



(11) PI 0809996-0 B1



* B R P I 0 8 0 9 9 9 6 B 1 *

(22) Data do Depósito: 02/04/2008

República Federativa do Brasil

Ministério da Economia

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(45) Data de Concessão: 03/09/2019

(54) Título: COMPOSTOS, SEUS USOS PARA TRATAR UM DISTÚRBIO PROLIFERATIVO, VIRAL, NEURODEGENERATIVO, DO SNC, DIABETES, ALOPECIA E UM ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL, E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

(51) Int.Cl.: C07D 473/16; A61K 31/52; A61P 35/00.

(30) Prioridade Unionista: 04/04/2007 GB 07 06632.7; 04/04/2007 US 60/921,897.

(73) Titular(es): CANCER RESEARCH TECHNOLOGY LTD; CYCLACEL LIMITED.

(72) Inventor(es): PETER WILLIAM SHELDRAKE; BUTRUS ATRASH; SIMON GREEN; EDWARD MCDONALD; SHEELAGH FRAME.

(86) Pedido PCT: PCT GB2008001173 de 02/04/2008

(87) Publicação PCT: WO 2008/122767 de 16/10/2008

(85) Data do Início da Fase Nacional: 02/10/2009

(57) Resumo: COMPOSTOS, SEUS USOS PARA TRATAR UM DISTÚRBIO PROLIFERATIVO, VIRAL, NEURODEGENERATIVO, DO SNC, DIABETES, ALOPECIA E UM ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL, E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS A presente invenção refere-se a compostos de fórmula (I) em que: R1 e R2 são cada qual independentemente H, alquila ou haloalquila; R3 e R4 são cada qual independentemente H, alquila, haloalquila ou arila; R5 é alquila ou cicloalquila ou cicloalquil-alquila cada das quais pode ser opcionalmente substituída com um ou mais grupos OH; R6 é selecionado a partir de ciclopripilamino, ciclopripilmetilamino, ciclobutilamino, ciclobutilmetilamino e fórmula (a) em que um dentre X, Y e Z é N e os restantes são CR9; R7, R8 e cada R9 são independentemente H, alquila ou haloalquila, em que pelo menos um dentre R7, R8 e cada R9 é diferente de H. Um outro aspecto da invenção refere-se às composições farmacêuticas que compreendem compostos de fórmula (I), e o uso dos referidos compostos no tratamento de distúrbios proliferativos, distúrbios virais, acidente vascular cerebral, alopecia, distúrbios do SNC, distúrbios neurodegenerativos, ou diabetes .

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
"COMPOSTOS, SEUS USOS PARA TRATAR UM DISTÚRBIO
PROLIFERATIVO, VIRAL, NEURODEGENERATIVO, DO SNC,
DIABETES, ALOPECIA E UM ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL, E
COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS".

CAMPO DA INVENÇÃO

[0001] A presente invenção refere-se a novos derivados de purina 2,6,9-substituídos e suas aplicações biológicas. Em particular, a invenção refere-se a derivados de purina que têm propriedades antiproliferativas que são úteis no tratamento de distúrbios proliferativos tal como câncer, leucemia, psoríase e similares.

ANTECEDENTES

[0002] Iniciação, progresso, e conclusão do ciclo celular de mamífero são regulados por vários complexos de quinase dependentes de ciclina (CDK) que são críticos para crescimento celular. Estes complexos compreendem pelo menos uma subunidade catalítica (a própria CDK) e uma reguladora (cyclina). Alguns dos complexos mais importantes para o regulamento de ciclo celular incluem ciclina A (CDK1-da mesma forma conhecida como cdc2, e CDK2), ciclina B1-B3 (CDK1), ciclina D1-D3 (CDK2, CDK4, CDK5, CDK6), ciclina E (CDK2). Cada um destes complexos está envolvido em uma fase particular do ciclo celular. Entretanto, nem todos os membros da família de CDK estão exclusivamente envolvidos no controle de ciclo celular. Por exemplo, CDKs 7, 8, e 9 estão implicados no regulamento de transcrição, considerando que CDK5 desempenha um papel na função celular neuronal e secretória.

[0003] A atividade de CDKs é regulada pós-translacionalmente por associações transitórias com outras proteínas e por alterações de sua localização intracelular. O desenvolvimento de tumor está intimamente associado com a alteração genética e desregulação de CDKs e seus

reguladores, sugerindo que inibidores de CDKs podem ser terapêuticos anticâncer úteis. De fato, os resultados precoces sugerem que células normais e transformadas diferem-se em sua exigência para por exemplo, ciclina A/CDK2 e que pode ser possível desenvolver novos agentes antineoplásicos desprovidos da toxicidade de hospedeiro geral observada com fármacos citotóxicos e citostáticos convencionais. Enquanto a inibição de CDKs relacionadas ao ciclo celular é claramente pertinente, por exemplo, em aplicações oncológicas, isto pode ser o caso para a inibição de CDKs de regulação de RNA polimerase. Por outro lado, a inibição da função de CDK9/ciclina T foi recentemente ligada à assim a prevenção da replicação de HIV e a descoberta de novos biologia de CDK desse modo continua a tornar acessível novas indicações terapêuticas novas para inibidores de CDK (Sausville, E.A. Trends Molec. Med. 2002, 8,S32-S37).

[0004] A função de CDKs é fosforilar e desse modo ativar ou desativar certas proteínas, incluindo, por exemplo, proteínas de retinoblastoma, laminas, histona H1, e componentes do fuso mitótico. A etapa catalítica mediada por CDKs envolve uma reação de fosfo-transferência de ATP ao substrato de enzima macromolecular. Vários grupos de compostos (revisados em, por exemplo, Fischer, P.M. Curr. Opin. Drug Discovery Dev. 2001, 4, 623-634) foram constatados possuir propriedades antiproliferativas em virtude de antagonismo de ATP específico de CDK.

[0005] WO 98/05335 (CV Therapeutics Inc) descreve derivados de purina 2,6,9-trissubstituídos que são inibidores seletivos de cinases de ciclo celular. Tais compostos são úteis no tratamento de distúrbios autoimunes, por exemplo, artrite reumatóide, lúpus, diabetes tipo I, esclerose múltipla; tratamento do câncer, doença cardiovascular, tais como reestenose, doença hospedeiro versus enxerto,gota, doença renal policística e outras doenças proliferativas cuja patogênese envolve

a proliferação celular anormal.

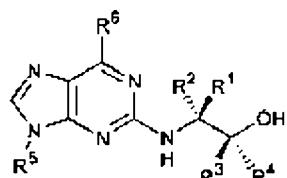
[0006] WO 99/07705 (The Regents of the University of California) descreve análogos de purina que inibem inter alia proteína cinases, proteínas G e polimerases. Mais especificamente, a invenção refere-se a métodos de usar tais análogos de purina para tratar distúrbios proliferativos celulares e doenças neurodegenerativas.

[0007] WO 97/20842 (CNRS) da mesma forma descreve derivados de purina que exibem propriedades antiproliferativas que são úteis no tratamento do câncer, psoríase, e distúrbios neurodegenerativos. Outros derivados de purina são descritos em WO 03/002565, WO 04/016613 e WO 04/016612.

[0008] A presente invenção busca fornecer novos derivados de purina 2,6,9-substituídos, particularmente aqueles tendo propriedades antiproliferativas.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0009] Um primeiro aspecto da invenção refere-se a um composto de fórmula 1, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,



(I)

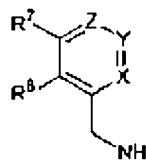
em que:

R¹ e R² são cada qual independentemente H, alquila ou haloalquila;

R³ e R⁴ são cada qual independentemente H, alquila, haloalquila ou arila;

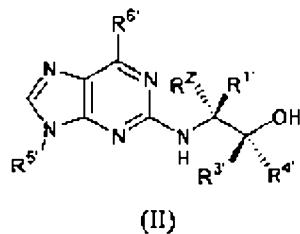
R⁵ é alquila ou cicloalquila ou cicloalquil-alquila cada das quais pode ser opcionalmente substituída com um ou mais grupos OH;

R⁶ é selecionado a partir de ciclopropilamino, ciclopropilmetilamino, ciclobutilamino, ciclobutilmetilamino e



onde um dentre X, Y e Z é N e os restantes são CR⁹;
 R⁷, R⁸ e cada R⁹ são independentemente H, alquila ou haloalquila, em que pelo menos um dentre R⁷, R⁸ e cada R⁹ é diferente de H.

[00010] Um segundo aspecto da invenção refere-se a um composto de fórmula II, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

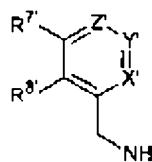


em que:

pelo menos um dentre R¹, R², R³ e R⁴ é haloalquila e os restantes são cada qual independentemente H, alquila ou haloalquila;

R⁵ é alquila ou cicloalquila ou cicloalquil-alquila cada das quais pode ser opcionalmente substituída com um ou mais grupos OH;

R⁶ é selecionado a partir de ciclopropilamino, ciclopropilmetilamino, ciclobutilamino, ciclobutilmetilamino e



onde X', Y' e Z' são cada qual independentemente CR⁹, ou um dentre X', Y' e Z' é N e os restantes são CR⁹; e

R⁷, R⁸ e cada R⁹ são independentemente H, halo, alquila ou haloalquila.

[00011] Um terceiro aspecto da invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende um composto da invenção e um veículo farmaceuticamente aceitável, diluente ou excipiente.

[00012] Um quarto aspecto da invenção refere-se ao uso de um

composto da invenção na preparação de um medicamento para tratar um ou mais dos seguintes distúrbios:

um distúrbio proliferativo;
um distúrbio viral;
um acidente vascular cerebral;
alopecia;
um distúrbio do SNC;
um distúrbio neurodegenerativo; e
diabetes.

[00013] Um quinto aspecto da invenção refere-se ao uso de um composto da invenção como um agente antimitótico.

[00014] Um sexto aspecto da invenção refere-se ao uso de um composto da invenção para inibir uma proteína quinase.

[00015] Um sétimo aspecto da invenção refere-se a um método de tratar uma doença proliferativa, o referido método compreendendo administrar a um mamífero uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da invenção.

[00016] Um oitavo aspecto da invenção refere-se ao uso de um composto da invenção em um ensaio para identificar os compostos candidato adicionais que influenciam a atividade de uma ou mais enzimas CDK.

DESCRÍÇÃO DETALHADA

[00017] Como mencionado acima, um primeiro aspecto da invenção refere-se a um composto de fórmula (I) como aqui anteriormente definido.

[00018] Como aqui usado, o termo "alquila" inclui igualmente grupos alquila de cadeia ramificada e linear saturada. Preferivelmente, o grupo alquila é um grupo alquila de C₁₋₂₀, mais preferivelmente um C₁₋₁₅, ainda mais preferivelmente um grupo alquila de C₁₋₁₂, mais preferivelmente ainda, um grupo alquila de C₁₋₆, mais preferivelmente um grupo alquila

de C₁₋₃. Por exemplo, grupos alquila particularmente preferidos incluem metila, etila, propila, isopropila, butila, isobutila, terc-butila, pentila e hexila.

[00019] Como aqui usado, o termo "cicloalquila" refere-se a um grupo alquila cíclico. Preferivelmente, o grupo cicloalquila é um grupo cicloalquila de C3-12.

[00020] Como aqui usado, o termo "cicloalquil-alquila" refere-se a um grupo tendo igualmente funcionalidades de alquila e cicloalquila.

[00021] Preferivelmente, um dentre R1 e R2 é H e o outro é alquila.

[00022] Mais preferivelmente, um dentre R1 e R2 é H e o outro é metila, etila ou isopropila.

[00023] Em uma modalidade preferida, R1 é etila e R2 é H.

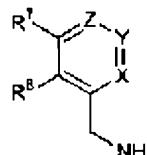
[00024] Em uma modalidade preferida da invenção, R3 e R4 são cada qual, independentemente, H, alquila, haloalquila ou arila, e pelo menos um dentre R3 e R4 é diferente de H.

[00025] Em uma modalidade preferida da invenção, um dentre R3 e R4 é H e o outro é alquila ou haloalquila.

[00026] Em uma modalidade mais preferida, R3 é H e R4 é alquila ou haloalquila.

[00027] Mais preferivelmente, R3 é H e R4 é metila.

[00028] Em uma modalidade preferida da invenção, R6 é



[00029] Em uma modalidade preferida da invenção, Y é N. 11. Preferivelmente para esta modalidade, X é CH, Z é C-alquila, R7 é H e R8 é alquila. Mais preferivelmente, para esta modalidade, X é CH, Z é C-Me e R7 é H e R8 é Me. Em uma modalidade preferida alternativa, X é CH, Z é C-Me e R7 e R8 são ambos H. Em ainda outra modalidade preferida alternativa, X é CH, Z é C-CF₃ e R7 e R8 são ambos H.

[00030] Em uma modalidade preferida da invenção, X é N. Preferivelmente, para esta modalidade, Y é C-Me, Z é CH e R7 e R8 são ambos H. Em ainda outra modalidade preferida alternativa, Y e Z são CH, R7 é H e R8 é Me.

[00031] Em uma modalidade preferida da invenção, Z é N. Preferivelmente, para esta modalidade, X é CH, Y é C-Me, R7 é Me e R8 é H.

[00032] Em outra modalidade preferida da invenção, R6 é ciclopropilamino, ciclopropilmetilamino, ciclobutilamino ou ciclobutilmetilamino.

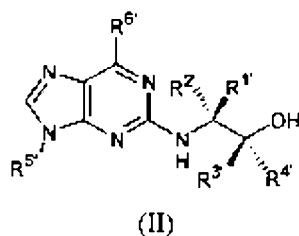
[00033] Em outra modalidade preferida da invenção, R5 é isopropila.

[00034] Em uma modalidade altamente preferida, o composto da invenção é selecionado a partir dos seguintes:

[1]	(2R,3S-3-(6-((4,6-Dimetilpiridin-3-il)metilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[2]	2R,3S-3-(9-isopropil-6-((6-metilpiridin-3-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[6]	2R,3S-3-(6-Ciclopropilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[7]	2R,3S-3-(6-(Ciclopropilmetilamino)-9-isopropil-9H-purina-2-ilamino)pentan-2-ol
[8]	2R,3S-3-(6-(Ciclobutilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[10]	2R,3S-3-(9-Isopropil-6-(2,6-dimetilpiridina-4-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[11]	2R,3S-3-(9-Isopropil-6-((6-(trifluorometil)piridina-3-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[12]	2R,3S-3-(9-Isopropil-6-((6-metilpiridin-2-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol

[13]	2R,3S-3-(9-Isopropil-6-((3-metilpiridin-2-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[15]	1,1,1 -Trifluor-3-(9-isopropil-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)propan-2-ol
[16]	1,1,1 -Trifluor-3-(9-isopropil-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[17]	1,1,1 -Trifluor-3-(9-isopropil-6-((6-(trifluorometil)piridin-3-il)metilamino)-9H-2-ilamino)pentan-2-ol
[18]	1,1,1,3,3,3-Hexafluor-2-((9-isopropil-6-(piridina-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)metil)propan-2-ol

[00035] Outro aspecto da invenção refere-se a um composto de fórmula II, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

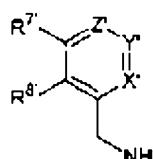


em que:

pelo menos um dentre R^{1'}, R^{2'}, R^{3'} e R^{4'} é haloalquila e os restantes são cada qual independentemente H, alquila ou haloalquila;

R^{5'} é alquila ou cicloalquila ou cicloalquil-alquila cada das quais pode ser opcionalmente substituída com um ou mais grupos OH;

R^{6'} é selecionado a partir de ciclopropilamino, ciclopropilmetilamino, ciclobutilamino, ciclobutilmetilamino e



onde X', Y' e Z' são cada qual independentemente CR^{9'}, ou um dentre X', Y' e Z' é N e os restantes são CR^{9'}; e

R^{7'}, R^{8'} e cada R^{9'} são independentemente H, halo, alquila ou haloalquila.

[00036] Preferivelmente, para este aspecto da invenção, R5' é

isopropila.

[00037] Preferivelmente, para este aspecto da invenção, R6' é



[00038] Em uma modalidade preferida, Y' é N, X' e Z' são CH, e R7' e R8' são ambos H.

[00039] Em outra modalidade preferida da invenção, um dentre R1' e R2' é H e o outro é alquila, ou R1' e R2' são ambos H.

[00040] Em uma modalidade preferida da invenção, um dentre R3' e R4' é H e o outro é CF₃.

[00041] Em uma modalidade especialmente preferida, o composto da invenção é selecionado dos seguintes:

[15]	1,1,1-Triflúor-3-(9-isopropil-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)propan-2-ol
[16]	1,1,1 -Triflúor-3-(9-isopropil-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[18]	1,1,1,3,3,3-Hexaflúor-2-((9-isopropil-6-(piridina-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)metil)propan-2-ol.

[00042] Um outro aspecto da invenção refere-se a um composto selecionado a partir do seguinte:

[1]	(2R,3S-3-(6-((4,6-Dimetilpiridin-3-ilmetilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[2]	2R,3S-3-(9-isopropil-6-((6-metilpiridin-3-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[3]	2R,3S-3-(6-(3-Clorobenzilamino)- 9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[4]	2R,3S-3-[6-(3-Fluorobenzilamino)- 9-isopropil-9H-purin-2-ilamino]-pentan-2-ol

[5]	2R,3S-3-(9-(Ciclopropilmetil)-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[6]	2R,3S-3-(6-Ciclopropilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[7]	2R,3S-3-(6-(Ciclopropilmetilamino)-9-isopropil-9H-purina-2-ilamino)pentan-2-ol
[8]	2R,3S-3-(6-(Ciclobutilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[9]	2R,3S-3-(9-Isopropil-6-(piridina-4-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[10]	2R,3S-3-(9-Isopropil-6-(2,6-dimetilpiridina-4-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[11]	2R,3S-3-(9-Isopropil-6-((6-(trifluorometil)piridina-3-il)metilamino)-9H-purin-2ilamino)pentan-2-ol
[12]	2R,3S-3-(9-Isopropil-6-((6-metilpiridin-2-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[13]	2R,3S-3-(9-Isopropil-6-((3-metilpiridin-2-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[14]	- (R)-1-(9-Isopropil-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)propan-2-ol
[15]	1,1,1 -Triflúor-3-(9-isopropil-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)propan-2-ol
[16]	1,1,1 -Triflúor-3 -(9-isopropil-6-(piridin-3 -ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[17]	1,1,1 -Triflúor-3 -(9-isopropil-6-((6-(trifluorometil)piridin-3-il)metilamino)-9H-2-ilamino)pentan-2-ol
[18]	1,1,1,3,3,3-Hexaflúor-2-((9-isopropil-6-(piridina-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)metil)propan-2-ol

[00043] Em uma modalidade particularmente preferida, o composto da invenção é selecionado dos seguintes:

[3]	2R,3S-3-(6-(3-Clorobenzilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[4]	2R,3S-3-[6-(3-Fluorobenzilamino)- 9-isopropil-9H-purin-2-ilamino]-pentan-2-ol
[5]	2R,3S-3-(9-(Ciclopropilmetil)-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[9]	2R,3S-3-(9-Isopropil-6-(piridina-4-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[14]	(R)-1-(9-Isopropil-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)propan-2-ol

[00044] Em uma modalidade especialmente preferida da invenção, o composto é selecionado de: [1], [3], [4], [6], [7], [8], [9], [10] e [H]. Mais preferivelmente, o composto é selecionado a partir de [1], [3], [4], [6] e [11], ainda mais preferivelmente, o composto é [1] ou [H].

[00045] Preferivelmente, o composto da invenção exibe pelo menos um aumento de 3 vezes na potência comparado com seliciclide, mais preferivelmente pelo menos um aumento de 4 vezes ou 5 vezes na potência, ainda mais preferivelmente ainda, pelo menos um aumento de 8 vezes ou 10 vezes na potência.

[00046] Em uma modalidade especialmente preferida da invenção, o composto É (2R,3S-3-(6-((4,6-dimetilpiridin-3-ilmetilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol [1], ou um sal farmaceuticamente aceitável ou éster do mesmo.

[00047] Vantajosamente, o composto [1] exibe potência surpreendentemente alta em estudos de toxicidade celular em uma faixa de linhagens celulares diferentes comparada aos compostos estruturalmente relacionados conhecidos na técnica. Outros detalhes destes estudos são mencionados nos exemplos acompanhantes (vide em particular, Tabela 8).

[00048] Além disso, experiências têm mostrado que ao contrário dos

compostos estruturalmente relacionados conhecidos na técnica, composto [1] não iniba CYP significativamente 3 A4. Novamente, estes estudos são descritos em mais detalhes nos exemplos acompanhantes (vide em particular, Tabela 5). De fato, o composto [1] não pareça inibir CYP3A4 até concentrações maiores que 20 μ M que é ~ 60 vezes sua IC50 celular. Desde que o valor de IC50 para inibição de CYP3A4 para inibição de composto [1] está significativamente acima de sua IC50 celular (vide Tabela 8), isto indica que em concentrações citotóxicas não deve haver nenhum efeito sobre a atividade de CYP3A4. Isto é significante porque CYP3A4 está envolvida no metabolismo de um número grande de medicamentos. Se CYP3A4 é inibido por um fármaco, isto pode levar à toxicidade inesperada devido ao metabolismo reduzido de substratos de CYP3A4, resultando assim em níveis aumentados aparentes destes agentes.

[00049] Desta maneira, experiências adicionais têm mostrado que ao contrário de seus análogos estruturalmente relacionados, o composto [1] não é um substrato para as seis isoformas de CYP testadas (vide em particular, Tabela 6). Esta diferença corresponde bem com a diferença observada na inibição de CYP discutida acima. Um mecanismo comum que leva à inibição de CYP é se o composto for da mesma forma um substrato para esse CYP.

[00050] Desta maneira, o composto [1] não é nem um substrato de, nem inibidor de, CYP3A4 que concede uma propriedade benéfica significante, inesperada em seus análogos estruturalmente relacionadas.

COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

[00051] Um segundo aspecto da invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende um composto misturado da invenção com um diluente farmaceuticamente aceitável, excipiente ou veículo, ou uma mistura dos mesmos. Mesmo que os compostos da

presente invenção (incluindo seus sais farmaceuticamente aceitáveis, ésteres e solvatos farmaceuticamente aceitáveis) possam ser administrados sozinhos, eles geralmente serão administrados em mistura com um veículo farmacêutico, excipiente ou diluente, particularmente para terapia humana. As composições farmacêuticas podem ser para uso humano ou animal na medicina veterinária e humana.

[00052] Exemplos de tais excipientes adequados para as várias formas diferentes de composições farmacêuticas descritas aqui podem ser encontrados no "Handbook of Pharmaceutical Pharmaceutical Excipients, 2a Edição, (1994), Editado por A Wade e PJ Weller.

[00053] Diluentes ou veículos aceitáveis para uso terapêutico são bem conhecidos na técnica farmacêutica, e são descritos, por exemplo, em Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985).

[00054] Exemplos de veículos adequados incluem lactose, amido, glicose, metil celulose, estearato de magnésio, manitol, sorbitol e similares. Exemplos de diluentes adequados incluem etanol, glicerol e água.

[00055] A escolha de veículo farmacêutico, excipiente ou diluente pode ser selecionada com respeito à rotina planejada de administração e prática farmacêutica padrão. As composições farmacêuticas podem compreender como, ou além do veículo, excipiente ou diluente, qualquer(quaisquer) aglutinante(s) adequado(s), lubrificante(s), agente(s) de suspensão, agente(s) de revestimento, agente(s) de solubilização.

[00056] Exemplos de aglutinantes adequados incluem amido, gelatina, açúcares naturais tais como glicose, lactose de anidroso, lactose de fluxo livre, beta-lactose, adoçantes de milho, gomas naturais e sintéticas, tal como acácia, tragacanto ou alginato de sódio,

carboximetil celulose e polietileno glicol.

[00057] Exemplos de lubrificantes adequados incluem oleato de sódio, estearato de sódio, estearato de magnésio, benzoato de sódio, acetato de sódio, cloreto de sódio e similares.

[00058] Conservantes, estabilizadores, tinturas e ainda agentes flavorizantes podem ser fornecidos na composição farmacêutica. Exemplos de conservantes incluem benzoato de sódio, ácido sórbico e ésteres de ácido p-hidroxibenzóico. Antioxidantes e agentes de suspensão podem da mesma forma ser usados.

SAIS/ÉSTERES

[00059] Os compostos da presente invenção podem estar presentes como sais ou ésteres, em particular sais farmaceuticamente aceitáveis ou ésteres.

[00060] Sais farmaceuticamente aceitáveis dos compostos da invenção incluem sais de base ou de adição de ácido adequados dos mesmos. Uma revisão de sais farmacêuticos adequados pode ser encontrada em Berge e outros, J Pharm Sci, 66, 1-19 (1977). Sais são formados, por exemplo com ácidos inorgânicos fortes tais como ácidos minerais, por exemplo, ácido sulfúrico, ácido fosfórico ou ácidos hidroálicos; com ácidos carboxílicos orgânicos fortes, tais como ácidos alcanocarboxílicos de 1 a 4 átomos de carbono que são não-substituídos ou substituídos (por exemplo, por halogênio), tal como ácido acético; com ácidos dicarboxílicos saturados ou insaturados, por exemplo oxálico, malônico, succínico, maleico, fumárico, ftálico ou tetraftálico; com ácidos hidroxicarboxílicos, por exemplo ácido ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico ou cítrico; com aminoácidos, por exemplo ácido aspártico ou glutâmico; com ácido benzóico; ou com ácidos sulfônicos orgânicos, tais como ácidos (C1-C4)-alquil ou aril-sulfônicos que são não-substituídos ou substituídos (por exemplo, por um halogênio) tal como ácido metano- ou p-tolueno

sulfônico. Ésteres são formados usando ácidos orgânicos ou alcoóis/hidróxidos, dependendo do grupo funcional a ser esterificado. Ácidos orgânicos incluem ácidos carboxílicos, tais como ácidos alcanocarboxílicos de 1 a 12 átomos de carbono que são não-substituídos ou substituídos (por exemplo, por halogênio), tal como ácido acético; com ácido dicarboxílico saturado ou insaturado, por exemplo, oxálico, malônico, succínico, maleico, fumárico, ftálico ou tetraftálico; com ácidos hidroxicarboxílicos, por exemplo ácido ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico ou cítrico; com aminoácidos, por exemplo ácido aspártico ou glutâmico; com ácido benzóico; ou com ácidos sulfônicos orgânicos, tais como ácidos (C1-C4)-alquil- ou aril-sulfônicos que são não-substituídos ou substituídos (por exemplo, por um halogênio) tal como ácido metano- ou p-tolueno sulfônico. Hidróxidos adequados incluem hidróxidos inorgânicos, tais como hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, hidróxido de cálcio, hidróxido de alumínio. Álcoois incluem alcanoálcoois de 1 a 12 átomos de carbono que podem ser não-substituídos ou substituídos, por exemplo, por um halogênio).

ENANTIÔMEROS/TAUTÔMEROS

[00061] Em todos os aspectos da presente invenção previamente discutidos, a invenção inclui, onde apropriado todos os enantiômeros e tautômeros dos compostos da invenção. O versado na técnica reconhecerá compostos que possuem umas propriedades óticas (um ou mais átomos de carbono quiral) ou características tautoméricas. Os tautômeros e/ou enantiômeros correspondentes podem ser isolados/preparados por métodos conhecidos na técnica.

ESTÉREO ISÔMEROS E GEOMÉTRICOS

[00062] Alguns dos compostos da invenção podem existir como estereoisômeros e/ou isômeros geométricos - por exemplo, eles podem possuir um ou mais centros assimétricos e/ou geométricos e assim

podem existir em duas ou mais formas estereoisoméricas e/ou geométricas. A presente invenção considera o uso de todos os estereoisômeros individuais e isômeros geométricos desses agentes inibidores, e misturas dos mesmos. Os termos usados nas reivindicações abrangem estas formas, contanto que as referidas formas mantenham a atividade funcional apropriada (entretanto não necessariamente ao mesmo grau).

[00063] A presente invenção da mesma forma inclui todas as variações isotópicas adequadas do agente ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo. Uma variação isotópica de um agente da presente invenção ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo é definida como aquela em que pelo menos um átomo é substituído por um átomo que normalmente tem o mesmo número atômico mas uma massa atômica diferente da massa atômica encontrada na natureza. Exemplos de isótopos que podem ser incorporados no agente e sais farmaceuticamente aceitáveis incluem isótopos de hidrogênio, carbono, nitrogênio, oxigênio, fósforo, enxofre, flúor e cloro tais como 2H , 3H , 13C , 14C , 15N , 17O , 18O , 31P , 32P , 35S , 18F e 36Cl , respectivamente. Certas variações isotópicas do agente e sais farmaceuticamente aceitáveis do mesmo, por exemplo, aqueles em que um isótopo radioativo tal como 3H ou 14C é incorporados, são úteis em estudos de distribuição de tecido de substrato e/ou fármaco. Tritiados, isto é, 3H , e carbono-14, isto é, 14C , são isótopos particularmente preferidos quanto a sua facilidade de preparação e detectabilidade. Além disso, a substituição com isótopos tal como deutério, isto é, 2H , pode proporcionar certas vantagens terapêuticas que resultam da maior estabilidade metabólica, por exemplo, meia-vida in vivo aumentadas ou exigências de dosagem reduzidas e consequentemente podem ser preferidas em algumas circunstâncias. Variações isotópicas do agente da presente invenção e

sais farmaceuticamente aceitáveis do mesmo desta invenção podem ser preparadas por procedimentos convencionais usando variações isotópicas apropriadas de reagentes adequados.

SOLVATOS

[00064] A presente invenção da mesma forma inclui formas de solvato dos compostos da presente invenção. Os termos usados nas reivindicações abrangem estas formas.

POLIMORPOS

[00065] A invenção também se refere a compostos da presente invenção em suas várias formas cristalinas, formas polimórficas e formas (an)idrosas. É bem estabelecido dentro da indústria farmacêutica que compostos químicos podem ser isolados em quaisquer de tais formas variando-se ligeiramente o método de purificação e ou forma de isolamento que os solventes usados na preparação sintética de tais compostos.

PROFÁRMACOS

[00066] A invenção também inclui compostos da presente invenção em forma de profármaco. Tais profármacos são geralmente compostos da invenção em que um ou mais grupos apropriados foram modificados tal que a modificação pode ser revertida na administração a um indivíduo humano ou mamífero. Tal reversão é normalmente realizada por uma enzima naturalmente presente em tal indivíduo, entretanto é possível para um segundo agente ser administrado junto com um tal profármaco para realizar a reversão in vivo. Exemplos de tais modificações incluem éster (por exemplo, qualquer daqueles descritos acima), em que a reversão pode ser realizada em uma esterase etc. Outros tais sistemas serão bem conhecidos por aqueles versados na técnica.

ADMINISTRAÇÃO

[00067] As composições farmacêuticas da presente invenção podem

ser adaptadas para rotinas oral, retal, vaginal, parenteral, intramuscular, intraperitoneal, intra-arterial, intratecal, intrabronquial, subcutânea, intradérmica, intravenosas, nasais, bucais ou sublinguais de administração.

[00068] Para administração oral, uso particular é feito de comprimidos prensados, pílulas, comprimidos, "gellules", gotas, e cápsulas. Preferivelmente, estas composições contêm de 1 a 250 mg e mais preferivelmente de 10-100 mg, de ingrediente ativo por dose.

[00069] Outras formas de administração compreendem soluções ou emulsões que podem ser injetadas intravenosamente, intra-arterialmente, intratecalmente, subcutaneamente, intradermicamente, intraperitonealmente ou intramuscularmente, e que são preparadas de soluções esterilizáveis ou estéreis. As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser da mesma forma em forma de supositórios, pessários, suspensões, emulsões, loções, ungüentos, cremes, géis, sprays, soluções ou pós de polvilhamento.

[00070] Um meio alternativo de administração transdérmica é por uso de um emplastro de pele. Por exemplo, o ingrediente ativo pode ser incorporado em um creme que consiste em uma emulsão aquosa de polietileno glicóis ou parafina líquida. O ingrediente ativo pode também ser incorporado, em uma concentração dentre 1 e 10% em peso, em um ungüento que consiste em uma cera branca ou base de parafina macia branca junto com tais estabilizadores e preservativos como podem ser requeridos.

[00071] Formas injetáveis podem conter entre 10-1000 mg, preferivelmente entre 10-250 mg, de ingrediente ativo por dose.

[00072] Composições podem ser formuladas em forma de dosagem unitária, isto é, na forma de porções discretas que contêm uma dose unitária, ou uma múltipla ou subunidade de uma dose unitária.

DOSAGEM

[00073] Uma pessoa versada na técnica pode facilmente determinar uma dose apropriada de uma das composições presentes para administrar a um indivíduo sem experimentação indevida. Tipicamente, um médico determinará a dosagem atual que será mais adequado para um paciente individual e dependerá de uma variedade de fatores incluindo a atividade do composto específico usado, a estabilidade metabólica e duração da ação desse composto, a idade, peso corporal, saúde geral, sexo, dieta, modo e tempo de administração, taxa de excreção, combinação de fármaco, a severidade da condição particular, e o indivíduo que passa por terapia. As dosagens descritas aqui são exemplares do caso médio. Pode haver exemplos individuais onde faixas de dosagem mais altas ou mais baixas são merecidas, e tais estão dentro do escopo desta invenção.

[00074] Dependendo da necessidade, o agente pode ser administrado em uma dose de 0,01 a 30 mg/kg de peso corporal, tal como de 0,1 a 10 mg/kg, mais preferivelmente de 0,1 a 1 mg/kg de peso corporal.

[00075] Em uma modalidade exemplar, uma ou mais doses de 10 a 150 mg/dia serão administradas ao paciente para o tratamento de malignidade.

USO TERAPÊUTICO

[00076] Os compostos da presente invenção foram constatados possuir atividade antiproliferativas e são portanto acreditados ser de uso no tratamento de distúrbios proliferativos, tais como cânceres, leucemias ou outros distúrbios associados com proliferação celular descontrolada tais como psoríase e reestenose.

[00077] Como definido aqui, um efeito antiproliferativo dentro do escopo da presente invenção pode ser demonstrado pela capacidade de inibir a proliferação celular em um ensaio celular inteiro *in vitro*, usando quaisquer das linhagens celulares A549, HeLa, HT-29, MCF7,

Saos-2, CCRP-CEM, H460, HL-60 e K-562, ou mostrando-se a inibição de quinase em um ensaio apropriado. Estes ensaios, incluindo métodos para seu desempenho, são descritos em mais detalhe nos Exemplos acompanhantes. O uso de tais ensaios pode ser determinado se um composto é antiproliferativo no contexto da presente invenção.

[00078] Uma modalidade preferida da presente invenção, portanto, refere-se ao uso de um ou mais compostos da invenção na preparação de um medicamento para tratar um distúrbio proliferativo.

[00079] Como usado aqui, a frase "preparação de um medicamento" inclui o uso de um composto da invenção diretamente como o medicamento além de seu uso em um programa de avaliação para outros agentes terapêuticos ou em qualquer estágio da fabricação de um tal medicamento.

[00080] O termo "distúrbio proliferativo" é aqui usado em um sentido amplo para incluir qualquer distúrbio que requer o controle do ciclo celular, por exemplo, distúrbios cardiovasculares tais como reestenose e cardiomiopatia, distúrbios autoimunes tais como glomerulonefrite e artrite reumatóide, distúrbios dermatológicos tais como psoríase, distúrbios anti-inflamatórios, antifúngicos, antiparasitários tais como malária, enfisema e alopecia. Nestes distúrbios, os compostos da presente invenção podem induzir apoptose ou manter a estase dentro das células desejadas quando requerido. Preferivelmente, o distúrbio proliferativo é um câncer ou leucemia.

[00081] Em outra modalidade preferida, o distúrbio proliferativo é psoríase.

[00082] Os compostos da invenção podem inibir quaisquer das etapas ou fases no ciclo celular, por exemplo, formação do envelope nuclear, saída da fase inativa do ciclo celular (G0), progresso de G1, descondensação de cromossomo, decomposição do envelope nuclear, START, início da replicação de DNA, progresso de replicação de DNA,

terminação de replicação de DNA, duplicação de centrossoma, progresso de G2, ativação da função mitótica ou meiótica, condensação de cromossoma, separação de centrossoma, nucleação de microtúbulo, formação e função de fuso, interações com proteínas motoras de microtúbulo, segregação e separação de cromátide, inativação da função mitótica, formação de anel contrátil, e funções de citocinese. Em particular, os compostos da invenção podem influenciar certas funções de gene tais como ligação de cromatina, formação de complexos de replicação, licença de replicação, fosforilação ou outra atividade de modificação secundária, degradação proteolítica, ligação de microtúbulo, ligação de actina, ligação de septina, atividade de nucleação do centro de organização de microtúbulo e ligação a componentes das séries de reações de sinalização de ciclo celular.

[00083] Um aspecto adicional da invenção refere-se a um método de tratar uma doença proliferativa, o referido método compreendendo administrar a um mamífero uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da invenção.

[00084] Em uma modalidade preferida deste aspecto, o distúrbio proliferativo é câncer ou leucemia.

[00085] Em uma modalidade ainda mais preferida deste aspecto, o composto é administrado em uma quantidade suficiente para inibir pelo menos uma enzima CDK.

[00086] Preferivelmente, o composto da invenção é administrado em uma quantidade suficiente para inibir pelo menos uma dentre CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK6, CDK7, CDK8 e/ou CDK9.

[00087] Mais preferivelmente, o composto da invenção é administrado em uma quantidade suficiente para inibir pelo menos uma dentre CDK2 e/ou CDK4.

[00088] Ainda mais preferivelmente, a enzima CDK é CDK2.

[00089] Em uma modalidade preferida deste aspecto, o composto é

administrado oralmente.

[00090] Outro aspecto da invenção refere-se ao uso de um composto da invenção como um agente antimitótico.

[00091] Ainda outro aspecto da invenção refere-se ao uso de um composto da invenção para tratar um distúrbio neurodegenerativo.

[00092] Preferivelmente, o distúrbio neurodegenerativo é apoptose neuronal.

[00093] Outro aspecto da invenção refere-se ao uso de um composto da invenção como um agente antiviral.

[00094] Desse modo, outro aspecto da invenção refere-se ao uso de um composto da invenção na preparação de um medicamento para tratar um distúrbio viral, tais como citomegalovírus humano (HCMV), vírus do herpes simples tipo 1 (HSV-1), vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), e vírus de varicela zoster (VZV).

[00095] Em uma modalidade mais preferida da invenção, o composto da invenção é administrado em uma quantidade suficiente para inibir um ou mais da célula hospedeira CDKs envolvida na replicação viral, isto é, CDK2, CDK7, CDK8, e CDK9 [Wang D, De la Fuente C, Deng L, Wang L, Zilberman I, Eadie C, Healey M, Stein D, Denny T, Harrison LE, Meijer L, Kashanchi F. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 transcription by chemical cyclin-dependent kinase inhibitors. *J. Virol.* 2001; 75: 7266-7279].

[00096] Como definido aqui, um efeito antiviral dentro do escopo da presente invenção pode ser demonstrado pela capacidade de inibir CDK2, CDK7, CDK8 ou CDK9.

[00097] Em uma modalidade particularmente preferida, a invenção refere-se ao uso de um ou mais compostos da invenção no tratamento de um distúrbio viral que é sensível ou dependente de CDK. Distúrbios dependentes de CDK são associados com um nível normal acima da atividade de uma ou mais enzimas CDK. Tais distúrbios associados

preferivelmente associados com um nível anormal de atividade de CDK2, CDK7, CDK8 e/ou CDK9. Um distúrbio sensível à CDK é um distúrbio no qual uma aberração no nível de CDK não é a causa primária, mas está a jusante da aberração metabólica primária. Em tais cenários, CDK2, CDK7, CDK8 e/ou CDK9 pode(m) ser referido(s) para fazer(em) parte da série de reação metabólica sensível e inibidores de CDK podem, portanto, ser ativos no tratamento de tais distúrbios.

[00098] Os compostos da invenção são da mesma forma úteis na preparação de medicamentos para o tratamento de vários distúrbios oftálmicos. Preferivelmente, o distúrbio oftálmico é glaucoma, degeneração macular relacionada à idade exsudativa (AMD) ou retinopatia diabética proliferativa (PDR).

[00099] O estado da doença referido como glaucoma é caracterizado por uma perda permanente da função visual devido ao dano irreversível ao nervo ótico. Os vários tipos morfológicamente ou funcionalmente distintos de glaucoma são caracterizados tipicamente por pressão intraocular elevada (IOP), que é considerada estar causalmente relacionada ao curso patológico da doença. Hipertensão ocular é uma condição em que pressão intraocular é elevada, mas nenhuma perda aparente da função visual tem ocorrido; é considerado que tais pacientes estão em risco alto para o desenvolvimento eventual da perda visual associada com glaucoma. Inibidores de GSK-3 são úteis para o tratamento de doenças oculares tal como glaucoma. Foi mostrado que um componente da série de reação de sinalização de Wnt, proteína relacionada frisada (FRP), é diferencialmente expressa em várias linhagens celulares da rede trabecular glaucomatosa e pode romper a cascata de sinalização normal que causa um aumento na resistência de fluxo e desenvolvimento de IOP elevada. Hellberg M.R e outro, (US20040186159) mostrou que através da interação de GSK-3 com componentes da série de reação de sinalização de Wnt, inibição de

GSK-3 por agentes farmacológicos pode evitar o antagonismo mediado por FRP da série de reação de sinalização de Wnt causado pelos níveis elevados de FRP e contrariar o aumento na resistência de fluxo que resulta do aumento na produção de FRP em indivíduos com glaucoma. [000100] CTGF é uma citocina segregado que é conhecida por aumentar a produção da matriz extracelular (ECM), principalmente por deposição aumentado de colágeno I e de fibronectina. Superexpressão de CTGF foi previamente implicado como um fator causador principal em condições tais como escleroderna, doenças fibroproliferativas, cicatrização, etc. em que há um superacúmulo de componentes de ECM. Um superacúmulo de materiais de matriz extracelular na região da rede trabecular (TM) é da mesma forma um carimbo oficial de muitas formas de glaucoma; acredita-se que tais levam à resistência aumentada ao fluxo aquoso e, portanto, pressões intraoculares elevadas. Fleenor D L e outros, (US20050234075) mostrou que inibidores de GSK-3 e inibidores de CDK podem inibir igualmente a expressão de CTGF induzida por TGF. β .2 em células TM humanas, portanto, compostos da presente invenção são úteis para o tratamento de glaucoma.

[000101] Os compostos da invenção são também úteis no tratamento de AMD e PDR. Degeneração macular relacionada à idade exudativa (AMD) e retinopatia diabética proliferativa (PDR) são as causas principais de cegueira adquirida em países desenvolvidos e são caracterizadas por neovascularização de segmento posterior patológico no olho. A causa estimulante em AMD exsudativa e PDR ainda é desconhecida, porém, a elaboração de vários fatores de crescimento pró-angiogênicos parece ser um estímulo comum. Fatores de crescimento solúveis, tais como fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF), fator de crescimento de fibroblasto básico (bFGF ou FGF-2), fator 1 de

crescimento similar à insulina (IGF-1), angiopoietinas, etc., foram constatados em tecidos e fluidos removidos de pacientes com angiogênese ocular patológica. Inibição ou bloqueio da atividade destes fatores de crescimento e de outras enzimas intracelulares tal como aurora cinases mostrou ter um efeito antiangiogênico. Desse modo, compostos da presente invenção são úteis para tratar doenças oftálmicas caracterizadas por neovascularização.

[000102] Outro aspecto da invenção refere-se ao uso de compostos da invenção, ou sais farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos, na preparação de um medicamento para tratar diabetes.

[000103] Em uma modalidade particularmente preferida, o diabetes é diabetes tipo II.

[000104] GSK3 é uma dentre várias proteína cinases que fosforilam glicogênio sintase (GS). A estimulação de síntese de glicogênio por insulina no músculo-esquelético resulta da desfosforilação e ativação de GS. A ação de GSK3 em GS desse modo resulta na desativação do mais recente e desse modo na supressão da conversão de glicose em glicogênio nos músculos.

[000105] Diabetes tipo II (diabetes melito não-dependente de insulina) é uma doença multifatorial. Hiperglicemia é devido à resistência de insulina no fígado, músculos, e outros tecidos, acoplados com secreção prejudicada de insulina. Músculo-esquelético é o sítio principal para captação de glicose estimulada por insulina, é removida da circulação ou convertida em glicogênio. Deposição de glicogênio do músculo é o principal determinante na homeostasia de glicose e diabéticos tipo II têm armazenamento de glicogênio no músculo defeituoso. Há evidência que um aumento na atividade de GSK3 é importante no diabetes tipo II [Chen, Y.H.; Hansen, L.; Chen, M.X.; BJORBAEK, C; Vestergaard, H.; Hansen, T.; Cohen, P.T.; Pedersen, O. *Diabetes*, 1994, 43, 1234]. Além disso, foi demonstrado que GSK3 é superexpresso em células do

músculo de diabéticos tipo II e que uma correlação inversa existe entre atividade de GSK3 músculo-esquelética e ação de insulina [Nikouline, S.E.; Ciaraldi, T.P.; Mudaliar, S.; Mohideen, P.; Carter, L.; Henry, R.R. *Diabetes*, 2000, 49, 263].

[000106] Inibição de GSK3 é portanto de significação terapêutica no tratamento de diabetes, particularmente tipo II, e neuropatia diabética.

[000107] É notável que GSK3 é conhecida por fosforilar muitos substratos diferentes de GS, e está desse modo envolvida no regulamento de séries de reações bioquímicas múltiplas. Por exemplo, GSK é altamente expressa nos sistemas nervoso central e periférico.

[000108] Outro aspecto da invenção refere-se, portanto, ao uso de compostos da invenção, ou sais farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos, na preparação de um medicamento para tratar um distúrbio do SNC, por exemplo distúrbios neurodegenerativos.

[000109] Preferivelmente, o distúrbio do SNC é o mal de Alzheimer.

[000110] Tau é um substrato de GSK-3 que foi implicado na etiologia do mal de Alzheimer. Em células nervosas saudáveis, Tau co-reune-se com tubulina em microtúbulos. Entretanto, no mal de Alzheimer, tau forma emaranhados grandes de filamentos, que rompem as estruturas de microtúbulo na célula nervosa, desse modo prejudicando o transporte de nutrientes bem como a transmissão de mensagens neuronais.

[000111] Sem desejar ser ligado por teoria, acredita-se que inibidores de GSK3 podem prevenir e/ou reverter a hiperfosforilação anormal da proteína tau associada ao microtúbulo que é uma característica invariante da mal de Alzheimer e várias outras doenças neurodegenerativas, tais como paralisia supranuclear progressiva, degeneração corticobasal e doença de Pick. Mutações no gene tau causa formas herdadas de demência fronto-temporal, também enfatizando a relevância da deficiência orgânica de proteína tau para o

processo neurodegenerativo [Goedert, M. Curr. Opin. Gen. Dev., 2001, 11, 343].

[000112] Outro aspecto da invenção refere-se ao uso de compostos da invenção, ou sais farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos, na preparação de um medicamento para tratar transtorno bipolar.

[000113] Ainda outro aspecto da invenção refere-se ao uso de compostos da invenção, ou sais farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos, na preparação de um medicamento para tratar um acidente vascular cerebral.

[000114] A redução da apoptose neuronal é uma objetivo terapêutica importante no contexto de trauma de cabeça, acidente vascular cerebral, epilepsia, e doença neuronal motora [Mattson, M.P. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol., 2000, 1, 120]. Portanto, GSK3 como um fator proapoptótico em células neuronais torna esta proteína quinase um alvo terapêutico atrativo para o projeto de fármaco inibidores para tratar estas doenças.

[000115] Ainda outro aspecto da invenção refere-se ao uso de compostos da invenção, ou sais farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos, na preparação de um medicamento para tratar alopecia.

[000116] O crescimento de cabelo é controlado pela série de reação de sinalização de Wnt, em particular Wnt-3. Em sistema de modelo de cultura de tecido da pele, a expressão de mutantes não-degradantes de β -catenina leva a um aumento dramático na população de células tronco putativas, que têm maior potencial proliferativo [Zhu, A.J.; Watt, F.M. Development, 1999, 126, 2285]. Esta população de células tronco expressa um nível mais alto de β -catenina associada à não caderina [DasGupta, R.; Fuchs, E. Development, 1999, 126, 4557] que pode contribuir para seu alto potencial proliferativo. Além disso, camundongos transgênicos que superexpressam uma β -catenina truncado na pele sofrem morfogênese de folículo piloso de novo, que

normalmente é apenas estabelecido durante a embriogênese. A aplicação ectópica de inibidores de GSK3 pode ser, portanto, terapeuticamente útil no tratamento de calvície e no restabelecimento do crescimento de cabelo depois de alopecia induzida por quimioterapia.

[000117] Um outro aspecto da invenção refere-se a um método de tratar um distúrbio dependente de GSK3, o referido método compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade do mesmo, um composto de acordo com a invenção, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, como definido acima em uma quantidade suficiente para inibir GSK3.

[000118] Preferivelmente, o composto da invenção, ou sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, é administrado em uma quantidade suficiente para inibir GSK3 β .

[000119] Em uma modalidade da invenção, o composto da invenção é administrado em uma quantidade suficiente para inibir pelo menos uma enzima PLK.

[000120] A quinase similar a polo (PLKs) constitui uma família de serina/treonina proteína cinases. Mutantes de *Drosophila melanogaster* mitóticos no local de polo exibe anormalidades de fuso [Sunkel e outros, *J. Cell. Sci.*, 1988, 89, 25] e polo foi constatado codificar uma quinase mitótica [Llamazares e outros, *Genes Dev.*, 1991, 5, 2153]. Em humanos, existe três PLKs intimamente relacionadas [Glover e outro, *Genes Dev.*, 1998, 12, 3777]. Elas contêm um domínio de quinase catalítico de terminal amino altamente homólogo e seus terminais carboxila contêm duas ou três regiões conservadas, as caixas polo. A função das caixas de polo permanece incompletamente entendida, porém elas são implicadas no direcionamento de PLKs em compartimentos subcelulares [Lee e outro, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95, 9301; Leung e outros, *Nat. Struct. Biol.*, 2002, 9, 719],

mediação de interações com outras proteínas [Kauselmann e outros, *EMBO J.*, 1999, 18, 5528], ou pode constituir parte de um domínio autorregulador [Nigg, *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1998, 10, 776]. Além disso, a atividade de PLK1 dependente de caixa polo é requerida para própria transição de metáfase/anáfase e citocinesia [Yuan e outros, *Cancer Res.*, 2002, 62, 4186; Seong e outros, *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, 32282].

[000121] Estudos mostraram que PLKs humanas regulam alguns aspectos fundamentais de mitose [Lane e outros, *J. Cell. Biol.*, 1996, 135, 1701; Cogswell e outros, *Cell Growth Differ.*, 2000, 11, 615]. Em particular, acredita-se que a atividade de PLK1 é necessária para a maturação funcional de centrossomas em prófase precoce/G2 tardia e estabelecimento subsequente de um fuso bipolar. A depleção de PLK1 celular através da técnica de RNA interferente pequeno (siRNA) confirmou da mesma forma que esta proteína é requerida para processos mitóticos múltiplos e conclusão de citocinesia [Liu e outros, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99, 8672].

[000122] Em uma modalidade mais preferida da invenção, o composto da invenção é administrado em uma quantidade suficiente para inibir PLK1.

[000123] Das três PLKs humanas, PLK1 é a melhor caracterizada; regula vários efeitos de ciclo de divisão celular, incluindo o começo de mitose [Toyoshima-Morimoto e outro, *Nature*, 2001, 410, 215; Roshak e outros, *Cell. Signalling*, 2000, 12, 405], ativação de ponto de checagem de dano ao DNA [Smits e outros, *Nat. Cell Biol.*, 2000, 2, 672; van Vugt e outros, *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 41656], regulamento do complexo de promoção de anáfase [Sumara e outros, *Mol. Cell*, 2002, 9, 515; Golan e outros, *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, 15552; Kotani e outros, *Mol. Cell*, 1998, 1, 371], fosforilação do proteassoma [Feng e outros, *Cell Growth Differ.*, 2001, 12, 29], e maturação e duplicação de centrossoma [Dai e outros, *Oncogene*, 2002, 21, 6195].

[000124] Especificamente, o início da mitose requer a ativação do fator de promoção de fase M (MPF), o complexo entre a quinase dependente de ciclina CDK1 e ciclinas tipo B [Nurse, *Nature*, 1990, 344, 503]. O último acumula-se durante as fases S e G2 do ciclo celular e promove a fosforilação inibidora do complexo de MPF por WEE1, M1K1, e MYT1 cinases. No término da fase de G2, a desfosforilação correspondente pela fosfatase de especificidade dual CDC25C ativa a ativação de MPF [Nigg, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001, 2, 21]. Na interfase, ciclina B localiza-se ao citoplasma [Hagting e outros, *EMBO J*, 1998, 17, 4127], em seguida torna-se fosforilada durante a prófase e este evento causa a translocação nuclear [Hagting e outros, *Curr. Biol.*, 1999, 9, 680; Yang e outros, *J Biol. Chem.*, 2001, 276, 3604]. Pensa-se que o acúmulo nuclear de MPF ativo durante a prófase é importante para iniciar os eventos de fase M [Takizawa e outros, *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2000, 12, 658]. Porém, MPF nuclear é mantido inativo por WEE1 a menos que contrariado por CDC25C. A própria fosfatase CDC25C, localizada ao citoplasma durante a interfase, acumula-se no núcleo na prófase [Seki e outros, *Mol. Biol. Cell*, 1992, 3, 1373; Heald e outros, *Cell*, 1993, 74, 463; Dalal e outros, *Mol. Cell. Biol.*, 1999, 19, 4465]. A entrada nuclear de ambas ciclina B [Toioshima-Morimoto e outros, *Nature*, 2001, 410, 215] e CDC25C [Toioshima-Morimoto e outros, *EMBO Rep.*, 2002, 3, 341] é promovida através de fosforilação por PLK1 [Roshak e outros, *Cell. Signalling*, 2000, 12, 405]. Esta quinase é um regulador importante do início da fase M.

[000125] Em uma modalidade particularmente preferida, os compostos da invenção são inibidores de ATP antagônicos de PLK1.

[000126] No contexto presente, o antagonismo de ATP refere-se à capacidade de um composto inibidor diminuir ou prevenir a atividade catalítica de PLK, isto é, fosfotransferência de ATP para um substrato de PLK macromolecular, em virtude da ligação reversível ou irreversível

no sítio ativo da enzima de uma tal maneira a prejudicar ou abolir a ligação de ATP.

[000127] Em outra modalidade preferida, o composto da invenção é administrado em uma quantidade suficiente para inibir PLK2 e/ou PLK3.

[000128] PLK2 (da mesma forma conhecida como SNK) e PLK3 de mamífero (da mesma forma conhecida como PRK e FNK) foram originalmente mostradas ser produtos de gene cedo imediatos. Atividade de PLK3 quinase parece atingir o pico durante a fase G2 e S tardia. É ativada da mesma forma durante a ativação do ponto de checagem do dano ao DNA e tensão oxidativa severa. PLK3 da mesma forma desempenha um papel importante no regulamento de dinâmicas de microtúbulo e função de centrossoma na célula e a expressão de PLK3 desregulada resulta na interrupção do ciclo celular e apoptose [Wang e outros, Mol. Cell. Biol., 2002, 22, 3450]. PLK2 é o homólogo entendido bem menor das três PLKs. Ambas PLK2 e PLK3 podem ter funções pós-mitóticas importantes adicionais [Kauselmann e outros, EMBO J, 1999, 18, 5528].

[000129] Outro aspecto da invenção refere-se ao uso de um composto da invenção para inibir uma proteína quinase.

[000130] Em uma modalidade preferida deste aspecto, a proteína quinase é uma quinase dependente de ciclina. Preferivelmente, a proteína quinase é CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK6, CDK7, CDK8 ou CDK9, mais preferivelmente CDK2.

[000131] Outro aspecto da invenção refere-se a um método de inibir uma proteína quinase, o referido método compreendendo contatar a referida proteína quinase com um composto da invenção.

[000132] Em uma modalidade preferida deste aspecto, a proteína quinase é uma quinase dependente de ciclina, ainda mais preferivelmente CDK2.

ENSAIOS

[000133] Outro aspecto da invenção refere-se ao uso de um composto como aqui anteriormente definido em um ensaio para identificar outros compostos candidato que influenciam a atividade de uma ou mais de uma quinase dependente de ciclina, uma aurora quinase, um GSK e/ou uma enzima PLK.

[000134] Preferivelmente, o ensaio é capaz de identificar compostos candidatos que são capazes de inibir uma ou mais de uma quinase dependente de ciclina, uma aurora quinase, uma GSK e/ou uma enzima PLK.

[000135] Mais preferivelmente, o ensaio é um ensaio de ligação competitivo.

[000136] Preferivelmente, o composto candidato é gerado por modificação de SAR convencional de um composto da invenção.

[000137] Como aqui usado, o termo "modificação de SAR convencional" refere-se a métodos padrões conhecidos na técnica para variar um determinado composto por meio de derivação química.

[000138] Desse modo, em um aspecto, o composto identificado pode agir como um modelo (por exemplo, um padrão) para o desenvolvimento de outros compostos. Os compostos empregados em um tal teste podem ser livres na solução, afixados a um suporte sólido, transportados sobre uma superfície celular, ou intracelularmente localizados. A abolição de atividade ou a formação de complexos de ligação entre o composto e o agente a ser testados pode ser medida.

[000139] O ensaio da presente invenção pode ser uma avaliação, por meio do qual vários agentes são testados. Em um aspecto, o método de ensaio da presente invenção é uma avaliação de produtividade.

[000140] Esta invenção da mesma forma considera o uso de ensaios de avaliação de fármaco competitivos em que anticorpos neutralizadores capazes de se ligarem a um composto especificamente competem com um composto teste para se ligar a um composto.

[000141] Outra técnica para avaliação fornece avaliação de alta produtividade (HTS) de agentes que têm afinidade de ligação adequada às substâncias e é baseada no método descrito em detalhes em WO 84/03564.

[000142] Espera-se que os métodos de ensaio da presente invenção sejam adequados igualmente para avaliação em grande e pequena escala bem como em ensaios quantitativos.

[000143] Preferivelmente, o ensaio de ligação competitivo compreende contatar um composto da invenção com uma quinase dependente de ciclina, uma aurora quinase, uma GSK ou uma enzima PLK na presença de um substrato conhecido da referida enzima CDK e detectar qualquer mudança na interação entre a referida quinase e o referido substrato conhecido.

[000144] Um aspecto adicional da invenção fornece um método de detectar a ligação de um ligante em uma quinase dependente de ciclina, uma aurora quinase, uma GSK ou uma enzima PLK, o referido método compreendendo as etapas de:

(i) contatar um ligante com uma quinase dependente de ciclina, uma aurora quinase, uma GSK ou uma enzima PLK na presença de um substrato conhecido da referida quinase;

(ii) detectar qualquer mudança na interação entre a referida quinase e o referido substrato conhecido;

e em que o referido ligante é um composto da invenção.

[000145] Um aspecto da invenção refere-se a um processo que compreende as etapas de:

(a) realizar um método de ensaio descrito aqui anteriormente;

(b) identificar um ou mais ligantes capazes de ligar-se a um domínio de ligação de ligante; e

(c) preparar uma quantidade dos referidos um ou mais ligantes.

Outro aspecto da invenção fornece um processo que compreende as

etapas de:

- (a) realizar um método de ensaio descrito aqui anteriormente;
- (b) identificar um ou mais ligantes capazes de ligar-se a um domínio de ligação de ligante; e
- (c) preparar uma composição farmacêutica compreendendo o referido um ou mais ligantes.

Outro aspecto da invenção fornece um processo que compreende as etapas de:

- (a) realizar um método de ensaio descrito aqui anteriormente;
- (b) identificar um ou mais ligantes capazes de ligarem-se a um domínio de ligação de ligante;
- (c) modificar o referido um ou mais ligantes capazes de ligarem-se a um domínio de ligação de ligante;
- (d) realizar o método de ensaio descrito aqui anteriormente;
- (e) opcionalmente preparar uma composição farmacêutica compreendendo o referido um ou mais ligantes.

[000146] A invenção da mesma forma refere-se a um ligante identificado pelo método descrito aqui anteriormente.

[000147] Ainda outro aspecto da invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende um ligante identificado pelo método descrito aqui anteriormente.

[000148] Outro aspecto da invenção refere-se ao uso de um ligante identificado pelo método descrito aqui anteriormente na preparação de uma composição farmacêutica para uso no tratamento de distúrbios proliferativos.

[000149] Os métodos anteriores podem ser usados para avaliar um ligante útil como um inibidor de uma ou mais enzimas CDK.

[000150] A presente invenção é também descrita por meio dos seguintes exemplos, e com referência à seguinte figura, em que:

[000151] Figura 1 mostra a sub-regulação de Mcl-1 pelos compostos

da invenção. Células H460 foram tratadas durante 24 horas com várias concentrações dos compostos e analisadas por manchamento do Oeste para mudanças no nível de Mcl-1.

[000152] Figura 2 mostra o efeito de alguns dos compostos de uso contínuo em níveis de Mcl-1 em células H460. Células foram tratadas com uma faixa de concentrações de cada fármaco e analisadas depois de 5 horas.

EXEMPLOS

Geral

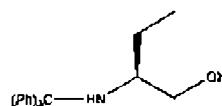
[000153] Substâncias químicas e solventes foram adquiridos de fontes comerciais e foram usados quando recebidos a menos que de outra maneira declarado. THF e Et2O foram secados aquecendo-se sob refluxo com benzofenona sódica sob N2 e coletados por destilação. Tolueno foi secado aquecendo-se sob refluxo em sódio sob N2. CH2Cl2 foi secado aquecendo-se sob refluxo em CaH2 sob N2. O gerador de micro-ondas usado foi um modelo CEM "Discover", com um projeto de cavidade de modo simples circular, que focaliza a radiação de micro-ondas no tubo de amostra. TLC (cromatografia de camada fina) foi realizada usando placas de vidro revestidas com sílica-gel G60 (0,25 cm). Placas desenvolvidas foram secadas a ar e analisadas sob uma lâmpada UV (254 / 365 nm). MgSO4 anidroso foi usado como um agente de secagem padrão para soluções orgânicas a menos que de outra maneira declarado. Cromatografia de coluna flash foi realizada usando sílica-gel Fluorochem (35-70 μ m). Pontos de fusão (mp) foram determinados com um mecanismo de ponto de fusão capilar Electrothermal 9100 e não são corrigidos. As abreviação (dec) denota um ponto de decomposição. Espectros de 1H-RMN foram registrados em um espectrômetro Bruker Avance 300 (300.1 MHz) ou um Varian Gemini 2000 (300 MHz) usando o solvente deuterado como a fechadura e o solvente residual como a referência interna em todos os casos.

Espectros de ^{13}C -RMN usando a seqüência PENDANT foram registrados em um espetrômetro Bruker Avance 300 (75,5 MHz). Todos os outros espectros ^{13}C foram registrados em um espetrômetro Varian Gemini 2000 (75,5 MHz) usando desacoplamento de ^1H de pulso de composto. Constantes de acoplamento (J) são citados ao 0,1 Hz mais próximo. As abreviações seguintes são usadas: s, singuleto; d, dupleto; t, triploto; q, quarteto; qu, quintuploto; m, multipleto e br, amplo. Microanálises elementares foram realizadas por Mrs S Williamson, School of Chemistry, Purdie Building, University of St. Andrews, UK. Resultados obtidos estavam dentro de 0,4% dos valores calculados. Espectros de massa por eletrovaporização (ESI) foram registrados em um espetrômetro de massa Micromass LCT, acoplado a Waters 2975 HPLC. RP-HPLC analítica foi realizada usando um injetor de amostra automático Dionex ASI-100 acoplado a uma bomba Dionex P580. Uma coluna Phenomenex (150 x 4,60 mm, Synergy 4 μ hidro-RP 80 \AA), mantida em uma temperatura de 25°C foi usada para propósitos analíticos. A unidade de HPLC foi controlada usando software Chromeleon. Eluição de gradiente linear usando sistemas de H_2O / MeCN (contendo CF_3COOH a 0,1%) em taxas de fluxo de 1 mL / min foi realizado. Pureza foi avaliada por integração de cromatogramas ($\lambda = 254$ nm).

Síntese

[000154] (2R, 3S)-3-amino-pentan-2-ol foi preparado por uma ou outra de duas rotinas que diferem no grupo protetor usado para a amina.

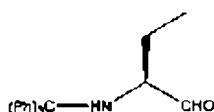
[000155] Rotina 1 empregou tritila como o grupo protetor
(S)-2-(Tritilamino)butan-1-ol



[000156] Em uma solução agitada de (S)-(+)-2-aminobutan-1-ol (10 g, 112,18 mmols) em diclorometano (DCM, 250 ml) sob uma atmosfera de

argônio em temperatura ambiente, foi adicionado di-isopropiletilamina (DIEA, 19,4 ml, 112,18 mmols) seguido por cloreto de tritila (31,2g, 112,18 mmols). A mistura reacional foi agitada nesta temperatura durante 48 h, quando TLC (hexano:éter:MeOH; 55:40:5) indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo apreendido em acetato de etila. A solução orgânica foi lavada com água (2 x), secada em sulfato de sódio. O solvente foi removido para proporcionar (S)-2-(tritil-amino)-butan-1-ol como um óleo amarelo claro; Rendimento: 33 g (89%). ^1H -RMN (CDCl₃, 250 MHz): δ 0,72 (3 H, t, J = 7,5 Hz, -NHCH(CH₂CH₃)CH₂OH), 1,15-1,10 (m, 2H, -NHCH(CH₂CH₃)CH₂OH), 2,05 (1 H, s, br, NH), 2,24 (1 H, s, br, OH), 2,62-2,54 (m, 1 H, -NHCH(CH₂CH₃)CH₂OH), 3,17-3,08 (1 H m, -NHCH(CH₂CH₃)CHHOH), 3,35-3,29 (1 H, m, -NHCH(CH₂CH₃)CHHOH), 7,37-7,2 (12 H, m, ArH), 7,65-7,58 (3 H, m, ArH); ^1C (250 MHz, CDCl₃) 146,86 (C), 129,43 (6 x CH), 127,90 (6 x CH), 126,48 (3 x CH), 71,27 (C), 62,72 (CH₂), 48,91 (CH), 24,55 (CH₂), 10,47 CH₃)

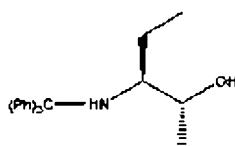
(S)-2-(Tritilamino)butiraldeído



[000157] Em uma solução agitada de dimetilsulfóxido seco (2,4 ml, 2,8 eq, 33,82 mmols) em diclorometano seco (30 ml) sob uma atmosfera de argônio a -78°C, foi adicionado cloreto de oxalila (2M de solução em DCM, 8,45 ml, 1,40 eq, 16,9 mmols), gota a gota. A mistura reacional foi agitada a -78°C durante 1 h, depois cujo tempo uma solução de (S)-2-(tritil-amino)-butan-1-ol (4 g, 1 eq, 12,07 mmols) em DCM (30 ml) foi adicionada gota a gota com agitação. A mistura reacional foi agitada nesta temperatura durante 2 h depois da qual foi adicionada uma solução de trietilamina (TEA, 8,4 ml, 5 eq, 60,27 mmol) em DCM (30 ml), e a solução permitida aquecer em temperatura ambiente durante 1 h. A

mistura reacional foi diluída com mais DCM (100 ml) e lavada com água (250 ml). A fase aquosa foi extraída com DCM (3 x 50 ml), e a fase orgânica combinada lavada com salmoura (50 ml), secada (Na_2SO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia de sílica flash (acetato de etila: Hexano 1:4) para proporcionar (S)-2-(tritil-amino)-butiraldeído como um óleo amarelo claro; Rendimento: 3,64 g (91%). ^1H -RMN (CDCl_3 , 250 MHz): δ 0,95 (3 H, t, J = 7,5 Hz, - $\text{NHCH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CHO}$), 1,72-1,52 [2 H, m, $\text{NHCH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CHO}$], 2,76 (1 H, s, br, -NH), 3,41-3,36 [1 H, m, $\text{NHCH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CHO}$], 7,35-7,17 (12 H, m, ArH), 7,67-7,51 (3 H, m, ArH), 9,05 (1 H, s, $\text{NHCH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CHO}$), δ_c (250 MHz, CDCl_3) 202,95 (CO), 146,23 (C), 129,23 (6 x CH), 127,96 (6 x CH), 126,85 (3 x CH), 71,13 (C), 62,62 (CH), 24,78 (CH₂), 10,48 (CH₃)

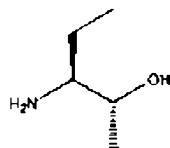
(2R, 3S)-3-(Tritilamino)pentan-2-ol



[000158] Em uma suspensão agitada de $\text{CuBr} \cdot \text{SMe}_2$ (3 g, 14,6 mmols) em éter anidroso (100 ml) sob uma atmosfera de argônio a -78°C , foi adicionado metil lítio (1,6M em éter, 16,5 ml, 4,0 eq, 26,5 mmols) gota a gota e a solução permitida aquecer em temperatura ambiente durante 1h. A mistura foi re-refriada a -78°C , e uma solução de (S)-2-(tritil-amino)-butiraldeído (2,2 g, 6,62 mmols) em éter (25 ml) foi adicionada gota a gota com agitação. A mistura reacional foi agitada em seguida nesta temperatura durante 2 horas em seguida permitida aquecer em temperatura ambiente durante 1 hora. Uma solução aquosa saturada de NH_4Cl (50 ml) foi adicionada e as duas camadas separadas. A fase orgânica foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia de coluna em sílica-gel flash, eluído com hexano:acetato de etila (80:20) para

proporcionar (2R, 3S)-3-(tritil-amino)-pentan-2-ol como um óleo amarelo claro; Rendimento: 1,5 g (66%). (75% de 2R, 3S: 25% de 2S, 3S). 1H-RMN (d6-DMSO, 250 MHz): δ 0, 0,47+0,55 (2 x t, J = 7,50 + 7,26 Hz - NHCH(CH₂CH₃)CH(CH₃)OH), 0,99-1,12 (m, 5 H, - NHCH(CH₂CH₃)CH(CH₃)OH), 2,01 (1 H, m, - NHCH(CH₂CH₃)CH(CH₃)OH), 3,22-3,43 (m, 1H, - NHCH(CH₂CH₃)CH(CH₃)OH), 4,41 [1 H, d, J = 3,3, NHCH(CH₂CH₃)CH(CH₃)OH], 7,14-7,56 (15 H, m, ArH), δ c (250 MHz, CDCl₃) 146,88 (C), 128,97 (6 x CH), 127,83 (6 x CH), 126,43 (3 x CH), 71,03 (C), 68,13 (CH), 58,77 (CH), 23,09 (CH₂), 17,88 (CH₃), 10,47 (CH₃).

(2R, 3S)-3-amino-pentan-2-ol

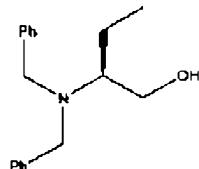


[000159] Em uma solução agitada de (2R, 3S)-3-(tritil-amino)-pentan-2-ol (1,64 g, 4,75 mmols) em diclorometano (20 ml) sob uma atmosfera de argônio em temperatura ambiente, foi adicionado ácido trifluoroacético (10 ml) gota a gota, e a solução foi agitada nesta temperatura durante 1h. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo foi precipitado de éter (15 ml) com hexano (150 ml) com agitação para produzir um óleo amarelo. O solvente foi decantado do óleo, e o óleo foi lavado com hexano (30 ml) e secado em vácuo para proporcionar (2R, 3S)-3-amino-pentan-2-ol como um óleo amarelo claro; Rendimento: 0,30 g (98%). (75% de 2R, 3S: 25% de 2S, 3S). 1H-RMN (d6-DMSO, 250 MHz): δ 0,913 + 0,923 (2 x t, 3 H, J=7,50 + 7,50 Hz, NH₂CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)OH), 1,11 + 1,18 (3 H, 2 x d, J = 6,48 + 6,48 Hz, NH₂CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)OH), 1,41-1,65 (2 H, m, NH₂CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)OH), 2,76 + 2,93 [2 x 1 H, m, NH₂CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)OH], 3,61-3,69 + 3,80-3,90 [2 x 1 H, m,

NH₂CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)OH], 7,73 (2 H, s, br, NH₂).

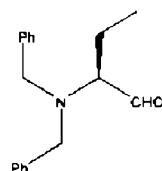
Rotina 2 protegeu a amina por dibenzilação

(S)-2-(Dibenzilamino)butan-1-ol



[000160] Em uma solução agitada de (S)-(+)-2-aminobutan-1-ol (5 g, 56,18 mmols) em acetonitrila seca (100 ml) foi adicionado carbonato de potássio em pó seco (31 g, 224,72 mmols) seguido por brometo de benzila (19 g, 111,11 mmols). A reação foi agitada em temperatura ambiente durante 24 h. O solvente foi removido sob vácuo e o resíduo foi apreendido em acetato de etila (100 ml) e água (100ml). A fase orgânica foi lavada novamente com água, secada (Na₂SO₄) e concentrada fornecer o produto puro como óleo ligeiramente amarelo (14,5g, 97,3%). δH (250 MHz, CDCl₃) 0,98 (3 H, t, J 7,5, CHCH₂CH₃), 1,38-1,2 (1 H, m, CHCHHCH₃), 1,94-1,78 (1 H, m, CHHCH₃), 2,83-2,71 (1 H, m, CHCHHCH₃), 3,22 (1 H, s, b, OH), 3,65-3,4 (2 H, m, CH₂OH), 3,47 (2 H, d, J 17,5, 2 x CHPh), 3,94 (2 H, d, J 17,5, 2 x CHPh), 7,46-7,26 (10 H, m, 2 x C₆H₅); δC (250 MHz, CDCl₃) 139,42 (2 x C), 129,1 (2 x CH), 128,52 (2 x CH), 127,25 (2 x CH), 61,97 (CH), 60,67 (CH₂), 53,23 (CH₂), 17,92 (CH₂), 11,83 (CH₃); m/z 270,2 (M+H)

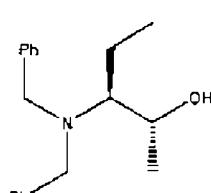
(S)-2-(Dibenzilamino)butanal



[000161] Uma solução de cloreto de oxalila a 2M em diclorometano (3,18 ml, 6,36 mmols) foi resfriada a -78 °C e diluída com diclorometano seco (20 ml) sob nitrogênio seco. Uma solução de dimetilsulfóxido (1g, 12,72 mmols) em diclorometano anidroso gota a gota foi adicionada à solução agitada resfriada. A reação foi agitada

durante um adicional de 1h depois da conclusão da adição. Uma solução de (S)-2-(dibenzilamino) butan-1-ol (1,43g, 5,3 mmols) em diclorometano foi adicionada durante 5 minutos. Depois de 10 minutos, di-isopropiletilamina (2,73 g, 21,2 mmols) foi adicionada. A reação foi permitida aquecer em temperatura ambiente e deixada agitar durante 1h. Foi resfriada a 0°C e acetato de etila / água (50 ml: 50 ml) foram adicionados. A camada orgânica foi lavada com água (50ml), salmoura (50 ml) secada (MgSO_4) e concentrada. O produto foi purificado por cromatografia de coluna em sílica flash (acetato de etila: Hexano 1: 4) para fornecer o produto puro (1,28 g, 90,5%). δH (250 MHz, CDCl_3) 0,88 (3 H, t, J 7,5, CHCH_2CH_3), 1,77-1,54 (2 H, m, CH_2CH_3), 2,99 (1 H, t, J 7,5, CHCH_2CH_3), 3,74-3,57 (4 H, m, 2 x CH_2Ph), 7,31-7,11 (10 H, m, 2 x C_6H_5) 9,64 (1 H, s, CHO); δC (250 MHz, CDCl_3) 203,9 (CO), 139,33 (2 x C), 128,99 (4 x CH), 128,45 (4 x CH), 127,3 (2 x CH), 68,46 (CH), 54,85 (CH₂), 17,44 (CH₂), 11,83 (CH₃); m/z 268,2 (M + H)

(2R,3S)-3-(Dibenzilamino)pentan-2-ol

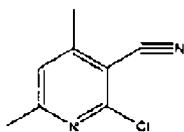


[000162] Em uma suspensão agitada de CuBr.SMe_2 (1,54g, 7,5 mmol) em éter anidroso sob uma atmosfera de argônio a -78°C , foi adicionado metil lítio (éter a 1,6M, 9,4ml, 15mmols) gota a gota. Depois que a adição estava completa, a reação foi permitida aquecer em temperatura ambiente. A reação foi re-resfriada a -78°C e uma solução de (S)-2-(dibenzilamino)butanal (1g, 3,75mmols) em éter (20 ml) foi adicionada gota a gota. Depois da adição, a agitação continuou durante 2h. A reação foi em seguida extinguida com uma solução aquosa saturada de NH_4Cl (10 ml). A mistura reacional foi extraída com éter (2x 30ml) e a fase orgânica combinada lavada com salmoura (20 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por

cromatografia em coluna de gradiente de sílica-gel flash, eluído com hexano: acetato de etila (100:0 → 80: 20) para proporcionar o produto como um óleo amarelo claro (0,95g, 89%) como o único isômero. δ_H (250 MHz, $CDCl_3$) 1,05 (3 H, t, J 7,5, $CHCH_2CH_3$), 1,25 [3 H, d, J 7,5, $CH(CH_3)OH$], 1,6-1,49 (1 H, m, $CHHCH_3$), 1,88-1,73 (1 H, m, $CHHCH_3$), 2,41 (1 H, s, br, OH), 2,66-2,59 (1 H, m, $CHCH_2CH_3$), 3,85-3,65 (4 H, m, 2 x CH_2Ph), 4,05-3,9 (1 H, m, $CHOH$), 7,41-7,25 (10 H, m, ArH) δ_C (250 MHz, $CDCl_3$) 140,05 (2 x C), 128,98 (4 x CH), 128,37 (4 x CH), 127,3 (2 x CH), 66,81 (CH), 63,65 (CH), 55,41 (CH_2), 20,63 (CH_3) 18,44 (CH_2), 12,5 (CH_3)

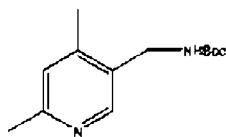
Exemplo 1

2-Cloro-4, 6-dimetilnicotinonitrila



[000163] 4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihdropiridina-3-carbonitrila (5 g, 34 mmols) foi adicionado ao oxicloreto de fósforo (20ml). A reação foi agitada em refluxo durante 2 h depois do qual foi observada completa. Os voláteis foram removidos e o resíduo triturado com gasolina. O sólido resultante foi filtrado e lavado com hexano, e secado para produzir um sólido branco puro (5,1g, 90%). δ_H (250 MHz, $CDCl_3$) 2,55 (3 H, s, CH_3), 2,57 (3 H, s, CH_3), 7,09 (1 H, s, ArH); δ_C (250 MHz, $CDCl_3$) 162,64 (C), 154,39 (C), 152,26 (C), 123,22 (CH), 114,28 (C), 108,31 (C), 24,5 (CH_3), 20,54 (CH_3).; m/z 189 (M + Na)

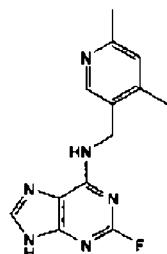
Éster terc-butílico de ácido 4,6-dimetilpiridin-3-ilmetila



[000164] 2-Cloro-4,6-dimetil-nicotinonitrila (5 g, 30,1 mmols) foi dissolvido em 10% de ácido acético / etanol (30 ml). 10% de paládio em catalisador de carvão (0,5g) foram adicionados e a reação agitada sob

uma atmosfera de hidrogênio durante 24 horas a 60oC. A mistura foi filtrada por um bloco de celita. Os voláteis foram removidos e o resíduo bruto dissolvido em diclorometano (30 ml). À solução agitada foi em seguida adicionado trietilamina (5 ml) seguido por di-terc-butildicarbonato (6,5 g, 30 mmols). Depois de 3 horas, o solvente foi removido e o resíduo dissolvido em acetato de etila. Foi lavado com água (50 ml), bicarbonato saturado (50ml), secado e evaporado. O produto bruto foi purificado por cromatografia de coluna flash de sílica-gel (acetato de etila: hexano 1:2) para fornecer 1,4 g do composto do título puro (20% de rendimento). δ H (250 MHz, CDCl3) 1,43 (9 H, s, 3 x CH3) 2,19 (3 H, s, CH3), 2,38 (3 H, s, CH3), 4,19 (2 H, s, br, ArCH2NH), 6,84 (1 H, s, ArH), 8,15 (1 H, s, ArH); δ C (250 MHz, CDCl3) 157,41 (CO), 155,63 (C), 148,93 (CH), 145,91 (C), 129,51 (C), 124,76 (CH), 79,44 (C), 46,12 (CH2), 28,32 (3 x CH3), 23,74 (CH3), 18,97 (CH3); m/z 237,2 (M + H)

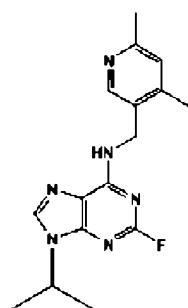
(4,6-Dimetilpiridin-3-ilmetil)-(2-flúor-9H-purin-6-il)-amina



[000165] Em uma solução agitada de 6-Cloro-2-fluoropurina (0,83 g, 4,9 mmols) em n-BuOH (50 ml) sob uma atmosfera de argônio a 0 oC, foi adicionado DIEA (2,5 ml, 14,7 mmols) seguido por (4,6-dimetilpiridina-3-il)metanamina (1 g, 7,35 mmols). A mistura reacional foi agitada nesta temperatura durante 1 hora e em seguida permitida retornar à temperatura ambiente e agitada durante 4h, ainda foi observada incompleta, conseqüentemente a reação foi aquecida a 100oC e deixada nesta temperatura durante 2h. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia de coluna flash de gradiente em sílica-gel, eluído com CHCl3:MeOH (100:0

→ 90:10), para proporcionar o produto como um sólido branco; Rendimento: 0,86 g (65%); δ H (250 MHz, CDCl3) 2,35 (3 H, s, CH3), 2,39 (3 H, s, CH3), 4,61 (2 H, s, br, NHCH2), 7,07 (1 H, s, ArH), 8,13 (1 H, s, ArH), 8,33 (1 H, s, ArH), 8,69 (1 H, s, br, NH); δ C (250 MHz, CDCl3) 161,2 (C), 158,57 (C), 156,08 (C), 150 (C), 148,08 (CH), 148,14 (CH), 147,9 (CH), 145,93 (C), 129,92 (C), 129,76 (C), 124,37 (CH), 41,7 (CH2), 23,17 (CH3), 18,14 (CH3); m/z 273,2 (M + H)

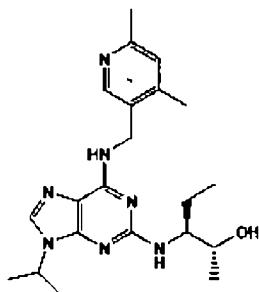
(4,6-Dimetilpiridin-3-ilmetil)-(2-flúor-9-isopropil 9H-purin-6-il)-amina



[000166] Em uma solução agitada de (4,6-dimetil-piridin-3-ilmetil)-(2-flúor-9H-purin-6-il)-amina (0,6 g, 1,9 mmol) em DMF (10 ml) sob uma atmosfera de argônio, em RT, foi adicionado K2CO3 (em pó, anidroso, 1,77 g, 5 eq, 13 mmols) seguido por 2-bromopropano (1,8 ml, 10 eq, 19 mmols). A mistura reacional foi agitada em RT durante 24 h, quando TLC (CHCl3: MeOH; 90:10) indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo dividido entre água (50 ml) e acetato de etila (50 ml), a fase aquosa foi separada e extraída com mais EtOAc (2 x 50 ml). A fase orgânica aumentada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO4) e evaporada em vácuo, e o resíduo foi purificado por cromatografia de coluna de gradiente em sílica-gel, eluído com CHCl3: MeOH (100:0 → 95:5), para fornecer o produto como uma película amarela (0,4g, 59%). δ H (250 MHz, CDCl3) 1,52 [6 H, d, J 7,5 CH(CH3)2] 2,27 (3 H, s, CH3), 2,45(3 H, s, CH3), 4,73-4,62 (3 H, m, NHCH2 e CH[CH3]2), 6,91 (1 H, s, ArH), 7,12 (1 H, NH), 7,47 (1 H, s, ArH), 8,32 (1 H, s, ArH); δ C (250 MHz, CDCl3) 160,77

(C), 157,89 (C), 157,43 (C), 156,12 (C), 155,79 (C), 149,14 (CH), 137,7 (CH), 128,7 (C), 129,76 (C), 124,83 (CH), 47,2 (CH), 40,14 (CH₂), 23,9 (CH₃), 22,47 (2 x CH₃), 18,54 (CH₃); m/z 315,3 (M + H)

(2R,3S)-3-(6-((4,6-Dimetilpiridin-3-ilmetilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol [1]

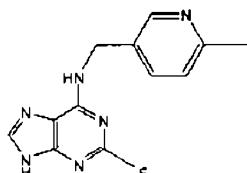


[000167] Em uma solução agitada de (4,6-dimetil-piridin-3-ilmetil)-(2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-il)-amina (300 mg, 0,84 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1,7 ml, 10 eq, 8,4 mmols) seguido por (2R, 3S)-3-amino-pantan-2-ol (0,5g, 4,8mmols). O frasco foi adaptado com um condensador e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140oC e agitado nesta temperatura durante 72 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre acetato de etila (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia de coluna de gradiente flash em sílica-gel eluído com CHCl₃: MeOH (100:0 → 95:5), para proporcionar 55mg do composto do título puro (12%). δ H (250 MHz, CDCl₃) 0,95 (3 H, t, J 7,5, CHCH₂CH₃), 1,06 (3 H, d, J 7,5, CHCH₃OH) 1,48 [6 H, d, J 7,5 CH(CH₃)₂], 2,24 (3 H, s, CH₃), 2,4 (3 H, s, CH₃), 3,92-3,82 (2 H, m, NHCH₂), 4,67-4,45 (3 H, m, CHEtCHMeOH), 6,15 (1 H, s, br, NH), 6,87 (1 H, s, ArH), 7,37 (1 H, ArH), 8,31 (1 H, s, ArH); δ C (250 MHz, CDCl₃) 160,11 (C), 157,68 (C), 154,57 (C), 149,42(CH), 146,38 (C), 134,54

(CH), 129,24 (C), 124,84 (CH), 71,52 (CH), 59,65(CH), 46,47 (CH), 40,33 (CH₂), 24,94 (CH₂), 23,89 (CH₃), 23,52 (2 x CH₃), 17,37 (CH₃), 12,57 (CH₃); m/z 398,3 (M + H)

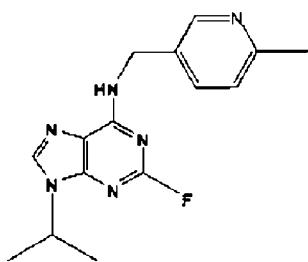
Exemplo 2

2-Flúor-N-((6-metilpiridin-3-il)metil)-9H-purin-6-amina



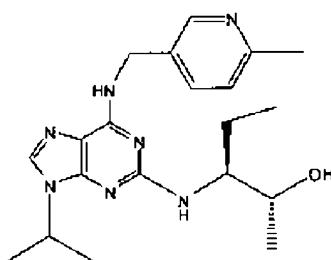
[000168] Em uma solução agitada de 6-Cloro-2-fluoropurina (0,4g, 2,3 mmols) em n-BuOH (50 ml) sob uma atmosfera de argônio a 0oC, foi adicionado DIEA (2,5 ml, 14,7 mmols) seguido por (6-metilpiridin-3-il)metanamina (0,36g, 2,95 mmols). A mistura reacional foi agitada nesta temperatura durante 1 h e em seguida permitida retornar à temperatura ambiente e agitada durante 4h, ainda foi observada incompleta, consequentemente a reação foi aquecida a 100oC e deixada nesta temperatura durante 8h. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia de coluna de gradiente em sílica-gel, eluído com CHCl₃: MeOH (100:0 → 90:10), para proporcionar o produto como um sólido branco; Rendimento: 0,38 g (65%) δH CDCl₃, 250 MHz) 2,44 (3 H, s, CH₃), 3,66-3,57 (2 H, m, NHCH₂), 4,63 (1 H, s, br, NH), 7,25 (1 H, d, J 7,5, ArH), 7,71 (1 H, dd, J 2,5, 7,5, ArH), 8,14 (1 H, s, ArH), 8,49 (1 H, s, ArH), 9,07 (1 H, s, br, NH); δC (CDCl₃, 250 MHz) 159,12 (C), 158,62 (C), 157,61 (C), 155,56 (C), 147,44 (CH), 146,99 (CH), 136,32 (C), 123,05 (2 x CH), 119,42 (C), 41,64 (CH₂), 18,47 (CH₃); m/z 259,2 (M + H)

2-Flúor-9-isopropil-N-((6-metilpiridin-3-il)metil)-9H-purin-6-amina



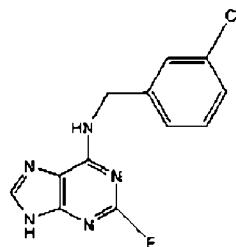
[000169] Em uma solução agitada de 2-flúor-N-(6-metilpiridin-3-il)metil-9H-purin-6-amina (0,3 g, 1,17 mmol) em dimetilformamida (10 ml) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio, foi adicionado K₂CO₃ em pó, anidroso (0,8 g, 5 eq, 5,85 mmols), seguido por 2-bromopropano (1,15 ml, 11,7 mmols). A mistura reacional foi agitada em temperatura ambiente durante 24 h, quando DCM:éter:MeOH (55:40:5), indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo dividido entre EtOAc (100 ml) e água (100 ml). A fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 50 ml) e a fase orgânica combinada lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida, eluído com CHCl₃:MeOH (98: 2) para proporcionar o composto do título como uma película ligeiramente amarela (195 mg, 55%). δ H (CDCl₃, 250 MHz) 1,52 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 2,5 (3 H, s, CH₃), 4,76-4,6 (3 H, m, NHCH₂ e CHMe₂), 7,06 (1 H, d, J 2,5, ArH), 7,35 (1 H, s, br, NH), 7,56 (2 H, s, br, ArH), 8,47 (1 H, s, br, ArH); δ C (CDCl₃, 250 MHz) 157,6 (C), 156,32 (C), 156 (C), 148,47 (CH), 137,72 (CH), 136,08 (CH), 130,83 (C), 123,11 (CH), 118,2 (C), 47,38 (CH), 43,2 (CH₂), 23,99 (CH₃), 22,5 (2 x CH₃); m/z 301,2 (M + H)

2R,3S-3-(9-isopropil-6-((6-metilpiridin-3-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol [2]

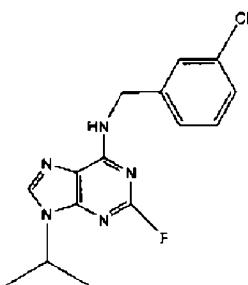


[000170] Em uma solução agitada de 2-flúor-9-isopropil—N-(6-metilpiridin-3-ilmetil)-9-H-purin-6-amina (180 mg, 0,59 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1 ml, 10 eq, 5,6 mmols) seguido por (2R, 3S)-3-amino-pentan-2-ol (0,34 g, 6 mmols). O frasco foi adaptado com um condensador e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitado nesta temperatura durante 72 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com CHCl_3 : MeOH (100:0 → 95:5), para proporcionar o composto do título como um óleo amarelo leve (40 mg, 19%). δH (CDCl_3 , 250 MHz) 0,95 (3 H, t, J 7,5, CHCH_2CH_3), 1,14 (3 H, d, J 5, CHCH_3OH), 1,54 (6 H, d, J 7,5, $\text{CH}[\text{CH}_3]_2$), 1,62-1,43 (2 H, m, CHCH_2CH_3), 2,44 (3 H, s, ArCH_3), 3,93 (1 H, m, CHMe_2), 4,77-4,58 (1 H, m, CHCH_3OH), 4,8-4,6 (2 H, m, NHCH_2Ar), 5,8 (1 H, s, br, NH), 6,82 (1 H, s, br, NH), 7,09 (1 H, d, J 10, ArH), 7,31-7,23 (2 H, m, ArH), 8,49 (1 H, s, br, ArH); δC (CDCl_3 , 250 MHz) 157,71 (C), 156,28 (C), 155,95 (C), 148,58 (CH), 137,73 (CH), 129,01 (C), 128,52 (C), 128,42 (CH), 1231,14 (CH), 68,84 (CH), 50,45 (CH₂), 47,25 (CH), 23,27 (CH₃), 22,53 (2 x CH₃), 20,9 (CH₂), 19,46 (CH₃), 10,45 (CH₃); m/z 384,3 (M + H)

Exemplo 3

(3-Clorobenzil)-(2-flúor-9H-purin-6-il)amina

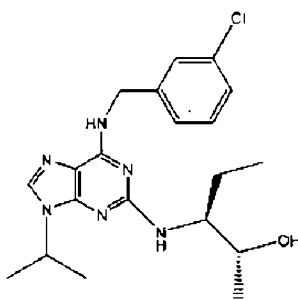
[000171] Em uma solução agitada de 6-Cloro-2-fluoropurina (1g, 1 eq, 5,9 mmols) em n-BuOH (50 ml) sob uma atmosfera de argônio, foi adicionado DIEA (2,6 ml, 2,5 eq, 14,75 mmols) seguido por 3-Cloro-benzilamina (1,25g, 1,5 eq, 8,85 mmols). A mistura reacional foi aquecida a 100°C durante 3 horas depois da qual a reação foi concluída. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo purificado por cromatografia de coluna de gradiente em sílica-gel, eluído com DCM:éter:MeOH (55:45:0 → 55:43:2), para proporcionar o composto do título como um sólido branco; Rendimento: 1,15 g (70%). δ H (250 MHz, d6-DMSO) 4,78-4,6 (2 H, m, NHCH2Ar), 7,41-7,28 (4 H, m, ArH), 7,57 (1 H, s, br, ArH), 8,15 (1 H, s, br, NH), 8,88 (1 H, s, br, NH); δ C (250 MHz, Ci6-DMSO) 142,3 (C), 133,02 (C), 132,92 (C), 130,25 (CH), 130,17 (C), 127,82 (CH), 127,27 (CH), 127,03 (CH), 126,76(C), 125,92 (CH), 116,4 (C), 115 (C), 42,67(CH2); m/z 278 (M + H)

(3-Clorobenzil)-(2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-il)amina

[000172] Em uma solução agitada de (3-Cloro-benzil)-(2-flúor-9H-purin-6-il)-amina (0,6 g, 2,16 mmols) em dimetilformamida (10 ml) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio, foi adicionado carbonato de potássio anidroso, em pó (1,47 g, 5 eq, 10,8 mmols),

seguido por 2-bromopropano (2,2 ml, 10 eq, 21,6 mmols). A mistura reacional foi agitada em temperatura ambiente durante 24 h, quando DCM:éter:MeOH (55:40:5), indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo divididos entre acetato de etila (50 ml) e água (50 ml). A fase aquosa foi extraída com mais acetato de etila (2 x 50 ml) e a fase orgânica combinada lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida, eluído com CHCl_3 para proporcionar o composto do título como uma goma ligeiramente amarela; Rendimento: 0,45 g (65%). δH (250 MHz, CDCl_3) 1,57 (6 H, d, J 7,5, $\text{CH}[\text{CH}_3]_2$), 4,81-4,63 (3 H, m, NHCH_2Ar e CHMe_2), 5,98 (1 H, s, br, NH), 7,29-7,19 (3 H, m, ArH), 7,34 (1 H, s, br, ArH), 7,42 (1 H, d, J 7,5, ArH), 7,51 (1 H, s, br, NH); δC (250 MHz, CDCl_3) 161,93 (C), 156,37 (C), 156,05 (C), 141,33 (C), 140,42 (C), 137,75 (CH), 134,49 (C), 129,92 (CH), 127,69 (CH), 125,81 (CH), 125,64 (CH), 47,43 (CH), 43,82 (CH₂), 22,56 (2 x CH₃); m/z 320,3 (M + H)

2R,3S-3-(6-(3-Clorobenzilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol

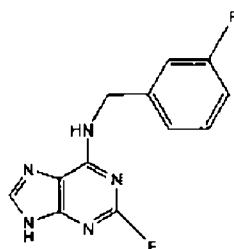


[000173] Em uma solução agitada de (3-Cloro-benzil)-(2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-il)-amina (0,3 g, 0,93 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (0,6 ml, 10 eq, 10 mmols) seguido por (2R, 3S)-3-amino-pentan-2-ol (0,5 g, 4,8 mmols). A mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitada nesta

temperatura durante 72 h, quando TLC clorofórmio: metanol (95: 5) indicou que a reação tinha chegado à conclusão. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre diclorometano (100 ml) e água (100 ml), a fase aquosa foi extraída com mais diclorometano (3 x 50 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com DCM:éter:MeOH (60:40:0 → 60:40:2) para proporcionar o produto do título como uma película incolor; Rendimento: 90 mg (22,5%). δH (250 MHz, CDCl_3) 0,97 (3 H, t, J 7,5, CHCH_2CH_3), 1,08 (3 H, d, J 7,5, CHCH_3OH), 1,45 (6 H, d, J 7,5, $\text{CH}[\text{CH}_3]_2$), 1,6-1,35 (2 H, m, CHCH_2CH_3), 3,93-3,8 (2 H, m, CHEt e NH), 4,55-4,45 [1 H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$], 4,74-4,64 (3 H, m, NHCH_2Ar e CHMe_2), 5,5 (1 H, s, br, OH), 6,53 (1 H, s, br, NH), 7,19-7,13 (3 H, m, ArH), 7,22 (1 H, s, ArH), 7,32 (1 H, s, ArH); δC (250 MHz, CDCl_3) 175,06 (C), 160,17 (C), 154,75 (C), 141,22 (C), 134,57 (CH), 134,29 (C), 129,73 (CH), 127,75 (CH), 127,30 (CH), 125,7 (CH), 114,56 (C), 71,53 (CH), 59,58 (CH), 46,44(CH), 43,78 (CH₂), 23,96 (2xCH₃), 18,65 (CH₃), 18,32 (CH₃), 12,56 (CH₃); m/z 403,2 (M + H)

Exemplo 4

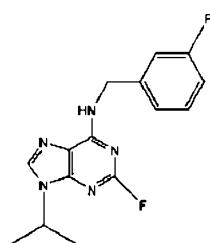
3-Fluorobenzil-2-flúor-9H-purin-6-il)amina



[000174] Em uma solução agitada de 6-Cloro-2-fluoropurina (1g, 5,9 mmols) em n-BuOH (30 mL) sob uma atmosfera de argônio, foi adicionado DIEA (2,6 mL, 2,5 eq, 14,75 mmols) seguido por 3-flúorobenzilamina (1,1g, 1,5 eq, 8,85 mmols). A mistura reacional foi aquecida

a 100°C durante 3 horas depois da qual a reação foi concluída. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo purificado por cromatografia de coluna flash de gradiente em sílica-gel, eluído com DCM:éter:MeOH (55:45:0 → 55:43:2), para proporcionar o composto do título como um sólido branco; Rendimento: 1,1 g (71,7%). δ H (250 MHz, d6-DMSO) 4,79-4,66 (2 H, s, br, NHCH₂Ar), 7,41-7,28 (4 H, m, ArH), 7,57 (1 H, s, br, ArH), 8,15 (1 H, s, br, NH), 8,87 (1 H, s, br, NH); δ C (250 MHz, d6-DMSO) 142,5 (C), 133,02 (C), 132,92 (C), 130,24 (CH), 130,17 (C), 128,41 (CH), 127,75 (C), 127,04 (CH), 126,76 (CH), 125,92 (CH), 116,2 (C), 115 (C), 42,68 (CH₂); m/z 262,1 (M + H)

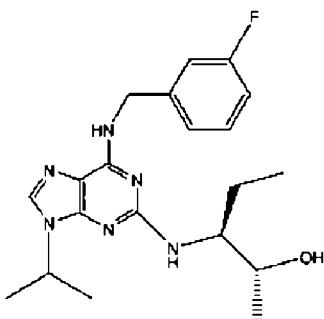
3-Fluorobenzil-(2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-il)amina



[000175] Em uma solução agitada de (3-flúor-benzil)-(2-flúor-9H-purin-6-il)-amina (0,6 g, 2,24 mmols) em dimetilformamida (10 ml) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio, foi adicionado carbonato de potássio anidroso, em pó (1,52 g, 5 eq, 11,2 mmols), seguido por 2-bromopropano (2,3 ml, 10 eq, 22,4 mmols). A mistura reacional foi agitada em temperatura ambiente durante 24 h, quando DCM:éter:MeOH (55:40:5), indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo divididos entre acetato de etila (100 ml) e água (100 ml). A fase aquosa foi extraída com mais acetato de etila (2 x 50 ml) e a fase orgânica combinada lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia de coluna em sílica-gel flash, eluído com clorofórmio para proporcionar o composto do título como uma goma ligeiramente amarela; Rendimento: 0,37 g (54%). δ H (250 MHz, CDCl₃) 1,55 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 4,85-4,65 (3 H, m,

NHCH₂Ar e CHMe₂), 5,96 (1 H, s, br, NH), 7,31-6,94 (4 H,m, ArH), 7,59 (1 H, s, br, ArH); δ C (250 MHz, CDCl₃) 164,93 (C), 161,01 (C), 156,04 (C), 139,77 (C), 137,76 (CH), 130,13 (CH), 129,92 (C), 123,19 (CH), 114,59 (CH), 114,26 (CH), 47,22 (CH), 43,93 (CH₂), 22,56 (2 x CH₃); m/z 304,2 (M + H)

2R,3S-3-[6-(3-Fluorobenzilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino]-pentan-2-ol [4]

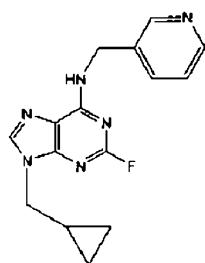


[000176] Em uma solução agitada de (3-flúor-benzil)-(2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-il)-amina (0,3 g, 0,99 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (0,6 ml, 10 eq, 10 mmols) seguido por (2R, 3S)-3-amino-pentan-2-ol (0,5 g, 4,8 mmols). A mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitada nesta temperatura durante 72 h, quando TLC clorofórmio: metanol (95: 5) indicou que a reação tinha chegado à conclusão. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre diclorometano (100 mL) e água (200 mL), a fase aquosa foi extraída com mais diclorometano (3 x 50 mL), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 mL), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com DCM:éter:MeOH (60:40:0 → 60:40:2) para proporcionar o produto do título como uma película incolor; Rendimento: 80 mg (20%). δ H (250 MHz, CDCl₃) 1,05 (3 H, t, J 7,5, CHCH₂CH₃), 1,15 (3 H, d, J 7,5, CHCH₃OH), 1,55 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 1,65-1,4 (2 H, m,

CHCH₂CH₃), 4-3,91 (2 H, m, CHEt e CHMe₂), 4,66-4,55 (1 H, m, CHMeOH), 4,8 (2 H, d, J 5, NHCH₂Ar), 6,41 (1 H, s, br, NH), 7,33-6,92 (4 H, m, ArH), 7,46 (1 H, s, br, ArH); δ C (250 MHz, CDCl₃) 165,2 (C), 164,92 (C), 160,18 (C), 154,77 (C), 141,67 (C), 141,56 (C), 134,59 (CH), 130,08 (CH), 123,14 (CH), 114,71 (CH), 113,95 (CH), 71,61 (CH), 59,65 (CH), 46,48 (CH), 43,94 (CH₂), 25,02 (CH₂), 22,52 (2 x CH₃), 17,24 (CH₃), 10,59 (CH₃); m/z 387,3 (M + H)

Exemplo 5

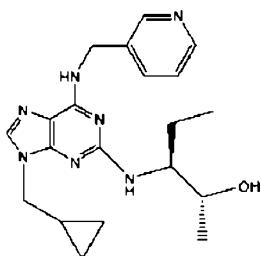
(9-Ciclopropilmetil-2-flúor-9H-purin-6-il)-piridin-3-ilmetil-amina



[000177] Em uma solução agitada de 2-flúor-6-[(piridin-3-ilmetil)-amino]purina (1 g, 4,10 mmols) em DMF (12 ml) sob uma atmosfera de argônio, em RT, foi adicionado K₂CO₃ (em pó, anidroso, 2,84 g, 5 eq, 20,52 mmols) seguido por (bromoetil)ciclopropano (5,53g, 10 eq, 41 mmols). A mistura reacional foi agitada em RT durante 24 h, quando TLC (CHCl₃: MeOH; 90:10) indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo dividido entre água (50 ml) e EtOAc (50mL); a fase aquosa foi separada e extraída com mais EtOAc (2 x 50 ml). A fase orgânica aumentada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo, e o resíduo foi purificado por cromatografia de coluna flash de gradiente em sílica-gel, eluído com CHCl₃: MeOH (100:0 \rightarrow 95:5), para proporcionar o produto como uma goma incolor; Rendimento: 0,8 g (68%) δ H (250 MHz, CDCl₃) 0,24-0,15 (2 H, m, CHH e CHH de Cp), 0,48-0,38 (2 H, m, CHH e CHH de Cp), 1,11-0,95 (1 H, m, CH de Cp), 2,56 (1 H, s, br, NH), 3,69 (2 H, d, J 7,5, NCH₂Cp), 4,58 (2 H, s, br, NHCH₂Ar), 7,04-6,96 (1

H, m, ArH), 7,51-7,45 (2 H, m, ArH), 8,26-8,24 (1 H, m, ArH), 8,37 (1 H, s, br, ArH); δ C (250 MHz, CDCl3) 156,32 (C), 156,01 (C), 149,29 (CH), 148,97 (CH), 139,85 (CH), 139,8 (C), 135,54 (CH), 133,81 (C), 123,51 (CH), 117,86 (C), 48,52 (CH2), 42,09 (CH2), 11,06 (CH3), 5,28 (2 x CH2); m/z 299,2 (M + H)

2R,3S-3-(9-(Ciclopropilmetil)-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol

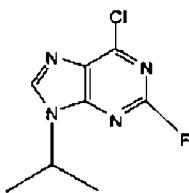


[000178] Em uma solução agitada de (9-ciclopropilmetil-2-flúor-9H-purin-6-il)-piridin-3-ilmetil-amina (300 mg, 1mmol) em n-BuOH / DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1,9 mL, 10 eq, 10,5 mmol) seguido por (2R, 3S)-3-amino-pantan-2-ol (500 mg, 4,8 eq, 4,8mmol). O frasco foi adaptado com um condensador e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitado nesta temperatura durante 72 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre acetato de etila (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais acetato de etila (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia de coluna de gradiente flash em sílica-gel eluído com CHCl3: MeOH (100:0 \rightarrow 95:5), para proporcionar o produto como uma película incolor. Rendimento (85 mg, 22%). δ H (250 MHz, CDCl3) 0,45-0,35 (2 H, m, CHH e CHH de Cp), 0,7-0,6 (2 H, m, CHH e CHH de Cp), 1,02 (3 H, t, J 7,5, CHCH2CH3), 1,16 (3 H, d, J 7,5, CHCH3OH), 1,35-1,2 (1 H, m, CHCHHCH3), 1,68-1,38 (2 H, m,

CHCHHCH₃ e CH de Cp), 3,9-3,8 (2 H, m, CHOH e CHEt), 4,05 (2 H, d, J 7,5, NCH₂Cp), 4,76 (2 H, s, br, NHCH₂Ar), 4,87 (1 H, d, J 5, OH), 5,77 (1 H, s, br, NH), 6,67 (1 H, s, br, NH), 7,22-7,17 (1 H, m, ArH), 7,53 (1 H, s, ArH), 7,65 (1 H, dd, J 2,5, 7,5, ArH), 8,5 (1 H, d, J 5, ArH), 8,61 (1 H, s, ArH) LI I-0,95 (1 H, m, CH de Cp), 2,56 (1 H, s, br, NH), 3,69 (2 H, d, J 7,5, NCH₂Cp), 4,58 (2 H, s, br, NHCH₂Ar), 7,04-6,96 (1 H, m, ArH), 7,51-7,45 (2 H, m, ArH), 8,26-8,24 (1 H, m, ArH), 8,37 (1 H, s, br, ArH); δ C (250 MHz, CDCl₃) 160,3 (C), 154,71 (C), 151,05 (C), 151,05 (C), 149,28 (CH), 148,64 (CH), 136,85 (CH), 135,30 (CH), 134,56 (C), 129,2 (C), 123,37 (CH), 122,1 (C), 114,21 (C), 77,27 (CH), 59,5 (CH), 48,02 (CH₂), 41,99 (CH₂), 24,84 (CH₂), 17,4 (CH₃), 11,53 (CH₃), 11,01 (CH₃), 4,2 (CH₂); m/z 382,3 (M + H)

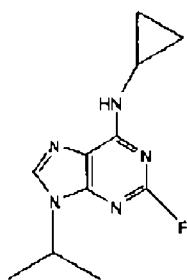
Exemplo 6

6-Cloro-2-flúor-9-isopropil-9H-purina



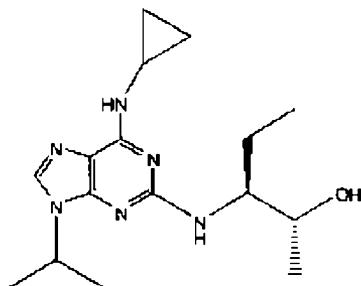
[000179] Uma mistura de 2-flúor-6-cloro-purina (2g, 11,7 mmols), e carbonato de potássio em pó (4g, 28 mmols) foi agitada vigorosamente em 30 ml de DMF. Isopropiliodeto (6 ml, 60 mmols) foi adicionado muito lentamente durante 2 h. A reação foi agitada durante um adicional de 5 h. DMF foi removido e o bruto apreendido em acetato de etila, lavado com água (50 ml), salmoura (50 ml), secado (MgSO₄) e concentrado. O bruto foi purificado por cromatografia de coluna em sílica-gel (30% de acetato de etila em hexano) para fornecer o produto puro como um sólido branco (1,1 g, 44%). δ H (CD₃OD, 250 MHz) 1,65 [6 H, d, J 7,5, CH(CH₃)₂], 4,92 [1 H, m, CH(CH₃)₂], 8,66 (1 H, s, ArH); δ C (CD₃OD, 250 MHz) 154,7 (C), 153,88 (C), 152,2 (C), 147,65 (CH), 132,44 (C), 50,66 (CH), 22,72 (2 x CH₃); m/z 215,2 (M + H)

N-Ciclopropil-2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-amina



[000180] 6-Cloro-2-flúor-9-isopropil-9H-purina (0,3g, 1,4 mmol), di-isoprpiletilamina (0,2g, 1,55 mmol) e ciclopropilamina (0,2g, 2,66 mmol) foram agitadas juntas em etanol (30 ml) em temperatura ambiente durante 6 h. Os voláteis foram removidos e o resíduo apreendido em acetato de etila, lavado com água (50 ml), salmoura (50 ml), secado (MgSO_4) e concentrado. O bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida (acetato de etila: hexano 3:2) para produzir o produto puro (232mg, 70,5%) δH (CDCl_3 , 500 MHz) 0,63-0,55 (2 H, m, CHHCHH de Cp), 0,85-0,78 (2 H, m, CHHCHH de Cp), 1,54 (6 H, d, J 7,5, $\text{CH}[\text{CH}_3]_2$), 2,97 (1 H, s, br, CH de Cp), 4,73-4,62 (1 H, m, CHMe2), 6,72 (1 H, s, br, NH) 7,7 (1 H, s, ArH); δC (CDCl_3 , 500 MHz) 159,29 (C), 157,63 (C), 156,8 (C), 156,64 (C), 137,69 (CH), 47,35 (CH), 22,6 (2 x CH3), 21,06 (CH), 7,28 (2 x CH2); m/z 236,2 (M + H)

2R,3S-3-(6-Ciclopropilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol [6]

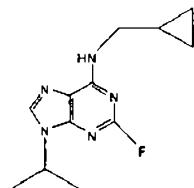


[000181] Em uma solução agitada de N-ciclopropil-2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-amina (232 mg, 0,99 mmol) em N-metilpirrolidinona (10 ml) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (0,2 mL, 10,96 eq, 1,14 mmol) seguido por (2R,3S)-3-aminopentan-2-ol (540 mg, 5 eq, 5,25 mmols). A mistura reacional foi

colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitada nesta temperatura durante 24 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e água em excesso foi adicionada ao qual o produto lubrificou-se. Adicionou-se acetato de etila e lavou-se a camada orgânica cuidadosamente com água (3 x 50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com acetato de etila para proporcionar o produto do título como um sólido marrom pálido (46 mg, 15%). δH (CDCl_3 , 500 MHz) 0,58-0,49 (2 H, m, CHHCHH de Cp), 0,83-0,81 (2 H, m, CHHCHH de Cp), 1,03 (3 H, t, J 7,5, CHCH₂CH₃), 1,13 (3 H, d, J 7,5, CHCH₃OH), 1,55 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 1,57-1,45 (2 H, m, CHCH₂CH₃), 2,91 (1 H, s, b, CH de Cp), 3,95 (2 H, s, br, CHMe₂ e CHEt), 4,6-4,57 (1 H, m, CHMeOH), 4,84 (1 H, s, br, NH), 6,25 (1 H, s, br, NH), 7,49 (1 H, s, ArH); δC (CDCl_3 , 500 MHz) 160,16 (C), 155,91 (C), 150,24 (C), 134,57 (CH), 114,63 (C), 71,57 (CH), 59,88 (CH), 46,27 (CH), 25,15 (CH₂), 22,59 (CH₃), 17,22 (CH₃), 11,61 (CH₃), 7,34 (CH₂), 4,735 (CH), 22,6 (2 x CH₃), 21,06 (CH), 7,28 (2 x CH₂); m/z 319,3 (M + H)

Exemplo 7

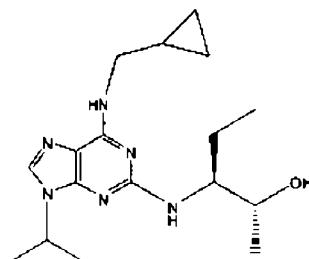
N-(Ciclopropilmetil)-2-flúor-9-isopropil-9H-purina-6-amina



[000182] 6-Cloro-2-flúor-9-isopropil-9H-purina (0,3g, 1,4 mmol), di-isopropiletilamina (0,2g, 1,55 mmol) e ciclopropilmetilamina (0,24g, 2,7 mmols) foram agitadas juntas em etanol (30 ml) em temperatura ambiente durante 6 h. Os voláteis foram removidos e o resíduo apreendido em acetato de etila, lavados com água (50 ml), salmoura (50 ml), secados (MgSO_4) e concentrados. O bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida (acetato de etila: hexano

3:2) para produzir o produto puro (290 mg, 83%) como uma goma incolor. δ H (CDCl3, 500 MHz) 0,29-0,27 (2 H, m, CHHCHH de Cp), 0,56-0,54 (2 H, m, CHHCHH de Cp), 1,13 (1 H, s, br, CH de Cp), 1,58 (6 H, d, J 7,5, CH[CH3]2), 3,44 (2 H, s, br, NHCH2Cp) 2,97 (1 H, s, br, CH de Cp), 4,74-4,72 (1 H, m, CHMe2), 6,22 (1 H, s, br, NH), 7,76 (1 H, s, ArH); δ C (CDCl3, 500 MHz) 160,09 (C), 156,14 (C), 147,4 (C), 137,38 (CH), 118,26 (C), 47,14 (CH), 45,78 (CH2), 22,46 (2 x CH3), 10,06 (CH), 3,5 (2 x CH2)

2R,3S-3-(6-(Ciclopropilmetilamino)-9-isopropil-9H-purine-2-ilamino)pentan-2-ol

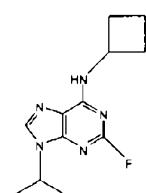


[000183] Em uma solução agitada de N-(ciclopropilmetil)-2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-amina (290 mg, 1,1 mmol) em N-metilpirrolidinona (10 ml) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1,42g, 11,1 mmol) seguido por (2R, 3S)-3-aminopentan-2-ol (566 mg, 5 eq, 5,5 mmol). A mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitado nesta temperatura durante 24 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e água em excesso foi adicionado ao qual o produto lubrificou-se. Adicionou-se acetato de etila e lavou-se a camada orgânica cuidadosamente com água (4x, 50 ml). A fase orgânica foi lavada com salmoura (50 mL), secada (MgSO4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com acetato de etila para proporcionar o produto do título como um sólido marrom pálido (120 mg, 31%); δ C (CDCl3, 500 MHz) 0,22-0,19 (2 H, m, CHHCHH de Cp), 0,36-0,34 (2 H, m, CHHCHH de Cp), 0,8

(3 H, t, J 7,5, CHCH₂CH₃), 0,89 (3 H, d, J 7,5, CHCH₃OH) 1,13 (1 H, s, br, CH de Cp), 1,33 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 3,24 (2 H, s, br, NHCH₂Cp), 3,7 (2 H, s, br, CHEt e CHMe₂), 6,52 (1 H, s, br, NH), 7,26 (1 H, s, ArH); δC (CDCl₃, 500 MHz) 160,2 (C), 154,89 (C), 134,35 (CH), 71,72 (CH), 59,76 (CH), 46,238 (CH), 25,23 (CH₂), 22,59 (CH₃), 17,15 (CH₃), 11,61 (CH₃), 3,48 (2 x CH₂); m/z 333,3 (M + H)

Exemplo 8

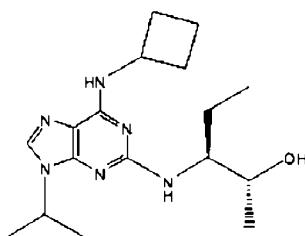
N-Ciclobutil-2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-amina



[000184] 6-Cloro-2-flúor-9-isopropil-9H-purina (0,3g, 1,4 mmol), diisopropiletilamina (0,2g, 1,55 mmol) e ciclobutilamina (0,2g, 2,8 mmols) foram agitadas juntas em etanol (30 ml) em temperatura ambiente durante 6 h. Os voláteis foram removidos e o resíduo apreendido em acetato de etila, lavados com água (50 ml), salmoura (50 ml), secados (MgSO₄) e concentrados. O bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida (acetato de etila: hexano 3:2) para produzir o produto puro (237mg, 68%) δH (CDCl₃, 500 MHz) 1,56 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 1,76-1,74 (2 H, m, CH₂ de Ciclobutil), 1,98-1,94 (2 H, m, CH₂ de ciclobutil), 2,45 (2 H, s, br, CH₂ de ciclobutil) 4,72-4,7 (2 H, m, CH de ciclobutila e CHMe₂), 6,35 (1 H, s, br, NH), 7,75 (1 H, s, ArH); δC (CDCl₃, 500 MHz) 160,08 (C), 158,43 (C), 155,34 (C), 155,18 (C), 150,09 (C), 137,44 (CH), 47,26 (CH), 31,56 (2 x CH₂), 22,38 (2 x CH₃), 15,09 (CH₂); m/z 250,2 (M + H)

2R,3S-3-(6-(Ciclobutilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol

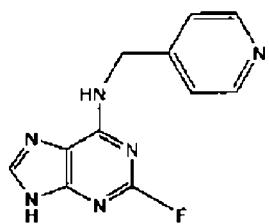
[8]



[000185] Em uma solução agitada de N-ciclobutil-2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-amina (237 mg, 0,95 mmol) em N-metilpirrolidinona (10 ml) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1,28g, 10 mmols) seguido por (2R, 3S)-3-aminopentan-2-ol (566 mg, 5 eq, 5,5 mmols). A mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitada nesta temperatura durante 24 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e água em excesso foi adicionada ao qual o produto lubrificou-se. Adicionou-se acetato de etila e lavou-se a camada orgânica cuidadosamente com água (4x 50 ml). A fase orgânica foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com acetato de etila para proporcionar o produto do título como um sólido marrom pálido (120 mg, 31%); δH (CDCl_3 , 500 MHz), 0,97 (3 H, t, J 7,5, CHCH_2CH_3), 1,07 (3 H, d, J 7,5, CHCH_3OH), 1,47 (6 H, d, J 7,5, $\text{CH}[\text{CH}_3]_2$), 1,53-1,42 (2 H, m, CHCH_2CH_3), 1,71-1,68 (2 H, m, CH_2 de ciclobutila), 1,89-1,87 (2 H, m, CH_2 de ciclobutila), 2,39-2,37 (2 H, m, CH_2 de ciclobutila), 3,89 (1 H, d, J 5, NH ciclobutila)), 4,53-4,5 (3 H, m, CHMe_2 e CHEt e CH de ciclobutila), 5,62 (1 H, m, CHMeOH), 6,15 (1 H, s, br, NH), 7,43 (1 H, s, ArH); δC (CDCl_3 , 500 MHz) 161,16 (C), 154,76 (C), 152,2 (C), 134,43 (CH), 114,67 (C), 71,7 (CH), 59,74 (CH), 46,36 (CH), 31,68 (CH_2), 25,25 (2 x CH_2), 22,59 (CH3), 17,11 (CH3), 15,04 (CH_2), 11,61 (CH3); m/z 333,3 ($\text{M} + \text{H}$)

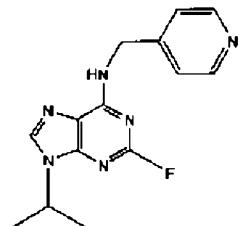
Exemplo 9

(2-Flúor-9H-purin-6-il)-piridin-4-ilmetilamina



[000186] Em uma solução agitada de 6-Cloro-2-fluoropurina (eu g, 5,8 mmols) em n-BuOH (50 mL) sob uma atmosfera de argônio a 0°C, foi adicionado di-isopropiletilamina (3 ml, 17,4 mmols) seguido por 4-(aminometil)piridina (0,9 ml, 1,5 eq, 8,7 mmols). A mistura reacional foi agitada nesta temperatura durante 1 h e em seguida permitida retornar à temperatura ambiente e agitada durante 4h, quando TLC (CHCl3: MeOH; 90:10) indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia de coluna flash de gradiente em sílica-gel, eluído com CHCl3: MeOH (100:0 → 90:10), para proporcionar o produto como um sólido branco; Rendimento: 0,85 g (60%). ponto de fusão 200-202°C. 1H-RMN (d6-DMSO, 250 MHz): δ 4,67 (2 H, d, J 5,-HNCH2-Pyr), 7,34-7,28 (2 H, m, Pyr-H), 8,48-8,42 (2 H, m, Pyr-H), 8,54 (1 H, s, -N=CH-NH-), 8,84 (1 H, s, br, -HNCH2-Pyr), 13,13 (1 H, s, b, -N=CH-NH-); m/z 245 ([M+H]⁺

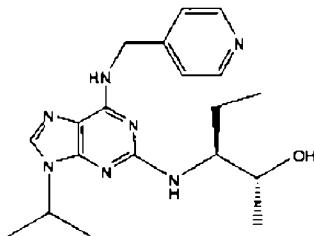
(2-Flúor-9-isopropil-9H-purin-6-il)piridina-4-ilmetilamina



[000187] Em uma solução agitada de (2-Flúor-9H-purin-6-il)-piridin-4-ilmetil-amina (0,6 g, 2,46 mmol) em DMF (10 mL) sob uma atmosfera de argônio, em RT, foi adicionado K2CO3 (em pó, anidroso, 1,7 g, 5 eq, 12,3 mmol) seguido por 2-bromopropano (2,3 ml, 10 eq, 24,6 mmol). A mistura reacional foi agitada em RT durante 24 h, quando TLC (CHCl3: MeOH; 90:10) indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O

solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo dividido entre água (200 ml) e EtOAc (50ml). A fase aquosa foi separada e extraída com mais EtOAc (2 x 50 mL). A fase orgânica aumentada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo, e o resíduo foi purificado por cromatografia de coluna de gradiente em sílica-gel, eluído com clorofórmio: metanol (100:0 \rightarrow 95:5), para fornecer o produto como um sólido branco; Rendimento: 0,40 g (57%). ponto de fusão 170-173°C. $^1\text{H-RMN}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$, 250 MHz): δ 1,49 (6 H, d, J 7,5, - $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4,63 (3 H, m, - $\text{CH}(\text{CH}_3)_2 + -\text{HNCH}_2\text{-Pyr}$), 7,30, 8,47 (4 H, 2 x m, Pyr-H), 8,28 (s, 1 H, - $\text{N}=\text{CH}-\text{N}^-$), 8,97 (1 H, s, br, - $\text{HNCH}_2\text{-Pyr}$). m/z: 287 ([M+H].

2R,3S-3-(9-Isopropil-6-(piridina-4-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol [9]

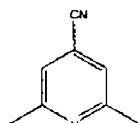


[000188] Em uma solução agitada de (2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-il)-piridin-4-ilmetil-amina (300 mg, 1,05 mmol) em n-BuOH/DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (2 ml, 10 eq, 10,5 mmol) seguido por (2R,3S)-3-amino-pentan-2-ol (600 mg, 5,5 eq, 5,8 mmol). O frasco foi adaptado com um condensador e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitada nesta temperatura durante 72 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$

(100:0 → 95:5), para proporcionar o produto como uma película incolor. Rendimento (225 mg, 58%); δ H (CDCl₃, 500 MHz) 0,92 (3 H, t, J 7,5, CHCH₂CH₃), 1,05 (3 H, d, J 7,5, CHCH₃OH), 1,4 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 1,47-1,36 (2 H, m, CHCH₂CH₃), 3,88-3,85 (2 H, m, CHEt e NH), 4,53-4,5 (1 H, m, CHCH₃OH), 4,72 (2 H, s, br, NHCH₂Ar), 6,5 (1 H, s, br, NH), 7,2 (2 H, s, br, ArH), 7,45-7,42 (1 H, m, ArH), 8,46-8,43 (2 H, m, ArH); δ C (CDCl₃, 500 MHz) 154,66 (C), 149,86 (2 x CH), 149,69 (C), 148,26 (C), 134,84 (CH), 122,22 (2 x CH), 71,51 (CH), 59,57 (CH), 46,58 (CH), 43,45 (CH₂), 24,9 (CH₂), 22,59 (2 x CH₃), 17,27 (CH₃), 11,53 (CH₃); m/z 370,2 (M + H)

Exemplo 10

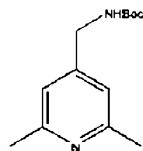
2,6-Dimetilisonicotinonitrila



[000189] Em uma quantidade agitada de 2,6-lutidina-1-óxido (12,3 g, 100 mmols) foi adicionado lentamente dimetil sulfato (12,6 g, 100 mmols) em tal taxa que a temperatura da mistura reacional foi mantida a 80°C ao longo da adição. Quando a adição foi concluída (aproximadamente uma hora) a solução foi agitada nesta temperatura durante um adicional de 2 h. O sal cristalizou-se ao resfriar e foi recristalizado a partir de acetona anidrosa produzindo prismas brancos; ponto de fusão 96-97°C. Rendimento 18 g (73%). Em uma solução deste metil sulfato de 1-metóxi-2,6-dimetilpiridínio (11,65 g, 50 mmol) dissolvido em água (50 ml), sob nitrogênio, foi adicionada uma solução de cianeto de potássio (10 g, 150 mmol) dissolvido em 50 ml de água. A solução foi permitida permanecer em temperatura ambiente 2 dias, tempo no qual a nitrila, que tinha separado da solução como agulhas brancas longas, foi removida por filtração, produzindo 2,8 g de produto puro (42%) δ H (CDCl₃, 500 MHz) 2,44 (6 H, s, 2 x CH₃), 4,2 (2 H, d, J 5, NHCH₂), 6,78 (2 H, s, ArH); δ C (CDCl₃, 500 MHz) 157,83 (2 x C),

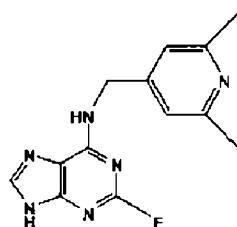
122,71 (C), 118,2 (2 x CH), 24,28 (2 x CH3)

(2,6-Dimetilpiridin-4-il)metil carbamato de terc-butila



[000190] 2,6-dimetilisonicotinonitrila (2g, 15,15mmols) foi dissolvida em 10% de ácido acético / etanol (30ml). 10% de paládio em catalisador de carvão (0,5g) foi adicionado e a reação agitada sob uma atmosfera de hidrogênio durante 24h a 60°C. A mistura foi filtrada por uma camada de celite. Os voláteis foram removidos e o resíduo bruto dissolvido em diclorometano (30ml). À solução agitada foi em seguida adicionado trietilamina (5ml) seguido por di-terc-butildicarbonato (3,3 g, 15,15mmols). Depois de 3h, o solvente foi removido e o resíduo dissolvido em acetato de etila. Foi lavado com água (50ml), bicarbonato saturado (50ml), secado e evaporado. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida (acetato de etila: hexano 1:2) para fornecer 0,6 g do composto do título puro (17,24% rendimento). δ H (CDCl3, 500 MHz) 1,42 (9 H, s, 3 x CH3), 2,44 (6 H, s, 2 x CH3), 4,2 (2 H, d, J 5, NHCH2), 5,25 (1 H, s, b, NH), 6,81 (2 H, s, ArH); δ C (CDCl3, 500 MHz) 157,83 (C), 156,01 (CO), 148,71 (C), 118,58 (2 x CH), 79,77 (C), 43,41 (CH2), 28,34 (3 x CH3), 24,28 (2 x CH3); m/z 237,2 (M + H)

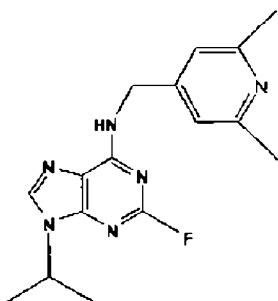
N-((2,6-Dimetilpiridin-4-il)metil)-2-flúor-9H-purin-6-amina



[000191] Em uma solução agitada de 6-Cloro-2-fluoropurina (0,4g, 2,9 mmol) em n-BuOH (50 ml) sob uma atmosfera de argônio a 0°C, foi adicionado DIEA (2,5 ml, 14,7 mmol) seguido por (2,6-dimetilpiridin-4-il)metanamina (0,54g, 4 mmol). A mistura reacional foi agitada nesta

temperatura durante 1 h e em seguida permitida retornar à temperatura ambiente e agitada durante 4 h, ainda foi observada incompleta, consequentemente a reação foi aquecida a 100°C e deixada nesta temperatura durante 8h. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia de coluna flash de gradiente em sílica-gel, eluído com CHCl₃:MeOH (100:0 → 90:10), para proporcionar o produto como um sólido branco; Rendimento: 0,5 g (63%); δH CDCl₃, 250 MHz) 2,48 (6 H, s, 2 x CH₃), 3,65-3,54 (2 H, m, NHCH₂), 4,61 (1 H, s, br, NH), 7,32 (2 H, s, ArH), 7,84 (1 H, s, ArH), 9,05 (1 H, s, br, NH); δC (CDCl₃, 250 MHz) 159,2(C), 156,62 (C), 156,61 (C), 155,46 (C), 146,92 (CH), 136,3 (C), 122,05 (2 x CH), 119,48 (C), 41,6 (CH₂), 18,06 (2 x CH₃)

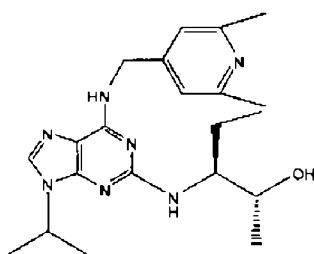
N-((2,6-Dimetilpiridin-4-il)metil)-2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-amina



[000192] Em uma solução agitada de 2-flúor-N-(2,6-metilpiridin-4-il)metil-9H-purin-6-amina (0,4 g, 1,48 mmol) em dimetilformamida (10 ml) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio, foi adicionado K₂CO₃ anidroso, em pó (1 g, 5 eq, 7,4 mmol), seguido por 2-bromopropano (1,2 ml, 12,2 mmol). A mistura reacional foi agitada em temperatura ambiente durante 24 h, quando DCM:éter:MeOH (55:40:5), indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml). A fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 50 ml) e a fase orgânica combinada lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia de coluna em sílica-gel, eluído com CHCl₃: MeOH (98: 2) para proporcionar

o composto do título como uma película incolor (250 mg, 54%). δ H (CDCl₃, 500 MHz) 1,46 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 2,38 (3 H, s, ArCH₃), 2,39 (3 H, s, ArCH₃), 4,73-4,6 (3 H, m, NHCH₂ e CHMe₂), 6,85 (2 H, s, ArH), 7,35 (1 H, s, br, NH), 7,5 (1 H, s, br, ArH); δ C (CDCl₃, 500 MHz) 157,8 (C), 158,6 (C), 154,32 (C), 151 (C), 148,42 (CH), 122,2 (2 x CH), 121,08 (C), 47,52 (CH), 43,6 (CH₂), 23,68 (2 x CH₃), 22,3 (2 x CH₃); m/z 315,2 (M + H)

2R,3S-3-(9-Isopropil-6-(2,6-dimetilpiridina-4-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol

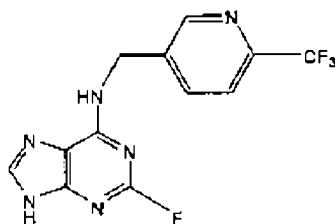


[000193] Em uma solução agitada de 2-flúor-9-isopropil-N-(2,6-dimetilpiridin-4-ilmetil)-9-H-purin-6-amina (250 mg, 0,8 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1,4 ml, 10 eq, 8 mmols) seguido por (2R,3S)-3-amino-pantan-2-ol (0,35 g, 3,4 mmols). O frasco foi adaptado com um condensador e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitada nesta temperatura durante 72 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com CHCl₃:MeOH (100:0 \rightarrow 95:5), para proporcionar o composto do título como um óleo incolor (56 mg, 18%). δ H (CDCl₃, 500 MHz) 0,95 (3 H, t, J 7,5, CHCH₂CH₃), 1,05 (3 H, d, J 5, CHCH₃OH), 1,43 (6 H, d, J 10, CH[CH₃]₂), 1,55-1,4 (2 H, m, CHCH₂CH₃), 2,43 (3 H, s, ArCH₃), 2,44

(3 H, s, ArCH3), 3,9-3,8 (2 H, m, CHEt e CHMe2), 4,57-4,46 (1 H, m, CHCH3OH), 4,63-4,58 (2 H, m, NHCH2Ar), 6,28 (1 H, s, br, NH), 6,8 (2 H, s, br, ArH), 7,45 (1 H, s, ArH); δ C (CDCl3, 250 MHz) 160,08 (C), 157,76 (C), 155,36 (C), 148,97 (C), 135,36 (C), 134,75 (CH), 118,95 (2 x CH), 71,52 (CH), 59,59 (CH), 46,65 (CH), 44,92 (CH2), 24,91 (CH2), 24,01 (2 x CH3), 22,5 (2 x CH3), 17,27 (CH3), 11,51 (CH3); m/z 398,3 (M + H)

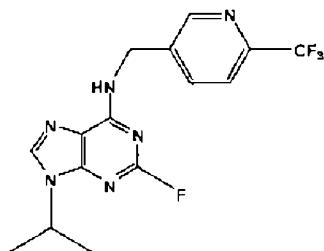
Exemplo 11

2-Flúor-N-((6-trifluorometil)piridina-3-il)metil)-9H-purin-6-amina



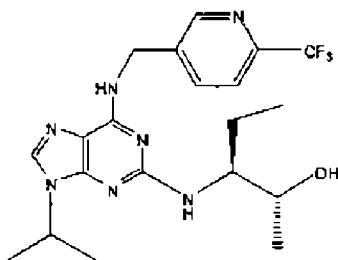
[000194] Em uma solução agitada de 6-Cloro-2-fluoropurina (344mg, 2mmols) e [6-(trifluorometil)piridina-3-il]metanamina (0,4g, 2,27mmols) em n-BuOH (50 ml) sob uma atmosfera de argônio a 0°C, foi adicionado DIEA (2,5 ml, 14,7 mmols). A mistura reacional foi agitada nesta temperatura durante 1 h e em seguida permitida retornar à temperatura ambiente e agitada durante 4 h, ainda foi observada incompleta, consequentemente a reação foi aquecida a 100°C e deixada nesta temperatura durante 5 h. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia de coluna de gradiente em sílica-gel, eluído com CHCl3MeOH (100:0 → 90:10), para proporcionar o produto como um sólido branco; Rendimento: 0,46 g (75%) δ H (CDCl3, 500 MHz) 3,62-3,57 (2 H, m, NHCH2), 4,69 (1 H, s, br, NH), 7,2-7,1 (2 H, s, br, ArH e NH), 7,69 (1 H, d, J, 7,5, ArH), 8,27 (1 H, s, ArH), 8,71 (1 H, s, ArH); δ C (CDCl3, 500 MHz) 158,69 (C), 158,18 (C), 157,67 (C), 154,56 (C), 147,48(CH), 146,99 (CH), 144,32 (C), 133,87 (CH), 121,67 (CH), 118,88 (C), 43,48 (CH2); m/z 313,1 (M + H)

2-Flúor-9-isopropil-N-((6-(trifluorometil)piridina-3-il)metil)-9H-purin-6-

amina

[000195] Em uma solução agitada de 2-flúor-N-[(6-(trifluorometil)piridin-3-il)metil-9H-purin-6-amina (0,4 g, 1,27 mmol) em dimetilformamida (10 ml) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio, foi adicionado K₂CO₃ anidroso, em pó (0,86 g, 5 eq, 6,54 mmols), seguido por 2-bromopropano (1 ml, 10,3 mmols). A mistura reacional foi agitada em temperatura ambiente durante 24 h, quando DCM:éter:MeOH (55:40:5), indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo dividido entre EtOAc (100 ml) e água (100 ml). A fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 50 ml) e a fase orgânica combinada lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida, eluído com CHCl₃:MeOH (98:2) para proporcionar o composto do título como uma película incolor (350 mg, 77%). δ H (CDCl₃, 500 MHz) 1,5 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 4,7-4,6 (3 H, m, NHCH₂ e CHMe₂), 7,16 (1 H, d, J 2,5, ArH), 7,25 (1 H, s, br, NH), 7,66 (2 H, s, br, ArH), 8,67 (1 H, s, br, ArH); δ C (CDCl₃, 500 MHz) 158,8 (C), 156,72 (C), 156,3 (C), 147,42 (CH), 137,92 (CH), 138,08 (CH), 131,73 (C), 123,31 (CH), 119,25 (C), 48,38 (CH), 44,1 (CH₂), 22,72 (2 x CH₃); m/z 355,1 (M + H)

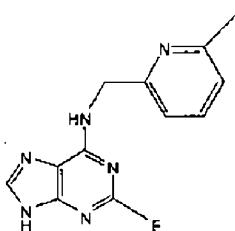
2R,3S-3-(9-Isopropyl-6-((6-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)methylamino)-9H-purin-2ylamino)pentan-2-ol [11]



[000196] Em uma solução agitada de 2-flúor-9-isopropil-N-(6-(trifluorometilpiridin-3-ilmetil)-9-H-purin-6-amina (200 mg, 0,56 mmol) em n-BuOH/DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1,4 ml, 10 eq, 8 mmols) seguido por (2R,3S)-3-amino-pentan-2-ol (0,25 g, 2,4 mmols). O frasco foi adaptado com um condensador e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitado nesta temperatura durante 72 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com CHCl_3 : MeOH (100:0 \rightarrow 95:5), para proporcionar o composto do título como um óleo incolor (30 mg, 12%). δH (CDCl_3 , 500 MHz) 0,85 (3 H, t, J 7,5, CHCH_2CH_3), 1,12 (3 H, d, J 5, CHCH_3OH), 1,52 (6 H, d, J 7,5, $\text{CH}[\text{CH}_3]_2$), 1,61-1,41 (2 H, m, CHCH_2CH_3), 3,82 (1 H, m, CHMe_2), 4,75-4,57 (1 H, m, CHCH_3OH), 4,82-4,64 (2 H, m, NHCH_2Ar), 5,8 (1 H, s, br, NH), 6,85 (1 H, s, br, NH), 7 (1 H, d, J 10, ArH), 7,31-7,23 (2 H, m, ArH), 8,45 (1 H, s, br, ArH); δC (CDCl_3 , 250 MHz) 158,61 (C), 157,35 (C), 156,97 (C), 147,62 (CH), 137,43 (CH), 129,22 (C), 128,72 (C), 128,92 (CH), 1231,14 (CH), 118,32 (C), 69,64 (CH), 60,91 (CH₂), 57,68 (CH), 23,55 (CH₂), 22,53 (2 x CH₃), 12,12 (CH₃); m/z 438,3 ($\text{M} + \text{H}$)

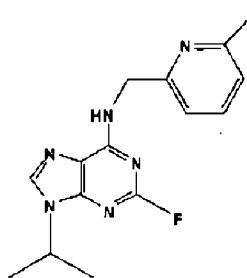
Exemplo 12

2-Flúor-N-((6-metilpiridin-2-il)metil)-9H-purin-6-amina



[000197] Em uma solução agitada de 6-Cloro-2-fluoropurina (0,4g, 2,3 mmols) em n-BuOH (50 ml) sob uma atmosfera de argônio a 0°C, foi adicionado DIEA (2,5 ml, 14,7 mmols) seguido por (6-metilpiridin-2-il)metanamina (0,36g, 2,95 mmols). A mistura reacional foi agitada nesta temperatura durante 1 h e em seguida permitida retornar à temperatura ambiente e agitada durante 4h, ainda foi observada incompleta, consequentemente a reação foi aquecida a 100°C e deixada nesta temperatura durante 8h. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia de coluna flash de gradiente em sílica-gel, eluído com CHCl₃: MeOH (100:0 → 90:10), para proporcionar o produto como um sólido branco; Rendimento: 0,35g (60%). δ H (CDCl₃, 500 MHz) 2,44 (3 H, s, CH₃), 4,83-4,54 (3 H, m, NH e NHCH₂), 7,1-7,05 (2 H, m, ArH), 7,61-7,55 (1 H, m, ArH), 8,13-8,09 (1 H, m, ArH), 8,61 (1 H, s, br, NH); δ C (CDCl₃, 500 MHz) 159,41 (C), 158,78 (C), 158,53 (C), 157,19 (C), 155,38 (C), 147,69 (CH), 137,03 (C), 136,93 (CH), 121,34 (CH), 117,76 (CH), 117,31 (C), 46,47 (CH₂), 23,9 (CH₃); m/z 259,2 (M + H)

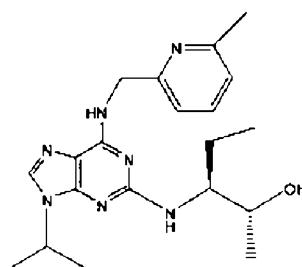
2-Flúor-9-isopropil-N-((6-metilpiridin-2-il)methyl)-9H-purin-6-amina



[000198] Em uma solução agitada de 2-flúor-N-(6-metilpiridin-2-il)metil-9H-purin-6-amina (0,3 g, 1,17 mmol) em dimetilformamida (10 ml) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio, foi

adicionado K₂CO₃ anidroso, em pó (0,8 g, 5 eq, 5,85 mmols), seguido por 2-bromopropano (1,15 ml, 11,7 mmols). A mistura reacional foi agitada em temperatura ambiente durante 24 h, quando DCM: éter: MeOH (55:40:5), indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo dividido entre EtOAc (100 ml) e água (100 ml). A fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 50 ml) e a fase orgânica combinada lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia de coluna em sílica-gel, eluído com CHCl₃: MeOH (98: 2) para proporcionar o composto do título como uma película ligeiramente amarela (180 mg, 51%). δ H (CDCl₃, 500 MHz) 1,6 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 2,54 (3 H, s, CH₃), 4,86-4,73 (3 H, m, NHCH₂ e CHMe₂), 7,06 (1 H, d, J 10, ArH), 7,14 (1 H, d, J 10, ArH), 7,53 (1 H, t, J 10, ArH), 7,8 (1 H, s, ArH); δ C (CDCl₃, 500 MHz) 158,42 (C), 158,04 (C), 156,16 (C), 156 (C), 155,49 (C), 150,12 (C), 137,67 (CH), 136,93 (CH), 121,89 (CH), 118,1 (C), 118,53 (CH), 47,15 (CH), 45,52 (CH₂), 24,38 (CH₃), 22,58 (2 x CH₃); m/z 301,2 (M + H); 19F RMN δ -50,22

2R,3S-3-(9-Isopropil-6-((6-metilpiridin-2-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol

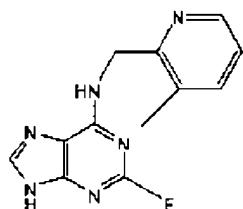


[000199] Em uma solução agitada de 2-flúor-9-isopropil-N-(6-metilpiridin-2-ilmetil)-9-H-purin-6-amina (180 mg, 0,59 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 mL, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1 ml, 10 eq, 5,6 mmols) seguido por (2R,3S)-3-amino-pantan-2-ol (0,34 g, 6 mmols). O frasco foi adaptado com um condensador e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitada nesta temperatura durante 72

h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (100:0 → 95:5), para proporcionar o composto do título como um óleo amarelo leve (28 mg, 13%) δH (CDCl_3 , 500 MHz) 1,05 (3 H, t, J 7,5, CHCH_2CH_3), 1,13 (3 H, d, J 5, CHCH_3OH), 1,43 (6 H, d, J 7,5, $\text{CH}[\text{CH}_3]_2$), 1,6-1,4 (2 H, m, CHCH_2CH_3), 1,75 (1 H, s, br, NH), 2,32 (3 H, s, ArCH_3), 3,95 (1 H, s, br, CHMe_2), 4,57-4,53 (1 H, m, CHCH_3OH), 4,8-4,6 (2 H, m, NHCH_2Ar), 5,8 (1 H, s, br, NH), 6,82 (1 H, s, br, NH), 6,95 (1 H, d, J 5, ArH), 7,05 (1 H, d, J 5, ArH), 7,45-7,4 (2 H, m, ArH); δC (CDCl_3 , 500 MHz) 160,17 (C), 157,9 (C), 156,72 (C), 154,8 (C), 150,12 (C), 136,8 (CH), 134,55 (CH), 121,64 (CH), 118,58 (CH), 114,87 (C), 71,59 (CH), 59,66 (CH), 46,41 (CH), 44,79 (CH₂), 24,12 (CH₂), 23,41 (CH₃), 21,59 (CH₃), 16,18 (CH₃), 10,6 (CH₃); m/z 384,3 (M + H)

Exemplo 13

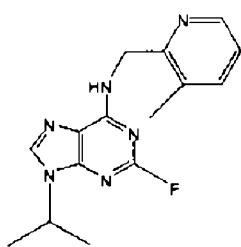
2-Flúor-N-((3-metilpiridin-2-il)metil)-9H-purin-6-amina



[000200] Em uma solução agitada de 6-Cloro-2-fluoropurina (0,4g, 2,3 mmols) em n-BuOH (50 ml) sob uma atmosfera de argônio a 0°C, foi adicionado DIEA (2,5 ml, 14,7 mmols) seguido por (3-metilpiridin-2-il)metanamina (0,36g, 2,95 mmols). A mistura reacional foi agitada nesta temperatura durante 1 h e em seguida permitida retornar à temperatura ambiente e agitada durante 4h, ainda foi observada incompleta,

conseqüentemente a reação foi aquecida a 100°C e deixada nesta temperatura durante 8h. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de gradiente de sílica-gel, eluído com CHCl₃: MeOH (100:0 → 90:10), para proporcionar o produto como um sólido branco; Rendimento: 0,3 g (51%). δ H (CDCl₃, 500 MHz) 2,35 (3 H, s, CH₃), 4,71 (3 H, m, NH e NHCH₂), 7,24 (1 H, s, br, ArH), 7,63 (1 H, s, br, ArH), 8,28 (1 H, s, br, ArH), 8,38 (1 H, s, br, ArH); δ C (CDCl₃, 500 MHz) 161,03 (C), 158,49 (C), 154,77 (C), 152,16 (C), 144,86(CH), 137,53 (CH), 137,14 (CH), 130,67 (C), 121,58 (CH), 118,73 (C), 42,87 (CH₂), 18,16 (CH₃); m/z 259,3 (M + H)

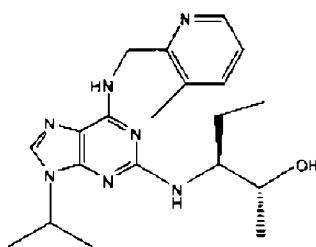
2-Flúor-9-isopropil-N-((3-metilpiridin-2-il)metil)-9H-purin-6-amina



[000201] Em uma solução agitada de 2-flúor-N-(3-metilpiridin-2-il)metil-9H-purin-6-amina (0,3 g, 1,17 mmol) em dimetilformamida (10 ml) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio, foi adicionado K₂CO₃ anidroso, em pó (0,8 g, 5 eq, 5,85 mmols), seguido por 2-bromopropano (1,15 ml, 11,7 mmols). A mistura reacional foi agitada em temperatura ambiente durante 24 h, quando DCM:éter:MeOH (55:40:5), indicou que a reação tinha chegado à conclusão. O solvente foi evaporado em vácuo e o resíduo dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml). A fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 50 ml) e a fase orgânica combinada lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia de coluna em sílica-gel, eluído com CHCl₃: MeOH (98: 2) para proporcionar o composto do título como uma película ligeiramente amarela (170 mg, 48%). δ H (CDCl₃, 500 MHz) 1,51 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 2,28 (3 H, s, CH₃), 4,68-4,65 (3 H, m, NHCH₂ e

CHMe2), 7,08-7,05 (1 H, m, ArH), 7,4 (1 H, d, J 5, ArH), 7,72 (1 H, s, ArH), 7,93 (1 H, s, br, NH), 8,34 (1 H, d, J 5, ArH); 8 C (CDCl₃, 500 MHz) 160,09 (C), 158,43 (C), 155,97 (C), 154,06 (C), 145,85 (CH), 137,73 (CH), 137,54 (CH), 130,67 (C), 122,28 (CH), 118,73 (C), 47,28 (CH), 42,87 (CH₂), 22,43 (2xCH₃), 17,66 (CH₃); 19F RMN δ -50,20; m/z 301,2 (M + H)

2R,3S-3-(9-Isopropil-6-((3-metilpiridin-2-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol

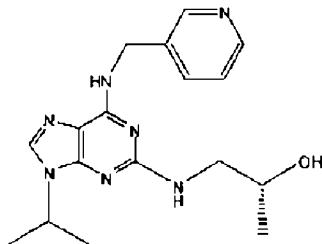


[000202] Em uma solução agitada de 2-flúor-9-isopropil-N-(3-metilpiridin-2-ilmetil)-9-H-purin-6-amina (170 mg, 0,56 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1 ml, 10 eq, 5,6 mmols) seguido por (2R,3S)-3-amino-pantan-2-ol (0,34 g, 6 mmols). O frasco foi adaptado com um condensador e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitado nesta temperatura durante 72 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 mL), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com CHCl₃:MeOH (100:0 → 95:5), para proporcionar o composto do título como um óleo amarelo leve (28 mg, 13%) δH (CDCl₃, 500 MHz) 1 (3 H, t, J 7,5, CHCH₂CH₃), 1,1 (3 H, d, J 5, CHCH₃OH), 1,44 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 1,6-1,4 (2 H, m, CHCH₂CH₃), 1,75 (1 H, s, br, NH), 2,3 (3 H, s, ArCH₃), 3,92 (1 H, s, br, CHMe₂), 4,56-4,52 (1 H, m, CHCH₃OH),

4,7 (2 H, s, br, NHCH₂Ar), 6,1 (1 H, s, br, NH), 7,06 (1 H, dd, J 2,5, 5, ArH), 7,41 (1 H, dd, J 2,5, 5, ArH), 7,47 (1 H, s, ArH), 8,37 (1 H, d, J 5, ArH); δ C (CDCl₃, 500 MHz) 160,21 (C), 154,68 (C), 153,65 (C), 146,07 (CH), 137,53 (CH), 134,53 (CH), 130,59 (C), 122,31 (C), 122,13 (CH), 115,14 (C), 71,73 (CH), 59,93 (CH), 46,43 (CH), 43,11 (CH₂), 25,33 (CH₂), 22,63 (CH₃), 17,61 (CH₃), 17,25 (CH₃), 11,67 (CH₃); m/z 384,3 (M + H)

Exemplo 14

(R)-1-(9-Isopropil-6-[phi]iridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)propan-2-ol

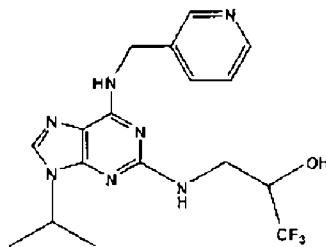


[000203] Em uma solução agitada de 2-flúor-9-isopropil-6-[(piridin-3-ilmetil)-amino]purina (300 mg, 1,05 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (2 ml, 10 eq, 10,5 mmols) seguido por (R)-1-aminopropan-2-ol (395 mg, 5,25 mmols). O frasco foi adaptado com um condensador e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitado nesta temperatura durante 72 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre acetato de etila (50 mL) e água (50 mL), a fase aquosa foi extraída com mais acetato de etila (2 x 25 mL), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 mL), secada (MgSO₄) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com CHCl₃: MeOH (100:0 → 95:5), para proporcionar o produto puro como um óleo incolor (38 mg, 10,6%). δ H (250 MHz, CDCl₃) 1,15 (3 H, d, J 7,5, CHCH₃OH), 1,45 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 3,3-3,2 (1 H, m,

NHCHHCHMeOH)), 3,45-3,36 (1 H, m, NHCHHCHMeOH)5 3,96-3,9 (1 H, m, CHMe2), 4,58-4,47 (1 H, m, CHMeOH), 4,69 (2 H, d, J 5, NHCH2Ar), 5,23 (1 H, t, J 5, NHCH2CHMeOH), 6,32 (1 H, s, br, NHCH2Ar), 7,16-7,11 (1 H, m, ArH), 7,4 (1 H, s, ArH), 7,6 (1 H, d, J 7,5, ArH), 8,4 (1 H, d, J 2,5, ArH), 8,55 (1 H, s, ArH); δ C (250 MHz, CDCl3) 160,07 (C), 154,95 (C), 154,7 (C), 151,1 (C), 149,27 (CH), 148,54 (CH), 135,3 (CH), 134,73 (CH), 123,39 (CH), 114,61 (C), 68,83 (CH), 50,09 (CH2), 46,49 (CH), 41,95 (CH2), 22,49 (2 x CH3), 20,85 (CH3).; m/z 342,2 (M + H)

Exemplo 15

1,1,1-Trifluor-3-(9-isopropil-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)propan-2-ol [15]

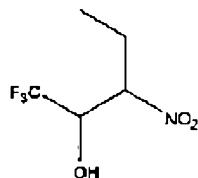


[000204] Em uma solução agitada de (2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-il)-piridin-3-ilmetil-amina (300 mg, 1,05 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1,4 ml, 10 eq, 8 mmols) seguido por 3-amino-1,1,1-trifluoropropan-2-ol (1g, 7,8 mmol) [preparado da reação de amônio com 2-(trifluorometil)oxirano]. O frasco foi adaptado com um condensador e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitado nesta temperatura durante 72 h. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com CHCl3:MeOH (100:0 → 95:5),

para proporcionar o composto do título como um óleo incolor (62 mg, 15%). δ H (CDCl3, 500 MHz) 1,53 (6 H, d, J 7,5, CH[CH3]2), 3,64-3,6 (1 H, m, NHCHHCOH[CF3][CH3]), 3,76-3,73 (1 H, m, NHCHHCOH[CF3][CH3]), 4,18-4,16 (1 H, m, CHMe2), 4,62-4,56 (1 H, m, CHOHCF3), 4,72 (3 H, s, br, NHCH2Ar e NHCH2Ar), 7,22-7,2 (1 H, m, ArH), 7,52 (1 H, s, ArH), 7,66 (1 H, d, J 10, ArH), 8,47 (1 H, d, J 5, ArH), 8,58 (1 H, s, ArH); δ C (CDCl3, 500 MHz) 159,77 (C), 154,68 (C), 149,04 (CH), 148,45 (CH), 135,44 (CH), 135,03 (CH), 134,44 (C), 125,91 (C), 123,49 (CH), 114,78 (C), 71,57 (CH), 46,76 (CH), 42,94 (CH2), 32,2 (CH2), 22,47 (2 x CH3) 19FNMR δ -78,48; m/z 396,2 (M + H)

Exemplo 16

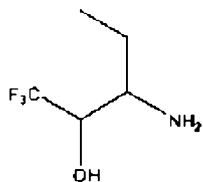
1,1,1-Triflúor-3-nitropentan-2-ol



[000205] 1-Nitropropano (3,25 g, 36,6 mmols), trifluoroacetaldeído etil hemiacetal (5,85 g, 36,6 mmols, 90% de pureza) e K2CO3 em pó (0,34 g, 2,5 mmols) foram misturados e agitados a 60°C durante 3 h e em seguida em temperatura ambiente durante 3 dias. Salmoura (10 ml) e HCl aquoso a 1N (10 ml) foram adicionados e a camada orgânica inferior separada. A camada aquosa foi extraída com éter (2 x 30 ml) e as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura, secadas em Na2SO4, filtradas e concentradas sob vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia flash em sílica-gel com uma eluição de gradiente de CH2Cl2: hexano (50: 50), CH2Cl2: hexano (75: 25), CH2Cl2 (100%) e MeOH: CH2Cl2 (5: 95) para produzir o produto como um sólido branco encerado (4,4 g, 64%). δ H (CDCl3, 500 MHz) 1,04-1,00 (3 H, m, CHCH2CH3), 2,16 -1,99 (2 H, m, CHCH2CH3), 4,37 (1 H, s, b, OH), 4,71- 4,59 (2 H, m, 2xCH); δ C (CDCl3, 500 MHz) dq (126,79,

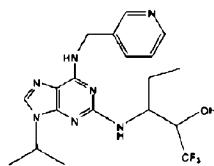
126,70; 124,55, 124,46; 122,30, 122,21; 120,06, 119,96, CF3), dois picos (88,34, 87,60 CH NO2), oito picos (71,13, 70,87, 70,81, 70,62, 70,56, 70,36, 70,30, 70,05 CHOH), dois picos (23,57 e 21,98 CH2), dois picos (9,77 e 9,66 CH3); 71,5 (CH), 54,03 (CH), 25,5 (CH2), 11,05 (CH3). 19F RMN δ -76,2 e -77,5

3-Amino-1,1,1-trifluoropentan-2-ol



[000206] 1,1,1-Triflúor-3-nitropentan-2-ol (3g, 16 mmols) foi dissolvido em metanol (40 ml). Catalisador de níquel de Raney foi adicionado e a reação agitada vigorosamente sob uma atmosfera de hidrogênio durante 24 h. O catalisador foi filtrado e o filtrado foi concentrado em vácuo para produzir a amina relativamente pura (2,35g, 94%). δ H (CDCl3, 500 MHz) 1,05 (3 H, t, J 5, CHCH2CH3), 1,55 -1,45 (1 H, m, CHCHHCH3), 1,8 -1,7 (1 H, m, CHCHHCH3), 2,95 - 2,9 (1 H, m, CHEt), 3,95-3,85 (1 H, m, CHOHCF3); δ C (CDCl3, 500 MHz) 124,5 (C), 71,5 (CH), 54,03 (CH), 25,5 (CH2), 11,05 (CH3).

1,1,1-Triflúor-3-(9-isopropil-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol [16]

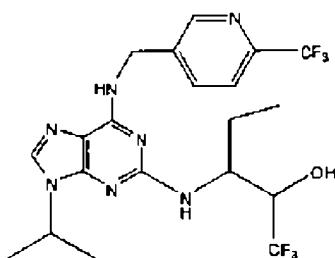


[000207] Em uma solução agitada de (2-flúor-9-isopropil-9H-purin-6-il)-piridin-3-ilmetil-amina (300 mg, 1,05 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 mL, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio foi adicionado DIEA (1,4 ml, 10 eq, 8 mmols) seguido por 3-amino-1,1,1-trifluoropentan-2-ol (1 g, 6,4 mmols). O frasco foi adaptado com um condensador, e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140 °C e agitado nesta temperatura durante 72 horas. A

mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente, e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida eluído com $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$ (100:0 → 95:5), para proporcionar o composto do título como uma película incolor (42 mg, 9,4%). δH (CDCl_3 , 500 MHz) 1,04 (3 H, t, J 7,5, CHCH_2CH_3) 1,56 (6 H, d, J 7,5, $\text{CH}[\text{CH}_3]_2$), 1,8-1,73 (2 H, m, CHCH_2CH_3), 4,13-4,07 (1 H, m, CHMe_2), 4,22 - 4,2 (1 H, m, CHEt) 4,57- 4,55 (1 H, m, CHOHCF_3), 4,71 (2 H, s, b, NHCH_2Ar), 5,08 (1 H, s, b, NH), 7,2 (1 H, dd, J 5, 10 ArH), 7,51 (1 H, s, ArH), 7,64 (1 H, d, J 10, ArH), 8,46 (1 H, d, J 5, ArH), 8,55 (1 H, s, ArH); δC (CDCl_3 , 500 MHz) 159,28 (C), 154,72 (C), 149,07 (CH), 148,47 (CH), 135,44 (CH), 134,83 (C), 134,48 (CH), 124,12 (C), 123,44 (CH), 114,62 (C), 73,1 (CH), 55,88 (CH), 46,70 (CH), 41,78 (CH₂), 23,68 (CH₂) 22,36 (2 x CH₃), 11,55 (CH₃); $^{19}\text{FNMR}$ δ -74,83; m/z 424,2 (M + H)

Exemplo 17

1,1,1-Triflúor-3-(9-isopropil-6-((6-(trifluorometil)piridin-3-il)metilamino)-9H-2-ilamino)pentan-2-ol

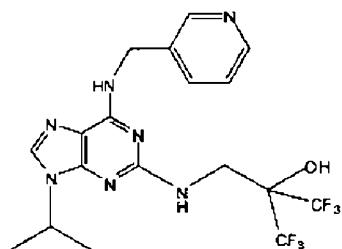


[000208] Em uma solução agitada de 2-flúor-9-isopropil-N-(6-(trifluorometilpiridin-3-ilmetil)-9-H-purin-6-amina (200 mg, 0,56 mmol) em n-BuOH / DMSO (5 ml, 4:1) em temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio, foi adicionado DIEA (1,4 ml, 10 eq, 8 mmols) seguido por 3-amino-1,1,1-trifluoropentan-2-ol (0,377 g, 2,4 mmols). O

frasco foi adaptado com um condensador, e a mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitada nesta temperatura durante 72 horas. Depois desse tempo, a reação foi feita apenas por 30%. A adição de mais aminoálcool foi feita durante mais quatro dias para adquirir a conversão completa. A mistura reacional foi permitida resfriar em temperatura ambiente, e o solvente foi evaporado em vácuo. O resíduo foi dividido entre EtOAc (50 ml) e água (50 ml), a fase aquosa foi extraída com mais EtOAc (2 x 25 ml), e a fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (50 ml), secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida, eluído com $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$ (100:0 → 95:5), para proporcionar o composto do título como um pó marrom (30 mg, 11%). δH (CDCl_3 , 500 MHz) 0,95 (3 H, t, J 7,5, CHCH_2CH_3), 1,56 (6 H, d, J 7,5, $\text{CH}[\text{CH}_3]_2$), 1,721-1,61 (2 H, m, CHCH_2CH_3), 3,22-3,05 (1 H, m CHEt), 3,88 (1 H, m, CHMe_2), 4,75-4,57 (1 H, m, CHCF_3OH), 4,92-4,76 (2 H, m, NHCH_2Ar), 5,3 (1 H, s, br, NH), 6,83 (1 H, s, br, NH), 7,55 (1 H, d, J 10, ArH), 7,61-7,53 (2 H, m, ArH), 8,85 (1 H, s, ArH); δC (CDCl_3 , 250 MHz) 157,67 (C), 156,65 (C), 156,9 (C), 146,62 (CH), 139,55 (CH), 128,22 (C), 126,84 (C), 125,97 (CH), 123,14 (CH), 120,32 (C), 71,12 (CH), 61,56 (CH₂), 56,43 (CH), 25,74 (CH₂), 22,42 (2xCH₃), 11,56 (CH₃); ^{19}F RMN δ -67,87, -74,30 ESMS 492 (M + 1)

Exemplo 18

1,1,1,3,3,3-Hexafluor-2-((9-isopropil-6-(piridina-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)metil)propan-2-ol



[000209] Em uma solução agitada de 2-flúor-9-isopropil-6-[(piridina-3-ilmetil)-amino]purina (50 mg, 0,175 mmol) em n-BuOH / DMSO (2,5 ml,

4:1) em temperatura ambiente e sob uma atmosfera de argônio, foi adicionada di-isopropiletilamina (135 mg, 1,05 mmol) seguida por 2-(aminometil)-1,1,1,3,3-hexafluoropropano-2-ol (preparado da reação de 30% de hidróxido de amônio com 2,2-bis[trifluorometil]oxirano). A mistura reacional foi colocada em um banho de óleo pré-aquecido a 140°C e agitada nesta temperatura durante 3 dias. A reação foi seguida por LCMS e resultou em apenas 30%. 2-(Aminometil)-1,1,1,3,3-hexafluoropropano-2-ol adicional recentemente preparado foi adicionado, e a reação continuou. Esta adição foi feita em mais três dias consecutivos para obter a conversão completa. Depois da remoção do solvente, o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel rápida para produzir o composto do título como um pó marrom pálido (19 mg, 23%); δ H (CDCl₃, 500 MHz) 1,57 (6 H, d, J 7,5, CH[CH₃]₂), 3,48 - 3,44 (1 H, m, NHCHHCOH[CF₃]₂, 3,86 - 3,81 (1 H, m, NHCHHCOH[CF₃]₂, 4,62 - 4,555 (1 H, m, CHMe₂), 4,78 - 4,74 (2 H, m, NHCH₂ArH), 5,35 (1 H, s, br, OH), 6,36 (1 H, s, br, NH), 7,27 - 7,22 (2 H, m, ArH), 7,7 - 7,67 (1 H, m, ArH), 8,5 (1 H, d, J 5, ArH), 8,66 (1 H, s, ArH); δ C (CDCl₃, 500 MHz) 159,99 (C), 154,63 (C), 149,53 (C), 149,05 (C), 148,6 (CH), 137,79 (C), 135,41 (C), 135,38 (CH), 135 (CH), 123,44 (CH), 75,03 (C), 47,62 (CH₂), 46,84 (CH), 42,05 (CH₂), 22,1 (2 x CH₃); m/z 464,2 (M + H)

Ensaios de quinase

[000210] Um total de 21 compostos foi avaliado em ensaios de quinase recombinantes in vitro e em células de tumor e comparados com seliciclibe. A maioria destes inibidores de cdk foi constatada ser mais potente que seliciclibe.

[000211] Para avaliar a potência de quinase in vitro dos compostos, eles foram avaliados em relação às CDK 2 e CDK9. Ensaios de quinase foram realizados em placas de 96 poços usando ciclinas/CDK recombinantes geradas em Cyclacel. Ltd, Dundee, UK. Ensaios de

CDK2 e CDK9 foram realizados em um volume total de 25 μ L em tampão de ensaio (25 mM de b-glicerofosfato, 20 mM de MOPS, 5 mM de EGTA, 1 mM de DTT e 1 mM de NaVO₃, pH 7,4) em qual foram adicionados 2-4 μ g de enzima ativa com substratos apropriados (histona purificada H1 para CDK2/ciclina E, e CDK2/ciclina A, biotinil-Ahx-(YSPTSPS)4 para CDK9/ciclina T1). A reação foi iniciada por adição de mistura de Mg/ATP (15 mM de MgCl₂ + 100 μ M de ATP com 30-50 kBq por cavidade de [-32P]-ATP) e as misturas incubadas durante 15 min (CDK2/ciclina E), 30 min (CDK2/ciclina A) ou 45 min (CDK9/ciclina T1) como requerido, a 30°C. As reações de CDK2 foram interrompidas por adição de 25 μ L de 75 mM de ácido fosfórico seguido por filtração através de placas de filtro P81 (Whatman Polyfiltrronics, Kent, UK). Para CDK9, a reação foi interrompida por adição de 25 μ L de 75 mM de ácido fosfórico, em seguida 5 μ L de 10 mg/mL de avidina foram adicionados a cada cavidade e também incubados durante 2 min seguidos por filtração de acordo com ensaio de CDK2. Depois de lavar 3 vezes com ácido ortofosfórico a 75 mM, as placas foram secadas, cintilante adicionado e a radioatividade incorporada medida em uma contadora de cintilação (TopCount, Packard Instruments, Pangbourne, Berks, UK). Compostos para ensaio de quinase foram feitos como 10 mM de matérias primas em DMSO e diluídos em 10% de DMSO em tampão de ensaio. Os dados foram analisados usando o software de ajustamento de curva (XLfit versão 4,00, ID Business Solutions Ltd, Guildford, Surrey, UK) para determinar a IC₅₀ (concentração de composto que inibe a atividade de quinase por 50%). A média dos pontos duplicados pode ser vista nas Tabelas 2 e 4. Os resultados mostram que muitos compostos são inibidores mais potentes de CDK2 e CDK9 que o composto de origem seliciclide.

Determinação de IC₅₀ em linhagem celular de tumor H460 NSCLC usando ensaio de citotoxicidade Azul de Alamar

[000212] Para determinar a potência celular dos compostos, a citotoxicidade de cada composto foi determinada em relação à linhagem celular de câncer pulmonar de célula não-pequena H460 (NSCLC). Métodos de citotoxicidade padrões foram realizados como segue: células H460 foram semeadas em placas de 96 poços adequadamente durante seu tempo de duplicação (3000 células por poço) em meios de RPMI contendo 10% de FCS e incubadas durante a noite a 37°C, 5% de CO₂. Os meios foram removidos e 100 µL de meios frescos contendo concentrações crescentes do composto apropriado foram adicionados e as células incubadas durante 72 horas a 37 °C, 5% de CO₂. Uma matéria prima a 10% de azul alamar (Roche, Lewes, Reino Unido) foi preparada nos meios e 100 µL adicionados às células que foram incubadas durante 2 horas. A absorbância foi medida na contadora de múltiplos rótulos Wallac 2 1420 em 544 - 595 nm. As médias de três experiências independentes são mostradas na Tabela 3.

[000213] Dois compostos têm valores de IC50 menores que 1 µM (composto [1] e composto [11]).

Comparação do modo de ação dos compostos da invenção e seliciclibe

[000214] Foi previamente mostrado que seliciclibe induz apoptose por seus efeitos sobre a transcrição. Desse modo, seliciclibe inibe CDK7 e CDK9 que são responsáveis pela fosforilação de RNA polimerase II, que é requerido para o início e alongamento da transcrição. Como um resultado da inibição de transcrição, os níveis de várias proteínas com meia-vida curta diminuem, tal como Mcl-1, desse modo ativando a apoptose.

[000215] Para confirmar que estes compostos também causaram sub-regulação de Mcl-1 como seliciclibe, células H460 foram semeadas em 5 x 10⁵ de células em placas de 10cm² em 10 ml de meios de RPMI contendo 10% de FCS e incubadas durante a noite a 37°C, 5% de CO₂. 1 mL de composto concentrado 11x foi adicionado em seguida às

células que foram incubadas durante 5 ou 24 horas. Os meios foram removidos e as células aderentes lavadas com 5 ml de PBS. As células foram lisadas nas placas por adição de 100 μ L de tampão de lise (50 mM de HEPES pH 7, 20 mM de NaCl, 1 mM de DTT, coquetel de inibidor de protease (1:1000), e inibidores de fosfatase (10 mM de pirofosfato de sódio, 10 mM de fluoreto de sódio e 1 mM de ortovanadato de sódio). Os lisados foram congelados instantaneamente em nitrogênio líquido e armazenados a -70°C. Os lisados congelados foram descongelados e tratados com ondas sonoras por explosões de 2 x 10 segundos em gelo. A concentração de proteína de cada lisado foi determinada usando o *kit* de determinação de proteína BCA (Pierce) de acordo com as instruções do fabricante. O lisado (30 μ g) foi misturado com tampão de carregamento de gel 1x contendo 10% de β -mercaptoetanol e separado em 4-12% de géis de poliacrilamida Bis-Tris usando condições eletroforéticas desnaturantes (Invitrogen, Glasgow, Reino Unido). As proteínas foram transferidas para membranas de nitrocelulose (Schleicher & Schuell, Dassel, Alemanha) usando transferência eletroforética úmida. As membranas foram manchadas com Ponceau S para confirmar o carregamento igual antes do bloqueio em leite desnatado a 5% em PBS com 0,05% de Tween 20 (PBSTM) durante 2 horas. As membranas foram incubadas durante a noite a 4°C com anticorpo primário (anticorpo policlonal de coelho para Mcl-1, Santa Cruz), diluídas 1:1000 em PBSTM. As membranas foram lavadas 2 x 5 minutos seguido por 2 x 10 minuto em PBS e 0,05% de Tween 20 (PBST) e incubadas durante 1 hora em PBSTM que contém anticorpo secundário conjugado de peroxidase de rábano-picante. As membranas foram lavadas como anteriormente e incubadas com solução de quimioluminescência aumentada (Amersham) e expostas à película de Raios x (Amersham).

[000216] Como esperado, seliciclide mostra apenas mudanças muito

modestas, visto que a concentração de topo usada nesta experiência está perto do valor de IC₅₀ por este composto. Composto [1] parece ser superior ao seliciclide em sua capacidade de diminuir os níveis de Mcl-1 com efeitos significantes observados em 1,5 μ M em 24 horas. Isto está de acordo com sua potência aumentada.

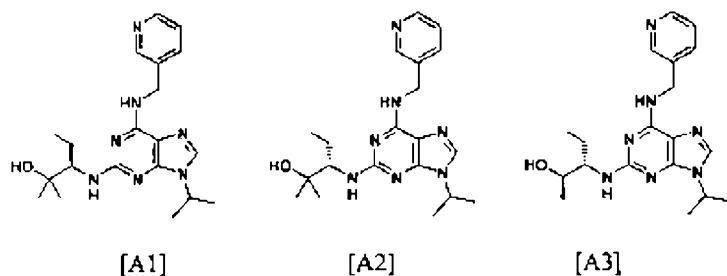
[000217] Em uma segunda experiência, o efeito de compostos adicionais sobre os níveis de Mcl-1 foi investigado. Neste caso, células H460 foram tratadas com 0,5, 1,5, 4,5 e 13,5 μ M durante 5 horas, ponto em que as células foram colhidas para análise de manchamento do oeste. Os resultados são mostrados na Figura 2.

[000218] Os resultados mostram que o composto [1] parece ser o composto mais eficaz deste grupo no sub-regulamento dos níveis de Mcl-1 e têm potência superior ao seliciclibe. Porém, está claro que todos estes compostos causam uma diminuição em Mcl-1 em concentrações equivalentes a aproximadamente 2-3 vezes seu valor de IC₅₀.

Inibição de Citocromo P450s (Determinação de IC₅₀ de 5 Isoformas)

Objetivo

[000219] Para identificar se o composto [1] inibe a atividade de cinco isoformas de CYP pela análise do metabolismo de substratos específicos de CYP. Estudos comparativos foram realizados usando compostos da técnica anterior [A1], [A2] e [A3] mostrados abaixo:



Procedimento Experimental

[000220] Compostos [A1], [A2] e [A3] foram sintetizados de acordo com os métodos mencionados em WO 2004/016612 (Cyclacel Limited).

Inibição de CYP1A

[000221] Seis concentrações de composto teste (0,05, 0,25, 0,5, 2,5, 5, 25 μ M em DMSO; concentração de DMSO final = 0,35%) foram incubadas com microssomas de fígado humano (0,25 mg/mL) e NADPH (1 mM) na presença do substrato de sonda etoxirresorufina (0,5 μ M) durante 5min a 37°C. O inibidor de CYP1A seletivo, alfa-naftoflavona, foi avaliado ao lado dos compostos teste como um controle positivo.

Inibição de CYP2C9

[000222] Seis concentrações de composto teste (0,05, 0,25, 0,5, 2,5, 5, 25 μ M em DMSO; concentração de DMSO final = 0,25%) foram incubadas com microssomas de fígado humano (1 mg/mL) e NADPH (1 mM) na presença do substrato de sonda tolbutamida (120 μ M) durante 60min a 37°C. O inibidor de CYP2C9 seletivo, sulfafenazol, foi avaliado ao lado dos compostos teste como um controle positivo.

Inibição de CYP2C19

[000223] Seis concentrações de composto teste (0,05, 0,25, 0,5, 2,5, 5, 25 μ M em DMSO; concentração de DMSO final = 0,25%) foram incubadas com microssomas de fígado humano (0,5 mg/mL) e NADPH (1 mM) na presença do substrato de sonda mefenitoína (25 μ M) durante 60min a 37°C. O inibidor de CYP2C19 seletivo, tranilcipromina, foi avaliado ao lado dos compostos teste como um controle positivo.

Inibição de CYP2D6

[000224] Seis concentrações de composto teste (0,05, 0,25, 0,5, 2,5, 5, 25 μ M em DMSO; concentração de DMSO final = 0,25%) foram incubadas com microssomas de fígado humano (0,5 mg/mL) e NADPH (1 mM) na presença do substrato de sonda dextrometorfano (5 μ M) durante 30 min a 37°C. O inibidor de CYP2D6 seletivo, quinidina, foi avaliado ao lado dos compostos teste como um controle positivo.

Inibição de CYP3A4

[000225] Seis concentrações de composto teste (0,05, 0,25, 0,5, 2,5, 5, 25 μ M em DMSO; concentração de DMSO final 0,26%) foram

incubadas com microssomas de fígado humano (0,25 mg/mL) e NADPH (1 mM) na presença do substrato de sonda midazolam (2,5 μ M) durante 5 minutos a 37°C. O inibidor de CYP3A4 seletivo, cetoconazol, foi avaliado ao lado dos compostos teste como um controle positivo.

[000226] Para as incubações de CYP1A, as reações foram terminadas pela adição de metanol, e a formação do metabólito, resorufina, foi monitorada por fluorescência (comprimento de onda de excitação = 535 nm, comprimento de onda de emissão = 595 nm). Para as incubações de CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 e CYP3A4, as reações foram terminadas pela adição de metanol contendo padrão interno. As amostras foram centrifugadas em seguida, e os sobrenadantes foram combinados, para a análise simultânea de 4-hidroxitolbutamida, 4-hidroximefenitoína, dextrofano, e 1-hidroximidazolam mais padrão interno por LC-MS/MS usando condições de LC-MS/MS genéricas. Ácido fórmico em água desionizada (concentração final = 0,1%) foi adicionado à amostra final antes da análise. Uma diminuição na formação dos metabólitos comparada ao controle de veículo foi usada para calcular um valor de IC50 (concentração de composto teste que produz 50% de inibição).

Resultados

[000227] A IC50 (μ M), para cada composto em relação às cinco isoformas de CYP é mostrado na Tabela 5.

[000228] Os dados indicam que três compostos são inibidores significantes de CYP3A4 enquanto o composto [1] não é. Visto que o valor de IC50 do composto [1] está significativamente acima de sua IC50 celular (vide Tabela 7) isto indica que as concentrações citotóxicas não devem ter nenhum efeito sobre a atividade de CYP3A4. Isto é importante porque CYP3A4 está envolvido no metabolismo de um número grande de medicamentos. Se CYP3A4 é inibido por um fármaco, isto pode levar à toxicidade inesperada devido ao metabolismo

reduzido de substratos de CYP3A4, desse modo resultando em níveis aumentados aparentes destes agentes.

Identificação de substrato de citocromo P450

Objetivo

[000229] Identificar quais das isoformas de citocromo P450 principais estão envolvidas no metabolismo dos quatro compostos testes.

Procedimento Experimental

[000230] Preparações de enzima de CYP450 humana expressas por cDNA coexpressas com P450 redutase de citocromo de NADPH humano (Bactosomes®) foram fornecidas por Cypex Ltd. Bactosomes® (concentração de P450 final CYP1A2 100 pmol/mL, CYP2C8 50 pmol/mL, CYP2C9 25 pmol/mL, CYP2C19 100 pmol/mL, CYP2D6 50 pmol/mL e CYP3A4 25 pmol/mL), 0,1M de tampão de fosfato pH 7,4 e composto teste (concentração de substrato final = 5 µM; concentração de DMSO final = 0,25%) foram pré-incubadas a 37°C por adição de NADPH (concentração final = 1 mM) para iniciar a reação. As incubações foram da mesma forma realizadas usando bactossomas de controle (nenhuma enzima P450 presente) para revelar qualquer degradação não-enzimática. O volume de incubação final foi de 25 µL. Os compostos conhecidos especificamente metabolizados por cada isoforma de CYP450 foram usados como compostos de controle.

[000231] Cada composto foi incubado isoladamente durante 0, 5, 15, 30 e 45 min com cada isoforma de CYP. As reações foram interrompidas pela adição de 50 µL de metanol contendo padrão interno nos pontos de tempo apropriados. As placas de incubação foram centrifugadas em 2500 rpm durante 20 minutos a 4°C para precipitar a proteína. Seguindo a precipitação de proteína, os sobrenadantes de amostra foram combinados em cassete de até quatro compostos e analisados usando as condições de LC-MS/MS genéricas.

Análise de Dados

[000232] A relação de área no pico (que foi corrigido para qualquer perda nas incubações com os bactossomas de controle) foi plotada em relação ao tempo e o gradiente da linha determinado.

A constante da taxa de eliminação (k) = (- gradiente)

$$\text{Meia-vida (t}_{1/2}\text{)} \text{ (min)} = \frac{0,693}{k}$$

Resultados

[000233] A meia-vida (minutos) para cada composto na presença de cada das seis CYPs é mostrada na Tabela 6.

[000234] Os dados indicam que neste sistema de Bactosomes®, composto [1] não é um substrato para as seis isoformas de CYP testadas. Há uma diferença principal com os outros três compostos porque eles são todos os substratos de CYP3A4 e dois são da mesma forma substratos de CYP1A2. Esta diferença corresponde bem com a diferença na inibição de CYP discutida na Tabela 4. Um mecanismo comum que leva à inibição de CYP é se o composto é da mesma forma um substrato para essa CYP. Como pode ser visto, composto [1] não é nem um substrato de nem inibidor de CYP3A4 considerando que os outros três compostos são.

Ensaios de quinase

[000235] Para avaliar a potência de quinase in vitro dos compostos, eles foram avaliados em relação às CDK 2 e CDK9. Ensaios de quinase foram realizados em placas de 96 poços usando ciclinas/CDK recombinantes geradas em Cyclacel. Ltd, Dundee, UK. Ensaios de CDK2 e CDK9 foram realizados em um volume total de 25 µL em tampão de ensaio (25 mM de b-gliceroftosfato, 20 mM de MOPS, 5 mM de EGTA, 1 mM de DTT e 1 mM de NaVO3, pH 7,4), em qual foram adicionados 2 a 4 µg de enzima ativa com substratos apropriados (histona purificada H1 para CDK2/ciclina E, e CDK2/ciclina A, biotinil-Ahx-(YSPTSPS)4 para CDK9/ciclina T1). A reação foi iniciada por adição de mistura de Mg/ATP (15 mM de MgCl2 + 100 µM de ATP com

30-50 kBq por bem de [-32P]-ATP) e misturas incubadas durante 15 min (CDK2/ciclina E), 30 min (CDK2/ciclina A) ou 45 min (CDK9/ciclina T1) como requerido, a 30°C. Reações de CDK2 foram interrompidas por adição de 25 µL de 75 mM de ácido fosfórico, seguido por filtração através de placas de filtro P81 (Whatman Polifiltrronics, Kent, UK). Para CDK9, a reação foi interrompida por adição de 25 µL de 75 mM de ácido fosfórico, em seguida 5 µL de 10 mg/mL de avidina foram adicionados a cada poço e também incubados durante 2 min seguidos por filtração de acordo com ensaio de CDK2. Depois de lavar 3 vezes com 75 mM de ácido ortofosfórico, placas foram secadas, cintilante adicionado e radioatividade incorporada medida em uma contadora de cintilação (TopCount, Packard Instruments, Pangbourne, Berks, UK). Compostos para ensaio de quinase foram feitos como 10 mM de matérias primas em DMSO e diluídos em 10% de DMSO em tampão de ensaio. Os dados foram analisados usando o software de ajustamento de curva (XLfit versão 4,00, ID Business Solutions Ltd, Guildford, Surrey, UK) para determinar a IC₅₀ (concentração de composto que inibe a atividade de quinase por 50%). A média dos pontos duplicados pode ser vista nas Tabelas 6 e 8.

Resultados

[000236] Os resultados na Tabela 7 mostram o composto da técnica anterior [A3] e composto [1] são os inibidores de quinase mais potentes. Determinação de IC₅₀ em linhagens celulares usando ensaio de citotoxicidade Azul Alamar

[000237] Para determinar a potência celular dos compostos, a citotoxicidade de cada composto foi determinada em relação a uma faixa de linhagens celulares. Métodos de citotoxicidade padrões foram realizados como segue: as células foram semeadas em placas de 96 poços adequadamente durante seu tempo de duplicação (2-5000 células por poço) em meios de RPMI ou DMEM contendo 10% de FCS

e incubadas durante a noite a 37°C, 5% de CO₂. Os meios foram removidos e 100 µL de meios frescos contendo concentrações crescentes do composto apropriado foram adicionados e as células incubadas durante 72 horas a 37 °C, 5% de CO₂. Uma matéria prima a 10% de azul alamar (Roche, Lewes, Reino Unido) foi preparada nos meios e 100 µL adicionados às células que foram incubadas durante 2 horas. A absorbância foi medida na contadora de múltiplos rótulos Wallac 2 1420 em 544-595 nm.

Resultados

[000238] Os resultados para análise de citotoxicidade celular em relação a 21 linhagens celulares são mostrados na Tabela 8. Composto [1] é significativamente mais potente que o composto da técnica anterior [A1], [A2] ou [A3].

[000239] Várias modificações e variações da invenção ficarão evidentes para aqueles versados na técnica sem afastarem-se do escopo e espírito da invenção. Embora a invenção tenha sido descrita com relação às modalidades preferidas específicas, deve ser entendido que a invenção como reivindicada não deve ser limitada indevidamente as tais modalidades específicas. De fato, várias modificações dos modos descritos para realizar a invenção as quais são óbvias para aqueles versados nos campos pertinentes são pretendidas ser abrangidas pela presente invenção.

Tabela 1: Compostos selecionados da invenção

Composto	Estrutura	Nome
[1]		(2R,3S)-3-((4,6-Dimethylpyridin-3-yl)methyl)amino)-9-isopropyl-9H-purin-2-ylmethylamino)pentan-2-ol

Composto	Estrutura	Nome
[2]		2R,3S-3-(9-isopropyl-6-((6-metilpiridin-3-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[3]		2R,3S-3-(6-(3-Clorobenzilamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[4]		2R,3S-3-[6-(3-Fluorobenzilamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-ilamino]pentan-2-ol
[5]		2R,3S-3-(9-(Ciclopropilmetil)-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[6]		2R,3S-3-(6-Ciclopropilamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[7]		2R,3S-3-(6-(Ciclopropilmetilamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol

Composto	Estrutura	Nome
[8]		2R,3S-3-(6-(Ciclobutylamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[9]		2R,3S-3-(9-Isopropyl-6-(piridina-4-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[10]		2R,3S-3-(9-Isopropyl-6-(2,6-dimethylpyridina-4-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[11]		2R,3S-3-(9-Isopropyl-6-((6-trifluoromethyl)pyridina-3-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[12]		2R,3S-3-(9-Isopropyl-6-((6-methylpyridin-2-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[13]		2R,3S-3-(9-Isopropyl-6-((3-methylpyridin-2-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol

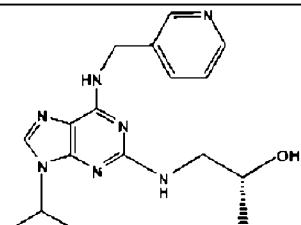
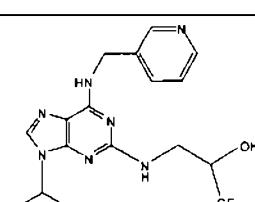
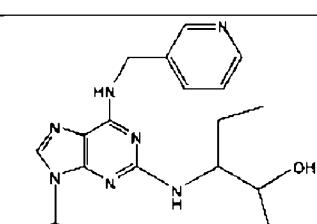
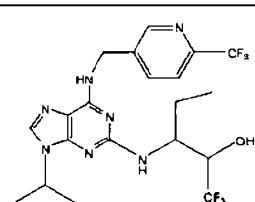
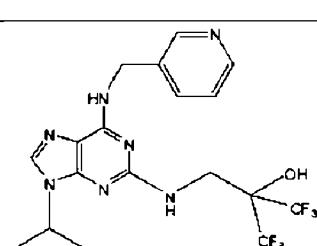
Composto	Estrutura	Nome
[14]		(R)-1-(9-Isopropyl-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)propan-2-ol
[15]		1,1,1 -Trifluor-3-(9-isopropyl-6-(piridin-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)propan-2-ol
[16]		1,1,1 -Trifluor-3 -(9-isopropyl-6-(piridin-3 -ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol
[17]		1,1,1 -Trifluor-3 -(9-isopropyl-6-((6-(trifluorometil)piridin-3-il)metilamino)-9H-2-ilamino)pentan-2-ol
[18]		1,1,1,3,3,3-Hexafluor-2-((9-isopropyl-6-(piridina-3-ilmetilamino)-9H-purin-2-ilamino)methyl)propan-2-ol

Tabela 2: Resumo das avaliações de ensaio de quinase *in vitro* em compostos de segunda geração e seliciclibo. Valores de IC₅₀ são expressos em μM . Os compostos foram analisados em 2 grupos e em ambos os casos seliciclibo foi conduzido como um controle no ensaio, dando origem ao seliciclibo 1 e 2, que deu resultados similares.

Composto	CDK2/Ciclina E		CDK2/Ciclina A		CDK2/Ciclina Ti	
	Média	SD	Média	SD	Média	SD
Seliciclibe 1	0,42	0,08	1,50	0,11	2,03	0,35
[1]	0,02	0,001	0,09	0,00	0,10	0,02
[2]	0,52	0,15	3,25	1,03	3,63	0,76
[3]	0,01	0,004	0,10	0,004	0,06	0,00
[4]	0,02	0,01	0,12	0,01	0,08	0,02
Seliciclibe 2	0,28	0,03	ND	ND	2,35	0,61
[5]	0,83	0,22	ND	ND	7,89	ND
[6]	0,05	0,003	ND	ND	0,27	0,03
[7]	0,04	0,01	ND	ND	0,38	0,01
[8]	0,16	0,05	ND	ND	0,50	0,25
[9]	0,04	0,01	ND	ND	0,61	0,01
[10]	0,05	0,02	ND	ND	1,04	,30
[11]	0,04	0,01	ND	ND	0,25	0,10
[12]	0,05	0,01	ND	ND	2,04	0,44
[13]	0,77	0,06	ND	ND	5,84	1,21
[14]	0,29	0,14	ND	ND	6,53	2,74
[15]	0,57	0,04	ND	ND	7,40	2,81
[16]	0,09	0,01	ND	ND	2,14	0,50

SD - desvio padrão

Tabela 3: Tabela resumida dos valores de IC₅₀ celular para os compostos como determinado em células H460. A última coluna ilustra quanto mais potente muitos destes compostos são comparados com seliciclibe.

Composto	Média IC50 (μM)	SD	Aumento em vezes na potência
[1]	0,5	0,0	24,0
[2]	35	5,5	0,3
[3]	1,5	0,1	8,0

Composto	Média IC50 (μ M)	SD	Aumento em vezes na potência
[4]	1,5	0,1	8,0
[5]	34,4	3,2	0,3
[6]	1,7	0,2	7,1
[7]	2,4	,7	5,0
[8]	2,9	0,6	4,1
[9]	2,3	0,3	5,2
[10]	2,4	0,1	5,0
[11]	0,9	0,2	13,3
[12]	7,2	0,1	1,7
[13]	19,4	5,3	0,6
[14]	16,7	2,3	0,7
[15]	20,3	5,2	0,6
[16]	4,1	0,6	2,9
Seliciclib e	12,0	2,2	NA

SD = Desvio Padrão

Tabela 4: Resumo da avaliação de ensaio de quinase *in vitro* nos compostos [17] e [18] (μM)

Composto	CDK2E				CDK2A				CDK1B			
	Ciclo 1	Ciclo 2	Meio	SD	Ciclo 1	Ciclo 2	Meio	SD	Ciclo 1	Ciclo 2	Meio	SD
[17]	0,318	0,307	0,313	0,008	0,305	0,431	0,368	0,089	6,121	11,235	8,678	3,616
[18]	0,336	0,279	0,308	0,040	0,704	1,194	0,949	0,347	5,882	6,725	6,303	0,596
	CDK4D1				CDK7H				CDK9T1			
Composto	Ciclo 1	Ciclo 2	Meio	SD	Ciclo 1	Ciclo 2	Meio	SD	Ciclo 1	Ciclo 2	Meio	SD
[17]	>10	>10	>10		1,851	1,777	1,814	0,053	2,046	5,426	3,736	2,390
[18]	>10	>10	>10		5,045	6,009	5,527	0,682	3,954	3,210	3,582	0,526

SD - desvio padrão

Tabela 5: IC₅₀ (M) para compostos da técnica anterior [A1], [A2] e [A3] e composto [1] da invenção em relação às cinco isoformas de CYP

	CYP1A	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
[A1]	>25	19,9	>25	>25	1,63
[A2]	>25	>25	>25	>25	0,48
[A3]	>25	>25	>25	>25	1,88
[1]	>25	>25	23,8	>25	22,5

Tabela 6: A meia-vida (minutos) para os compostos de técnica anterior [A1], [A2] e [A3] e composto [1] da invenção na presença de cada das seis CYPs

	CYP1A	CYP2C1	CYP2C	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
	2	9	8			
[A1]	29,2	58,3	>45	>45	>45	28,3
[A2]	49,5	>45	>45	>45	>45	32,6
[A3]	>45	>45	>45	>45	>45	18,0
[1]	>45	>45	>45	>45	>45	>45

Tabela 7: Atividade inibidora de quinase (IC₅₀, M) para compostos da técnica anterior [A1], [A2] e [A3] e composto [1] da invenção

Quinase	[A1]	[A2]	[A3]	[1]
CDK2A	0,37	0,20	0,11	0,04
CDK2E	0,13	0,07	0,01	0,02
CDK9T1	0,34	0,28	0,09	0,10

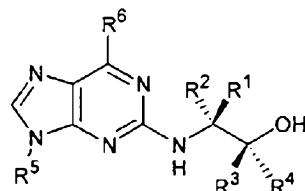
Tabela 8: Os resultados para análise de citotoxicidade celular para compostos da técnica anterior [A1], [A2], [A3] e composto [1] da invenção em relação às várias linhagens celulares

Quinase	[A1]	[A2]	[A3]	[1]
H1650	6,49	3,65	1,22	0,46
B16	7,77	2,59	0,66	
HeLa	6,64	3,30		
MDA-MB-436	6,6	3,38	0,97	0,44

Quinase	[A1]	[A2]	[A3]	[1]
H2052	5,16	2,36	0,94	0,29
LoVo	4,50	2,20	0,82	0,70
Saos-2	5,31	2,48	1,40	
CT26.WT	6,69	4,88	1,63	
H292	6,56	2,34	0,91	0,37
Colo205	4,48	2,31	0,82	0,31
HT-29	4,15	1,70	1,17	
NCI-H460	2,80	2,21	0,70	0,50
LP-1		1,64	0,47	
A549	2,95	1,60	0,47	0,16
MESSA	3,62	1,59	0,50	0,16
MESSA-Dx5	14,69	8,52	3,87	1,21
HCT 116		1,57	0,44	
MCF7	3,65	1,64	0,45	0,26
NCI-H929	5,16	2,35	0,79	0,35
A2780	2,60	1,10	0,38	0,41
H358	2,69	0,84	0,33	0,18
Ave	4,88	2,29	0,79	0,35

REIVINDICAÇÕES

1. Composto caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula (I), ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,



(I)

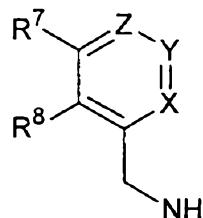
na qual:

R^1 e R^2 são cada qual independentemente H, C₁₋₆ alquila ou C₁₋₆ haloalquila;

um dentre R^3 e R^4 é H e o outro é C₁₋₆ alquila, C₁₋₆ haloalquila;

R^5 é C₁₋₆ alquila ou C₃₋₁₂ cicloalquila ou C₃₋₁₂-cicloalquil-C₁₋₆ alquila, cada das quais pode ser opcionalmente substituída com um ou mais grupos OH;

R^6 é



na qual Y é N e X e Z são CR⁹;

R^7 , R^8 e cada R^9 são independentemente H, C₁₋₆ alquila ou C₁₋₆ haloalquila, em que um ou mais dentre R^7 , R^8 e cada R^9 é diferente de H.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que um dentre R^1 e R^2 é H e o outro é C₁₋₆ alquila, preferencialmente, metila, etila ou isopropila.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que X é CH, Z é C-Me e R^7 é H e R^8 é Me.

4. Composto de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que X é CH, Z é C-Me e R⁷ e R⁸ são ambos H.

5. Composto de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que X é CH, Z é C-CF₃ e R⁷ e R⁸ são ambos H.

6. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que R⁵ é isopropila.

7. Composto, caracterizado pelo fato de que é selecionado dentre:

[1] (2R,3S-3-(6-((4,6-Dimetilpiridin-3-il)metilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol;

[2] 2R,3S-3-(9-isopropil-6-((6-metilpiridin-3-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol;

[11] 2R,3S-3-(9-isopropil-6-((6-(trifluorometil)piridina-3-il)metilamino)-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol;

[17] 1,1,1-Trifluor-3 -(9-isopropil-6-((6-(trifluorometil)piridin-3 -il)metilamino)-9H-2-ilamino)pentan-2-ol.

8. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é (2R,3S-3-(6-((4,6-Dimetilpiridin-3-il)metilamino)-9-isopropil-9H-purin-2-ilamino)pentan-2-ol, ou um sal farmaceuticamente aceitável ou éster do mesmo.

9. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8, misturada com um diluente, excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável, ou uma mistura dos mesmos.

10. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de ser na preparação de um medicamento para tratar um distúrbio selecionado dentre um distúrbio proliferativo, um distúrbio viral, um distúrbio

neurodegenerativo, um distúrbio do SNC, diabetes, alopecia e um acidente vascular cerebral.

11. Uso de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que o referido distúrbio proliferativo é câncer ou leucemia.

12. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8, em um ensaio caracterizado pelo fato de que é para identificar outros compostos candidatos capazes de inibir uma ou mais de uma quinase dependente de ciclina, uma aurora quinase, uma GSK e uma enzima PLK.

13. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de ser para uso na medicina.

14. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de ser para tratar um distúrbio selecionado de um distúrbio proliferativo, um distúrbio viral, um distúrbio neurodegenerativo, um distúrbio do SNC, diabetes, alopecia e um acidente vascular cerebral.

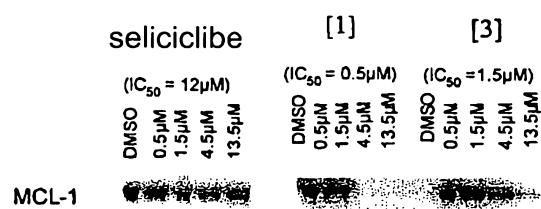


FIG. 1

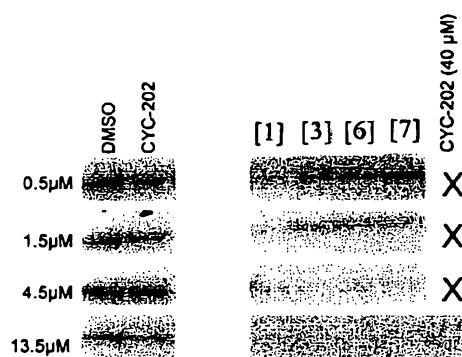


FIG. 2