tumorigénese numa ampla variedade de cancros humanos, directamente ou indirectamente (Vivanco e Sawyers, Nature Reviews Cancer, 2002, 2, 489-501). Por exemplo, a subunidade p110 α está amplificada em alguns tumores, tais como os do ovário (Shayesteh, *et al.*, Nature Genetics, 1999, 21: 99-102) e colo uterino (Ma *et al.*, Oncogene, 2000, 19: 2739-2744). Mais recentemente, as mutações de activação na p110 α (gene de PIK3CA) têm sido associadas a diversos outros tumores, tais como os do cólon e da mama e pulmão (Samuels, *et al.*, Science, 2004, 304, 554). As mutações relacionadas com tumores em p85 α também foram identificadas em cancros, tais como os do ovário e cólon (Philp *et al.*, Cancer Research, 2001, 61, 7426-7429). Além dos efeitos directos, considera-se que a activação de PI3K de Classe Ia contribui para eventos tumorigénicos que ocorrem a montante nas vias de sinalização, por exemplo por meio de activação dependente de

ligando ou independente de ligando de tirosina cinases receptoras, sistemas de GPCR ou integrinas (Vara *et al.*, Cancer Treatment Reviews, 2004, 30, 193-204). Os exemplos dessas vias de sinalização a montante incluem a superexpressão da tirosina cinase receptora Erb2 numa variedade de tumores conduzindo a activação das vias mediadas por PI3K (Harari *et al.*, Oncogene, 2000, 19, 6102-6114) e superexpressão do oncogene Ras (Kauffmann-Zeh *et al.*, Nature, 1997, 385, 544-548). Além disso, as PI3K de Classe Ia podem contribuir indirectamente para a tumorigénese causada por diversos eventos de sinalização a jusante. Por exemplo, a perda de função da fosfatase supressora de tumor PTEN que catalisa a conversão de PI(3,4,5)P3 de volta para PI(4,5)P2 está associada a uma gama muito ampla de tumores por meio de desregulação da produção mediada por PI3K de PI(3,4,5)P3 (Simpson e Parsons, Exp. Cell Res., 2001, 264, 29-41). Além disso, considera-se que o aumento dos efeitos de outros eventos de sinalização mediados por PI3K contribui para uma variedade de cancros, por exemplo por activação de AKT (Nicholson e Andeson, Cellular Signaling, 2002, 14, 381-395).

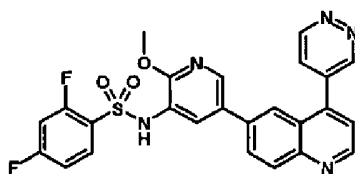
Além de um papel na mediação da sinalização proliferativa e de sobrevivência em células tumorais, também há boa evidência de que as enzimas PI3K de classe Ia também contribuem para a tumorigénese por meio da sua função em células estromais associadas a tumores. Por exemplo, sabe-se que a sinalização de PI3K desempenha um importante papel na mediação de eventos angiogénicos em células endoteliais em resposta a factores pró-angiogénicos, tal como VEGF (Abid *et al.*, Arterioscler, Thromb. Vasc. Biol., 2004, 24, 294-300). Como as enzimas PI3K de Classe I também estão envolvidas em motilidade e migração (Sawyer, *Expert Opinion investing. Drugs*, 2004, 13, 1-19), antecipa-se que os inibidores de PI3K proporcionam benefícios

terapêuticos por meio de inibição da invasão e metástase de células tumorais.

O documento WO2005/085227 descreve novos compostos de piridina e a utilização desses compostos como inibidores da actividade de cinase de PKB/AKT e no tratamento de cancro e artrite.

Sumário da Invenção

Esta invenção refere-se a um composto que é 2,4-difluoro-N-{2-(metiloxi)-5-[4-(4-piridazinil)-6-quinolinil]-3-piridinil}benzenossulfonamida



ou um seu sal farmacologicamente aceitável.

Adequadamente, esta invenção refere-se a 2,4-difluoro-N-{2-(metiloxi)-5-[4-(4-piridazinil)-6-quinolinil]-3-piridinil}benzenossulfonamida para utilização no tratamento de cancro.

Adequadamente, esta invenção refere-se a 2,4-difluoro-N-{2-(metiloxi)-5-[4-(4-piridazinil)-6-quinolinil]-3-piridinil}benzenossulfonamida para utilização no tratamento de um ou mais estados de doença seleccionados de: distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares,

doenças neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, motilidade de espermatozoides, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e lesões pulmonares.

Está incluída na presente invenção a co-administração do presente composto de inibição de PI3 cinase com ingredientes activos adicionais.

Descrição Detalhada da Invenção

O presente composto inibe uma ou mais PI3 cinases. Adequadamente, o composto inibe PI3K α . Igualmente, o composto no âmbito desta invenção inibe uma ou mais PI3 cinases seleccionadas de: PI3K δ , PI3K β e PI3K γ .

Adequadamente, entre a presente invenção está um composto que é 2,4-difluoro-N-{2-(metiloxi)-5-[4-(4-piridazinil)-6-quinolinil]-3-piridinil}benzenossulfonamida e/ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

Esta invenção também se refere ao composto da invenção e/ou um seu sal farmacêuticamente aceitável; e, pelo menos, um agente antineoplásico, tal como um seleccionado do grupo consistindo em: agentes anti-microtúbulo, complexos de coordenação de platina, agentes alquilantes, inibidores de topoisomerase II, antimetabolitos, inibidores de topoisomerase I, hormonas e análogos hormonais, inibidores da via de transdução de sinal, inibidores de tirosina cinase não receptora de angiogénese, agentes imunoterapêuticos, agentes proapoptóticos e inibidores

de sinalização de ciclo celular, para utilização na co-administração para tratar o cancro.

Esta invenção também se refere ao composto da invenção e/ou um seu sal farmacologicamente aceitável; e, pelo menos, um inibidor da via de transdução de sinal, tal como um selecionado do grupo consistindo em: inibidor de tirosina cinase receptora, inibidor de tirosina cinase não receptora, bloqueador de domínio de SH2/SH3, inibidor de serina/treonina cinase, inibidor de fosfatidilinositol-3 cinase, inibidor de sinalização de mioinositol e inibidor de oncogene Ras, para utilização na co-administração para tratar o cancro.

Como aqui utilizado, o termo “quantidade eficaz” significa aquela quantidade de um fármaco ou agente farmacêutico que irá deduzir a resposta biológica ou médica de um tecido, sistema, animal ou humano que está sendo pesquisada, por exemplo, por um investigador ou clínico. Além disso, o termo “quantidade terapeuticamente eficaz” significa qualquer quantidade que, em comparação com um correspondente indivíduo que não recebeu essa quantidade, resulta no tratamento, cura, prevenção ou melhoramento aperfeiçoado de uma doença, distúrbio ou efeito secundário, ou uma diminuição na taxa de progresso de uma doença ou distúrbio. O termo também inclui no seu âmbito quantidades eficazes para melhorar a função fisiológica normal.

O composto da invenção está incluído nas composições farmacêuticas da invenção.

Definições

Pelo termo “tratamento” e seus derivados, como aqui utilizado, significa-se terapia profiláctica e terapêutica. Terapia profiláctica significa a instituição de medidas para proteger uma pessoa de uma doença a que ele ou ela foi, ou pode ser, exposta. Também denominado *tratamento de prevenção*.

Pelo termo “co-administração” e seus derivados, como aqui utilizado, significa-se administração simultânea ou qualquer modo de administração sequencial separada do composto inibindo PI3 cinase, como aqui descrito, e um ingrediente ou ingredientes activos adicionais. O termo ingrediente ou a expressão ingredientes activos adicionais, como aqui utilizados, inclui qualquer composto ou agente terapêutico conhecido ou que demonstra propriedades vantajosas, quando administrado a um doente a necessitar de tratamento. Adequadamente, se a administração não for simultânea, os compostos são administrados numa estreita proximidade temporal entre si. Além disso, não importa se os compostos são administrados na mesma forma de dosagem, e. g., um composto pode ser administrado topicamente e outro composto pode ser administrado oralmente.

O termo “composto”, como aqui utilizado, inclui todos os isómeros do composto. Os exemplos desses isómeros incluem: enantiómeros, tautómeros, rotâmeros.

O composto da invenção está incluído nas composições farmacêuticas da invenção.

Foi agora verificado que o composto da presente invenção é um inibidor das Fosfatoinositídeos 3-cinases (PI3K),

particularmente PI3K α . Quando a enzima fosfatoinositídeos 3-cinase (PI3K) é inibida pelo composto da presente invenção, a PI3K é incapaz de exercer os seus efeitos enzimáticos, biológicos e/ou farmacológicos. O composto da presente invenção é, por conseguinte, útil no tratamento de distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, cancro, motilidade de esperma, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e lesões pulmonares, particularmente cancro.

O composto da invenção é adequado para a modulação, de um modo notável a inibição da actividade de fosfatoinositídeo 3-cinases (PI3K), adequadamente fosfatoinositídeos 3-cinase (PI3K α). Por conseguinte, o composto da presente invenção também é útil para o tratamento de distúrbios que são mediados pelas PI3K. O referido tratamento envolve a modulação - de um modo notável a inibição ou a regulação negativa - dos fosfatoinositídeos 3-cinases.

Adequadamente, o composto da presente invenção é utilizado para a preparação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio seleccionado de esclerose múltipla, psoríase, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistémico, doença inflamatória intestinal, inflamação pulmonar, trombose ou infecção/inflamação cerebral, tais como meningite ou encefalite, doença de Alzheimer, doença de Huntington, trauma de SNC, AVC ou estados isquémicos, doenças cardiovasculares, tais como aterosclerose, hipertrofia de coração, disfunção de miócito cardíaco, pressão sanguínea elevada ou vasoconstrição.

Adequadamente, o composto da invenção é útil para o tratamento de doenças auto-imunes ou doenças inflamatórias, tais como esclerose múltipla, psoríase, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistémico, doença inflamatória intestinal, inflamação pulmonar, trombose ou infecção/inflamação cerebral, tais como meningite ou encefalite.

Adequadamente, o composto da invenção é útil para o tratamento de doenças neurodegenerativas, incluindo esclerose múltipla, doença de Alzheimer, doença de Huntington, trauma de SNC, AVC ou estados isquémicos.

Adequadamente, o composto da invenção é útil para o tratamento de doenças cardiovasculares, tais como aterosclerose, hipertrofia de coração, disfunção de miócito cardíaco, pressão sanguínea elevada ou vasoconstrição.

Adequadamente, o composto da invenção é útil para o tratamento de doença pulmonar obstrutiva crónica, fibrose de choque anafiláctico, psoríase, doenças alérgicas, asma, AVC, estados isquémicos, isquemia-reperfusão, agregação/activação de plaquetas, atrofia/hipertrofia de músculo esquelético, recrutamento de leucócitos em tecido de cancro, angiogénese, metástase de invasão, em particular melanoma, sarcoma de Kaposi, infecções bacterianas e virais agudas e crónicas, sépsis, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto, glomeruloesclerose, glomerulonefrite, fibrose renal progressiva, lesões endoteliais e epiteliais no pulmão e inflamação de vias respiratórias pulmonares.

Devido ao composto farmacologicamente activo da presente invenção ser activo como um inibidor de PI3 cinase,

particularmente o composto inibe a PI3K α , selectivamente ou em conjunto com um ou mais de PI3K δ , PI3K β e/ou PI3K γ , exhibe utilidade terapêutica no tratamento do cancro.

Adequadamente, a invenção refere-se ao composto para utilização no tratamento de cancro num humano, em que o cancro é seleccionado de: (gliomas) cerebrais, glioblastomas, leucemia, síndrome de Bannayan-Zonana, doença de Cowden, doença de Lhermitte-Duclos, mama, cancro da mama inflamatório, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, Rabdomiossarcoma, ependimoma, meduloblastoma, cólon, cabeça e pescoço, rim, pulmão, fígado, melanoma, ovariano, pancreático, próstata, sarcoma, osteossarcoma, tumor de células gigantes do osso e tiróide.

Adequadamente, a invenção refere-se ao composto para utilização no tratamento de cancro num humano, em que o cancro é seleccionado de: Leucemia linfoblástica de células T, Leucemia mielógena crónica, Leucemia linfocítica crónica, Leucemia de tricoleucócitos, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, Leucemia neutrofílica crónica, Leucemia linfoblástica de células T aguda, Plasmacitoma, Leucemia imunoblástica de células grandes, Leucemia de células do manto, Leucemia Megacarioblástica de Mieloma múltiplo, mieloma múltiplo, Leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica e Eritroleucemia.

Adequadamente, a invenção refere-se ao composto para utilização no tratamento de cancro num humano, em que o cancro é seleccionado de: linfoma maligno, linfoma de Hodgkin, linfoma não Hodgkin, linfoma linfoblástico de células T, linfoma de Burkitt e linfoma folicular.

Adequadamente, a invenção refere-se ao composto para utilização no tratamento de cancro num humano, em que o cancro é seleccionado de: neuroblastoma, cancro da bexiga, cancro urotelial, cancro do pulmão, cancro vulvar, cancro cervical, cancro do endométrio, cancro renal, mesotelioma, cancro esofágico, cancro das glândulas salivares, cancro hepatocelular, cancro gástrico, cancro nasofaríngeo, cancro bucal, cancro da boca, GIST (tumor estromal gastrointestinal) e cancro testicular.

Quando o composto da invenção é administrado para o tratamento do cancro, o termo “co-administração” e seus derivados, como aqui utilizados, significam administração simultânea, ou qualquer modo de administração sequencial separada, do composto de inibição de PI3 cinase como aqui descrito e um ingrediente ou ingredientes activos adicionais, conhecido por ser útil no tratamento do cancro, incluindo tratamento de quimioterapia e radiação. O termo ingrediente ou a expressão ingredientes activos adicionais, como aqui utilizados, inclui qualquer composto ou agente terapêutico conhecido ou que demonstra propriedades vantajosas, quando administrado a um doente a necessitar de tratamento para cancro. De um modo preferido, se a administração não for simultânea, os compostos são administrados numa estreita proximidade temporal entre si. Além disso, não importa se os compostos são administrados na mesma forma de dosagem, e. g., um composto pode ser administrado topicamente e outro composto pode ser administrado oralmente.

Tipicamente, qualquer agente antineoplásico que tenha actividade contra um tumor susceptível sendo tratado pode ser co-administrado no tratamento do cancro na presente invenção. Os exemplos desses agentes podem-se encontrar em Cancer Principles

and Practice of Oncology, por V.T. Devita e S. Hellman (editores), 6ª edição (15 de Fevereiro de 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Com base nas características particulares dos fármacos e no cancro envolvido, alguém com conhecimentos gerais na técnica seria capaz de discernir que combinações de agentes seriam úteis. Os agentes antineoplásicos típicos úteis na presente invenção incluem mas não estão limitados a agentes anti-microtúbulo, tais como diterpenóides e alcalóides da vinca; complexos de coordenação de platina; agentes alquilantes, tais como iperites de azoto, oxazafosforinas, alquilsulfonatos, nitrosoureas e triazenos; agentes antibióticos, tais como antraciclina, actinomicinas e bleomicinas; inibidores de topoisomerase II, tal como epipodofilotoxinas; antimetabolitos, tais como análogos purínicos e pirimidínicos e compostos anti-folato; inibidores de topoisomerase I, tal como camptotecinas; hormonas e análogos hormonais; inibidores da via transdução de sinal; inibidores de tirosina cinase não receptora de angiogénese, agentes imunoterapêuticos, agentes proapoptóticos; e inibidores de sinalização de ciclo celular.

Os exemplos de um ingrediente ou ingredientes activos adicionais (agente antineoplásico), para utilização em combinação ou co-administrado com o composto de inibição de AKT presentemente inventado, são os agentes quimioterapêuticos.

Os agentes anti-microtúbulo ou antimitótico são agentes específicos de fase, activos contra os microtúbulos de células tumorais durante a fase M ou a mitose do ciclo celular. Os exemplos de agentes anti-microtúbulo incluem mas não estão limitados a diterpenóides e alcalóides da vinca.

Os diterpenóides, que são derivados de fontes naturais, são agentes anticancerígenos específicos de fase que operam nas fases G₂/M do ciclo celular. Considera-se que os diterpenóides estabilizam a subunidade de tubulina β dos microtúbulos, pela ligação com esta proteína. O desagrupamento da proteína parece ser, então, inibido, com a mitose sendo interrompida e seguindo-se morte celular. Os exemplos de diterpenóides incluem mas não estão limitados a paclitaxel e seu análogo docetaxel.

O paclitaxel, 5 β ,20-epoxi-1,2 α ,4,7 β ,10 α ,13 α -hexahidroxitax-11-en-9-ona 4,10-diacetato 2-benzoato 13-éster com (2R,3S)-N-benzoil-3-fenilisoserina; é um produto de diterpeno natural isolado da árvore do teixo do Pacífico *Taxus brevifolia* e está comercialmente disponível como uma solução injectável TAXOL[®]. É um membro da família dos terpenos de taxano. Foi isolado em primeiro lugar em 1971 por Wani *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, 93:2325. 1971), que caracterizaram a sua estrutura por métodos químicos e cristalográficos de raios X. Um mecanismo para a sua actividade refere-se à capacidade de o paclitaxel se ligar a tubulina inibindo, desse modo, o crescimento de células de cancro. Schiff *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77:1561-1565 (1980); Schiff *et al.*, *Nature*, 277:665-667 (1979); Kumar, *J. Biol. Chem*, 256: 10435-10441 (1981). Para uma revisão da síntese e actividade anticancerígena de alguns derivados de paclitaxel ver: D. G. I. Kingston *et al.*, *Studies in Organic Chemistry* vol. 26, intitulado "New trends in Natural Products Chemistry 1986", Attaur-Rahman, P.W. Le Quesne, Ed. (Elsevier, Amesterdão, 1986) pp. 219-235.

O paclitaxel foi aprovado para utilização clínica no tratamento do cancro ovariano refractário nos Estados Unidos (Markman *et al.*, *Yale Journal of Biology and Medicine*, 64:583,

1991; McGuire et al., *Ann. Intern. Med.*, 111:273,1989) e para o tratamento do cancro da mama (Holmes et al., *J. Nat. Cancer Inst.*, 83:1797,1991). É um potencial candidato para o tratamento de neoplasmas na pele (Einzig et al., *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 20:46) e carcinomas da cabeça e pescoço (Forastire et al., *Semin. Oncol.*, 20:56, 1990). O composto também mostra potencial para o tratamento da doença poliquística do rim (Woo et al., *Nature*, 368:750. 1994), cancro do pulmão e malária. O tratamento de doentes com paclitaxel resulta em supressão de medula óssea (múltiplas linhas celulares, Ignoff, R.J. et al., *Cancer Chemotherapy Pocket Guide*, 1998) relacionada com a duração do doseamento acima de uma concentração limiar (50 nM) (Kearns, C.M. et al., *Seminars in Oncology*, 3(6) p. 16-23, 1995).

O docetaxel, (2R,3S)-N-carboxi-3-fenilisoserina, éster N-tert-butílico, 13-éster com 5 β -20-epoxi-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexa-hidroxitax-11-en-9-ona 4-acetato 2-benzoato, tri-hidrato; está comercialmente disponível como uma solução injectável como TAXOTERE®. O docetaxel está indicado para o tratamento do cancro da mama. O docetaxel é um derivado semi-sintético de paclitaxel q.v., preparado utilizando um precursor natural, 10-desacetil-bacatina III, extraído da agulha da árvore de teixo Europeia. A toxicidade limitante de dose do docetaxel é a neutropenia.

Os alcalóides da vinca são agentes antineoplásicos específicos de fase derivados da planta pervinca. Os alcalóides da vinca actuam na fase M (mitose) do ciclo celular pela ligação específica a tubulina. Consequentemente, a molécula de tubulina ligada é incapaz de se polimerizar em microtúbulos. Considera-se que a mitose seja interrompida na metáfase, com morte celular a

seguir. Os exemplos de alcalóides da vinca incluem mas não estão limitados a vinblastina, vincristina e vinorelbina.

A vinblastina, sulfato de vincaleucoblastina, está comercialmente disponível como VELBAN® como uma solução injectável. Embora tenha indicação possível como uma terapia de segunda linha de diversos tumores sólidos, está principalmente indicada no tratamento de cancro testicular e diversos linfomas, incluindo Doença de Hodgkin; e linfomas linfocíticos e histiocíticos. A mielossupressão é o efeito secundário limitante de dose da vinblastina.

A vincristina, vincaleucoblastina, 22-oxo-, sulfato, está comercialmente disponível como ONCOVIN® como uma solução injectável. A vincristina está indicada para o tratamento de leucemias agudas e também encontrou utilização em regimes de tratamento para linfomas malignos de Hodgkin e não Hodgkin. A alopecia e efeitos neurológicos são o efeito secundário mais comum de vincristina e, em menor escala, ocorrem efeitos de mielossupressão e mucosite gastrointestinal.

A vinorelbina, 3',4'-dide-hidro -4'-desoxi-C'-norvincaleucoblastina [R-(R*,R*)-2,3-di-hidroxibutanedioato (1:2)(sal)], comercialmente disponível como uma solução injectável de tartarato de vinorelbina (NAVELBINE®), é um alcalóide da vinca semi-sintético. A vinorelbina está indicada como um único agente ou em combinação com outros agentes quimioterapêuticos, tal como cisplatina, no tratamento de diversos tumores sólidos, particularmente cancros do pulmão de células não pequenas, da mama avançados e da próstata refractário a hormonas. A mielossupressão é o efeito secundário limitante de dose mais comum da vinorelbina.

Os complexos de coordenação de platina são agentes anticancerígenos não específicos de fase, que são interactivos com ADN. Os complexos de platina entram nas células tumorais, sofrem aquação e formam ligações cruzadas intracadeia e intercadeia com ADN, causando efeitos biológicos adversos no tumor. Os exemplos de complexos de coordenação de platina incluem mas não estão limitados a cisplatina e carboplatina.

A cisplatina, cis-diaminodicloroplatina, está comercialmente disponível como PLATINOL® como uma solução injectável. A cisplatina está principalmente indicada no tratamento do cancro testicular metastático e ovariano e cancro da bexiga avançado. Os principais efeitos secundários limitantes de dose da cisplatina são nefrotoxicidade, que pode ser controlada por hidratação, e diurese e ototoxicidade.

A carboplatina, platina, diamina [1,1-ciclobutano-dicarboxilato(2-)-0,0'], está comercialmente disponível como PARAPLATIN® como uma solução injectável. A carboplatina está principalmente indicada na primeira e segunda linha de tratamento de carcinoma ovariano avançado. A supressão de medula óssea é toxicidade limitante de dose da carboplatina.

Os agentes alquilantes são agentes anticancerígenos não específicos de fase e fortes electrófilos. Tipicamente, os agentes alquilantes formam ligações covalentes, por alquilação, a ADN, através de fracções nucleofílicas da molécula de ADN, tais como grupos fosfato, amino, sulfidriilo, hidroxilo, carboxilo e imidazole. Essa alquilação dissocia a função de ácido nucleico, conduzindo à morte celular. Os exemplos de agentes alquilantes incluem mas não estão limitados a iperites de azoto, tais como ciclofosfamida, melfalano e clorambucilo;

sulfonatos de alquilo, tal como bussulfano; nitrosoureas, tal como carmustina; e triazenos, tal como dacarbazina.

A ciclofosfamida, 2-óxido de 2-[bis(2-cloroetil)amino] tetra-hidro-2H-1,3,2-oxazafosforina mono-hidrato, está comercialmente disponível como uma solução injectável ou comprimidos como CYTOXAN®. A ciclofosfamida está indicada como um único agente ou em combinação com outros agentes quimioterapêuticos, no tratamento de linfomas malignos, mieloma múltiplo e leucemias. A alopecia, náusea, vômitos e leucopenia são os efeitos secundários limitantes de dose mais comuns da ciclofosfamida.

O melfalano, 4-[bis(2-cloroetil)amino]-L-fenilalanina, está comercialmente disponível como uma solução injectável ou comprimidos como ALKERAN®. O melfalano está indicado para o tratamento paliativo do mieloma múltiplo e carcinoma epitelial não ressecionável do ovário. A supressão de medula óssea é o efeito secundário limitante de dose mais comum do melfalano.

O clorambucilo, ácido 4-[bis(2-cloroetil)amino] benzenobutanóico, está comercialmente disponível como comprimidos de LEUKERAN®. O clorambucilo está indicado para o tratamento paliativo da leucemia linfática crónica e linfomas malignos, tais como linfossarcoma, linfoma folicular gigante e doença de Hodgkin. A supressão de medula óssea é o efeito secundário limitante de dose mais comum do clorambucilo.

O bussulfano, dimetanossulfonato de 1,4-butanodiol, está comercialmente disponível como MYLERAN® TABLETS. O bussulfano está indicado para o tratamento paliativo de leucemia mielógena

crónica. A supressão de medula óssea é o efeito secundário limitante de dose mais comum do bussulfano.

A carmustina, 1,3-[bis(2-cloroetil)-1-nitrosoureia, está comercialmente disponível como frascos-ampola individuais de material liofilizado como BiCNU®. A carmustina está indicada para o tratamento paliativo como um agente único ou em combinação com outros agentes para tumores cerebrais, mieloma múltiplo, doença de Hodgkin e linfomas não Hodgkin. A mielossupressão retardada é o efeito secundário limitante de dose mais comum da carmustina.

A dacarbazina, 5-(3,3-dimetil-1-triazeno)-imidazole-4-carboxamida, está comercialmente disponível como frascos-ampola individuais de material como DTIC-Dome®. A dacarbazina está indicada para o tratamento de melanoma maligno metastático e em combinação com outros agentes para o tratamento de segunda linha da Doença de Hodgkin. Náusea, vômitos e anorexia são os efeitos secundários limitantes de dose mais comuns da dacarbazina.

Os antineoplásicos antibióticos são agentes não específicos de fase que se ligam ou intercalam com ADN. Tipicamente, essa acção resulta em complexos de ADN estáveis ou ruptura de cadeia, que dissocia a função comum dos ácidos nucleicos, conduzindo à morte celular. Os exemplos de agentes antineoplásicos antibióticos incluem mas não estão limitados a actinomicinas, tal como dactinomicina, antroclinas, tais como daunorubicina e doxorubicina; e bleomicinas.

A dactinomicina, também conhecida como Actinomicina D, está comercialmente disponível na forma injectável como COSMEGEN®. A dactinomicina está indicada para o tratamento do tumor de Wilm e

rabdomiossarcoma. Náusea, vômitos e anorexia são os efeitos secundários limitantes de dose mais comuns da dactinomicina.

A daunorubicina, cloridrato de (8S-cis-)-8-acetil-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetra-hidro-6,8,11-tri-hidroxi-1-metoxi-5,12 naftacenodiona, está comercialmente disponível como uma forma injectável lipossomal como DAUNOXOME® ou como um injectável como CERUBIDINE®. A daunorubicina está indicada para a indução de remissão no tratamento da leucemia não linfocítica aguda e sarcoma de Kaposi associado a VIH avançado. A mielossupressão é o efeito secundário limitante de dose mais comum da daunorubicina.

A doxorubicina, cloridrato de (8S, 10S)-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-8-glicololil, 7,8,9,10-tetra-hidro-6,8,11-tri-hidroxi-1-metoxi-5,12 naftacenodiono, está comercialmente disponível como uma forma injectável como RUBEX® ou ADRIAMICINA RDF®. A doxorubicina está principalmente indicada para o tratamento de leucemia linfoblástica aguda e leucemia mieloblástica aguda, mas também é um componente útil no tratamento de alguns tumores sólidos e linfomas. A mielossupressão é o efeito secundário limitante de dose mais comum da doxorubicina.

A bleomicina, uma mistura de antibióticos de glicopéptidos citotóxicos isolados da estirpe de *Streptomyces verticillus*, está comercialmente disponível como BLENOXANE®. A bleomicina está indicada como um tratamento paliativo, como um agente único ou em combinação com outros agentes, do carcinoma espinocelular, linfomas e carcinomas testiculares. As toxicidades pulmonares e

cutâneas são os efeitos secundários limitantes de dose mais comuns da bleomicina.

Os inibidores de topoisomerase II incluem mas não estão limitados a epipodofilotoxinas.

As epipodofilotoxinas são agentes antineoplásicos específicos de fase derivados da planta mandrágora. As epipodofilotoxinas tipicamente afectam células nas fases S e G₂ do ciclo celular, pela formação de um complexo ternário com topoisomerase II e ADN causando rupturas de cadeia de ADN. As rupturas de cadeia acumulam-se e segue-se a morte celular. Os exemplos de epipodofilotoxinas incluem mas não estão limitados a etoposido e teniposido.

O etoposido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-O-(R)-etilideno-β-D-glucopiranosídeo], está comercialmente disponível como uma solução injectável ou cápsulas como VePESID® e é geralmente conhecido como VP-16. O etoposido está indicado como um agente único ou em combinação com outros agentes de quimioterapia no tratamento de cancros testiculares e de células não pequenas do pulmão. A mielossupressão é o efeito secundário mais comum do etoposido. A incidência de leucopenia tende a ser mais grave do que a trombocitopenia.

O teniposido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-O-(R)-tenilideno-β-D-glucopiranosídeo], está comercialmente disponível como uma solução injectável como VUMON® e é geralmente conhecido como VM-26. O teniposido está indicado como um agente único ou em combinação com outros agentes de quimioterapia no tratamento da leucemia aguda em crianças. A mielossupressão é o

efeito secundário limitante de dose mais comum do teniposido. O teniposido pode induzir leucopenia e trombocitopenia.

Os agentes neoplásicos antimetabolito são agentes antineoplásicos específicos de fase que actuam na fase S (síntese de ADN) do ciclo celular, pela inibição da síntese de ADN ou pela inibição da síntese de bases purínicas ou pirimidínicas e, desse modo, limitando a síntese de ADN. Consequentemente, a fase S não prossegue e segue-se a morte celular. Os exemplos de agentes antineoplásicos antimetabolito incluem mas não estão limitados a fluorouracilo, metotrexato, citarabina, mecaptopurina, tioguanina e gemcitabina.

A 5-fluorouracil, 5-fluoro-2,4- (1H,3H) pirimidinodiona, está comercialmente disponível como fluorouracilo. A administração de 5-fluorouracilo conduz à inibição da síntese de timidilato e também está incorporado em ARN e ADN. O resultado é tipicamente a morte celular. O 5-fluorouracilo está indicado como um agente único ou em combinação com outros agentes de quimioterapia no tratamento de carcinomas da mama, cólon, recto, estômago e pâncreas. A mielossupressão e mucosite são efeitos secundários limitantes de dose do 5-fluorouracilo. Outros análogos de fluoropirimidina incluem 5-fluoro desoxiuridina (floxuridina) e monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina.

A citarabina, 4-amino-1- β -D-arabinofuranosil-2 (1H)-pirimidinona, está comercialmente disponível como CYTOSAR-U[®] e é geralmente conhecido como Ara-C. Considera-se que a citarabina exhibe especificidade de fase celular na fase S pela inibição do alongamento pela cadeia de ADN por incorporação terminal de citarabina na cadeia de ADN em crescimento. A citarabina está indicada como um agente único ou em combinação

com outros agentes de quimioterapia no tratamento da leucemia aguda. Outros análogos de citidina incluem 5-azacitidina e 2',2'-difluorodesoxicitidina (gemcitabina). A citarabina induz leucopenia, trombocitopenia e mucosite.

A mercaptopurina, 1,7-di-hidro-6H-purina-6-tiona mono-hidrato, está comercialmente disponível como PURINETHOL®. A mercaptopurina exibe especificidade de fase celular na fase S, pela inibição da síntese de ADN por um mecanismo até agora não especificado. A mercaptopurina está indicada como um agente único ou em combinação com outros agentes de quimioterapia no tratamento da leucemia aguda. A mielossupressão e mucosite gastrointestinal são efeitos secundários esperados de mercaptopurina a doses elevadas. A azatioprina é um análogo de mercaptopurina útil.

A tioguanina, 2-amino-1,7-di-hidro-6H-purina-6-tiona, está comercialmente disponível como TABLOID®. A tioguanina exibe especificidade de fase celular na fase S, pela inibição da síntese de ADN por um mecanismo até agora não especificado. A tioguanina está indicada como um agente único ou em combinação com outros agentes de quimioterapia no tratamento da leucemia aguda. A mielossupressão, incluindo leucopenia, trombocitopenia e anemia, é o efeito secundário limitante de dose mais comum da administração de tioguanina. Contudo, ocorrem efeitos secundários gastrointestinais e podem ser limitantes de dose. Outros análogos purínico incluem pentostatina, eritro-hidroxinoniladenina, fosfato de fludarabina e cladribina.

A gemcitabina, monoclórídato de 2'-desoxi-2', 2'-difluorocitidina (isómero β), está comercialmente disponível como GEMZAR®. A gemcitabina exibe a especificidade de fase

celular na fase S e pelo bloqueio da progressão de células através da fronteira G1/S. A gemcitabina está indicada em combinação com cisplatina no tratamento do cancro de células não pequenas do pulmão localmente avançado e isoladamente no tratamento de cancro pancreático localmente avançado. A mielossupressão, incluindo leucopenia, trombocitopenia e anemia, é o efeito secundário limitante de dose mais comum da administração de gemcitabina.

O metotrexato, ácido N-[4[[2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutâmico, está comercialmente disponível como metotrexato sódico. O metotrexato exibe efeitos de fase celular especificamente na fase S pela inibição da síntese, reparação e/ou replicação de ADN através da inibição da ácido di-hidrofílico redutase que é requerida para a síntese de nucleótidos purínicos e timidilato. O metotrexato está indicado como um agente único ou em combinação com outros agentes de quimioterapia no tratamento de coriocarcinoma, leucemia meníngea, linfoma não Hodgkin e carcinomas da mama, cabeça, pescoço, ovário e bexiga. A mielossupressão (leucopenia, trombocitopenia e anemia) e mucosite são efeitos secundários esperados da administração de metotrexato.

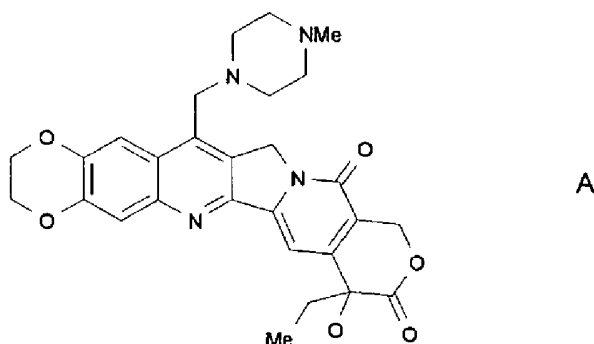
As camptotecinas, incluindo camptotecina e derivados de camptotecina, estão disponíveis ou sob desenvolvimento como inibidores da Topoisomerase I. Considera-se que a actividade citotóxica de camptotecina está relacionada com a sua actividade inibidora de Topoisomerase I. Os exemplos de camptotecina incluem mas não estão limitados a irinotecano, topotecano e as diversas formas ópticas de 7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxo-20-camptotecina descritas abaixo.

O irinotecano HCl, cloridrato de (4S)-4,11-dietil-4-hidroxi-9-[(4-piperidinopiperidino) carboniloxi]-1H-pirano [3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14(4H,12H)-diona, está comercialmente disponível como a solução injectável CAMPTOSAR®.

O irinotecano é um derivado de camptotecina que se liga, juntamente com o seu metabolito activo SN-38, ao complexo de topoisomerase I - ADN. Considera-se que a citotoxicidade ocorre como resultado de rupturas de cadeia dupla irreparáveis, causadas por interacção do complexo ternário de topoisomerase I:ADN:irinotecano ou SN-38 com enzimas de replicação. O irinotecano está indicado para tratamento de cancro metastático do cólon ou recto. Os efeitos secundários limitantes de dose do irinotecano HCl são mielossupressão, incluindo neutropenia e efeitos GI, incluindo diarreia.

O topotecano HCl, monoclóridrato de (S)-10-[(dimetilamino) metil]-4-etil-4,9-di-hidroxi-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14-(4H,12H)-diona, está comercialmente disponível como a solução injectável HYCAMTIN®. O topotecano é um derivado de camptotecina que se liga ao complexo de topoisomerase I - ADN e previne a religação de rupturas de cadeia simples causadas por Topoisomerase I em resposta à deformação devida à torção da molécula de ADN. O topotecano está indicado para tratamento de segunda linha de carcinoma metastático do ovário e cancro de células pequenas do pulmão. O efeito secundário limitante de dose do topotecano HCl é a mielossupressão, principalmente neutropenia.

Também é de interesse o derivado de camptotecina de fórmula A seguinte, actualmente sob desenvolvimento, incluindo a forma da mistura racémica (R,S), assim como os enantiómeros R e S:



conhecidos pelo nome químico "7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxo-20(R,S)-camptotecina (mistura racémica) ou "7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxo-20(R)-camptotecina (enantiómero R) ou "7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxo-20(S)-camptotecina (enantiómero S). Esse composto, assim como compostos relacionados, são descritos, incluindo métodos de preparação, nas Patentes U.S. Nº 6063923; 5342947; 5559235; 5491237 e Pedido de Patente U.S. pendente Nº 08/977217, depositado a 24 de Novembro de 1997.

As hormonas e análogos hormonais são compostos úteis para tratamento de cancros nos quais há uma relação entre a(s) hormona(s) e crescimento e/ou ausência de crescimento do cancro. Os exemplos de hormonas e análogos hormonais úteis no tratamento de cancro incluem mas não estão limitados a adrenocorticosteróides, tais como prednisona e prednisolona, que são úteis no tratamento de linfoma maligno e leucemia aguda em crianças; aminoglutetimida e outros inibidores de aromatase, tais como anastrozol, letrozol, vorazol e exemestano, úteis no

tratamento de carcinoma adrenocortical e carcinoma da mama dependente de hormona contendo receptores de estrogénio; progestrinas, tal como acetato de megestrol, útil no tratamento do cancro da mama dependente de hormona e carcinoma do endométrio; estrogénios, androgénios e anti-androgénios, tais como flutamida, nilutamida, bicalutamida, acetato de ciproterona e 5 α -redutases, tais como finasterida e dutasterida, úteis no tratamento de carcinoma prostático e hipertrofia prostática benigna; antiestrogénios, tais como tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno, idoxifeno, assim como moduladores selectivos de receptor de estrogénio (SERMS), tais como os descritos nas Patentes U.S. Nº 5681835, 5877219 e 6207716, úteis no tratamento do carcinoma da mama dependente de hormona e outros cancros susceptíveis; e hormona de libertação de gonadotropina (GnRH) e seus análogos que estimulam a libertação da hormona luteinizante (LH) e/ou hormona folículo-estimulante (FSH) para o tratamento de carcinoma prostático, por exemplo, agonistas e antagonistas de LHRH, tais como acetato de goserelina e luprolida.

Os inibidores da via de transdução de sinal são os inibidores que bloqueiam ou inibem um processo químico que evoca uma alteração intracelular. Como aqui utilizado, esta alteração é a proliferação ou diferenciação celular. Os inibidores de transdução de sinal úteis na presente invenção incluem inibidores de tirosinas cinases receptoras, tirosinas cinases não receptoras, bloqueadores do domínio de SH2/SH3, serina/treonina cinases, fosfatidilinositol-3 cinases, sinalização de mioinositol e oncogenes Ras.

Várias tirosinas cinases proteicas catalisam a fosforilação de resíduos de tirosilo específicos em diversas proteínas

envolvidas na regulação do crescimento celular. Essas tirosinas cinases proteicas podem ser em geral classificadas como cinases receptoras ou não receptoras.

As tirosinas cinases receptoras são proteínas transmembranares tendo um domínio de ligação de ligando extracelular, um domínio transmembranar e um domínio de tirosina cinase. As tirosinas cinases receptoras estão envolvidas na regulação do crescimento celular e são, em geral, designadas receptores de factor de crescimento. Demonstrou-se que a activação inapropriada ou descontrolada de muitas destas cinases, *i. e.*, actividade aberrante de receptor de factor de crescimento de cinase, por exemplo por superexpressão ou mutação, resulta em crescimento celular descontrolado. Consequentemente, a actividade aberrante dessas cinases foi ligada ao crescimento tecidual maligno. Consequentemente, os inibidores dessas cinases poderiam proporcionar métodos de tratamento de cancro. Os receptores de factores de crescimento incluem, por exemplo, receptor do factor de crescimento epidérmico (EGFr), receptor do factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGFr), erbB2, erbB4, receptor do factor de crescimento endotelial vascular (VEGFr), tirosina cinase com domínios de homologia semelhante a imunoglobulina e do factor de crescimento epidérmico (TIE-2), receptor do factor-I de crescimento de insulina (IGFI), factores de estimulação de colónias de macrófagos (cfm), BTK, ckit, cmet, receptores do factor de crescimento de fibroblastos (FGF), receptores de Trk (TrkA, TrkB e TrkC), receptores de efrina (eph) e o proto-oncogene RET. Vários inibidores de receptores de crescimento estão sob desenvolvimento e incluem antagonistas de ligando, anticorpos, inibidores de tirosina cinase e oligonucleótidos anti-sentido. Os receptores dos factores de

crescimento e agentes que inibem a função de receptor de factor de crescimento são descritos, por exemplo, em Kath, John C., *Exp. Opin. Ther. Patents* (2000) 10(6):803-818; Shawver et al. DDT Vol. 2, Nº 2, Fevereiro de 1997; e Lofts, F. J. et al., "Growth factor receptors as targets", *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy*, ed. Workman, Paul e Kerr, David, CRC press 1994, Londres.

As tirosinas cinases que não são cinases receptoras de factor de crescimento são designadas tirosinas cinases não receptoras. As tirosinas cinases não receptoras para utilização na presente invenção, que são alvos ou potenciais alvos de fármacos anticancerígenos, incluem cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (Cinase de adesão focal), tirosina cinase de Bruton e Bcr-Abl. Essas tirosinas cinases não receptoras e agentes que inibem a função de tirosina cinase não receptora são descritos em Sinh, S. e Corey, S.J., (1999) *Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research* 8 (5): 465 - 80; e Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) *Annual review of Immunology*. 15: 371-404.

Os bloqueadores do domínio de SH2/SH3 são agentes que dissociam o domínio SH2 ou SH3 numa variedade de enzimas ou proteínas adaptadoras, incluindo subunidade p85 de PI3-K, cinases da família de Src, moléculas adaptadoras (Shc, Crk, Nck, Grb2) e Ras-GAP. Os domínios de SH2/SH3 como alvos para fármacos anticancerígenos são discutidos em Smithgall, T.E. (1995), *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 34(3) 125-32.

Os inibidores das Serinas/Treoninas Cinases incluindo bloqueadores da cascata de MAP cinase que incluem bloqueadores das Raf cinases (rafk), Cinase Regulada por Mitogénio ou

Extracelular (MEK) e Cinases Reguladas Extracelulares (ERK); e bloqueadores dos membros da família da Proteína cinase C, incluindo os bloqueadores de PKC (alfa, beta, gama, épsilon, mu, lambda, iota, zeta). Família de cinases de I κ B (IKK α , IKK β), cinases da família de PKB, membros da família de cinase de akt e cinases receptoras de TGF beta. Essas Serinas/Treoninas cinases e seus inibidores são descritos em Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), *Journal of Biochemistry*. 126 (5) 799-803; Brodt, P, Samani, A. e Navab, R. (2000), *Biochemical Pharmacology*, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) *Cancer Surveys*. 27:41-64; Philip, P.A. e Harris, A.L. (1995), *Cancer Treatment and Research*. 78: 3-27, Lackey, K. et al. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, (10), 2000, 223-226; Patente U.S. Nº 6268391; e Martinez-Iacaci, L., et al., *Int. J. Cancer* (2000), 88(1), 44-52.

Os inibidores dos membros da família da Fosfatidilinositol-3 Cinase, incluindo bloqueadores da PI3-cinase, ATM, DNA-PK e Ku, também podem ser úteis na presente invenção. Essas cinases são discutidas em Abraham, R.T. (1996), *Current Opinion in Immunology*. 8 (3) 412-8; Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), *Oncogene* 17 (25) 3301-3308; Jackson, S.P. (1997), *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 29 (7):935-8; e Zhong, H. et al., *Cancer res*, (2000) 60(6), 1541-1545.

Também são de interesse na presente invenção os inibidores da sinalização de Mioinositol, tais como bloqueadores de fosfolipase C e análogos de Mioinositol. Esses inibidores de sinal são descritos em Powis, G., e Kozikowski A., (1994) *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy* ed., Paul Workman e David Kerr, CRC press 1994, Londres.

Outro grupo de inibidores da via de transdução de sinal são os inibidores do Oncogene Ras. Esses inibidores incluem inibidores da farnesiltransferase, geranyl-geranyl transferase e proteases CAAX, assim como oligonucleótidos anti-sentido, ribozimas e imunoterapia. Mostrou-se que esses inibidores bloqueiam a activação de ras em células contendo ras mutante de tipo selvagem actuando, desse modo, como agentes antiproliferação. A inibição do oncogene Ras é discutida em Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), *Journal of Biomedical Science*. 7(4) 292-8; Ashby, M.N. (1998), *Current Opinion in Lipidology*. 9 (2) 99 - 102; e *BioChim. Biophys. Acta*, (1989) 1423(3):19-30.

Como mencionado acima, os antagonistas de anticorpo para ligação de ligando de cinase receptora também podem servir como inibidores da transdução de sinal. Este grupo de inibidores da via de transdução de sinal inclui a utilização de anticorpos humanizados para o domínio de ligação de ligando extracelular de tirosinas cinases receptoras. Por exemplo o anticorpo específico de EGFR Imclone C225 (ver Green, M.C. et al., *Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev.*, (2000), 26(4), 269-286); Anticorpo de erbB2 Herceptin® (ver Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, *Breast cancer Res.*, 2000, 2(3), 176-183); e anticorpo específico de 2CB VEGFR2 (ver Brekken, R.A. et al., *Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice, Cancer Res.* (2000) 60, 5117-5124).

Os inibidores de angiogénese de cinase não receptora também podem ser úteis na presente invenção. Os inibidores de VEGFR e TIE2 relacionados com angiogénese são discutidos acima no que respeita a inibidores de transdução de sinal (ambos os

receptores são tirosinas cinases receptoras). A angiogénese está, em geral, ligada à sinalização de erbB2/EGFR, visto que se mostrou que os inibidores de erbB2 e EGFR inibem a angiogénese, principalmente a expressão de VEGF. Consequentemente, os inibidores de tirosina cinase não receptora podem ser utilizados em combinação com os compostos da presente invenção. Por exemplo, os anticorpos anti-VEGF, que não reconhecem VEGFR (a tirosina cinase receptora), mas ligam-se ao ligando; inibidores de moléculas pequenas de integrina ($\alpha_v\beta_3$) que inibirão a angiogénese; endostatina e angiostatina (não RTK) também se podem revelar úteis em combinação com os compostos divulgados. (Ver Bruns CJ *et al.*, (2000), *Cancer Res.*, 60: 2926-2935; Schreiber AB, Winkler ME e Derynck R. (1986), *Science*, 232: 1250-1253; Yen L *et al.* (2000), *Oncogene* 19: 3460-3469).

Os agentes utilizados em regimes imunoterapêuticos também podem ser úteis em combinação com o composto da invenção. Há um número de estratégias imunológicas para gerar uma resposta imunitária. Estas estratégias estão, em geral, no domínio das vacinações tumorais. A eficácia das abordagens imunológicas pode ser grandemente melhorada através de inibição combinada das vias de sinalização, utilizando um inibidor de molécula pequena. A discussão da abordagem de vacina imunológica/tumoral contra erbB2/EGFR é encontrada em Reilly RT *et al.* (2000), *Cancer Res.* 60: 3569-3576; e Chen Y, Hu D, Eling DJ, Robbins J e Kipps TJ. (1998), *Cancer Res.* 58: 1965-1971.

Os agentes utilizados em regimes proapoptóticos (e. g., oligonucleótidos anti-sentido de bcl-2) também podem ser utilizados na combinação da presente invenção. Os membros da família de proteínas de Bcl-2 bloqueiam a apoptose. A regulação positiva de bcl-2 foi, por conseguinte, ligada a

quimioresistência. Estudos mostraram que o factor de crescimento epidérmico (EGF) estimula os membros anti-apoptóticos da família de bcl-2 (*i. e.*, mcl-1). Por conseguinte, as estratégias concebidas para regular negativamente a expressão de bcl-2 em tumores demonstraram benefício clínico e estão agora em ensaios de Fase II/III, nomeadamente o oligonucleótido anti-sentido de bcl-2 G3139 da Genta. Essas estratégias proapoptóticas utilizando a estratégia de oligonucleótido anti-sentido para bcl-2 são discutidas em Water JS *et al.* (2000), *J. Clin. Oncol.* 18: 1812-1823; e Kitada S *et al.* (1994), *Antisense Res. Dev.* 4: 71-79.

Os inibidores da sinalização do ciclo celular inibem moléculas envolvidas no controlo do ciclo celular. Uma família de proteínas cinases denominadas cinases dependentes de ciclina (CDK) e sua interacção com uma família de proteínas designadas ciclinas controla a progressão pelo ciclo celular eucariótico. A activação e inactivação coordenada de diferentes complexos de ciclina/CDK é necessária para a progressão normal pelo ciclo celular. Vários inibidores da sinalização do ciclo celular estão em desenvolvimento. Por exemplo, os exemplos de cinases dependentes de ciclina, incluindo CDK2, CDK4 e CDK6 e inibidores para as mesmas são descritos, por exemplo, em Rosania *et al.*, *Exp. Opin. Ther. Patents* (2000) 10(2):215-230.

Numa forma de realização, o tratamento do cancro inclui a co-administração do composto da invenção e/ou um seu sal farmacologicamente aceitável e, pelo menos, um agente antineoplásico, tal como um seleccionado do grupo consistindo em agentes anti-microtúbulo, complexos de coordenação de platina, agentes alquilantes, agentes antibióticos, inibidores de topoisomerase II, antimetabolitos, inibidores de topoisomerase

I, hormonas e análogos hormonais, inibidores da via de transdução de sinal, inibidores de tirosina cinase não receptora de angiogénese, agentes imunoterapêuticos, agentes proapoptóticos e inibidores de sinalização de ciclo celular.

Devido ao composto farmacologicamente activo da presente invenção ser activo como um inibidor de PI3 cinase, particularmente o composto modula/inibe a PI3K α , é útil no tratamento do cancro. Devido ao composto farmacologicamente activo da presente invenção também ser activo contra um ou mais de PI3K δ , PI3K β e/ou PI3K γ , este exhibe utilidade terapêutica no tratamento de um estado de doença seleccionado de: distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, motilidade de esperma, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e lesões pulmonares.

Quando o composto da invenção é administrado para o tratamento de um estado de doença seleccionado de: distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, alergia, cancro, asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, motilidade de esperma, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto ou lesões pulmonares, o termo "co-administração" e seus derivados, como aqui utilizado, significa administração simultânea, ou qualquer modo de administração sequencial separada, do composto de inibição de PI3 cinase como aqui descrito e um ingrediente ou ingredientes activos adicionais, conhecido por ser útil no tratamento desse distúrbio auto-imune, cancro, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doença neurodegenerativa, alergia, asma, pancreatite, falência

multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, motilidade de espermatozoides, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e/ou lesões pulmonares.

Ensaaios biológicos

Ensaio Leadseeker SPA de PI3K alfa

O composto da presente invenção foi testado de acordo com os seguintes ensaios e verificou-se ser activo contra PI3K α .

Princípio de ensaio

As esferas de imagiologia de SPA são microsferas contendo cintilante que emitem luz na região do vermelho do espectro visível. Como resultado, estas esferas são idealmente adequadas para utilizar com um imagiador de CCD, tal como o Viewlux. As esferas Leadseeker utilizadas neste sistema são esferas de poliestireno que foram ligadas com polietilenoimina. Quando adicionadas à mistura de ensaio, as esferas absorvem o substrato (PIP2) e produto (PIP3). A P³³-PIP3 adsorvida causará um aumento no sinal, medido como ADU (análogo a unidades digitais). Este protocolo detalha a utilização das esferas de Leadseeker PEI-PS para ensaios utilizando His-p110/p85 PI3K alfa.

Protocolo de ensaio

Os compostos sólidos são tipicamente plaqueados com 0,1 μ L de 100% de DMSO em todos os poços (excepto colunas 6 e 18) de

uma placa de pequeno volume, de 384 poços, de fundo redondo (Greiner 784075). Os compostos são serialmente diluídos (3 vezes em 100% de DMSO) em toda a placa, desde a coluna 1 até à coluna 12 e coluna 13 até à coluna 24 e deixando as colunas 6 e 18 contendo apenas DMSO, para produzir 11 concentrações para cada composto de teste.

O tampão de ensaio contém MOPS (pH 6,5), CHAPS e DTT. A PI3K alfa e PIP2 (L-alfa-D-mio-Fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato [PI(4,5)P₂]₃-O-fosfo ligado, D(+)-sn-1,2-di-O-octanoilgliceril, CellSignals N° 901) são misturadas e incubadas na placa com composto, durante 30 min, antes do início da reacção com a adição de P³³-ATP e MgCl₂ (reagentes adicionados utilizando Zoom). Os poços sem enzima (coluna 18) são tipicamente feitos para determinar o controlo inferior. As esferas Leadseeker PEI-PS em PBS/EDTA/CHAPS são adicionadas (por Multidrop) para neutralizar a reacção e as placas são deixadas incubar durante, pelo menos, uma hora (tipicamente, de um dia para o outro) antes da centrifugação. O sinal é determinado utilizando um detector Viewlux e é, depois, importado para software de ajustamento de curvas (Activity Base) para construção de curvas de resposta de concentração. A percentagem de inibição de actividade é calculada em relação a controlos superiores (C1, 0,1 µL de DMSO na coluna 6, filas A-P)) e controlos inferiores (C2, 5 µL de PIP2 a 40 µM em tampão na coluna 18, setas A-P) utilizando $100 \times (1 - (U1 - C2) / (C1 - C2))$. A concentração de composto de teste produzindo 50% de inibição é determinada utilizando a equação $y = ((V_{max} \times x) / (K + x)) + Y_2$, onde "K" é igual ao IC₅₀. Os valores de IC₅₀ são convertidos em valores de pIC₅₀, i. e., -log IC₅₀ em concentração Molar.

Ensaaios celulares:

DIA 1

- Plaquear as células antes do meio-dia
 - o 10 K células/poço em placas de 96 poços de fundo raso transparentes (*105 µL de f.v.*)
 - o Os últimos quatro poços na última coluna recebem apenas meios
 - o Colocar em incubadora, a 37 °C, de um dia para o outro
- Placa de composto
 - o Preparar em placas de 96 poços de fundo redondo de polipropileno; 8 compostos por placa, titulações de 11 pt de cada (diluição em série de 3x), DMSO na última coluna (f.c. a 0,15% nas células)
 - o 15 µL no primeiro poço, 10 µL de DMSO no restante; tomar 5 µL do primeiro poço e misturar nos seguintes, continuar pela placa (*excluindo a última coluna*); vedar com tampa de papel de alumínio e colocar a 4 °C

DIA 2

- Retirar os inibidores de Tampão de lise (4 °C/-20 °C) e placas de composto (4 °C), descongelar sobre a bancada; preparar tampão de lavagem de Tris a 1x (WB) para encher o reservatório na máquina de lavar e completar o

fornecimento de bancada (utilizar MiliQ), ligar a centrífuga para permitir que arrefeça

- Bloquear as placas de MSD
 - o Preparar 20 mL de solução de bloqueamento a 3%/placa (600 mg de bloqueador A em 20 mL de WB), adicionar 150 µL/poço e incubar, à T.A., durante, pelo menos, 1 h
- Adicionar composto (enquanto se bloqueia)
 - o Adicionar 300 µL de meios de crescimento (RPMI com Q, FBS a 10%) por poço (dil. de 682x de composto) a cada placa de composto
 - o Adicionar 5 µL de diluição de composto a cada poço (110 µL de f.v.) em placas em duplicado
 - o Colocar em incubadora, a 37 °C, durante 30 min
- Preparar lisados
 - o Preparar Tampão de lise de MSD; para 10 mL adicionar 200 µL de solução de inibidor de protease e 100 µL de cada dos inibidores I & II de Fosfatase (*Manter sobre gelo até à sua utilização*)
 - o Remover as placas pós-incubação, aspirar os meios com máquina de lavar placas, lavar 1x com PBS frio e adicionar 80 µL de Tampão de lise de MSD por poço; incubar em agitador, a 4 °C, durante ≥ 30 min
 - o Centrifugar a frio, a 2500 rpm, durante 10 min; deixar as placas na centrífuga, a 4 °C, até à sua utilização

- Ensaio de dúplice de AKT

- o Lavar as placas (4x com 200 µL/poço de WB na máquina de lavar placas); bater com as placas em toalhetes de papel para absorver
- o Adicionar 60 µL de lisados/poço, incubar em agitador, à T.A., durante 1 h
- o Durante a incubação preparar Ab de detecção (3 mL/placa; 2 mL de WB e 1 mL de solução de bloqueamento com Ab a 10 nM); repetir a etapa de lavagem como acima
- o Adicionar 25 µL de Ab/poço, incubar em agitador, à T.A., durante 1 h; repetir a etapa de lavagem como acima
- o Adicionar 150 µL/poço de Tampão de Leitura a 1x (diluir stock a 4x em ddH₂O, 20 mL/placa), ler imediatamente

- Análise

- o Observar todos os pontos de dados a cada concentração de composto.
- o Os pontos de dados de concentração mais elevada de inibidor devem ser iguais ou superiores a 70% do controlo de DMSO.
- o A IC₅₀ para corridas em duplicado deve ser 2 vezes uma da outra (não assinalado no modelo de sumário).
- o O Y min deve ser superior a zero; se ambos os mins forem assinalados a vermelho (>35), então, o composto é listado como inactivo (IC₅₀=> dose mais elevada). Se

apenas um min for assinalado a vermelho, mas ainda ≤ 50 , então, considerar a IC50 como listada.

- o Quaisquer pontos de dados iguais ou superiores a 30% fora da curva não serão considerados.

Ensaio de Crescimento/Morte Celular:

BT474, HCC1954 e T-47D (mama humano) foram cultivados em RPMI-1640 contendo soro bovino fetal a 10%, a 37 °C, em incubadora de CO₂ a 5%. As células foram divididas em frascos T75 (Falcon N°353136), dois a três dias antes da implementação do ensaio, a densidade que produz, aproximadamente, 70-80% de confluência, no momento da colheita para ensaio. As células foram recolhidas utilizando tripsina-EDTA a 0,25% (Sigma N°4049). As contagens celulares foram realizadas em suspensão celular utilizando coloração de exclusão de Azul de Tripano. As células foram, depois, plaqueadas em poliestireno de 384 poços de fundo raso preto (Greiner N°781086) em 48 µL de meios de cultura por poço, a 1000 células/poço. Todas as placas foram colocadas em CO₂ a 5%, 37 °C, de um dia para o outro e os compostos de teste foram adicionados no dia seguinte. Uma placa foi tratada com CellTiter-Glo (Promega N°G7573), para uma medição de dia 0 (t=0) e lida como descrito abaixo. Os compostos de teste foram preparados em placas de 384 poços de polipropileno de fundo transparente (Greiner N°781280), com diluições consecutivas de duas vezes. 4 µL destas diluições foram adicionados a 105 µL de meios de cultura, após mistura da solução, 2 µL destas diluições foram adicionados a cada poço das placas de células. A concentração final de DMSO em todos os poços foi 0,15%. As células foram incubadas a 37 °C, CO₂ a 5%, durante 72 horas. Após 72 horas de incubação com compostos, cada

placa foi revelada e lida. O reagente CellTiter-Glo foi adicionado às placas de ensaio utilizando um volume equivalente ao volume de cultura celular nos poços. As placas foram agitadas durante, aproximadamente, dois minutos e incubadas à temperatura ambiente durante, aproximadamente, 30 minutos e o sinal quimioluminescente foi lido no leitor Analyst GT (Molecular Devices). Os resultados foram expressos como uma percentagem do t=0 e representados graficamente contra a concentração de composto. A inibição de crescimento celular foi determinada para cada composto pelo ajustamento da dose-resposta com um ajuste de curva de 4 ou 6 parâmetros, utilizando o software XLfit e determinando a concentração que inibia 50% do crescimento celular (gIC50), com o Y min como o t=0 e Y max como o controlo de DMSO. O valor dos poços sem células foi subtraído de todas as amostras para correcção do fundo.

Referências adicionais:

O composto da presente invenção também pode ser testado para determinar a sua actividade inibidora a PI3K α , PI3K δ , PI3K β e PI3K γ , de acordo com os ensaios nas seguintes referências:

Para todas as isoformas de PI3K:

1. Clonagem, expressão, purificação e caracterização das isoformas de fosfoinositídeo 3-cinase de Classe Ia humana: Meier, T.I.; Cook, J.A.; Thomas, J.E.; Radding, J.A.; Horn, C.; Lingaraj, T.; Smith, M.C. *Protein Expr. Purif.*, 2004, 35(2), 218.
2. Ensaio de polarização de fluorescência competitiva para a detecção da actividade de fosfoinositídeo cinase e

fosfatase: Drees, B.E.; Weipert, A.; Hudson, H.; Ferguson, C.G.; Chakravarty, L.; Prestwich, G.D. *Comb. Chem. High Throughput. Screen.*, 2003, 6(4), 321.

Para PI3Ky: Documento WO 2005/011686 A1.

O composto farmacologicamente activo no âmbito desta invenção é útil como um inibidor de PI3 Cinase em mamíferos, particularmente humanos, que dele necessitam.

A presente invenção proporciona, por conseguinte, o composto da invenção ou um seu sal farmacologicamente aceitável para utilização no tratamento de doenças associadas à inibição de PI3 cinase, particularmente: distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, cancro, motilidade de esperma, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e lesões pulmonares e outros estados requerendo modulação/inibição de PI3 cinase. O composto é utilizado para tratamento dos estados de doença acima indicados, devido à sua capacidade para actuar como um inibidor de PI3. O fármaco pode ser administrado a um doente que dele necessita por qualquer via de administração convencional, incluindo mas não limitada a intravenosa, intramuscular, oral, subcutânea, intradérmica e parentérica.

O composto farmacologicamente activo da presente invenção está incorporado em formas de dosagem convenientes, tais como cápsulas, comprimidos ou preparações injectáveis. São empregues veículos farmacêuticos sólidos ou líquidos. Os veículos sólidos

incluem amido, lactose, sulfato de cálcio di-hidrato, terra alba, sacarose, talco, gelatina, ágar, pectina, acácia, estearato de magnésio e ácido esteárico. Os veículos líquidos incluem xarope, óleo de amendoim, azeite, solução salina e água. De modo semelhante, o veículo ou diluente pode incluir qualquer material de libertação prolongada, tais como monoestearato de glicerilo ou diestearato de glicerilo, isolado ou com uma cera. A quantidade de veículo sólido varia largamente mas, de um modo preferido, será desde cerca de 25 mg a cerca de 1 g por unidade de dosagem. Quando é utilizado um veículo líquido, a preparação será na forma de um xarope, elixir, emulsão, cápsula de gelatina mole, líquido injectável estéril, tal como uma ampola, ou uma suspensão líquida aquosa ou não aquosa.

As preparações farmacêuticas são preparadas seguindo técnicas convencionais de um químico farmacêutico, envolvendo a mistura, granulação e compressão, quando necessário, para formas de comprimido, ou mistura, enchimento e dissolução dos ingredientes, conforme apropriado, para proporcionar os produtos orais ou parentéricos desejados.

As doses do composto farmacêuticamente activo presentemente inventado numa unidade de dosagem farmacêutica, como descrito acima, será uma quantidade eficaz, não tóxica, de um modo preferido seleccionada da gama de 0,001 - 100 mg/kg de composto activo, de um modo preferido 0,001 - 50 mg/kg. Quando se trata um doente humano a necessitar de um inibidor de PI3K, a dose seleccionada é administrada, de um modo preferido, desde 1-6 vezes diariamente, oralmente ou parentericamente. As formas preferidas de administração parentérica incluem topicamente, rectalmente, transdermicamente, por injeção e continuamente por infusão. As unidades de dosagem oral para administração humana

contêm, de um modo preferido, desde 0,05 a 3500 mg de composto activo. A administração oral, que utiliza dosagens inferiores, é preferida. Contudo, quando segura e conveniente para o doente, também pode ser utilizada a administração parentérica a dosagens elevadas.

As dosagens óptimas a serem administradas podem ser facilmente determinadas pelos especialistas na técnica e irão variar com o inibidor de PI3 cinase particular em utilização, o título da preparação, o modo de administração e o avanço do estado de doença. Factores adicionais dependendo do doente particular sendo tratado resultarão numa necessidade de ajustar as dosagens, incluindo idade, peso, dieta do doente e momento de administração. O composto desta invenção para utilização na indução da actividade inibidora de PI3 cinase em mamíferos, incluindo humanos, compreende a administração a um indivíduo a necessitar dessa actividade de uma quantidade de modulação/inibição de PI3 cinase eficaz de um composto farmacologicamente activo da presente invenção.

A invenção também proporciona para a utilização do composto da invenção na preparação de um medicamento para utilização como um inibidor de PI3 cinase.

A invenção também proporciona para a utilização do composto da invenção na preparação de um medicamento para utilização em terapia.

A invenção também proporciona para a utilização do composto da invenção na preparação de um medicamento para utilização no tratamento de distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, alergia,

asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, cancro, motilidade de esperma, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e lesões pulmonares.

A invenção também proporciona para uma composição farmacêutica para utilização como um inibidor de PI3 que compreende o composto da invenção ou um veículo farmaceuticamente aceitável.

A invenção também proporciona para uma composição farmacêutica para utilização no tratamento de distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, cancro, motilidade de esperma, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e lesões pulmonares, que compreende o composto da invenção ou um veículo farmaceuticamente aceitável.

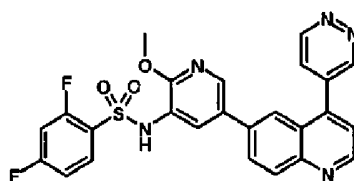
Além disso, o composto farmaceuticamente activo da presente invenção pode ser co-administrado com ingredientes activos adicionais, incluindo compostos conhecidos por terem utilidade quando utilizados em combinação com um inibidor de PI3 cinase.

Sem elaboração adicional, considera-se que um especialista na técnica pode, utilizando a descrição anterior, utilizar a presente invenção na sua extensão máxima.

Detalhes Experimentais

Exemplo 1

2,4-difluoro-N-{2-(metiloxi)-5-[4-(4-piridazinil)-6-quinolinil]-3-piridinil}benzenossulfonamida



a) 6-bromo-4-(4-piridazinil)quinolina

Dissolveu-se 6-bromo-4-iodoquinolina (17,43 g, 52,2 mmol), 4-(tributilstananil)piridazina (19,27 g, 52,2 mmol) e $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-CH}_2\text{Cl}_2$ (2,132 g, 2,61 mmol) em 1,4-dioxano (200 mL) e aqueceu-se a 105 °C. Após 3 h, adicionou-se mais catalisador de paládio e aqueceu-se durante 6 h. Concentrou-se e dissolveu-se em cloreto de metileno/metanol. Purificou-se por cromatografia de coluna (combiflash), com 2% de MeOH/EtOAc até 5% de MeOH/EtOAc, para proporcionar o composto de título em bruto. A trituração com EtOAc forneceu 6-bromo-4-(4-piridazinil)quinolina (5,8 g, 20,27 mmol, rendimento de 38,8%). MS(ES)⁺ m/e 285,9, 287,9 [M+H]⁺.

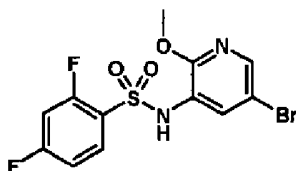
b) 2,4-difluoro-N-{2-(metiloxi)-5-[4-(4-piridazinil)-6-quinolinil]-3-piridinil}benzenossulfonamida

Uma pasta de 6-bromo-4-(4-piridazinil)quinolina (4,8 g, 16,78 mmol), bis(pinacolato)diboro (4,69 g, 18,45 mmol), PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (530 mg, 0,649 mmol) e acetato de potássio (3,29 g, 33,6 mmol) em 1,4-dioxano anidro (120 mL) foi aquecida a 100 °C, durante 3 h. O desaparecimento completo do brometo de partida foi observado por LCMS. A reação foi, depois, tratada com N-[5-bromo-2-(metiloxi)-3-piridinil]-2,4-difluorobenzenossulfonamida (6,68 g, 17,61 mmol) e outra porção de PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (550 mg, 0,673 mmol), depois, aquecida a 110 °C, durante 16 h. A reação foi deixada arrefecer à temperatura ambiente, filtrada e concentrada. A purificação do resíduo por cromatografia (Analogix; 5% de MeOH/5%CH₂Cl₂/90% de EtOAC) proporcionou 6,5 g (76%) de produto desejado. MS(ES)⁺ m/e 505,9 [M+H]⁺.

INTERMEDIÁRIOS:

Intermediário 1

Preparação de N-[5-bromo-2-(metiloxi)-3-piridinil]-2,4-difluorobenzenossulfonamida



a) 5-bromo-2-(metiloxi)-3-nitropiridina

A uma solução arrefecida (0 °C) de 5-bromo-2-cloro-3-nitropiridina (50 g, 211 mmol) em metanol (200 mL) foi adicionada, gota a gota, ao longo de 10 minutos, solução de metóxido de sódio de 20% (50 mL, 211 mmol). A reacção, que rapidamente se tornou heterogénea, foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 16 h. A reacção foi filtrada e o precipitado diluído com água (200 mL) e agitado durante 1 h. Os sólidos foram filtrados, lavados com água (3 x 100 mL) e secos num forno vac (40 °C) para proporcionar 5-bromo-2-(metiloxi)-3-nitropiridina (36 g, 154 mmol, rendimento de 73,4%) como um pó amarelo claro. O filtrado original foi concentrado *in vacuo* e diluído com água (150 mL). Foi adicionado cloreto de amónio saturado (25 mL) e a mistura agitada durante 1 h. Os sólidos foram filtrados, lavados com água e secos num forno vac (40 °C) para proporcionar uma segunda colheita de 5-bromo-2-(metiloxi)-3-nitropiridina (9 g, 38,6 mmol, rendimento de 18,34%). Rendimento total = 90%. MS(ES)⁺ m/e 232,8, 234,7 [M+H]⁺.

b) 5-bromo-2-(metiloxi)-3-piridinamina

A uma solução de 5-bromo-2-(metiloxi)-3-nitropiridina (45 g, 193 mmol) em acetato de etilo (1 L) foi adicionado cloreto de estanho (II) di-hidrato (174 g, 772 mmol). A mistura reaccional foi aquecida a refluxo, durante 4 h. A LC/MS indicou que algum material de partida permaneceu, assim, adicionou-se cloreto de estanho (II) di-hidrato a 20%, em mol, e continuou-se a aquecer até refluxo. Após 2 h, a reacção foi deixada arrefecer à temperatura ambiente e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi

tratado com hidróxido de sódio a 2 N e a mistura agitada durante 1 h. A mistura foi, depois, filtrada com cloreto de metileno (1 L), através de Celite e lavada com cloreto de metileno (500 mL). As camadas foram separadas e os orgânicos secos sobre sulfato de magnésio e concentrados para proporcionar 5-bromo-2-(metiloxi)-3-piridinamina (23 g, 113 mmol, rendimento de 58,7%). O produto foi utilizado em bruto em reacções subsequentes. MS(ES)+ m/e 201,9, 203,9 [M+H]⁺.

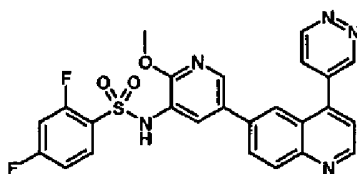
c) N-[5-bromo-2-(metiloxi)-3-piridinil]-2,4-difluorobenzenossulfonamida

A uma solução arrefecida (0 °C) de 5-bromo-2-(metiloxi)-3-piridinamina (20,3 g, 100 mmol) em piridina (200 mL) foi adicionado lentamente cloreto de 2,4-difluorobenzenossulfonilo (21,3 g, 100 mmol), ao longo de 15 min (a reacção tornou-se heterogénea). O banho de gelo foi removido e a reacção foi agitada, à temperatura ambiente, durante 16 h, momento em que a reacção foi diluída com água (500 mL) e os sólidos removidos por filtração e lavados com quantidades abundantes de água. O precipitado foi seco num numa estufa a vácuo, a 50 °C, para proporcionar N-[5-bromo-2-(metiloxi)-3-piridinil]-2,4-difluorobenzenossulfonamida (12 g, 31,6 mmol, rendimento de 31,7%) MS(ES)+ m/e 379,0, 380,9 [M+H]⁺.

Lisboa, 15 de Abril de 2013

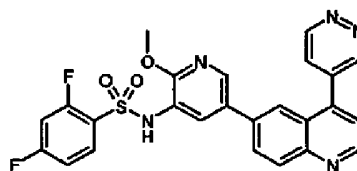
REIVINDICAÇÕES

1. Composto que é a 2,4-difluoro-N-{2-(metiloxi)-5-[4-(4-piridazinil)-6-quinolinil]-3-piridinil}benzenossulfonamida



ou um seu sal farmacologicamente aceitável.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1 que é a 2,4-difluoro-N-{2-(metiloxi)-5-[4-(4-piridazinil)-6-quinolinil]-3-piridinil}benzenossulfonamida



3. Composto como definido na reivindicação 1, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, para utilização em terapia médica.
4. Composto como definido na reivindicação 1, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, para utilização na inibição de uma ou mais fosfatoinositídeos 3-cinases (PI3K) num humano.
5. Composto como definido na reivindicação 1, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, para utilização no tratamento

de um ou mais estados de doença, seleccionados de um grupo consistindo em: distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, cancro, motilidade de esperma, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e lesões pulmonares num humano.

6. Composto de acordo com a reivindicação 1 e/ou um seu sal farmacêuticamente aceitável e, pelo menos, um agente antineoplásico, tal como um seleccionado de um grupo consistindo em agentes anti-microtúbulo, complexos de coordenação de platina, agentes alquilantes, agentes antibióticos, inibidores de topoisomerase II, antimetabolitos, inibidores de topoisomerase I, hormonas e análogos hormonais, inibidores da via de transdução de sinal, inibidores de angiogénese da tirosina cinase não receptora, agentes imunoterapêuticos, agentes proapoptóticos e inibidores de sinalização de ciclo celular, para utilização na co-administração para tratar o cancro.
7. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 5, em que o estado de doença é seleccionado de um grupo consistindo em: esclerose múltipla, psoríase, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistémico, doença inflamatória intestinal, inflamação pulmonar, trombose, infecção/inflamação cerebral, meningite e encefalite.
8. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 5, em que o estado de doença é seleccionado de um grupo

consistindo em: Doença de Alzheimer, doença de Huntington, trauma de SNC, AVC e estados isquémicos.

9. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 5, em que o estado de doença é seleccionado de um grupo consistindo em: aterosclerose, hipertrofia de coração, disfunção de miócito cardíaco, pressão sanguínea elevada e vasoconstricção.
10. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 5, em que o estado de doença é seleccionado de um grupo consistindo em: doença pulmonar obstrutiva crónica, fibrose de choque anafiláctico, psoríase, doenças alérgicas, asma, AVC, isquemia-reperusão, agregação/activação de plaquetas, atrofia/hipertrofia de músculo esquelético, recrutamento de leucócitos em tecido de cancro, angiogénese, metástase de invasão, melanoma, sarcoma de Kaposi, infecções bacterianas e virais agudas e crónicas, sépsis, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto, glomeruloesclerose, glomerulonefrite, fibrose renal progressiva, lesões endoteliais e epiteliais no pulmão e inflamação de vias respiratórias pulmonares.
11. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 5, em que a doença é cancro.
12. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 11, em que o cancro é seleccionado de um grupo consistindo em: (gliomas) cerebrais, glioblastomas, leucemia, síndrome de Bannayan-Zonana, doença de Cowden, doença de Lhermitte-Duclos, mama, cancro da mama inflamatório, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, Rabdomyosarcoma, ependimoma,

meduloblastoma, cólon, cabeça e pescoço, rim, pulmão, fígado, melanoma, ovariano, pancreático, próstata, sarcoma, osteossarcoma, tumor de células gigantes do osso e tireóide.

13. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 11, em que o cancro é seleccionado de um grupo consistindo em: cancro ovariano, cancro pancreático, cancro da mama, cancro da próstata e leucemia.
14. Utilização de um composto como definido na reivindicação 1, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, na preparação de um medicamento para utilização no tratamento de um ou mais estados de doença, seleccionados de um grupo consistindo em: distúrbios auto-imunes, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatite, falência multiorgânica, doenças renais, agregação plaquetária, cancro, motilidade de espermatozoides, rejeição de transplantação, rejeição de enxerto e lesões pulmonares num humano.
15. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 4, em que a referida PI3 cinase é uma PI3K α .
16. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 4, em que a referida PI3 cinase é uma PI3K γ .
17. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 4, em que a referida PI3 cinase é uma PI3K δ .

18. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 5, em que o composto ou um seu sal farmaceuticamente aceitável é administrado numa composição farmacêutica.
19. Composição farmacêutica compreendendo um composto como definido na reivindicação 1, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um veículo farmaceuticamente aceitável.

Lisboa, 15 de Abril de 2013