



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112018005637-5 B1

(22) Data do Depósito: 22/09/2016

(45) Data de Concessão: 28/11/2023

(54) Título: COMPOSTOS DERIVADOS DE QUINOXALINA, QUINOLINA E QUINAZOLINONA, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS COMPREENDE, E USO DOS REFERIDOS COMPOSTOS

(51) Int.Cl.: C07D 471/04; C07D 487/04; A61K 31/519; A61P 35/00.

(30) Prioridade Unionista: 23/09/2015 EP 15186491.5.

(73) Titular(es): JANSSEN PHARMACEUTICA NV.

(72) Inventor(es): PATRICK RENÉ ANGIBAUD; DIEGO FERNANDO DOMENICO BROGGINI; HÉLÈNE FRANCE SOLANGE COLOMBEL; FILIP ALBERT C CUYCKENS; STEVEN ANNA HOSTYN; RUSSELL MARK JONES; OLIVIER ALEXIS GEORGES QUEROLLE; WIM VERMEULEN.

(86) Pedido PCT: PCT EP2016072499 de 22/09/2016

(87) Publicação PCT: WO 2017/050864 de 30/03/2017

(85) Data do Início da Fase Nacional: 21/03/2018

(57) Resumo: COMPOSTOS DERIVADOS DE QUINOXALINA, QUINOLINA E QUINAZOLINONA, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS COMPREENDE, E USO DOS REFERIDOS COMPOSTOS. A invenção refere-se a novos compostos derivados de quinoxalina, quinolina e quinazolinona, a composições farmacêuticas compreendendo os referidos compostos, a processos para a preparação dos referidos compostos e ao uso dos referidos compostos no tratamento de doenças, por exemplo, câncer.

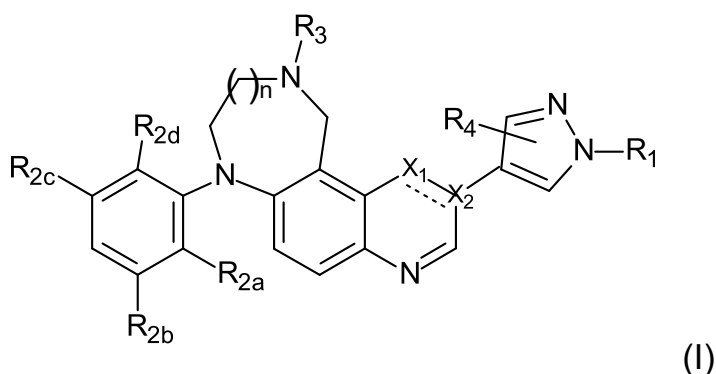
Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
**"COMPOSTOS DERIVADOS DE QUINOXALINA, QUINOLINA E
 QUINAZOLINONA, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS
 COMPREENDE, E USO DOS REFERIDOS COMPOSTOS".**

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A invenção refere-se a compostos derivados de quinoxalina, quinolina e quinazolinona, a composições farmacêuticas compreendendo os referidos compostos, a processos para a preparação dos referidos compostos e ao uso dos referidos compostos no tratamento de doenças, por exemplo, câncer.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[002] De acordo com um primeiro aspecto da invenção, são proporcionados compostos da fórmula (I):



incluindo qualquer sua forma tautomérica ou estereoquimicamente isomérica, em que

- X_1 é N e X_2 é (a);
 X_1 é CH e X_2 é (b); ou
 X_1 é C(=O) e X_2 é N (c);

e em que a linha pontilhada representa uma ligação no caso de (a) e (b) e em que a linha pontilhada está ausente no caso de (c);

n representa um número inteiro igual a 1 ou 2;

R_1 representa hidrogênio, alquila C_{1-6} , hidroxialquila C_{1-6} , alquila C_{1-6} substituída por $-C(=O)NHCH_3$, ou alquila C_{1-6} substituída por $-S(=O)_2$ -alquila C_{1-4} ;

R_{2a} representa flúor ou cloro;

R_{2b} representa metóxi ou hidroxila;

R_{2c} representa metóxi ou hidroxila;

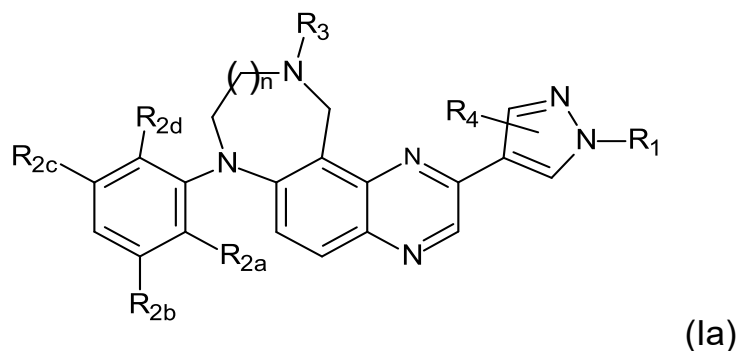
R_{2d} representa hidrogênio, flúor ou cloro;

R_3 representa hidrogênio, alquila C_{1-6} , cicloalquila C_{3-6} , ou alquila C_{1-2} substituída por cicloalquila C_{3-6} ;

R_4 representa hidrogênio, metila ou etila;

os seus sais farmacêuticamente aceitáveis ou solvatos.

[003] Em uma modalidade são proporcionados compostos da fórmula (Ia):



incluindo qualquer sua forma tautomérica ou estereoquimicamente isomérica, em que

n representa um número inteiro igual a 1 ou 2;

R_1 representa hidrogênio, alquila C_{1-6} , hidroxialquila C_{1-6} , alquila C_{1-6} substituída por $-C(=O)NHCH_3$, ou alquila C_{1-6} substituída por $-S(=O)_2$ -alquila C_{1-4} ;

R_{2a} representa flúor ou cloro;

R_{2b} representa metóxi ou hidroxila;

R_{2c} representa metóxi ou hidroxila;

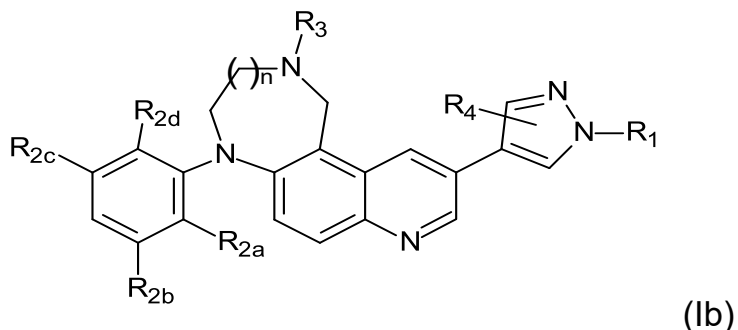
R_{2d} representa hidrogênio, flúor ou cloro;

R_3 representa hidrogênio, alquila C_{1-6} , cicloalquila C_{3-6} , ou alquila C_{1-2} substituída por cicloalquila C_{3-6} ;

R_4 representa hidrogênio, metila ou etila;

os seus sais farmacêuticamente aceitáveis ou solvatos.

[004] Em uma modalidade são proporcionados compostos da fórmula (Ib):



incluindo qualquer sua forma tautomérica ou estereoquimicamente isomérica, em que

n representa um número inteiro igual a 1 ou 2;

R_1 representa hidrogênio, alquila C_{1-6} , hidroxialquila C_{1-6} , alquila C_{1-6} substituída por $-C(=O)NHCH_3$, ou alquila C_{1-6} substituída por $-S(=O)_2$ -alquila C_{1-4} ;

R_{2a} representa flúor ou cloro;

R_{2b} representa metóxi ou hidroxila;

R_{2c} representa metóxi ou hidroxila;

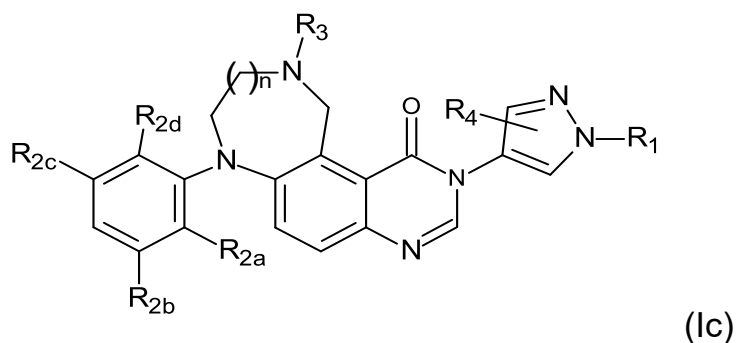
R_{2d} representa hidrogênio, flúor ou cloro;

R_3 representa hidrogênio, alquila C_{1-6} , cicloalquila C_{3-6} , ou alquila C_{1-2} substituída por cicloalquila C_{3-6} ;

R_4 representa hidrogênio, metila ou etila;

os seus sais farmaceuticamente aceitáveis ou solvatos.

[005] Em uma modalidade são proporcionados compostos da fórmula (Ic):



incluindo qualquer sua forma tautomérica ou estereoquimicamente isomérica, em que

n representa um número inteiro igual a 1 ou 2;

R₁ representa hidrogênio, alquila C₁₋₆, hidroxialquila C₁₋₆, alquila C₁₋₆ substituída por -C(=O)NHCH₃, ou alquila C₁₋₆ substituída por -S(=O)₂-alquila C₁₋₄;

R_{2a} representa flúor ou cloro;

R_{2b} representa metóxi ou hidroxila;

R_{2c} representa metóxi ou hidroxila;

R_{2d} representa hidrogênio, flúor ou cloro;

R₃ representa hidrogênio, alquila C₁₋₆, cicloalquila C₃₋₆, ou alquila C₁₋₂ substituída por cicloalquila C₃₋₆;

R₄ representa hidrogênio, metila ou etila;

os seus sais farmaceuticamente aceitáveis ou solvatos.

[006] WO2006/092430, WO2008/003702, WO01/68047, WO2005/007099, WO2004/098494, WO2009/141386, WO2004/030635, WO2008/141065, WO2011/026579, WO2011/028947, WO2007/003419, WO00/42026, WO2012/154760, WO2011/047129, WO2003/076416, WO2002/096873, WO2000/055153, EP548934, US4166117, WO2011/135376, WO2012/073017, WO2013/061074, WO2013/061081, WO2013/061077, WO2013/061080, WO2013/179034, WO2013/179033, WO2014/174307, WO2015/144803, WO2015/144804, WO2015/144808 que divulgam, cada um, uma série de derivados de heterociclila.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[007] A não ser que o contexto indique de outro modo, as referências à fórmula (I) em todas as seções do presente documento (incluindo os usos, métodos e outros aspectos da invenção) incluem referências a todas as outras subfórmulas (por exemplo, Ia, Ib, Ic, Id),

subgrupos, preferências, modalidades e exemplos como definidos no presente documento.

[008] O prefixo " C_{x-y} " (onde x e y são números inteiros) como usado no presente documento se refere ao número de átomos de carbono em um dado grupo. Assim, um grupo alquila C_{1-6} contém de 1 a 6 átomos de carbono, um grupo cicloalquila C_{3-6} contém de 3 a 6 átomos de carbono, um grupo hidroxialquila C_{1-6} contém de 1 a 6 átomos de carbono, e assim por diante.

[009] O termo "alquila C_{1-2} ", "alquila C_{1-4} " ou "alquila C_{1-6} " como usado no presente documento como um grupo ou parte de um grupo se refere a um grupo de hidrocarbonetos saturado linear ou ramificado contendo 1 ou 2 ou de 1 a 4 ou de 1 a 6 átomos de carbono. Exemplos de tais grupos incluem metila, etila, n-propila, isopropila, n-butila, isobutila, sec-butila, terc-butila, n-pentila, isopentila, neopentila ou hexila e similares.

[0010] O termo "cicloalquila C_{3-6} " como usado no presente documento se refere a um radical de hidrocarbonetos monocíclico saturado de 3 a 6 átomos de carbono. Exemplos de tais grupos incluem ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, ciclo-hexila.

[0011] O termo "hidroxialquila C_{1-4} " ou "hidroxialquila C_{1-6} " como usado no presente documento como um grupo ou parte de um grupo se refere a um grupo alquila C_{1-4} , ou alquila C_{1-6} como definido no presente documento em que um ou mais do que um átomo de hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila. Os termos "hidroxialquila C_{1-4} " ou "hidroxialquila C_{1-6} " incluem portanto mono-hidroxialquila C_{1-4} , mono-hidroxialquila C_{1-6} e também poli-hidroxialquila C_{1-4} e poli-hidroxialquila C_{1-6} . Podem existir um, dois, três ou mais átomos de hidrogênio substituídos por um grupo hidroxila, logo, a hidroxialquila C_{1-4} ou hidroxialquila C_{1-6} podem ter um, dois, três ou mais grupos hidroxila. Exemplos de tais grupos incluem hidroximetila,

hidroxietila, hidroxipropila e similares.

[0012] Sempre que usado anteriormente ou doravante que os substituintes podem ser selecionados cada um independentemente de uma lista de numerosas definições, todas as combinações possíveis que sejam quimicamente possíveis são pretendidas.

[0013] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), n representa um número inteiro igual a 1.

[0014] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), n representa um número inteiro igual a 2.

[0015] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R₁ representa hidrogênio ou alquila C₁₋₆, em particular alquila C₁₋₆, mais em particular metila.

[0016] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R₁ representa hidrogênio.

[0017] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2a} representa flúor.

[0018] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2a} representa cloro.

[0019] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2b} representa metóxi.

[0020] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2b} representa hidróxi.

[0021] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2c} representa metóxi.

[0022] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2c} representa hidróxi.

[0023] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2b} representa metóxi e R_{2c} representa hidroxila.

[0024] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2b} representa hidroxila e R_{2c} representa metóxi.

- [0025] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2b} e R_{2c} representam ambos metóxi.
- [0026] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2b} e R_{2c} representam ambos hidroxila.
- [0027] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2d} representa hidrogênio.
- [0028] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_{2d} representa flúor ou cloro, em particular flúor.
- [0029] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_3 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila ou isopropila, em particular isopropila.
- [0030] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_3 representa hidrogênio.
- [0031] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), (Ia), (Ib) ou (Ic), R_4 representa hidrogênio.
- [0032] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), um ou mais dos seguintes, em particular todos os seguintes, se aplicam:
- [0033] n representa um número inteiro igual a 1 ou 2;
- [0034] R_1 representa hidrogênio ou alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-6} , mais em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila;
- [0035] R_{2a} representa flúor ou cloro, em particular flúor;
- [0036] R_{2b} representa metóxi ou hidroxila, em particular metóxi;
- [0037] R_{2c} representa metóxi ou hidroxila, em particular metóxi;
- [0038] R_{2d} representa hidrogênio, flúor ou cloro;
- [0039] R_3 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila ou isopropila, em particular isopropila;
- [0040] R_4 representa hidrogênio.
- [0041] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), n representa um número inteiro igual a 2.

[0042] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), n representa um número inteiro igual a 1.

[0043] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_1 representa hidrogênio.

[0044] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_1 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila.

[0045] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2a} representa flúor ou cloro, em particular flúor.

[0046] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2b} representa metóxi.

[0047] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2b} representa hidróxi.

[0048] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2c} representa metóxi.

[0049] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2c} representa hidróxi.

[0050] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2b} representa metóxi e R_{2c} representa hidroxila.

[0051] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2b} representa hidroxila e R_{2c} representa metóxi.

[0052] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2b} e R_{2c} representam ambos metóxi.

[0053] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2b} e R_{2c} representam ambos hidroxila.

[0054] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2d} representa hidrogênio.

[0055] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_{2d} representa flúor ou cloro, em particular flúor.

[0056] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_3

representa hidrogênio.

[0057] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_3 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila ou isopropila, em particular isopropila.

[0058] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (I), R_4 representa hidrogênio.

[0059] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), um ou mais dos seguintes, em particular todos os seguintes, se aplicam:

[0060] n representa um número inteiro igual a 1 ou 2, em particular 1;

[0061] R_1 representa hidrogênio ou alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-6} , mais em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila;

[0062] R_{2a} representa flúor ou cloro, em particular flúor;

[0063] R_{2b} representa metóxi ou hidroxila, em particular metóxi;

[0064] R_{2c} representa metóxi ou hidroxila, em particular metóxi;

[0065] R_{2d} representa hidrogênio, flúor ou cloro, em particular flúor;

[0066] R_3 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila ou isopropila, em particular isopropila;

[0067] R_4 representa hidrogênio.

[0068] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), n representa um número inteiro igual a 2.

[0069] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), n representa um número inteiro igual a 1.

[0070] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_1 representa hidrogênio.

[0071] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_1 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila.

[0072] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2a}

representa flúor ou cloro, em particular flúor.

[0073] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2b} representa metóxi.

[0074] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2b} representa hidróxi.

[0075] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2c} representa metóxi.

[0076] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2c} representa hidróxi.

[0077] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2b} representa metóxi e R_{2c} representa hidroxila.

[0078] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2b} representa hidroxila e R_{2c} representa metóxi.

[0079] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2b} e R_{2c} representam ambos metóxi.

[0080] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2b} e R_{2c} representam ambos hidroxila.

[0081] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2d} representa hidrogênio.

[0082] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_{2d} representa flúor ou cloro, em particular flúor.

[0083] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_3 representa hidrogênio.

[0084] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_3 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila ou isopropila, em particular isopropila.

[0085] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ia), R_4 representa hidrogênio.

[0086] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), um ou mais dos seguintes, em particular todos os seguintes, se aplicam:

- [0087] n representa um número inteiro igual a 1;
- [0088] R_1 representa hidrogênio ou alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-6} , mais em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila;
- [0089] R_{2a} representa flúor ou cloro, em particular flúor;
- [0090] R_{2b} representa metóxi ou hidroxila, em particular metóxi;
- [0091] R_{2c} representa metóxi ou hidroxila, em particular metóxi;
- [0092] R_{2d} representa hidrogênio, flúor ou cloro, em particular hidrogênio ou flúor, mais em particular flúor;
- [0093] R_3 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila ou isopropila, em particular isopropila;
- [0094] R_4 representa hidrogênio.
- [0095] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), n representa um número inteiro igual a 2.
- [0096] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), n representa um número inteiro igual a 1.
- [0097] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_1 representa hidrogênio.
- [0098] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_1 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila.
- [0099] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2a} representa flúor ou cloro, em particular flúor.
- [00100] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2b} representa metóxi.
- [00101] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2b} representa hidróxi.
- [00102] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2c} representa metóxi.
- [00103] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2c}

representa hidróxi.

[00104] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2b} representa metóxi e R_{2c} representa hidroxila.

[00105] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2b} representa hidroxila e R_{2c} representa metóxi.

[00106] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2b} e R_{2c} representam ambos metóxi.

[00107] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2b} e R_{2c} representam ambos hidroxila.

[00108] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2d} representa hidrogênio.

[00109] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_{2d} representa flúor ou cloro, em particular flúor.

[00110] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_3 representa hidrogênio.

[00111] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_3 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila ou isopropila, em particular isopropila.

[00112] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ib), R_4 representa hidrogênio.

[00113] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), um ou mais dos seguintes, em particular todos os seguintes, se aplicam:

[00114] n representa um número inteiro igual a 1;

[00115] R_1 representa hidrogênio ou alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-6} , mais em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila;

[00116] R_{2a} representa flúor ou cloro, em particular flúor;

[00117] R_{2b} representa metóxi ou hidroxila, em particular metóxi;

[00118] R_{2c} representa metóxi ou hidroxila, em particular metóxi;

[00119] R_{2d} representa hidrogênio, flúor ou cloro, em particular

hidrogênio ou flúor, mais em particular flúor;

[00120] R_3 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila ou isopropila, em particular isopropila;

[00121] R_4 representa hidrogênio.

[00122] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), n representa um número inteiro igual a 2.

[00123] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), n representa um número inteiro igual a 1.

[00124] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_1 representa hidrogênio.

[00125] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_1 representa alquila C_{1-6} , em particular alquila C_{1-4} , ainda mais em particular metila.

[00126] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2a} representa flúor ou cloro, em particular flúor.

[00127] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2b} representa metóxi.

[00128] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2b} representa hidróxi.

[00129] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2c} representa metóxi.

[00130] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2c} representa hidróxi.

[00131] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2b} representa metóxi e R_{2c} representa hidroxila.

[00132] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2b} representa hidroxila e R_{2c} representa metóxi.

[00133] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2b} e R_{2c} representam ambos metóxi.

[00134] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2b}

e R_{2c} representam ambos hidroxila.

[00135] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2d} representa hidrogênio.

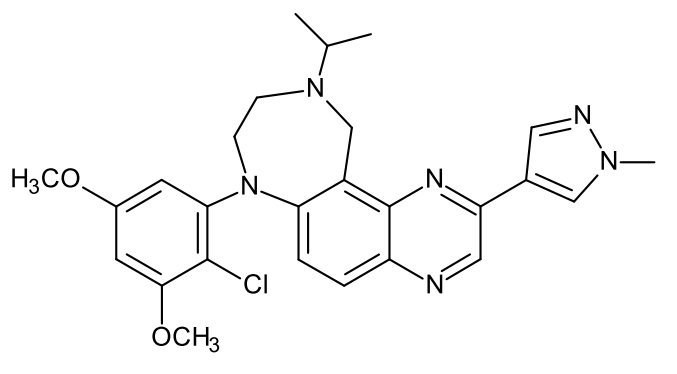
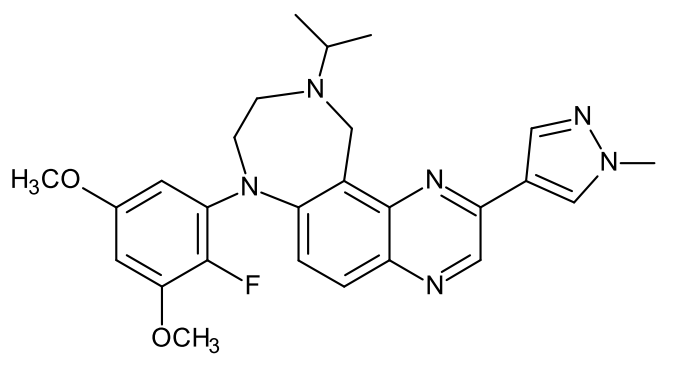
[00136] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R_{2d} representa flúor ou cloro, em particular flúor.

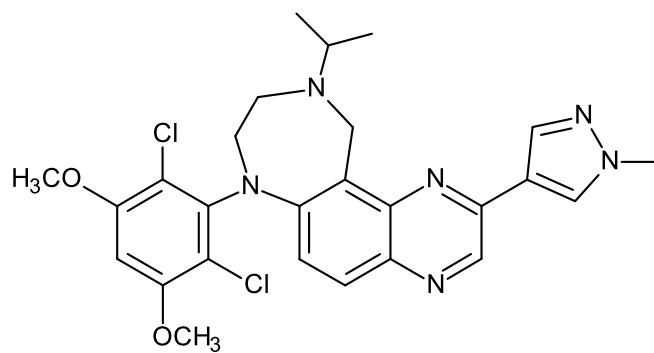
[00137] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R₃ representa hidrogênio.

[00138] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R₃ representa alquila C₁₋₆, em particular alquila C₁₋₄, ainda mais em particular metila ou isopropila, em particular isopropila.

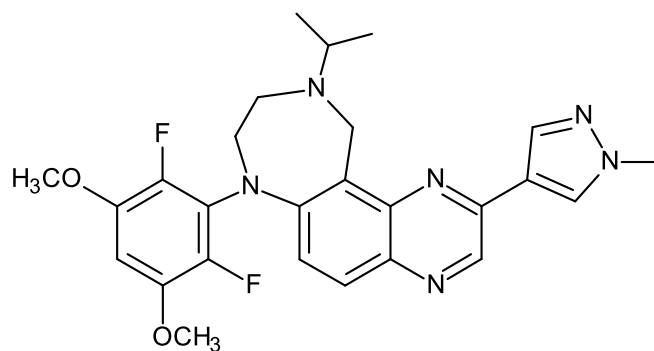
[00139] Em uma modalidade, em um composto da fórmula (Ic), R₄ representa hidrogênio.

[00140] Em uma modalidade, o composto da fórmula (I) como definido no presente documento é selecionado dos seguintes compostos ou é um dos seguintes compostos:

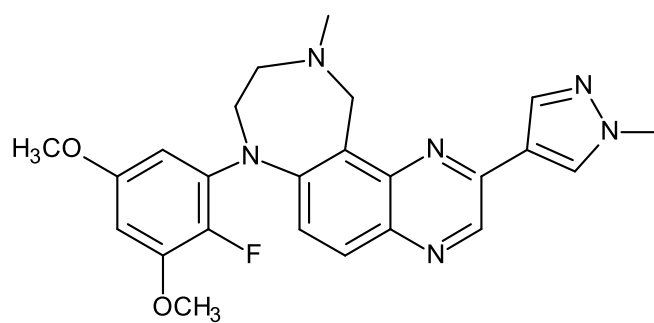




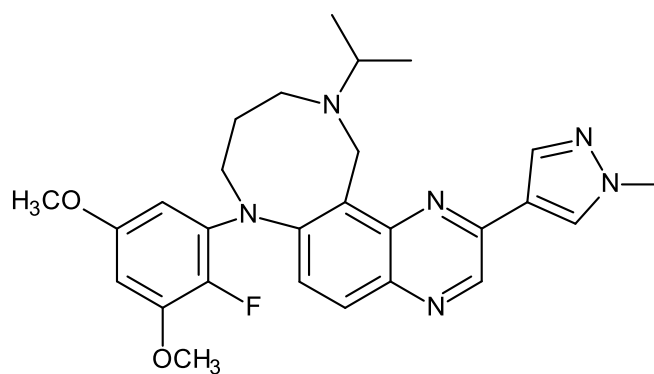
;



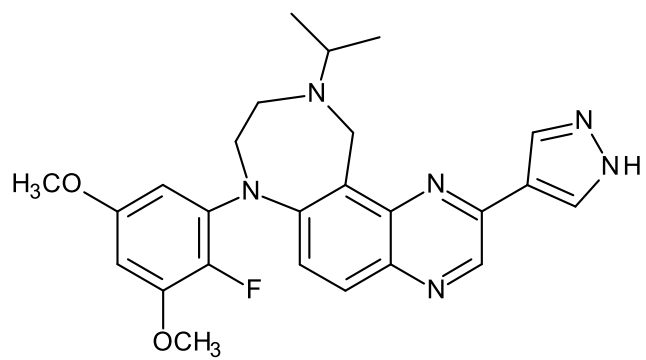
;



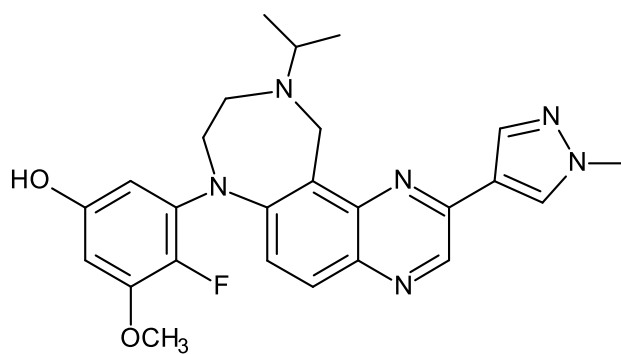
;



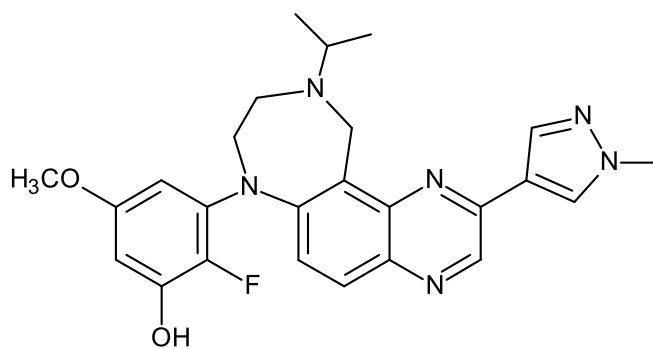
;



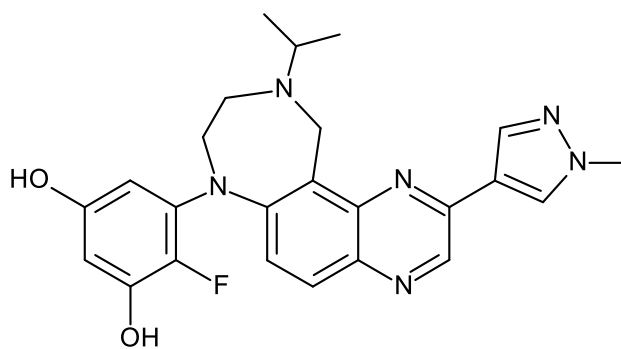
;



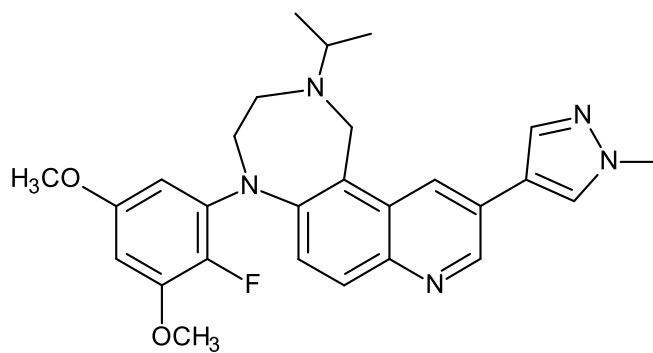
;



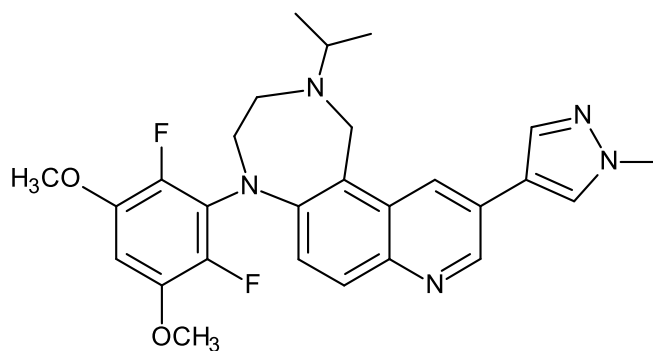
;



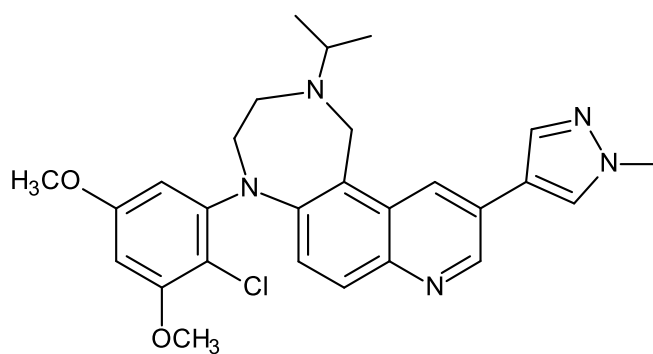
;



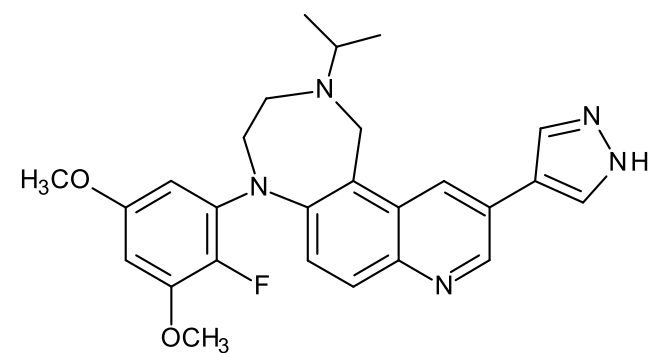
;



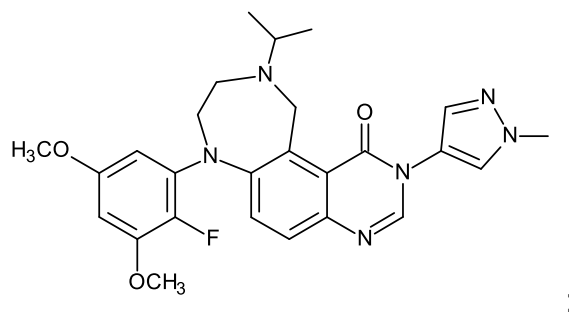
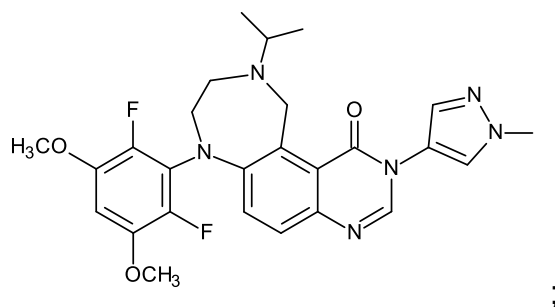
;



;

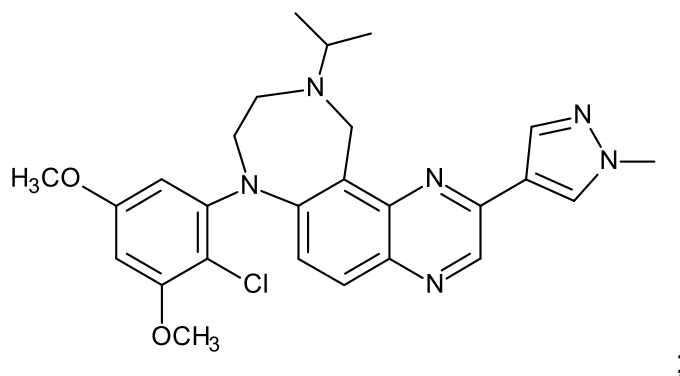
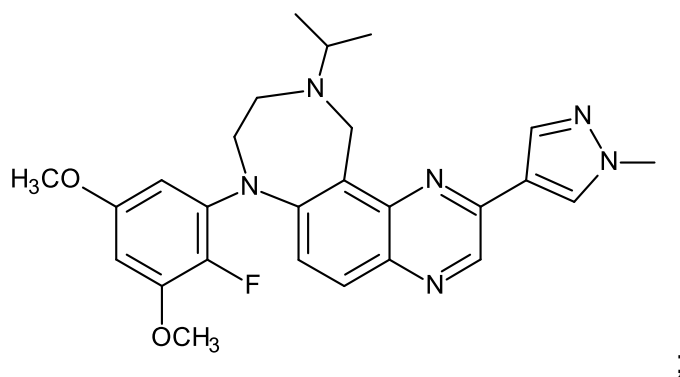


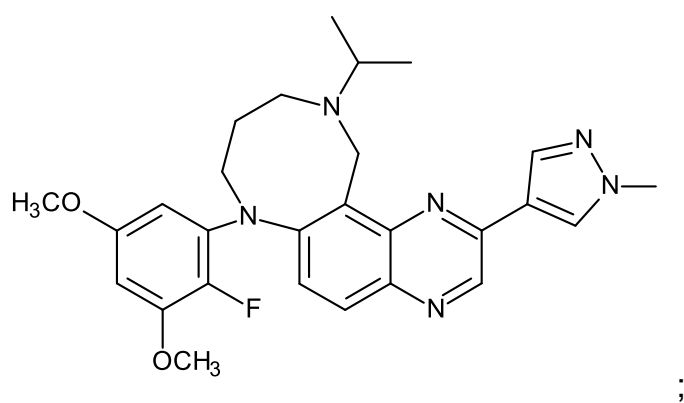
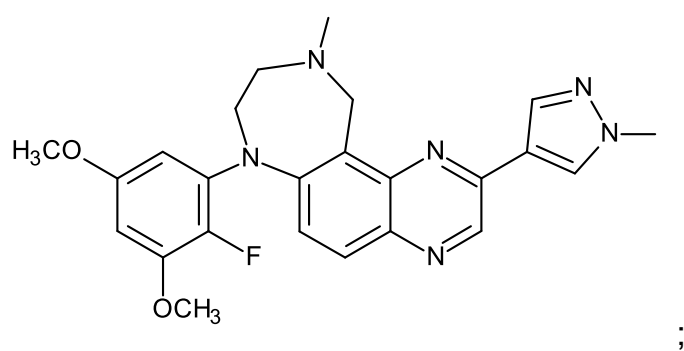
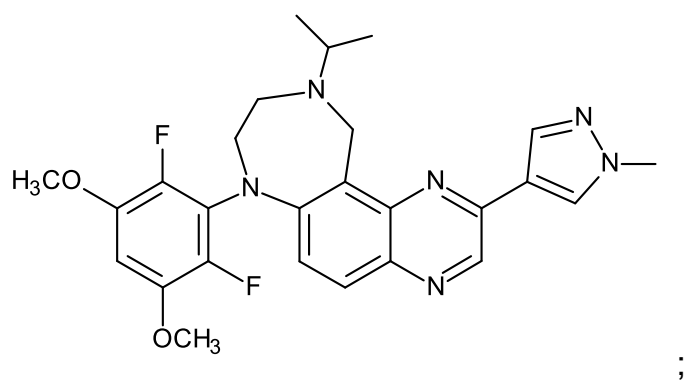
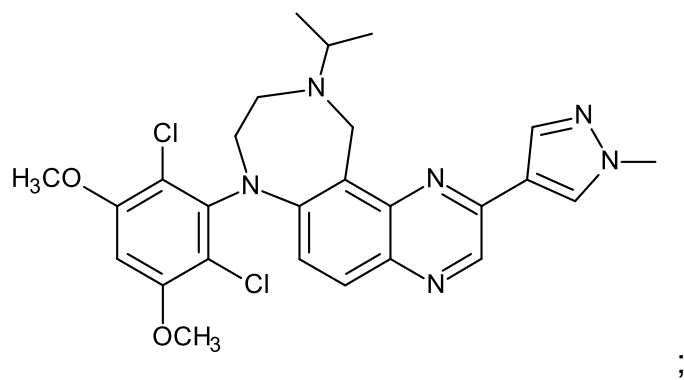
;

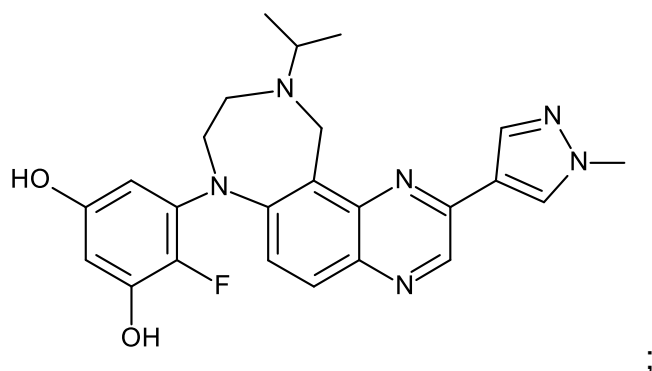
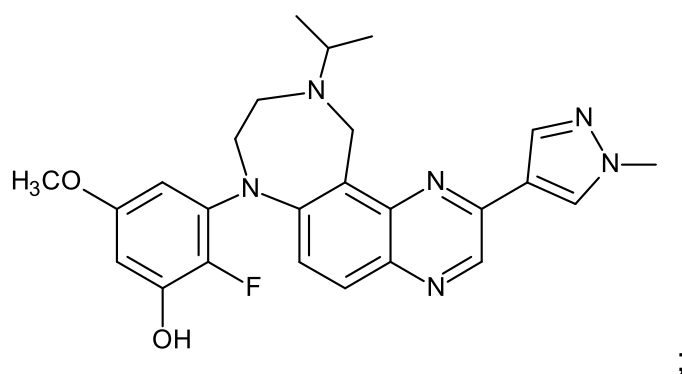
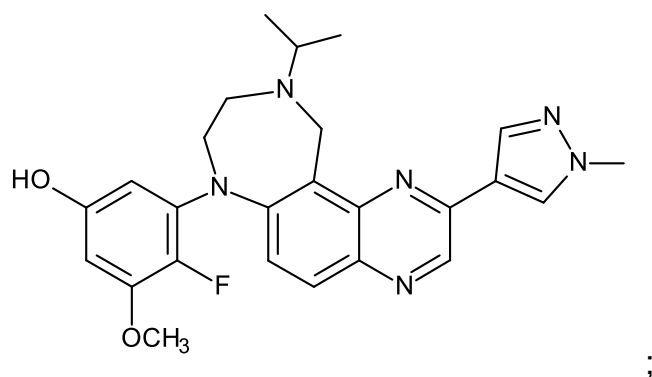
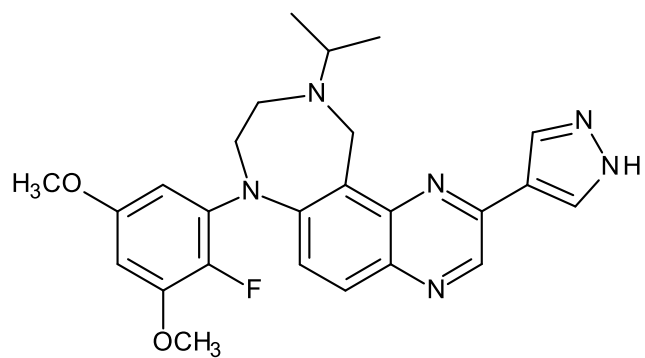


um seu sal farmacêuticamente aceitável ou solvato.

[00141] Em uma modalidade, o composto da fórmula (I) como definido no presente documento é selecionado dos seguintes compostos ou é um dos seguintes compostos:



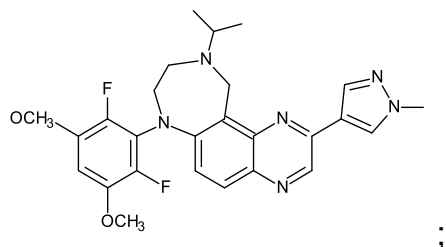
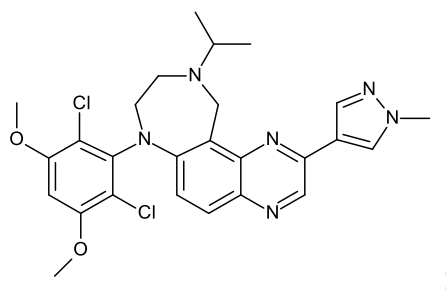
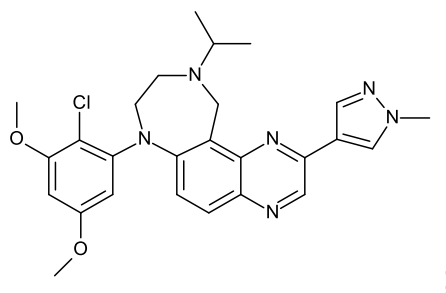
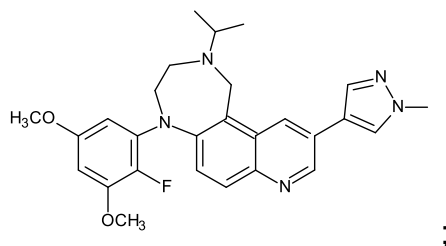
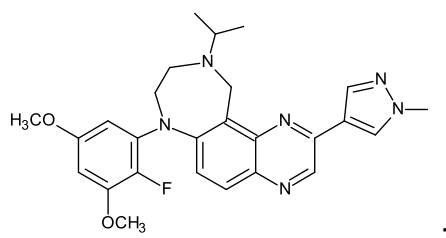


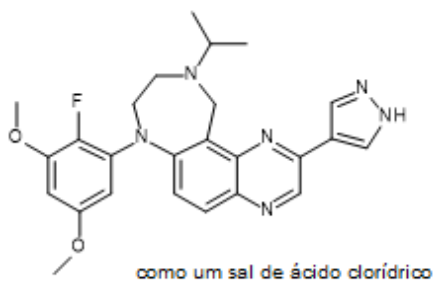


um seu sal farmacologicamente aceitável ou solvato.

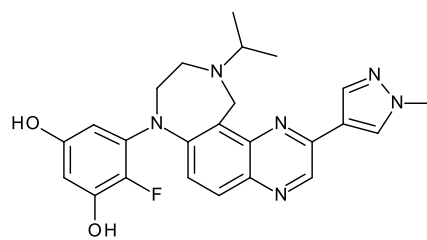
[00142] Em uma modalidade, o composto da fórmula (I) como definido no presente documento é selecionado dos seguintes

compostos ou é um dos seguintes compostos:

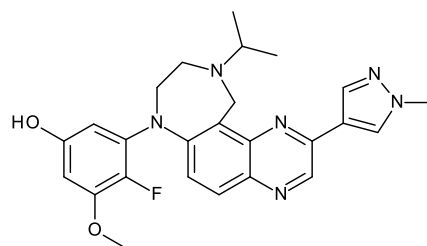




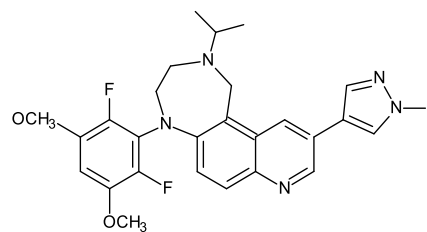
;



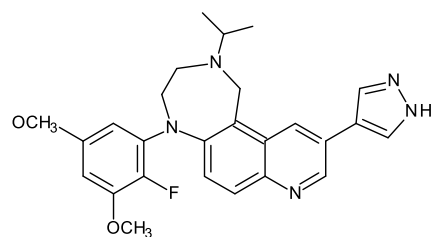
;



;



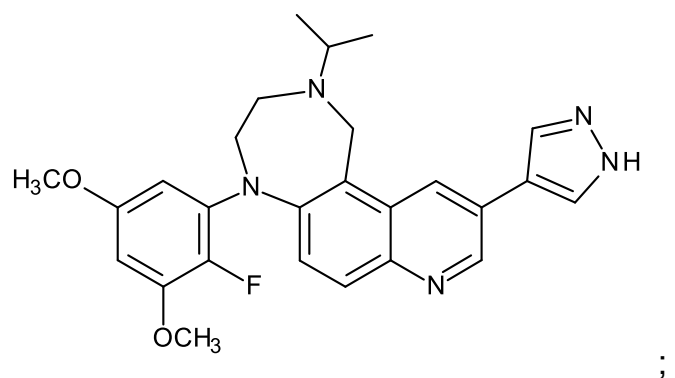
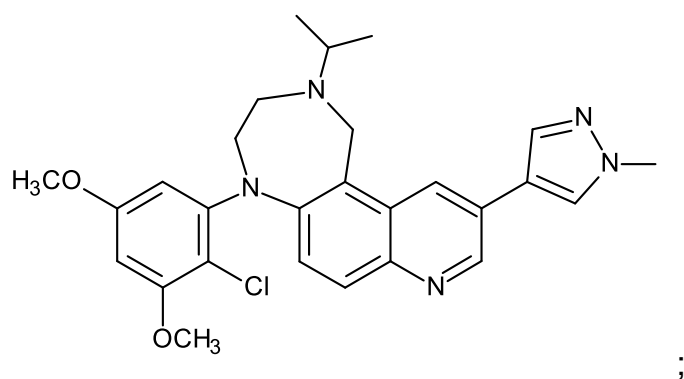
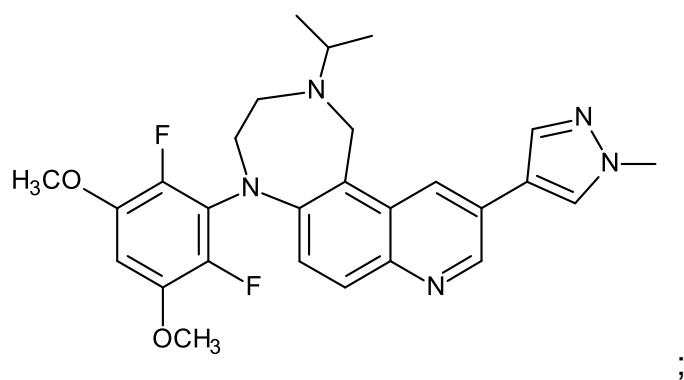
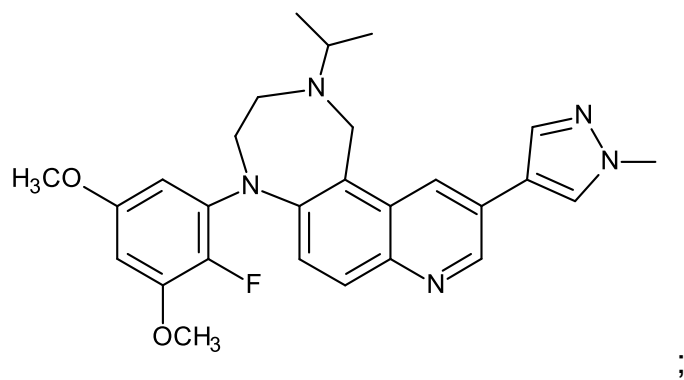
;



;

um seu sal farmacêuticamente aceitável ou solvato.

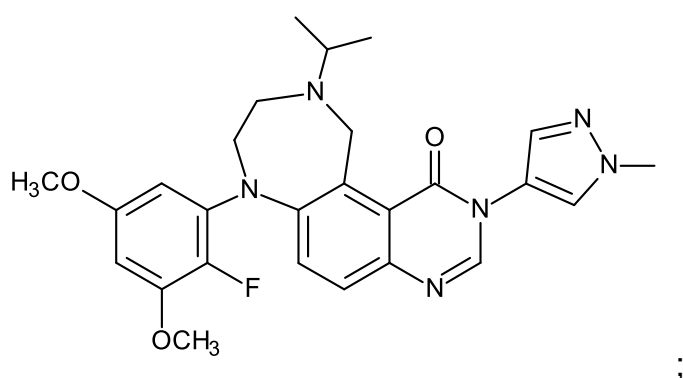
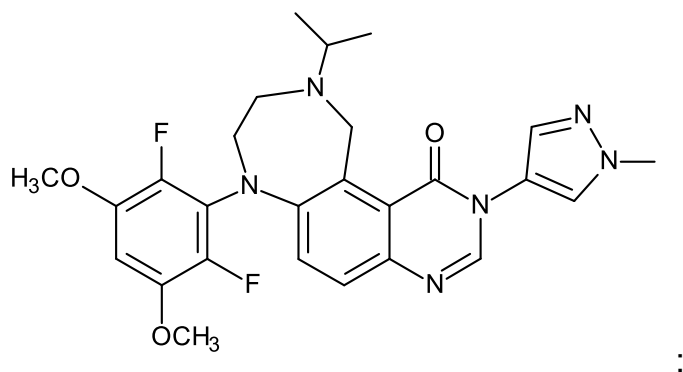
[00143] Em uma modalidade, o composto da fórmula (I) como definido no presente documento é selecionado dos seguintes compostos ou é um dos seguintes compostos:



um seu sal farmacologicamente aceitável ou solvato.

[00144] Em uma modalidade, o composto da fórmula (I) como definido no presente documento é selecionado dos seguintes

compostos ou é um dos seguintes compostos:



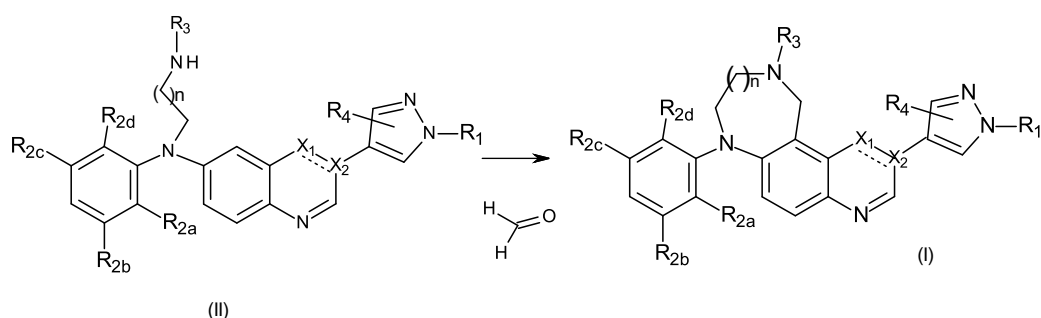
um seu sal farmaceuticamente aceitável ou solvato.

[00145] Para evitar dúvidas é para ser entendido que cada preferência, modalidade e exemplo geral e específico para um substituinte pode ser combinado com cada preferência, modalidade e exemplo geral e específico para um ou mais, preferencialmente, todos os outros substituintes como definidos no presente documento e que todas essas modalidades estão abrangidas pelo presente pedido.

Métodos para a Preparação de Compostos de Fórmula (I)

[00146] Na presente seção, como em todas as outras seções do presente pedido a não ser que o contexto indique de outro modo, as referências à fórmula (I) incluem também todos os outros subgrupos e seus exemplos como definidos no presente documento.

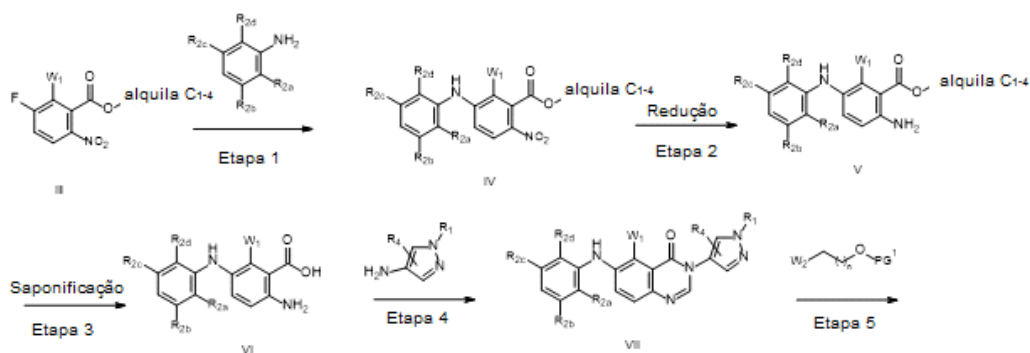
[00147] Em geral, os compostos da fórmula (I) podem ser preparados de acordo com o seguinte esquema de reação 1.

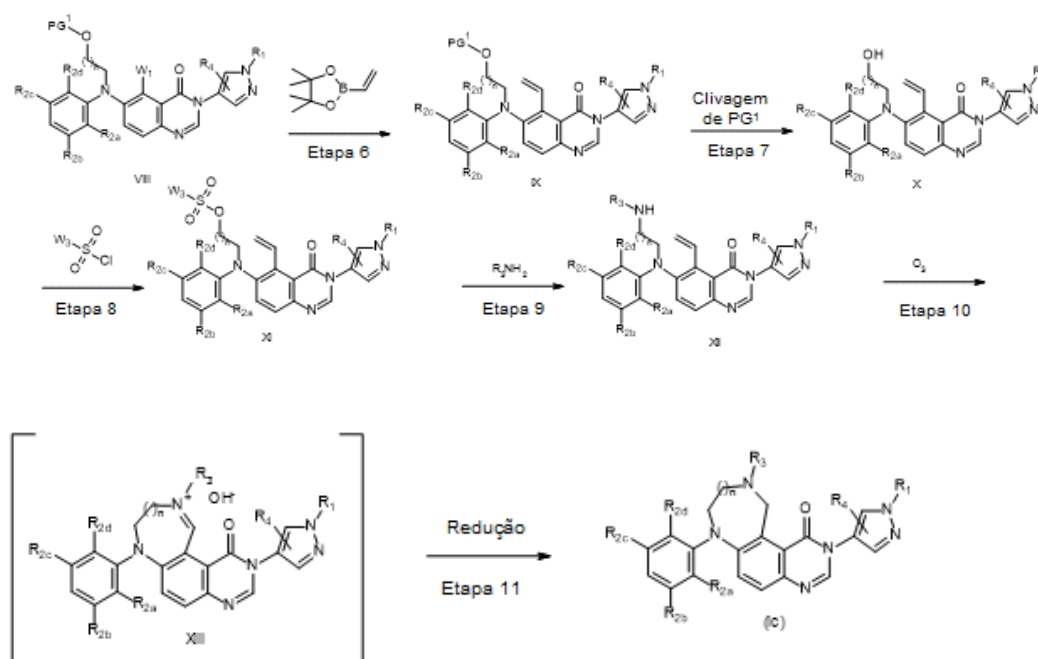
Esquema 1

[00148] No Esquema 1, as seguintes condições de reação se aplicam:

1: reação de um intermediário da fórmula (II) com formaldeído na presença de um solvente adequado, tal como por exemplo dioxano, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, a uma temperatura variando da temperatura ambiente até ao refluxo.

[00149] Em geral, os compostos da fórmula (Ic) podem ser preparados de acordo com o seguinte Esquema 2. No Esquema 2, W_1 representa um grupo lábil adequado, tal como por exemplo Cl ou Br; W_2 representa um grupo lábil adequado, tal como por exemplo Cl, Br ou I; PG^1 representa um grupo protetor adequado, tal como por exemplo *tert*-(butoxicarbonila); e PG^2 representa um grupo protetor adequado, tal como por exemplo *tert*-butil-dimetilsilila; e W_3 representa alquila C_{1-4} ou toila.

Esquema 2



[00150] No Esquema 2, as seguintes condições de reação se aplicam:

1: na presença de uma base adequada, tal como por exemplo carbonato de cézio, e um solvente adequado, tal como por exemplo acetonitrila ou metiltetra-hidrofurano, a uma temperatura adequada, tal como por exemplo na gama desde a temperatura ambiente até ao refluxo;

2: na presença de um agente redutor adequado, tal como por exemplo cloreto de estanho, em um solvente adequado, tal como por exemplo um álcool, por exemplo, etanol;

[00151] Alternativamente, na presença de ferro, na presença de um ácido adequado, tal como por exemplo cloreto de amônio, e um solvente adequado, tal como por exemplo uma mistura de metiltetra-hidrofurano/metanol e água;

3: na presença de uma base adequada, tal como por exemplo hidróxido de lítio, e um solvente adequado, tal como por exemplo uma mistura de metiltetra-hidrofurano e água, a uma temperatura adequada, tal como por exemplo na gama desde a

temperatura ambiente até a 60 °C;

4: na presença de um reagente redutor, tal como por exemplo trietilortoformiato, um ácido adequado, tal como por exemplo ácido acético, e um solvente adequado tal como por exemplo tolueno, a uma temperatura adequada, tal como por exemplo refluxo;

5: na presença de um agente desprotonante adequado, tal como por exemplo hidreto de sódio, e um solvente adequado, tal como por exemplo dimetilformamida;

6: na presença de um catalisador adequado, tal como por exemplo tris(dibenzilidenoacetona)dipaládio (0), uma base adequada, tal como por exemplo carbonato de sódio, e em um solvente adequado, tal como por exemplo uma mistura de dioxano e água;

7: na presença de um agente desprotetor adequado, tal como por exemplo um agente alquilante, por exemplo, fluoreto de tetrabutilamônio, em um solvente adequado tal como por exemplo metiltetra-hidrofurano;

8: na presença de uma base adequada, tal como por exemplo trimetilamina ou diisopropiletilamina, e um solvente adequado, tal como por exemplo diclorometano;

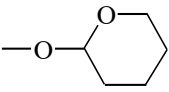
9: na ausência de um solvente adequado, tal como por exemplo acetonitrila, a uma temperatura adequada, tal como por exemplo refluxo, opcionalmente em condições seladas;

10: em um solvente adequado, tal como por exemplo diclorometano, na presença de um agente redutor adequado, tal como por exemplo dimetilenxofre, a uma temperatura adequada, tal como por exemplo - 78 °C;

11: na presença de um agente redutor adequado, tal como por exemplo triacetoxiboroidreto, e um solvente adequado, tal como por exemplo um álcool, por exemplo, metanol.

[00152] É considerado como estando dentro do conhecimento do

versado na técnica reconhecer em que condição e em que parte da molécula um grupo protetor pode ser apropriado. Por exemplo, grupo protetor no substituinte de R_1 ou na fração de pirrazol; ou grupo protetor no substituinte de R_3 ou no substituinte de $R_{2a,b,c}$ ou suas combinações. O versado é também considerado como sendo capaz de reconhecer o grupo protetor mais praticável, tal como por exemplo -

$C(=O)-O$ -alquila C_{1-4} ou  ou $O-Si(CH_3)_2(C(CH_3)_3)$ ou $-CH_2-O-CH_2CH_2-O-CH_3$.

[00153] A presente invenção compreende também compostos deuterados. Estes compostos deuterados podem ser preparados por uso dos intermediários deuterados apropriados durante o processo de síntese.

[00154] Os compostos da fórmula (I) podem ser também convertidos uns nos outros através de reações ou transformações de grupos funcionais conhecidas na técnica.

[00155] Os compostos da fórmula (I) em que R_1 representa hidrogênio podem ser convertidos em um composto da fórmula (I) em que R_1 representa alquila C_{1-6} ou hidroxialquila C_{1-6} , por reação com alquila $C_{1-6}-W$ ou hidroxialquila $C_{1-6}-W$, em que W representa um grupo lábil adequado, tal como por exemplo halo, por exemplo, bromo e similares, na presença de uma base adequada, tal como por exemplo hidreto de sódio ou carbonato de potássio, e um solvente adequado, tal como por exemplo acetonitrila ou N,N-dimetilformamida.

[00156] Os compostos da fórmula (I) em que R_1 representa hidrogênio podem ser também convertidos em um composto da fórmula (I) em que R_1 representa alquila $C_{1-6}-OH$, por reação com W -alquila $C_{1-6}-O-Si(CH_3)_2(C(CH_3)_3)$ na presença de uma base adequada, tal como por exemplo hidreto de sódio, e um solvente adequado, tal como por exemplo N,N-dimetilformamida, seguido por uma reação de

desproteção do grupo protetor silila por métodos conhecidos na técnica.

[00157] Os compostos da fórmula (I) em que R_1 representa hidrogênio podem ser também convertidos em um composto da fórmula (I) em que R_1 representa etila substituída por $-S(=O)_2$ -alquila C_{1-4} , por reação com alquila C_{1-4} -vinilsulfona, na presença de uma base adequada, tal como por exemplo trietilamina, e um solvente adequado, tal como por exemplo um álcool, por exemplo, metanol ou por reação com alquila C_{1-4} -2-bromoetilsulfona na presença de um agente desprotonante adequado, tal como por exemplo NaH, e um solvente adequado, tal como por exemplo dimetilformamida.

[00158] Os compostos da fórmula (I) em que R_{2b} ou R_{2c} representa $-OCH_3$ podem ser convertidos em um composto da fórmula (I) em que R_{2b} ou R_{2c} representa $-OH$ por reação com tribrometo de boro na presença de um solvente adequado, tal como por exemplo diclorometano.

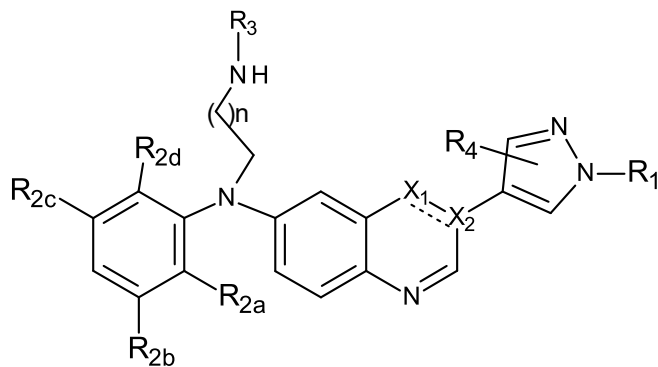
[00159] Os compostos da fórmula (I) em que R_{2b} ou R_{2c} representa $-OH$ podem ser convertidos em um composto da fórmula (I) em que R_{2b} ou R_{2c} representa $-OCH_3$ por reação com iodeto de metila na presença de uma base adequada, tal como por exemplo carbonato de potássio, e um solvente adequado, tal como por exemplo *N,N*-dimetilformamida.

[00160] Os intermediários da fórmula (II) podem ser preparados como descrito em WO2011/135376, WO2013/061074 e WO2014/174307.

[00161] Um aspecto adicional da invenção é um processo para a preparação de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento, processo esse que compreende:

(i) reação de um composto da fórmula (II) com formaldeído na presença de um solvente adequado, tal como por exemplo dioxano, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, a uma temperatura

adequada, tal como uma temperatura variando desde a temperatura ambiente até ao refluxo;



(II)

em que a linha pontilhada, X_1 , X_2 , R_1 , R_{2a} , R_{2b} , R_{2c} , R_{2d} , R_3 , R_4 e n são como definidos no presente documento; e opcionalmente subsequentemente conversão de um composto da fórmula (I) em outro composto da fórmula (I).

Seus Sais Farmaceuticamente Aceitáveis, Solvatos ou Derivados

[00162] Na presente seção, tal como em todas as outras seções do presente pedido, a não ser que o contexto indique de outro modo, as referências à fórmula (I) incluem referências a todos os outros subgrupos, preferências, modalidades e exemplos como definidos no presente documento.

[00163] A não ser que de outro modo especificado, uma referência a um composto particular inclui também as suas formas iônicas, sais, solvatos, isômeros, tautômeros, ésteres, profármacos, isótopos e formas protegidas, por exemplo, tal como discutido abaixo; preferencialmente, as suas formas iônicas, ou sais ou tautômeros ou isômeros ou solvatos; e, mais preferencialmente, as suas formas iônicas, ou sais ou tautômeros ou solvatos ou formas protegidas, ainda mais preferencialmente, os seus sais ou tautômeros ou solvatos. Muitos compostos da fórmula (I) podem existir na forma de sais, por exemplo, sais de adição de ácido ou, em certos casos, sais de bases orgânicas e inorgânicas tais como sais de carboxilato, sulfonato e

fosfato. Todos tais sais estão dentro do escopo da presente invenção, e referências a compostos da fórmula (I) incluem as formas de sal dos compostos. Será apreciado que referências a "derivados" incluem referências às suas formas iônicas, sais, solvatos, isômeros, tautômeros, ésteres, profármacos, isótopos e formas protegidas.

[00164] De acordo com um aspecto da invenção é proporcionado um composto como definido no presente documento ou um seu sal, tautômero ou solvato. De acordo com um aspecto adicional da invenção é proporcionado um composto como definido no presente documento ou um seu sal ou solvato. As referências a compostos da fórmula (I) e seus subgrupos como definidos no presente documento incluem dentro do seu escopo os sais ou solvatos ou tautômeros dos compostos.

[00165] As formas de sal dos compostos da invenção são tipicamente sais farmaceuticamente aceitáveis, e exemplos de sais farmaceuticamente aceitáveis são discutidos em Berge *et al.* (1977) "Pharmaceutically Acceptable Salts," *J. Pharm. Sci.*, Vol. 66, pg. 1-19. No entanto, os sais que não são farmaceuticamente aceitáveis podem ser também preparados como formas intermediárias que podem ser depois convertidas em sais farmaceuticamente aceitáveis. Tais formas de sais não farmaceuticamente aceitáveis, que podem ser úteis, por exemplo, na purificação ou separação dos compostos da invenção, formam também parte da invenção.

[00166] Os sais da presente invenção podem ser sintetizados a partir do composto progenitor que contém uma fração básica ou ácida por métodos químicos convencionais tais como métodos descritos em *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Capa dura, 388 páginas, agosto 2002. Geralmente, tais sais podem ser preparados por reação das formas ácidas ou básicas livres desses

compostos com a base ou ácido apropriado em água ou em um solvente orgânico, ou em uma mistura dos dois; geralmente, são usados meios não aquosos tais como éter, acetato de etila, etanol, isopropanol ou acetonitrila. Os compostos da invenção podem existir como mono- ou di-sais dependendo do pKa do ácido a partir do qual o sal é formado.

[00167] Sais de adição de ácido podem ser formados com uma ampla variedade de ácidos, tanto inorgânicos como orgânicos. Exemplos de sais de adição de ácido incluem sais formados com um ácido selecionado do grupo consistindo em ácidos acético, 2,2-dicloroacético, adípico, algínico, ascórbico (por exemplo, L-ascórbico), L-aspártico, benzenossulfônico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+)-canfórico, canforsulfônico, (+)-(1S)-canfor-10-sulfônico, cáprico, caproico, caprílico, cinâmico, cítrico, ciclâmico, dodecilsulfúrico, etano-1,2-dissulfônico, etanossulfônico, 2-hidroxietanossulfônico, fórmico, fumárico, galactárico, gentísico, glucoheptônico, D-glucônico, glucurônico (por exemplo, D-glucurônico), glutâmico (por exemplo, L-glutâmico), α -oxoglutárico, glicólico, hipúrico, bromídrico, clorídrico, iodídrico, isetiônico, láctico (por exemplo, (+)-L-láctico, (\pm)-DL-láctico), lactobiônico, maleico, málico, (-)-L-málico, malônico, (\pm)-DL-mandélico, metanossulfônico, naftalenossulfônico (por exemplo, naftaleno-2-sulfônico), naftaleno-1,5-dissulfônico, 1-hidróxi-2-naftoico, nicotínico, nítrico, oleico, orótico, oxálico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiônico, L-piroglutâmico, pirúvico, salicílico, 4-amino-salicílico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tânico, (+)-L-tartárico, tiociânico, toluenossulfônico (por exemplo, *p*-toluenossulfônico), undecilênico e valérico, bem como aminoácidos acilados e resinas de permutas catiônicas.

[00168] Um grupo particular de sais consiste em sais formados a partir de ácidos acético, clorídrico, iodídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico,

cítrico, láctico, succínico, maleico, málico, isetiônico, fumárico, benzenossulfônico, toluenossulfônico, metanossulfônico (mesilato), etanossulfônico, naftalenossulfônico, valérico, acético, propanoico, butanoico, malônico, glucurônico e lactobiônico. Outro grupo de sais de adição de ácido inclui sais formados a partir de ácidos acético, adípico, ascórbico, aspártico, cítrico, DL-Láctico, fumárico, glucônico, glucurônico, hipúrico, clorídrico, glutâmico, DL-málico, metanossulfônico, sebácico, esteárico, succínico e tartárico.

[00169] Se o composto for aniônico, ou tiver um grupo funcional que possa ser aniônico, então, um sal pode ser formado com um cátion adequado. Exemplos de cátions inorgânicos adequados incluem, mas não estão limitados a, íons de metais alcalinos tais como Na^+ e K^+ , cátions de metais alcalinoterrosos tais como Ca^{2+} e Mg^{2+} e outros cátions tais como Al^{3+} . Exemplos de cátions orgânicos adequados incluem, mas não estão limitados a, íon amônio (isto é, NH_4^+) e íons de amônio substituídos (por exemplo, NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+).

[00170] Exemplos de alguns íons amônio substituídos adequados são aqueles derivados de: etilamina, dietilamina, diciclo-hexilamina, trietilamina, butilamina, etilenodiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, benzilamina, fenilbenzilamina, colina, meglumina, e trometamina, bem como aminoácidos, tais como lisina e arginina. Um exemplo de um íon de amônio quaternário comum é $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

[00171] Onde os compostos da fórmula (I) contêm uma função de amina, esses podem formar sais de amônio quaternário, por exemplo, por reação com um agente alquilante de acordo com métodos bem conhecidos do versado. Tais compostos de amônio quaternário estão dentro do escopo da fórmula (I). Os compostos da fórmula (I) contendo uma função amina podem também formar N-óxidos. Uma referência no presente documento a um composto da fórmula (I) que contém uma função amina inclui também o N-óxido. Onde um composto contém

várias funções amina, um ou mais do que um átomo de nitrogênio podem ser oxidados para formar um N-óxido. Exemplos particulares de N-óxidos são os N-óxidos de uma amina terciária ou um átomo de nitrogênio de um heterociclo contendo nitrogênio. Os N-óxidos podem ser formados por tratamento da amina correspondente com um agente oxidante tal como peróxido de hidrogênio ou um perácido (por exemplo, um ácido peroxicarboxílico), ver por exemplo *Advanced Organic Chemistry*, por Jerry March, 4ª Edição, Wiley Interscience, páginas. Mais particularmente, os N-óxidos podem ser preparados pelo procedimento de L. W. Deady (*Syn. Comm.* (1977), **7**, 509-514) no qual o composto de amina é reagido com ácido *m*-cloroperoxibenzoico (MCPBA), por exemplo, em um solvente inerte tal como diclorometano.

[00172] Os compostos da invenção podem formar solvatos, por exemplo, com água (i.e., hidratos) ou solventes orgânicos comuns. Como usado no presente documento, o termo "solvato" significa uma associação física dos compostos da presente invenção com uma ou mais moléculas de solvente. Essa associação física envolve graus variáveis de ligação iônica e covalente, incluindo ligação de hidrogênio. Em certos casos, o solvato será capaz de isolamento, por exemplo, quando uma ou mais moléculas de solvente são incorporadas nos latices de cristais do sólido cristalino. O termo "solvato" se destina a englobar solvatos tanto em fase de solução como isoláveis. Exemplos não limitantes de solvatos adequados incluem compostos da invenção em combinação com água, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etila, ácido acético ou etanolamina e similares. Os compostos da invenção podem exercer seus efeitos biológicos enquanto estão em solução.

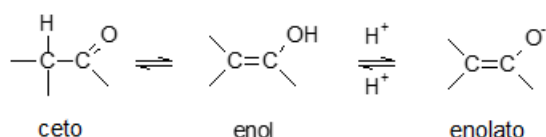
[00173] Os solvatos são bem conhecidos na química farmacêutica. Esses podem ser importantes aos processos para a preparação de

uma substância (por exemplo, em relação à sua purificação, ao armazenamento da substância (por exemplo, sua estabilidade) e à facilidade de manuseamento da substância e são frequentemente formados como parte das etapas de isolamento ou purificação de uma síntese química. Um versado na técnica pode determinar por meio de técnicas padrão e há muito usadas se um hidrato ou outro solvato se formou pelas condições de isolamento ou condições de purificação usadas para preparar um dado composto. Exemplos de tais técnicas incluem análise termogravimétrica (TGA), calorimetria diferencial de varrimento (DSC), cristalografia de raios X (por exemplo, cristalografia de raios X de cristal único ou difração de raios X em pó) e RMN em Estado Sólido (SS-RMN, também conhecida como RMN com Rotação em torno do Ângulo Mágico ou MAS-RMN). Tais técnicas são tanto parte do estojo de ferramentas analítico padrão do químico versado como RMN, IR, HPLC e MS. Alternativamente, o versado pode deliberadamente formar um solvato usando condições de cristalização que incluem uma quantidade do solvente requerida para o solvato particular. Subsequentemente, os métodos padrão descritos acima podem ser usados para estabelecer se se haviam formado solvatos. Estão também englobados pela fórmula (I) quaisquer complexos (por exemplo, complexos de inclusão ou clatratos com compostos tais como ciclodextrinas, ou complexos com metais) dos compostos.

[00174] Além do mais, os compostos da presente invenção podem ter uma ou mais formas polimorfas (cristalinas) ou amorfas e como tal se destinam a estar incluídos no escopo da invenção.

[00175] Os compostos da fórmula (I) podem existir em um número de diferentes formas isoméricas geométricas e tautoméricas e referências a compostos da fórmula (I) incluem todas tais formas. Para evitar dúvidas, onde um composto pode existir em uma de várias formas isoméricas geométricas ou tautoméricas e somente uma é


especificamente descrita ou mostrada, todas as outras estão, não obstante, abrangidas pela fórmula (I). Outros exemplos de formas tautoméricas incluem, por exemplo, formas de ceto, enol e enolato, como, por exemplo, nos seguintes pares tautoméricos: ceto/enol (ilustrado abaixo), imina/enamina, amida/álcool de imina, amidina/enediaminas, nitroso/oxima, tiocetona/enetiol e nitro/aci-nitro.



[00176] Onde os compostos da fórmula (I) contêm um ou mais centros quirais, e podem existir na forma de dois ou mais isômeros ópticos, as referências a compostos da fórmula (I) incluem todas as suas formas isoméricas ópticas (por exemplo, enantiômeros, epímeros e diastereoisômeros), tanto como isômeros ópticos individuais, como misturas (por exemplo, misturas racêmicas) de dois ou mais isômeros ópticos, a não ser que o contexto requiera de outro modo. Os isômeros ópticos podem ser caracterizados e identificados pela sua atividade óptica (i.e., como isômeros + e - ou isômeros *d* e *l*) ou podem ser caracterizados em termos da sua estereoquímica absoluta usando a nomenclatura "R e S" desenvolvida por Cahn, Ingold e Prelog, ver *Advanced Organic Chemistry* por Jerry March, 4ª Edição, John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1992, páginas 109-114, e ver também Cahn, Ingold & Prelog (1966) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **5**, 385-415. Os isômeros ópticos podem ser separados por um número de técnicas incluindo cromatografia quiral (cromatografia em um suporte quiral) e tais técnicas são bem conhecidas do versado na técnica. Como uma alternativa à cromatografia quiral, os isômeros ópticos podem ser separados por formação de sais diastereoisoméricos com ácidos quirais tais como ácido (+)-tartárico, ácido (-)-piroglutâmico, ácido (-)-di-toluil-L-tartárico, ácido (+)-mandélico, ácido (-)-málico e (-)-canforsulfônico, separação dos diastereoisômeros por cristalização

diferencial e depois dissociação dos sais para dar o enantiômero individual da base livre.

[00177] Onde os compostos da fórmula (I) existem como duas ou mais formas isoméricas ópticas, um enantiômero em um par de enantiômeros pode exibir vantagens em relação ao outro enantiômero, por exemplo, em termos de atividade biológica. Assim, em certas circunstâncias, pode ser desejável usar como um agente terapêutico somente um de um par de enantiômeros, ou somente um de uma pluralidade de diastereoisômeros. Conformemente, a invenção proporciona composições contendo um composto da fórmula (I) tendo um ou mais centros quirais, em pelo menos 55% (por exemplo, pelo menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% ou 95%) do composto da fórmula (I) está presente como um isômero óptico único (por exemplo, enantiômero ou diastereoisômero). Em uma modalidade geral, 99% ou mais da (por exemplo, substancialmente toda a) quantidade total do composto da fórmula (I) pode estar presente como um isômero óptico único (por exemplo, enantiômero ou diastereoisômero). Quando uma forma isomérica específica é identificada (por exemplo, configuração S ou isômero E), isso significa que a referida forma isomérica está substancialmente isenta do(s) outro(s) isômero(s), i.e., a referida forma isomérica está presente em pelo menos 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou mais da (por exemplo, substancialmente toda a) quantidade total do composto da invenção.

[00178] Sempre que, anteriormente ou doravante, os compostos incluam a seguinte ligação , isso indica que o composto é um estereoisômero único com configuração desconhecida ou uma mistura de estereoisômeros.

[00179] Os compostos da invenção incluem compostos com uma ou mais substituições isotópicas, e uma referência a um elemento

particular inclui dentro do seu escopo todos os isótopos do elemento. Por exemplo, uma referência a hidrogênio inclui dentro do seu escopo ^1H , ^2H (D) e ^3H (T). Similarmente, as referências a carbono e oxigênio incluem dentro do seu escopo respectivamente ^{12}C , ^{13}C e ^{14}C e ^{16}O e ^{18}O . Os isótopos podem ser radioativos ou não radioativos. Em uma modalidade da invenção, os compostos não contêm nenhuns isótopos radioativos. Tais compostos são preferenciais para uso terapêutico. Em outra modalidade, no entanto, o composto pode conter um ou mais radioisótopos. Os compostos contendo tais radioisótopos podem ser úteis em um contexto de diagnóstico.

[00180] Ésteres tais como ésteres de ácido carboxílico e ésteres de acilóxi dos compostos da fórmula (I) transportando um grupo ácido carboxílico ou um grupo hidroxila estão também abrangidos pela fórmula (I). Em uma modalidade da invenção, a fórmula (I) inclui dentro do seu escopo ésteres de compostos da fórmula (I) transportando um grupo hidroxila. Em outra modalidade da invenção, a fórmula (I) não inclui dentro do seu escopo ésteres de compostos da fórmula (I) transportando um grupo hidroxila. Exemplos de grupos acilóxi (éster reverso) são representados por $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}$, em que R é um substituinte de acilóxi, por exemplo, um grupo alquila C_{1-7} , um grupo heterociclila C_{3-20} ou um grupo arila C_{5-20} , preferencialmente um grupo alquila C_{1-7} . Exemplos particulares de grupos acilóxi incluem, mas não estão limitados a, $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$ (acetóxi), $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{Ph}$ e $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{Ph}$.

[00181] Por exemplo, alguns profármacos são ésteres do composto ativo (por exemplo, um éster metabolicamente lábil fisiologicamente aceitável). Por "profármacos" se entende por exemplo qualquer composto que é convertido *in vivo* em um composto biologicamente ativo da fórmula (I). Durante o metabolismo, o grupo éster é clivado para originar o fármaco ativo. Tais ésteres podem ser formados por

esterificação, por exemplo, de qualquer um dos grupos hidroxila no composto progenitor, com, onde apropriado, proteção prévia de quaisquer outros grupos reativos presentes no composto progenitor, seguida por desproteção se requerido.

[00182] Exemplos de tais ésteres metabolicamente lábeis incluem aminoalquila C_{1-6} [por exemplo, aminoetila; 2-(N,N-dietilamino)etila; 2-(4-morfolino)etila]; e acilóxi-alquila C_{1-7} [por exemplo, aciloximetila; aciloxietila; pivaloioximetila; acetoximetila; 1-acetoxietila; 1-(1-metóxi-1-metil)etil-carboniloxietila; 1-(benzoilóxi)etila; isopropóxi-carboniloximetila; 1-isopropóxi-carboniloxietila; ciclo-hexil-carboniloximetila; 1-ciclo-hexil-carboniloxietila; ciclo-hexilóxi-carboniloximetila; 1-ciclo-hexilóxi-carboniloxietila; (4-tetra-hidropiraniolóxi) carboniloximetila; 1-(4-tetra-hidropiraniolóxi)carboniloxietila; (4-tetra-hidropiraniol)carboniloximetila; e 1-(4-tetra-hidropiraniol)carboniloxietila]. Igualmente, alguns profármacos são ativados enzimaticamente para originar o composto ativo, ou um composto que, após reação química adicional, origina o composto ativo (por exemplo, como na terapia com profármacos de enzima dirigidos a antigênicos (ADEPT), terapia com profármacos de enzima dirigidos a genes (GDEPT) e terapia com profármacos de enzima dirigidos a ligantes (LIDEPT), etc.). Por exemplo, o profármaco pode ser um derivado de açúcar ou outro conjugado de glicosídeo, ou pode ser um derivado de éster de aminoácido.

Proteínas Tirosina Cinases (PTK)

[00183] Os compostos da invenção descritos no presente documento inibem ou modulam a atividade de certas tirosina cinases, e, desse modo, os compostos serão úteis no tratamento ou profilaxia, em particular no tratamento, de estados ou condições de doença mediados por essas tirosina cinases, em particular FGFR.

FGFR

[00184] A família dos fatores de crescimento de fibroblastos (FGF)

de receptores de proteínas tirosina cinases (PTK) regula uma diversa gama de funções fisiológicas incluindo mitogênese, cura de feridas, diferenciação e angiogênese de células e desenvolvimento. Tanto o crescimento normal como o maligno de células, bem como a proliferação são afetados por mudanças na concentração local de FGFs, moléculas sinalizadoras extracelulares que atuam como fatores autócrinos bem como parácrinos. A sinalização de FGF autócrinos pode ser particularmente importante na progressão de cânceres dependentes de hormônios esteroides até um estado independente de hormônios. Os FGFs e seus receptores são expressos a níveis aumentados em vários tecidos e linhas de células e se acredita que a sobre-expressão contribui para o fenótipo maligno. Além do mais, um número de oncogenes é homólogo de genes codificando receptores de fatores de crescimento, e existe um potencial de ativação aberrante de sinalização dependente de FGF no câncer pancreático humano (Knights et al., *Pharmacology and Therapeutics* 2010 125: 1 (105-117); Korc M. et al. *Current Cancer Drug Targets* 2009 9: 5 (639-651)).

[00185] Os dois membros prototípicos são fator de crescimento de fibroblastos ácido (aFGF ou FGF1) e fator de crescimento de fibroblastos básico (bFGF ou FGF2), e, até à data, pelo menos vinte membros distintos da família de FGF foram identificados. A resposta celular aos FGFs é transmitida através de quatro tipos de receptores de fatores de crescimento de fibroblastos (FGFR) de proteína tirosina-cinase transmembranares de elevada afinidade numerados 1 a 4 (FGFR1 a FGFR4).

[00186] A disrupção da via de FGFR1 deve afetar a proliferação de células tumorais uma vez que essa cinase está ativada em muitos tipos de tumores adicionalmente à proliferação de células endoteliais. A sobre-expressão e ativação de FGFR1 na vasculatura associada a tumores tem sugerido um papel para essas moléculas na angiogênese tumoral.

[00187] Um estudo recente mostrou uma ligação entre a expressão de FGFR1 e a tumorigenicidade em Carcinomas Lobulares Clássicos (CLC). Os CLCs são responsáveis por 10-15% de todos os cânceres da mama e, em geral, não têm expressão de p53 e Her2 enquanto retêm a expressão do receptor de estrogênio. Uma amplificação do gene de 8p12-p11.2 foi demonstrada em ~50% de casos de CLC e foi mostrado que isso estava ligado a uma expressão aumentada de FGFR1. Estudos preliminares com siRNA dirigido contra FGFR1, ou um inibidor de molécula pequena do receptor, mostraram que as linhas de células transportando essa amplificação eram particularmente sensíveis à inibição dessa via de sinalização. O rabdomiossarcoma (RMS) é o sarcoma de tecidos moles pediátrico mais comum resultando provavelmente da proliferação e diferenciação anormais durante a miogênese esquelética. O FGFR1 é sobre-expresso em tumores de rabdomiossarcoma primários e está associado à hipometilação da ilha de CpG 5' e expressão anormal dos genes AKT1, NOG e BMP4. O FGFR1 tem sido também ligado a câncer de células escamosas do pulmão, câncer colorretal, glioblastoma, astrocitomas, câncer da próstata, câncer de células pequenas do pulmão, melanoma, câncer da cabeça e pescoço, câncer da tireoide, câncer do útero.

[00188] O receptor do fator de crescimento de fibroblastos 2 tem elevada afinidade pelos fatores de crescimento de fibroblastos ácidos e/ou básicos, bem como pelos ligantes dos fatores de crescimento de queranócitos. O receptor do fator de crescimento de fibroblastos 2 também propaga os potentes efeitos osteogênicos de FGFs durante o crescimento e diferenciação de osteoblastos. As mutações no receptor do fator de crescimento de fibroblastos 2, levando a alterações funcionais complexas, mostraram que induzem ossificação anormal de suturas cranianas (craniossinostose), implicando um papel importante

da sinalização de FGFR na formação de ligações intramembranas. Por exemplo, na síndrome de Apert (AP), caracterizada por ossificação prematura de suturas cranianas, a maioria dos casos está associada a mutações pontuais gerando ganho-de-função no receptor do fator de crescimento de fibroblastos 2. Adicionalmente, o rastreamento de mutações em pacientes com craniossinostoses sindrômicas indica que um número de mutações recorrentes de *FGFR2* é responsável por formas graves da síndrome de Pfeiffer. Mutações particulares de *FGFR2* incluem W290C, D321A, Y340C, C342R, C342S, C342W, N549H, K641R em *FGFR2*.

[00189] Várias anormalidades graves no desenvolvimento esquelético humano, incluindo síndromes de Apert, Crouzon, Jackson-Weiss, cútis girata de Beare-Stevenson e Pfeiffer estão associadas à ocorrência de mutações no receptor do fator de crescimento de fibroblastos 2. A maioria dos, senão todos os, casos de Síndrome de Pfeiffer (PS) é também causada por mutação de novo do gene do receptor do fator de crescimento de fibroblastos 2, e foi recentemente mostrado que mutações no receptor do fator de crescimento de fibroblastos 2 quebra uma das regras cardinais governando a especificidade de ligantes. Nomeadamente, duas formas de processamento mutantes do receptor do factor de crescimento de fibroblastos, *FGFR2c* e *FGFR2b*, adquiriram a capacidade de se ligarem e serem ativadas por ligantes FGF atípicos. Essa perda de especificidade de ligantes leva à sinalização aberrante e sugere que os fenótipos graves dessas síndromes de doença resultam da ativação dependente de ligantes ectópica do receptor do fator de crescimento de fibroblastos 2.

[00190] As aberrações genéticas do receptor de *FGFR3* tirosina cinase tais como translocações cromossomais ou mutações pontuais resultam em receptores de *FGFR3*, constitutivamente ativos,

ectopicamente expressos ou desregulados. Tais anormalidades estão associadas a um subconjunto de mielomas múltiplos e em carcinomas da bexiga, hepatocelular, de células escamosas orais e cervicais. Conformemente, inibidores de FGFR3 seriam úteis no tratamento de mieloma múltiplo, carcinomas da bexiga e cervicais. O FGFR3 também é sobre-expresso no câncer da bexiga, em particular no câncer invasivo da bexiga. O FGFR3 é frequentemente ativado por mutação no carcinoma urotelial (UC). Expressão aumentada foi associada a mutação (85% de tumores mutantes mostraram expressão de elevado nível) mas também 42% de tumores sem atividade detectável mostraram sobre-expressão, incluindo muitos tumores invasivos dos músculos. O FGFR3 também está ligado ao câncer do endométrio e da tireoide.

[00191] A sobre-expressão de FGFR4 foi ligada a prognóstico fraco em carcinomas tanto da próstata como da tireoide. Adicionalmente, um polimorfismo da linha germinativa (Gly388Arg) está associado com a incidência aumentada de cânceres do pulmão, mama, cólon, fígado (HCC) e próstata. Adicionalmente foi também descoberto que uma forma truncada de FGFR4 (incluindo o domínio de cinase) estava presente em 40% de tumores da pituitária mas não presente em tecido normal. A sobre-expressão de FGFR4 foi também observada em tumores do fígado, cólon e pulmão. O FGFR4 foi implicado no câncer colorretal e do fígado onde a expressão do seu ligante FGF19 é frequentemente elevada. O FGFR4 está também ligado a astrocitomas, rabdomiossarcoma.

[00192] As condições fibróticas são um problema médico importante resultando de deposição anormal ou excessiva de tecido fibroso. Isso ocorre em muitas doenças, incluindo cirrose do fígado, glomerulonefrite, fibrose pulmonar, fibrose sistêmica, artrite reumatoide, bem como no processo natural de cura de feridas. Os mecanismos

de fibrose patológica não são totalmente entendidos mas se pensa que resultam das ações de várias citocinas (incluindo fator de necrose tumoral (TNF), fatores de crescimento de fibroblastos (FGFs), fator derivado de plaquetas (PDGF) e fator beta de crescimento transformante). ($TGF\beta$) envolvido na proliferação de fibroblastos e na deposição de proteínas da matriz extracelular (incluindo colagênio e fibronectina). Isso resulta na alteração da estrutura e função de tecidos e subsequente patologia.

[00193] Um número de estudos pré-clínicos demonstrou a sobreexpressão de fatores de crescimento de fibroblastos em modelos pré-clínicos da fibrose cística. $TGF\beta 1$ e PDGF foram relatados como estando envolvidos no processo fibrogênico e trabalho publicado adicional sugere que a elevação de FGFs e consequente aumento na proliferação de fibroblastos pode ser em resposta a $TGF\beta 1$ elevado. O potencial benefício terapêutico de se visar o mecanismo fibrótico em condições tais como fibrose pulmonar idiopática (IPF) é sugerido pelo efeito clínico relatado do agente antifibrótico pirfenidona. A fibrose pulmonar idiopática (também referida como Alveolite fibrosante criptogênica) é uma condição progressiva envolvendo cicatrização do pulmão. Gradualmente, os sacos de ar dos pulmões se tornam substituídos por tecido fibrótico, que se torna mais espesso, causando uma perda irreversível da capacidade do tecido de transferir oxigênio para a corrente sanguínea. Os sintomas da condição incluem falta de ar, tosse seca crônica, fadiga, dor no peito e perda de apetite resultando em rápida perda de peso. A condição é extremamente grave com aproximadamente 50% de mortalidade após 5 anos.

[00194] Como tal, os compostos que inibem FGFR serão úteis no proporcionar de um meio de prevenção do crescimento ou indução de apoptose em tumores, particularmente por inibição da angiogênese. É portanto antecipado que os compostos provarão ser úteis no

tratamento ou prevenção de disfunções proliferativas tais como cânceres. Em particular, tumores com mutantes ativantes de tirosina cinases receptoras (RTK) ou sobreexpressão de tirosina cinases receptoras podem ser particularmente sensíveis aos inibidores. Os pacientes com mutantes ativantes de qualquer uma das isoformas das RTKs específicas discutidas no presente documento podem também descobrir que o tratamento com inibidores de RTK é particularmente benéfico, por exemplo, pacientes com tumores, por exemplo, tumores da bexiga ou cérebro, com a translocação FGFR3-TACC3.

Receptor do Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGFR)

[00195] As doenças proliferativas crônicas são frequentemente acompanhadas por angiogênese profunda, que pode contribuir ou para manter um estado inflamatório e/ou proliferativo, ou que leva a destruição de tecidos através da proliferação invasiva de vasos sanguíneos.

[00196] A angiogênese é geralmente usada para descrever o desenvolvimento de vasos sanguíneos novos ou de substituição, ou neovascularização. Esse é um processo normal necessário e fisiológico pelo qual a vasculatura é estabelecida no embrião. A angiogênese não ocorre, em geral, na maioria dos tecidos adultos anormais, sendo as exceções locais de ovulação, menstruação e cura de feridas. Muitas doenças, no entanto, são caracterizadas por angiogênese persistente e não regulada. Por exemplo, na artrite, novos vasos sanguíneos capilares invadem a articulação e destroem a cartilagem. Na diabetes (e em muitas doenças diferentes dos olhos), novos vasos invadem a mácula ou retina ou outras estruturas oculares e podem causar cegueira. O processo de aterosclerose foi ligado à angiogênese. Foi descoberto que o crescimento e metastização de tumores eram dependentes da angiogênese.

[00197] O reconhecimento do envolvimento da angiogênese em

doenças importantes tem sido acompanhado por investigação para se identificarem e desenvolverem inibidores da angiogênese. Esses inibidores são geralmente classificados em resposta a alvos discretos na cascata de angiogênese, tais como ativação de células endoteliais por um sinal angiogênico; síntese e liberação de enzimas de degradação; migração de células endoteliais; proliferação de células endoteliais e formação de túbulos capilares. Portanto, a angiogênese ocorre em muitas etapas e estão a decorrer tentativas para se descobrir e desenvolver compostos que funcionem para bloquear a angiogênese nessas várias etapas.

[00198] Existem publicações que ensinam que inibidores da angiogênese, funcionando por diversos mecanismos, são benéficos em doenças tais como câncer e metastização, doenças oculares, artrite e hemangioma.

[00199] O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), um polipeptídeo, é mitogênico para células endoteliais *in vitro* e estimula respostas angiogênicas *in vivo*. O VEGF foi também ligado a angiogênese inapropriada. Os VEGFR(s) são proteínas tirosina cinases (PTKs). As PTKs catalisam a fosforilação de resíduos de tirosina específicos em proteínas envolvidas na função de células regulando desse modo o crescimento, sobrevivência e diferenciação de células.

[00200] Três receptores de PTK para VEGF foram identificados: VEGFR-1 (Flt-1); VEGFR-2 (Flk-1 ou KDR) e VEGFR-3 (Flt-4). Esses receptores estão envolvidos na angiogênese e participam na transdução de sinal. De interesse particular é VEGFR-2, que é uma PTK receptora transmembranar expressa principalmente em células endoteliais. A ativação de VEGFR-2 por VEGF é uma etapa crítica na via de transdução de sinal que inicia a angiogênese tumoral. A expressão de VEGF pode ser constitutiva para as células tumorais e

também pode ser sobrerregulada em resposta a certos estímulos. Um tal estímulo é a hipóxia, onde a expressão de VEGF é sobrerregulada em tecidos tanto tumorais como hospedeiros associados. O ligante de VEGF ativa VEGFR-2 por ligação ao seu local de ligação a VEGF extracelular. Isso leva à dimerização do receptor de VEGFRs e autofosforilação de resíduos de tirosina no domínio de cinase intracelular de VEGFR-2. O domínio de cinase opera para transferir um fosfato de ATP para o resíduo de tirosina, proporcionando assim locais de ligação para proteínas de sinalização a jusante de VEGFR-2 levando em última instância à iniciação da angiogênese.

[00201] A inibição no local de ligação do domínio de cinase de VEGFR-2 bloquearia a fosforilação de resíduos de tirosina e serviria para perturbar a iniciação da angiogênese.

[00202] A angiogênese é um processo fisiológico de formação de novos vasos sanguíneos mediado por várias citocinas chamadas fatores angiogênicos. Embora o seu potencial papel patofisiológico em tumores sólidos tenha sido extensivamente estudado durante mais do que 3 décadas, a intensificação da angiogênese na leucemia linfocítica crônica (CLL) e outras disfunções hematológicas malignas tem sido reconhecida mais recentemente. Um nível aumentado de angiogênese tem sido documentado por vários métodos experimentais tanto na medula óssea como em linfonodos de pacientes com CLL. Embora o papel da angiogênese na patofisiologia dessa doença não esteja ainda totalmente elucidado, dados experimentais sugerem que vários fatores angiogênicos desempenham um papel na progressão da doença. Foi também mostrado que marcadores biológicos da angiogênese têm relevância no prognóstico na CLL. Isso indica que inibidores de VEGFR também podem ser benéficos para pacientes com leucemias tal como CLL.

[00203] Para que uma massa tumoral cresça para além de um

tamanho crítico, essa tem de desenvolver uma vasculatura associada. Tem sido proposto que o visar de uma vasculatura tumoral limitaria a expansão tumoral e poderia ser uma terapia útil contra o câncer. Observações de crescimento tumoral têm indicado que pequenas massas tumorais podem persistir em um tecido sem qualquer vasculatura específica de tumores. A paragem de crescimento de tumores não vascularizados tem sido atribuída aos efeitos de hipóxia no centro do tumor. Mais recentemente, uma variedade de fatores pró-angiogênicos e antiangiogênicos foi identificada e levou ao conceito da "troca angiogênica", um processo no qual a disrupção da razão normal de estímulos e inibidores angiogênicos em uma massa tumoral permite a vascularização autónoma. A troca angiogênica parece ser governada pelas mesmas alterações genéticas que dirigem a conversão maligna: a ativação de oncogenes e a perda de genes supressores de tumores. Vários fatores de crescimento atuam como reguladores positivos da angiogênese. Em primeiro lugar entre esses estão o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), o fator de crescimento de fibroblastos básico (bFGF) e angiogenina. Proteínas tais como trombospondina (Tsp-1), angiostatina e endostatina funcionam como reguladores negativos da angiogênese.

[00204] A inibição de VEGFR2 mas não VEGFR1 perturba marcadamente a troca angiogênica, angiogênese persistente e crescimento tumoral inicial em um modelo de camundongo. Em tumores de etapa tardia, emergiu resistência fenotípica ao bloqueio de VEGFR2, à medida que os tumores regrediram durante o tratamento após um período inicial de supressão do crescimento. Essa resistência ao bloqueio de VEGF envolve reativação da angiogênese tumoral, independente de VEGF e associada à indução mediada por hipóxia de outros fatores pró-angiogênicos, incluindo membros da família de FGF. Esses outros sinais pró-angiogênicos estão funcionalmente implicados

na revascularização e recrescimento de tumores na fase de evasão, uma vez que o bloqueio de FGF perturba a progressão apesar da inibição de VEGF.

[00205] Existe evidência da normalização de vasos sanguíneos de glioblastoma em pacientes tratados com um inibidor de tirosina cinase receptora pan-VEGF, AZD2171, em um estudo de fase 2. A determinação por MRI da normalização de vasos em combinação com biomarcadores em circulação proporciona um meio eficaz de se avaliar a resposta a agentes antiangiogênicos.

PDGFR

[00206] Um tumor maligno é o produto da proliferação descontrolada de células. O crescimento de células é controlado por um equilíbrio delicado entre fatores promotores do crescimento e inibidores do crescimento. Em tecido normal, a produção e atividade desses fatores resultam em células diferenciadas crescendo de um modo controlado e regulado que mantém a integridade e funcionamento normais do órgão. A célula maligna evadiu esse controle; o equilíbrio natural é perturbado (através de uma variedade de mecanismos) e desregulado, ocorre crescimento aberrante de células. Um fator de crescimento importante no desenvolvimento de tumores é o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) que compreende uma família de fatores de crescimento de peptídeos que sinalizam através de receptores de tirosina cinases à superfície das células (PDGFR) e estimulam várias funções celulares incluindo crescimento, proliferação e diferenciação.

Vantagens de um inibidor seletivo

[00207] O desenvolvimento de inibidores de FGFR cinase com um perfil de seletividade diferenciado proporciona uma nova oportunidade para usar esses agentes visados em subgrupos de pacientes cuja doença é dirigida por desregulação de FGFR. Compostos que exibam

ação inibidora reduzida em cinases adicionais, particularmente VEGFR2 e PDGFR-beta, oferecem a oportunidade de terem um perfil de efeitos secundários ou toxicidade diferenciado e como tal permitem um tratamento mais eficaz dessas indicações. Inibidores de VEGFR2 e PDGFR-beta estão associados a toxicidades tais como hipertensão ou edema, respectivamente. No caso de inibidores de VEGFR2, esse efeito hipertensivo é frequentemente limitante da dose, pode ser contraindicado em certas populações de pacientes e requer gestão clínica.

Atividade Biológica e Usos Terapêuticos

[00208] Os compostos da invenção, e seus subgrupos, têm atividade inibidora ou moduladora de receptores de fatores de crescimento de fibroblastos (FGFR) e/ou atividade inibidora ou moduladora de receptores de fatores de crescimento endotelial vascular (VEGFR) e/ou atividade inibidora ou moduladora de receptores de fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGFR), e que serão úteis na prevenção ou tratamento de estados ou condições de doença descritas no presente documento. Adicionalmente, os compostos da invenção, e seus subgrupos, serão úteis na prevenção ou tratamento de doenças ou condição mediadas pelas cinases. As referências à prevenção ou profilaxia ou tratamento de um estado ou condição de doença tal como câncer incluem dentro do seu escopo alívio ou redução da incidência de câncer.

[00209] Como usado no presente documento, o termo "modulação", como aplicado à atividade de uma cinase, se destina a definir uma mudança no nível de atividade biológica da proteína cinase. Assim, a modulação engloba mudanças fisiológicas que têm como efeito um aumento ou diminuição na atividade relevante da proteína cinase. No último caso, a modulação pode ser descrita como "inibição". A modulação pode surgir diretamente ou indiretamente, e pode ser

mediada por qualquer mecanismo e a qualquer nível fisiológico, incluindo por exemplo ao nível da expressão de genes (incluindo por exemplo transcrição, tradução e/ou modificação pós-translacional), ao nível da expressão de genes codificando elementos reguladores que atuam diretamente ou indiretamente nos níveis de atividade de cinase. Assim, a modulação pode implicar expressão elevada/suprimida ou sobre- ou subregulação de uma cinase, incluindo amplificação de genes (i.e., múltiplas cópias de genes) e/ou expressão aumentada ou diminuída por um efeito transcricional, bem como hiper- (ou hipo-) atividade e (des)ativação da(s) proteína(s) cinase(s) (incluindo (des)ativação) por mutação(ões). Os termos "modulado", "modulando" e "modulam" são para serem interpretados conformemente.

[00210] Como usado no presente documento, o termo "mediado", como usado, por exemplo, em conjunção com uma cinase como descrita no presente documento (e aplicado por exemplo a vários processos fisiológicos, doenças, estados, condições, terapias, tratamentos ou intervenções) se destina a operar limitativamente tal que os vários processos, doenças, estados, condições, tratamentos e intervenções aos quais o termo é aplicado sejam aqueles nos quais a cinase desempenha um papel biológico. Nos casos onde o termo é aplicado a uma doença, estado ou condição, o papel biológico desempenhado por uma cinase pode ser direto ou indireto e pode ser necessário e/ou suficiente para a manifestação dos sintomas da doença, estado ou condição (ou sua etiologia ou progressão). Assim, a atividade de cinase (e em particular níveis aberrantes de atividade de cinase, por exemplo, sobre-expressão de cinase) não necessita necessariamente de ser a causa proximal da doença, estado ou condição: ao invés é contemplado que as doenças, estados ou condições mediados por cinase incluam aqueles tendo etiologias multifatoriais e progressões complexas nas quais a cinase em questão

está somente parcialmente envolvida. Em casos onde o termo é aplicado a um tratamento, profilaxia ou intervenção, o papel desempenhado pela cinase pode ser direto ou indireto e pode ser necessário e/ou suficiente para a operação do tratamento, profilaxia ou resultado da intervenção. Assim, um estado ou condição de doença mediado por uma cinase inclui o desenvolvimento de resistência a qualquer fármaco ou tratamento particular para o câncer.

[00211] Assim, por exemplo, os compostos da invenção podem ser úteis no alívio ou redução da incidência de câncer.

[00212] Mais particularmente, os compostos das fórmulas (I) e seus subgrupos são inibidores de FGFRs. Por exemplo, os compostos da invenção têm atividade contra FGFR1, FGFR2, FGFR3 e/ou FGFR4, e em particular FGFRs selecionados de FGFR1, FGFR2 e FGFR3; ou em particular os compostos da fórmula (I) e seus subgrupos são inibidores de FGFR4.

[00213] Compostos preferenciais são compostos que inibem um ou mais FGFR selecionados de FGFR1, FGFR2, FGFR3 e FGFR4. Compostos preferenciais da invenção são aqueles tendo valores de IC_{50} de menos do que $0,1 \mu M$.

[00214] Os compostos da invenção têm também atividade contra VEGFR.

[00215] Adicionalmente, muitos dos compostos da invenção exibem seletividade pelos FGFR 1, 2 e/ou 3 e/ou 4 em comparação com VEGFR (em particular VEGFR2) e/ou PDGFR e tais compostos representam uma modalidade preferencial da invenção. Em particular, os compostos exibem seletividade sobre VEGFR2. Por exemplo, muitos compostos da invenção têm valores de IC_{50} contra FGFR1, 2 e/ou 3 e/ou 4 que estão entre um décimo e um centésimo da IC_{50} contra VEGFR (em particular VEGFR2) e/ou PDGFR B. Em particular, compostos preferenciais da invenção têm pelo menos 10 vezes maior

atividade contra ou inibição de FGFR, em particular FGFR1, FGFR2, FGFR3 e/ou FGFR4, do que VEGFR2. Mais preferencialmente, os compostos da invenção têm pelo menos 100 vezes maior atividade contra ou inibição de FGFR, em particular FGFR1, FGFR2, FGFR3 e/ou FGFR4 do que VEGFR2. Isso pode ser determinado usando os métodos descritos no presente documento.

[00216] Como consequência da sua atividade na modulação ou inibição de FGFR e/ou VEGFR cinases, os compostos serão úteis ao proporcionarem um meio de prevenção do crescimento ou indução da apoptose de neoplasias, particularmente por inibição da angiogênese. É portanto antecipado que os compostos provarão ser úteis no tratamento ou prevenção de disfunções proliferativas tais como cânceres. Para além disso, os compostos da invenção podem ser úteis no tratamento de doenças nas quais existe uma disfunção de proliferação, apoptose ou diferenciação.

[00217] Em particular, os tumores com mutantes ativantes de VEGFR ou sobreexpressão de VEGFR e pacientes com níveis elevados de lactato desidrogenase no soro podem ser particularmente sensíveis aos compostos da invenção. Os pacientes com mutantes ativantes de qualquer uma das isoformas das RTKs específicas discutidas no presente documento também podem descobrir que o tratamento com os compostos da invenção é particularmente benéfico. Por exemplo, a sobre-expressão de VEGFR em células de leucemia aguda onde o progenitor clonal pode expressar VEGFR. Igualmente, os tumores particulares com mutantes ativantes ou sobreexpressão ou sobre-expressão de qualquer uma das isoformas de FGFR tais como FGFR1, FGFR2 ou FGFR3 ou FGFR4 podem ser particularmente sensíveis aos compostos da invenção e assim os pacientes como discutidos no presente documento com tais tumores particulares também podem descobrir que o tratamento com os compostos da

invenção é particularmente benéfico. Pode ser preferencial que o tratamento esteja relacionado com ou dirigido a uma forma mutada de uma das tirosina cinases receptoras, tal como discutido no presente documento. O diagnóstico de tumores com tais mutações poderia ser realizado usando técnicas conhecidas de um versado na técnica e como descrito no presente documento tais como RTPCR e FISH.

[00218] Exemplos de cânceres que podem ser tratados (ou inibidos) incluem, mas não estão limitados a, um carcinoma, por exemplo, um carcinoma da bexiga, da mama, do cólon (por exemplo, carcinomas colorretais tais como adenocarcinoma do cólon e adenoma do cólon), câncer do rim, urotelial, do útero, da epiderme, do fígado, do pulmão (por exemplo, adenocarcinoma, câncer de células pequenas do pulmão e carcinomas de células não pequenas do pulmão, câncer escamoso do pulmão), esôfago, cabeça e pescoço, vesícula biliar, ovários, pâncreas (por exemplo, carcinoma pancreático exócrino), estômago, gastrointestinal (também conhecido como gástrico) (por exemplo, tumores estromais gastrointestinais), colo do útero, endométrio, tireoide, próstata ou pele (por exemplo, carcinoma de células escamosas ou dermatofibrossarcoma protuberante); câncer da glândula pituitária, um tumor hematopoiético de linhagem linfóide, por exemplo, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crônica, linfoma de células B (por exemplo, linfoma difuso de células B grandes), linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma de não Hodgkin, linfoma de células pilosas ou linfoma de Burkett; um tumor hematopoiético de linhagem mieloide, por exemplo, leucemias, leucemias mieloides agudas e crônicas, leucemia mielomonocítica crônica (CMML), disfunção mieloproliferativa, síndrome mieloproliferativa, síndrome mielodisplásica ou leucemia promielocítica; mieloma múltiplo; câncer folicular da tireoide; câncer hepatocelular, um tumor de origem mesenquimal (por exemplo, sarcoma de Ewing), por exemplo, fibrossarcoma ou rabdomiossarcoma; tumor do

sistema nervoso central ou periférico, por exemplo, astrocitoma, neuroblastoma, glioma (tal como glioblastoma multiforme) ou schwannoma; melanoma; seminoma; teratocarcinoma; osteossarcoma; xeroderma pigmentoso; queratocantoma; câncer folicular da tireoide ou sarcoma de Kaposi. Em particular, câncer escamoso do pulmão, câncer da mama, câncer colorretal, glioblastoma, astrocitomas, câncer da próstata, câncer do pulmão de células pequenas, melanoma, câncer da cabeça e pescoço, câncer da tireoide, câncer uterino, câncer gástrico, câncer hepatocelular, câncer do colo do útero, mieloma múltiplo, câncer da bexiga, câncer do endométrio, câncer urotelial, câncer do cólon, rabdomiossarcoma, câncer da glândula pituitária.

[00219] Exemplos de cânceres que podem ser tratados (ou inibidos) incluem, mas não estão limitados a, câncer da bexiga, câncer urotelial, câncer urotelial metastático, câncer urotelial cirurgicamente não ressecável, câncer da mama, glioblastoma, câncer do pulmão, câncer de células não pequenas do pulmão, câncer do pulmão de células escamosas, adenocarcinoma do pulmão, adenocarcinoma pulmonar, câncer de células pequenas do pulmão, câncer dos ovários, câncer do endométrio, câncer cervical, sarcoma de tecidos moles, carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço, câncer gástrico, câncer esofágico, carcinoma de células escamosas do esôfago, adenocarcinoma do esôfago, colangiocarcinoma, carcinoma hepatocelular.

[00220] Certos cânceres são resistentes ao tratamento com fármacos particulares. Isso pode ser devido ao tipo do tumor ou pode surgir devido ao tratamento com o composto. A esse respeito, as referências ao mieloma múltiplo incluem mieloma múltiplo sensível ou mieloma múltiplo refratário ao bortezomib. Similarmente, as referências à leucemia mieloide crônica incluem leucemia mieloide crônica sensível e leucemia mieloide crônica refratária ao imitanib. A leucemia mieloide crônica é também conhecida como leucemia mielógena

crônica, leucemia granulocítica crônica ou CML. Do mesmo modo, a leucemia mieloide aguda é também chamada leucemia mieloblástica aguda, leucemia granulocítica aguda, leucemia não linfocítica aguda ou AML.

[00221] Os compostos da invenção também podem ser usados no tratamento de doenças hematopoiéticas de proliferação anormal de células tanto pré-malignas como estáveis, tais como doenças mieloproliferativas. As doenças mieloproliferativas ("MPDs") são um grupo de doenças da medula óssea nas quais são produzidas células em excesso. Essas estão relacionadas com, e podem evoluir até, síndrome mielodisplásica. As doenças mieloproliferativas incluem policitemia vera, trombocitemia essencial e mielofibrose primária. Uma disfunção hematológica adicional é a síndrome hipereosinofílica. As doenças linfoproliferativas de células T incluem as derivadas de células Matadoras naturais.

[00222] Adicionalmente, os compostos da invenção podem ser usados no tratamento de câncer gastrointestinal (também conhecido como gástrico), por exemplo, tumores estromais gastrointestinais. Câncer gastrointestinal se refere a condições malignas do trato gastrointestinal, incluindo o esôfago, estômago, fígado, sistema biliar, pâncreas, intestinos e ânus.

[00223] Assim, nas composições farmacêuticas, usos ou métodos da presente invenção para tratamento de uma doença ou condição compreendendo crescimento anormal das células, a doença ou condição compreendendo crescimento anormal das células é em uma modalidade um câncer.

[00224] Subconjuntos particulares de cânceres incluem mieloma múltiplo, carcinomas da bexiga, cervical, próstata e tireoide, cânceres do pulmão, mama e cólon.

[00225] Um subconjunto adicional inclui mieloma múltiplo,

carcinoma da bexiga, hepatocelular, de células escamosas orais e carcinomas cervicais.

[00226] Um subconjunto adicional de cânceres inclui câncer hepatocelular transportando amplificação ou sobre-expressão de FGF19.

[00227] Um subconjunto de câncer inclui colangiocarcinoma, em particular colangiocarcinoma com alterações genômicas de FGFR (fusões e/ou mutações).

[00228] Um subconjunto de câncer inclui NSCLC avançado ou refratário, câncer da mama, glioblastoma multiforme, câncer urotelial, câncer dos ovários, câncer da cabeça e pescoço, câncer esofágico, câncer gástrico e colangiocarcinoma, em particular NSCLC avançado ou refratário, câncer da mama, glioblastoma multiforme, câncer urotelial, câncer dos ovários, câncer da cabeça e pescoço, câncer esofágico, câncer gástrico e colangiocarcinoma com alterações genômicas de FGFR (fusões e/ou mutações).

[00229] Um subconjunto de câncer inclui câncer urotelial metastático ou cirurgicamente não ressecável, em particular câncer urotelial metastático ou cirurgicamente não ressecável com alterações genômicas de FGFR (fusões e/ou mutações).

[00230] Um subconjunto de câncer inclui câncer com alterações genômicas de FGFR (fusões e/ou mutações).

[00231] O composto da invenção, tendo atividade inibidora de FGFR tal como FGFR1, pode ser particularmente útil no tratamento ou prevenção de câncer da mama, em particular Carcinomas Lobulares Clássicos (CLC).

[00232] Como os compostos da invenção têm atividade de FGFR4 também serão úteis no tratamento de cânceres da próstata ou pituitária ou serão úteis no tratamento de câncer da mama, câncer do pulmão, câncer da próstata, câncer do fígado (HCC) ou câncer do pulmão.

[00233] Em particular, os compostos da invenção como inibidores de FGFR são úteis no tratamento de mieloma múltiplo, disfunções mieloproliferativas, câncer do endométrio, câncer da próstata, câncer da bexiga, câncer do pulmão, câncer dos ovários, câncer da mama, câncer gástrico, câncer colorretal e carcinoma de células escamosas orais.

[00234] Subconjuntos adicionais de câncer são mieloma múltiplo, câncer do endométrio, câncer da bexiga, câncer cervical, câncer da próstata, câncer do pulmão, câncer da mama, câncer colorretal e carcinomas da tireoide.

[00235] Em particular, os compostos da invenção são úteis no tratamento de mieloma múltiplo (em particular mieloma múltiplo com translocação t(4;14) ou sobre-expressando FGFR3), câncer da próstata (carcinomas da próstata refratários a hormônios), câncer do endométrio (em particular tumores do endométrio com mutações ativantes em FGFR2) e câncer da mama (em particular câncer da mama lobular).

[00236] Em particular, os compostos são úteis no tratamento de carcinomas lobulares tais como CLC (Carcinoma lobular clássico).

[00237] Como os compostos têm atividade contra FGFR3 serão úteis no tratamento de mieloma múltiplo e câncer da bexiga.

[00238] Em particular, os compostos têm atividade contra tumores com translocação FGFR3-TACC3, em particular tumores da bexiga ou do cérebro com translocação FGFR3-TACC3.

[00239] Em particular, os compostos são úteis para o tratamento de mieloma múltiplo positivo quanto à translocação t(4;14).

[00240] Em uma modalidade, os compostos podem ser úteis para o tratamento de sarcoma. Em uma modalidade, os compostos podem ser úteis para o tratamento de câncer do pulmão, por exemplo, carcinoma de células escamosas.

[00241] Como os compostos têm atividade contra FGFR2 serão úteis no tratamento de cânceres do endométrio, dos ovários, gástricos, hepatocelulares, do útero, do colo do útero e colorretal. FGFR2 é também sobre-expresso no câncer epitelial dos ovários, portanto, os compostos da invenção podem ser especificamente úteis no tratamento de câncer dos ovários tal como câncer epitelial dos ovários.

[00242] Em uma modalidade, os compostos podem ser úteis para o tratamento de câncer do pulmão, em particular NSCLC (câncer de células não pequenas do pulmão), carcinoma de células escamosas, câncer do fígado, câncer dos rins, câncer da mama, câncer do cólon, câncer colorretal, câncer da próstata.

[00243] Os compostos da invenção também podem ser úteis no tratamento de tumores pré-tratados com inibidor de VEGFR2 ou anticorpo de VEGFR2 (por exemplo, Avastin).

[00244] Em particular, os compostos da invenção podem ser úteis no tratamento de tumores resistentes a VEGFR2. Os inibidores e anticorpos de VEGFR2 são usados no tratamento de carcinomas da tireoide e das células renais, desse modo, os compostos da invenção podem ser úteis no tratamento de carcinomas da tireoide e das células renais resistentes a VEGFR2.

[00245] Os cânceres podem ser cânceres que são sensíveis à inibição de qualquer um ou mais FGFRs selecionados de FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, por exemplo, um ou mais FGFRs selecionados de FGFR1, FGFR2 ou FGFR3.

[00246] Se um câncer particular é ou não um que é sensível à inibição da sinalização de FGFR ou de VEGFR pode ser determinado por meio de um ensaio de crescimento de células como apresentado abaixo ou por um método como apresentado na seção intitulada "Métodos de Diagnóstico".

[00247] Os compostos da invenção, e em particular aqueles com-

postos tendo atividade inibidora de FGFR, ou de VEGFR, podem ser particularmente úteis no tratamento ou prevenção de cânceres de um tipo associado à ou caracterizado pela presença de níveis elevados de FGFR; ou VEGFR, por exemplo, os cânceres referidos no presente contexto na seção introdutória do presente pedido.

[00248] Os compostos da presente invenção podem ser úteis para o tratamento da população adulta. Os compostos da presente invenção podem ser úteis para o tratamento da população pediátrica.

[00249] Foi descoberto que alguns inibidores de FGFR podem ser usados em combinação com outros agentes anticancerígenos. Por exemplo pode ser benéfico combinar um inibidor que induz apoptose com outro agente que atua através de um mecanismo diferente para regular o crescimento de células tratando, desse modo, dois dos traços característicos do desenvolvimento de cânceres. Exemplos de tais combinações são apresentados abaixo.

[00250] Os compostos da invenção podem ser úteis no tratamento de outras condições que resultam de disfunções na proliferação tais como diabetes mellitus do tipo II ou não dependente da insulina, doenças autoimunes, traumatismo craniano, acidente vascular cerebral, epilepsia, doenças neurodegenerativas tais como Alzheimer, doença motora neuronal, paralisia supranuclear progressiva, degeneração corticobasal e doença de Pick, por exemplo, doenças autoimunes e doenças neurodegenerativas.

[00251] Um subgrupo de estados e condições de doença que os compostos da invenção podem ser úteis consiste em doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares e cura de feridas.

[00252] É também conhecido que FGFR e VEGFR, desempenham um papel na apoptose, angiogênese, proliferação, diferenciação e transcrição e portanto os compostos da invenção também podem ser úteis no tratamento das seguintes doenças sem ser câncer; doenças

inflamatórias crônicas, por exemplo, lúpus eritematoso sistêmico, glomerulonefrite mediada pelo sistema autoimune, artrite reumatoide, psoríase, doença inflamatória do intestino, diabetes mellitus autoimune, Eczema, reações de hipersensibilidade, asma, COPD, rinite e doenças do trato respiratório superior; doenças cardiovasculares, por exemplo, hipertrofia cardíaca, restenose, aterosclerose; doenças neurodegenerativas, por exemplo, doença de Alzheimer, demência relacionada com a AIDS, doença de Parkinson, esclerose amiotrófica lateral, retinite pigmentosa, atrofia espinal muscular e degeneração cerebelar; glomerulonefrite; síndromes mielodisplásicas, lesão isquêmica associada a enfartes do miocárdio, acidente vascular cerebral e lesão por reperfusão, arritmia, aterosclerose, doenças hepáticas induzidas por toxinas ou relacionadas com o álcool, doenças hematológicas, por exemplo, anemia crônica e anemia aplásica; doenças degenerativas do sistema musculoesquelético, por exemplo, osteoporose e artrite, rinossinusite sensível à aspirina, fibrose cística, esclerose múltipla, doenças dos rins e dor provocada por câncer.

[00253] Adicionalmente, mutações de FGFR2 estão associadas a várias anormalidades graves no desenvolvimento esquelético humano e assim os compostos da invenção poderiam ser úteis no tratamento de anormalidades no desenvolvimento esquelético humano, incluindo ossificação anormal de suturas cranianas (craniossinostose), síndrome de Apert (AP), síndrome de Crouzon, síndrome de Jackson-Weiss, síndrome da cutis girata de Beare-Stevenson e síndrome de Pfeiffer.

[00254] O composto da invenção, tendo atividade inibidora de FGFR tal como FGFR2 ou FGFR3, pode ser particularmente útil no tratamento ou prevenção das doenças esqueléticas. Doenças esqueléticas particulares são acondroplasia ou nanismo tanatofórico (também conhecido como displasia tanatofórica).

[00255] O composto da invenção, tendo atividade inibidora de

FGFR tal como FGFR1, FGFR2 ou FGFR3, pode ser particularmente útil no tratamento ou prevenção em patologias nas quais a fibrose progressiva é um sintoma. As condições fibróticas nas quais os compostos da invenção podem ser úteis no tratamento das mesmas incluem doenças exibindo deposição anormal ou excessiva de tecido fibroso, por exemplo, na fibrose cística, glomerulonefrite, fibrose pulmonar, fibrose sistêmica, artrite reumatoide, bem como no processo natural de cura de feridas. Em particular, os compostos da invenção também podem ser úteis no tratamento de fibrose dos pulmões em particular na fibrose pulmonar idiopática.

[00256] A sobre-expressão e ativação de FGFR e VEGFR na vasculatura associada a tumores também sugeriu um papel para compostos da invenção na prevenção e interrupção da iniciação da angiogênese tumoral. Em particular, os compostos da invenção podem ser úteis no tratamento de câncer, metastização, leucemia tal como CLL, doenças oculares tais como degeneração macular relacionada com a idade, em particular forma úmida da degeneração macular relacionada com a idade, retinopatias proliferativas isquêmicas tais como retinopatia de prematuridade (ROP) e retinopatia diabética, artrite reumatoide e hemangioma.

[00257] A atividade dos compostos da invenção como inibidores de FGFR1-4, VEGFR e/ou PDGFR A/B pode ser medida usando os ensaios apresentados nos exemplos abaixo e o nível de atividade exibido por um dado composto pode ser definido em termos do valor de IC₅₀. Os compostos preferenciais da presente invenção são compostos tendo um valor de IC₅₀ de menos do que 1 µM, mais preferencialmente menos do que 0,1 µM.

[00258] A invenção proporciona compostos que têm atividade inibidora ou moduladora de FGFR e que podem ser úteis na prevenção ou tratamento de estados ou condições de doença

mediados por FGFR cinases.

[00259] Em uma modalidade é proporcionado um composto como definido no presente documento para uso em terapia, para uso como um medicamento. Em uma modalidade adicional é proporcionado um composto como definido no presente documento para uso na profilaxia ou tratamento, em particular no tratamento, de um estado ou condição de doença mediado por uma FGFR cinase.

[00260] Assim, por exemplo, os compostos da invenção podem ser úteis no alívio ou redução da incidência de câncer. Portanto, em uma modalidade adicional é proporcionado um composto como definido no presente documento para uso na profilaxia ou tratamento, em particular no tratamento, de câncer. Em uma modalidade, o composto como definido no presente documento é para uso na profilaxia ou tratamento de câncer dependente de FGFR. Em uma modalidade, o composto como definido no presente documento é para uso na profilaxia ou tratamento de câncer mediado por FGFR cinases.

[00261] Conformemente, a invenção proporciona *inter alia*:

- Um método para a profilaxia ou tratamento de um estado ou condição de doença mediado por uma FGFR cinase, método esse que compreende a administração a um sujeito com necessidade do mesmo de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento.

- Um método para a profilaxia ou tratamento de um estado ou condição de doença como descrito no presente documento, método esse que compreende a administração a um sujeito com necessidade do mesmo de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento.

- Um método para a profilaxia ou tratamento de câncer, método esse que compreende a administração a um sujeito com necessidade do mesmo de um composto da fórmula (I) como definido

no presente documento.

- Um método para alívio ou redução da incidência de um estado ou condição de doença mediado por uma FGFR cinase, método esse que compreende a administração a um sujeito com necessidade do mesmo de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento.

- Um método de inibição de uma FGFR cinase, método esse que compreende contato da cinase com um composto inibidor de cinase da fórmula (I) como definido no presente documento.

- Um método de modulação de um processo celular (por exemplo, divisão celular) por inibição de uma FGFR cinase usando um composto da fórmula (I) como definido no presente documento.

- Um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para uso como um modulador de um processo celular (por exemplo, divisão celular) por inibição da atividade de uma FGFR cinase.

- Um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para uso na profilaxia ou tratamento de câncer, em particular o tratamento de câncer.

- Um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para uso como um modulador (por exemplo, inibidor) de FGFR.

- O uso de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para a fabricação de um medicamento para a profilaxia ou tratamento de um estado ou condição de doença mediado por uma FGFR cinase, o composto tendo a fórmula (I) como definido no presente documento.

- O uso de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para a fabricação de um medicamento para a profilaxia ou tratamento de um estado ou condição de doença como

descrito no presente documento.

- O uso de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para a fabricação de um medicamento para a profilaxia ou tratamento, em particular o tratamento, de câncer.

- O uso de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para a fabricação de um medicamento para modulação (por exemplo, inibição) da atividade de FGFR.

- Uso de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento na fabricação de um medicamento para modulação de um processo celular (por exemplo, divisão celular) por inibição da atividade de uma FGFR cinase.

- O uso de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para a fabricação de um medicamento para a profilaxia ou tratamento de uma doença ou condição caracterizada por sobreexpressão de uma FGFR cinase (por exemplo, FGFR1 ou FGFR2 ou FGFR3 ou FGFR4).

- O uso de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para a fabricação de um medicamento para a profilaxia ou tratamento de um câncer, sendo o câncer um que é caracterizado por sobreexpressão de uma FGFR cinase (por exemplo, FGFR1 ou FGFR2 ou FGFR3 ou FGFR4).

- O uso de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para a fabricação de um medicamento para a profilaxia ou tratamento de câncer em um paciente selecionado de uma subpopulação possuindo uma aberração genética de FGFR3 cinase.

- O uso de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento para a fabricação de um medicamento para a profilaxia ou tratamento de câncer em um paciente que foi diagnosticado como formando parte de uma subpopulação possuindo

uma aberração genética de FGFR3 cinase.

- Um método para a profilaxia ou tratamento de uma doença ou condição caracterizada por sobreexpressão de uma FGFR cinase (por exemplo, FGFR1 ou FGFR2 ou FGFR3 ou FGFR4), o método compreendendo a administração de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento.

- Um método para alívio ou redução da incidência de uma doença ou condição caracterizada por sobreexpressão de uma FGFR cinase (por exemplo, FGFR1 ou FGFR2 ou FGFR3 ou FGFR4), o método compreendendo a administração de um composto da fórmula (I) como definido no presente documento.

- Um método para a profilaxia ou tratamento de (ou alívio ou redução da incidência de) câncer em um paciente sofrendo de ou suspeito de sofrer de câncer; método esse que compreende (i) sujeição de um paciente a um teste de diagnóstico para determinar se o paciente possui uma aberração genética do gene FGFR3; e (ii) onde o paciente possui a referida variante, administrado subsequentemente ao paciente um composto da fórmula (I) como definido no presente documento tendo atividade inibidora de FGFR3 cinase.

- Um método para a profilaxia ou tratamento de (ou alívio ou redução da incidência de) um estado ou condição de doença caracterizado por sobreexpressão de uma FGFR cinase (por exemplo, FGFR1 ou FGFR2 ou FGFR3 ou FGFR4); cujo método compreende (i) sujeição de um paciente a um teste de diagnóstico para detectar um marcador característico de sobreexpressão de uma FGFR cinase (por exemplo, FGFR1 ou FGFR2 ou FGFR3 ou FGFR4) e (ii) onde o teste de diagnóstico é indicativo de sobreexpressão de uma FGFR cinase, administrando subsequentemente ao paciente um composto da fórmula (I) como definido no presente documento tendo atividade inibidora de FGFR cinase.

[00262] Em uma modalidade, a doença mediada por FGFR cinases é uma doença relacionada com oncologia (por exemplo, câncer). Em uma modalidade, a doença mediada por FGFR cinases é uma doença não relacionada com oncologia (por exemplo, qualquer doença divulgada no presente documento excluindo câncer). Em uma modalidade, a doença mediada por FGFR cinases é uma condição descrita no presente documento. Em uma modalidade, a doença mediada por FGFR cinases é uma condição esquelética descrita no presente documento. Anormalidades particulares no desenvolvimento esquelético humano incluem ossificação anormal de suturas cranianas (craniossinostose), síndrome de Apert (AP), síndrome de Crouzon, síndrome de Jackson-Weiss, síndrome da cutis girata de Beare-Stevenson, síndrome de Pfeiffer, acondroplasia e nanismo tanatofórico (também conhecido como displasia tanatofórica).

Cinases Mutadas

[00263] Mutações de cinase resistentes a fármacos podem ter origem em populações de pacientes tratados com inibidores de cinase. Essas ocorrem, em parte, nas regiões da proteína que se ligam ao ou interagem com o inibidor particular usado em terapia. Tais mutações reduzem ou aumentam a capacidade do inibidor de se ligar à e inibir a cinase em questão. Isso pode ocorrer em qualquer um dos resíduos de aminoácidos que interagem com o inibidor ou que são importantes para suporte da ligação do referido inibidor ao alvo. Um inibidor que se liga a uma cinase alvo sem requerer a interação com o resíduo de aminoácido mutado não será provavelmente afetado pela mutação e permanecerá um inibidor eficaz da enzima.

[00264] Um estudo em amostras de pacientes com câncer gástrico mostrou a presença de duas mutações em FGFR2, Ser167Pro no éxon IIIa e uma mutação do local de splice 940-2A-G no éxon IIIc. Essas mutações são idênticas às mutações ativantes da linha

germinativa que causam síndromes de craniossinostose e foram observadas em 13% dos tecidos cancerígenos gástricos primários estudados. Adicionalmente, mutações ativantes em FGFR3 foram observadas em 5% das amostras de pacientes e a sobre-expressão de FGFRs tem sido correlacionada com um prognóstico frasco no presente grupo de pacientes.

[00265] Adicionalmente existem translocações cromossomais ou mutações pontuais que foram observadas em FGFR que dão origem a estados biológicos de ganho-de-função, sobre-expressos ou constitutivamente ativos.

[00266] Os compostos da invenção encontrariam portanto aplicação particular em relação a cânceres que expressam um alvo molecular mutado tal como FGFR. O diagnóstico de tumores com tais mutações poderia ser realizado usando técnicas conhecidas de um versado na técnica e como descrito no presente documento tais como RTPCR e FISH.

[00267] Foi sugerido que mutações de um resíduo de treonina conservado no local de ligação de ATP de FGFR resultariam em resistência ao inibidor. O aminoácido valina 561 foi mutado para uma metionina em FGFR1 o que corresponde a mutações previamente relatadas encontradas em Abl (T315) e EGFR (T766) que foi mostrado que conferem resistência a inibidores seletivos. Os dados de ensaio para FGFR1 V561M mostraram que essa mutação conferiu resistência a um inibidor de tirosina cinase em comparação com aquela do tipo selvagem.

Métodos de Diagnóstico

[00268] Antes da administração de um composto da fórmula (I), um paciente pode ser rastreado para se determinar se uma doença ou condição da qual o paciente está ou pode estar sofrendo é uma que seria suscetível a tratamento com um composto tendo atividade contra FGFR e/ou VEGFR.

[00269] Por exemplo, uma amostra biológica tirada de um paciente pode ser analisada para se determinar se uma condição ou doença, tal como câncer, da qual o paciente está ou pode estar sofrendo é uma que seja caracterizada por uma anormalidade genética ou expressão anormal de proteínas que leve à sobreexpressão dos níveis ou atividade de FGFR e/ou VEGFR ou à sensibilização de uma via para a atividade normal de FGFR e/ou VEGFR, ou à sobreexpressão dessas vias de sinalização de fatores de crescimento tais como níveis de ligante dos fatores de crescimento ou atividade de ligante dos fatores de crescimento ou à sobreexpressão de uma via bioquímica a jusante da ativação de FGFR e/ou VEGFR.

[00270] Exemplos de tais anormalidades que resultam na ativação ou sensibilização do sinal de FGFR e/ou VEGFR incluem perda de, ou inibição de, vias apoptóticas, sobreexpressão dos receptores ou ligantes ou presença de variantes mutantes dos receptores ou ligantes, por exemplo, variantes de PTK. Os tumores com mutantes de FGFR1, FGFR2 ou FGFR3 ou FGFR4 ou sobreexpressão, em particular sobre-expressão de FGFR1, ou mutantes de ganho-de-função de FGFR2 ou FGFR3 podem ser particularmente sensíveis a inibidores de FGFR.

[00271] Por exemplo, mutações pontuais gerando ganho-de-função em FGFR2 foram identificadas em um número de condições. Em particular, mutações ativantes em FGFR2 foram identificadas em 10% de tumores do endométrio.

[00272] Adicionalmente, aberrações genéticas da tirosina cinase receptora FGFR3 tais como translocações cromossômicas ou mutações pontuais resultando em receptores FGFR3 constitutivamente ativos, ectopicamente expressos ou desregulados foram identificadas e estão ligadas a um subconjunto de mielomas múltiplos, carcinomas da bexiga e cervicais. Uma mutação particular T674I do receptor de

PDGF foi identificada em pacientes tratados com imatinib. Adicionalmente, uma amplificação do gene de 8p12-p11.2 foi demonstrada em ~50% de casos de câncer lobular da mama (CLC) e foi mostrado que isso estava ligado a uma expressão aumentada de FGFR1. Estudos preliminares com siRNA dirigido contra FGFR1, ou um inibidor de molécula pequena do receptor, mostraram que as linhas de células transportando essa amplificação eram particularmente sensíveis à inibição dessa via de sinalização.

[00273] Alternativamente, uma amostra biológica tirada de um paciente pode ser analisada quanto à perda de um regulador negativo ou supressor de FGFR ou VEGFR. No presente contexto, o termo "perda" abrange a deleção de um gene codificando o regulador ou supressor, a truncação do gene (por exemplo, por mutação), a truncação do produto transcrito do gene ou a inativação do produto transcrito (por exemplo, por mutação pontual) ou sequestro de outro produto de gene.

[00274] O termo sobreexpressão inclui expressão elevada ou sobre-expressão, incluindo amplificação de genes (i.e., múltiplas cópias de genes) e expressão aumentada por um efeito transcricional e hiperatividade e ativação, incluindo ativação por mutações. Assim, o paciente pode ser sujeito a um teste de diagnóstico para detectar um marcador característico da sobreexpressão de FGFR e/ou VEGFR. O termo diagnóstico inclui rastreamento. Por marcador incluímos marcadores genéticos incluindo, por exemplo, a medição da composição de DNA para identificar mutações de FGFR e/ou VEGFR. O termo marcador também inclui marcadores que são característicos da sobreexpressão de FGFR e/ou VEGFR, incluindo atividade de enzimas, níveis de enzimas, estado de enzimas (por exemplo, fosforiladas ou não) e níveis de mRNA das proteínas acima mencionadas.

[00275] Os testes de diagnóstico e rastreamentos são tipicamente conduzidos em uma amostra biológica selecionada de amostras de biópsia de tumores, amostras de sangue (isolamento e enriquecimento de células tumorais derramadas), biópsias de fezes, expetoração, análise de cromossomas, fluido pleural, fluido peritoneal, lanças bucais, biópsia ou urina.

[00276] Métodos de identificação e análise de mutações e sobreexpressão de proteínas são conhecidos de um versado na técnica. Os métodos de rastreamento poderiam incluir, mas não estão limitados a, métodos padrão tais como reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR) ou hibridação in situ tal como hibridação in situ por fluorescência (FISH).

[00277] A identificação de um indivíduo transportando uma mutação em FGFR e/ou VEGFR pode significar que o paciente seria particularmente adequado para tratamento com um inibidor de FGFR e/ou VEGFR. Os tumores podem ser preferencialmente rastreados quanto à presença de uma variante de FGFR e/ou VEGFR antes do tratamento. O processo de rastreamento envolve, tipicamente, sequenciamento direto, análise de microrrede de oligonucleotídeos ou um anticorpo específico de mutantes. Adicionalmente, o diagnóstico de tumores com tais mutações poderia ser realizado usando técnicas conhecidas de um versado na técnica e como descrito no presente documento tais como RT-PCR e FISH.

[00278] Adicionalmente, as formas mutantes de, por exemplo, FGFR ou VEGFR2, podem ser identificadas por sequenciamento direto de, por exemplo, biópsias tumorais usando PCR e métodos para sequenciar produtos de PCR diretamente como anteriormente descrito. O especialista versado reconhecerá que todas essas técnicas bem conhecidas para detecção da sobre-expressão, ativação ou mutações das proteínas acima mencionadas poderiam ser aplicáveis no presente caso.

[00279] No rastreamento por RT-PCR, o nível de mRNA no tumor é avaliado por criação de uma cópia de cDNA do mRNA seguida por amplificação do cDNA por PCR. Métodos de amplificação por PCR, a seleção de iniciadores e condições para a amplificação são conhecidos de um versado na técnica. As manipulações de ácido nucleico e PCR são levadas a cabo por métodos padrão, como descrito por exemplo em Ausubel, F.M. *et al.*, eds. (2004) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc., ou Innis, M.A. *et al.*, eds. (1990) *PCR Protocols: a guide to methods and applications*, Academic Press, San Diego. As reações e manipulações envolvendo técnicas de ácido nucleico são também descritas em Sambrook *et al.*, (2001), 3ª Ed, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Alternativamente, um estojo comercialmente disponível para RT-PCR (por exemplo, Roche Molecular Biochemicals) pode ser usado, ou metodologia como apresentada nas patentes dos Estados Unidos 4.666.828; 4.683.202; 4.801.531; 5.192.659. 5.272.057. 5.882.864 e 6.218.529 e incorporadas no presente documento por referência. Um exemplo de uma técnica de hibridação in situ para avaliação da expressão de mRNA seria hibridação in situ por fluorescência (FISH) (ver Angerer (1987) *Meth. Enzymol.*, **152**: 649).

[00280] Geralmente, a hibridação in situ compreende as seguintes etapas principais: (1) fixação do tecido a ser analisado; (2) tratamento de pré-hibridação da amostra para aumentar a acessibilidade do ácido nucleico alvo e para reduzir a ligação não específica; (3) hibridação da mistura de ácidos nucleicos ao ácido nucleico na estrutura ou tecido biológico; (4) lavagens pós-hibridação para se remover os fragmentos de ácido nucleico não ligados na hibridação e (5) detecção dos fragmentos de ácido nucleico hibridados. As sondas usadas em tais aplicações são tipicamente marcadas, por exemplo, com radiosótopos ou repórteres fluorescentes. As sondas preferenciais são suficiente-

mente longas, por exemplo, de cerca de 50, 100 ou 200 nucleotídeos a cerca de 1000 ou mais nucleotídeos, para permitir hibridação específica com o(s) ácido(s) nucleico(s) alvo sob condições estridentes. Métodos padrão para levar a cabo FISH são descritos em Ausubel, F.M. *et al.*, eds. (2004) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc e *Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview* por John M. S. Bartlett em *Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols*, 2ª ed.; ISBN: 1-59259-760-2; março 2004, pgs. 077-088; Séries: *Methods in Molecular Medicine*.

[00281] Métodos para perfil de expressão de genes são descritos por (DePrimo *et al.* (2003), *BMC Cancer*, **3**: 3). Brevemente, o protocolo é como se segue: cDNA de fita dupla é sintetizado a partir de RNA total usando oligômero (dT)₂₄ para iniciação da síntese de cDNA de fita única, seguido por síntese de cDNA de segunda fita com iniciadores de hexâmero aleatórios. O cDNA de caeia dupla é usado como um molde para transcrição *in vitro* de cRNA usando ribonucleotídeos biotinilados. O cRNA é quimicamente fragmentado de acordo com protocolos descritos pela Affymetrix (Santa Clara, CA, EUA) e depois hibridados durante a noite em Redes de Genomas Humanos.

[00282] Alternativamente, os produtos de proteína expressos a partir dos mRNAs podem ser avaliados por imuno-histoquímica de amostras de tumores, imunoensaio em fase sólida com placas de microtitulação, transferência de Western, eletroforese em SDS-gel de poliacrilamida bidimensional, ELISA, citometria de fluxo e outros métodos conhecidos na técnica para detecção de proteínas específicas. Os métodos de detecção incluiriam o uso de anticorpos específicos do local. O versado reconhecerá que todas dessas técnicas bem conhecidas para detecção da sobre-expressão de FGFR e/ou VEGFR ou detecção de variantes ou mutantes de FGFR e/ou

VEGFR mencionadas poderiam ser aplicáveis no presente caso.

[00283] Os níveis anormais de proteínas tais como FGFR ou VEGFR podem ser medidos usando ensaios de enzimas padrão, por exemplo, aqueles ensaios descritos no presente documento. A ativação ou sobre-expressão poderia ser também detectada em uma amostra de tecido, por exemplo, um tecido tumoral. Por medição da atividade de tirosina cinase com um ensaio tal como aquele da Chemicon International. A tirosina cinase de interesse seria imunoprecipitada a partir do lisato da amostra e sua atividade medida.

[00284] Métodos alternativos para a medição da sobre-expressão ou ativação de FGFR ou VEGFR incluindo as suas isoformas incluem a medição da densidade dos microvasos. Isso pode por exemplo ser medido usando métodos descritos por Orre e Rogers (Int J Cancer (1999), **84 (2)** 101-8). Os métodos de ensaio incluem também o uso de marcadores, por exemplo, no caso de VEGFR, esses incluem CD31, CD34 e CD105.

[00285] Portanto, todas essas técnicas poderiam ser também usadas para identificar tumores particularmente adequados para tratamento com os compostos da invenção.

[00286] Os compostos da invenção são particularmente úteis no tratamento de um paciente tendo um FGFR mutado. A mutação G697C em FGFR3 é observada em 62% dos carcinomas de células escamosas orais e causa ativação constitutiva da atividade de cinase. Mutações ativantes de FGFR3 também foram identificadas em casos de carcinoma da bexiga. Essas mutações eram de 6 tipos com graus variáveis de prevalência: R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652Q. Adicionalmente foi descoberto que um polimorfismo Gly388Arg em FGFR4 estava associado a incidência e agressividade aumentadas de câncer da próstata, cólon, pulmão, fígado (HCC) e mama. Os compostos da invenção são particularmente úteis no

tratamento de um paciente tendo uma translocação FGFR3-TACC3.

[00287] Portanto, em um aspecto adicional, a invenção inclui uso de um composto de acordo com a invenção para a fabricação de um medicamento para o tratamento ou profilaxia de um estado ou condição de doença em um paciente que foi rastreado e foi determinado como sofrendo de, ou estando em risco de sofrer de, uma doença ou condição que seria suscetível a tratamento com um composto tendo atividade contra FGFR.

[00288] Mutações particulares para as quais um paciente é rastreado incluem mutações G697C, R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652Q em FGFR3 e polimorfismo Gly388Arg em FGFR4.

[00289] Em outro aspecto, a invenção inclui um composto da invenção para uso na profilaxia ou tratamento de câncer em um paciente selecionado de uma subpopulação possuindo uma variante do gene FGFR (por exemplo, mutação G697C em FGFR3 e polimorfismo Gly388Arg em FGFR4).

[00290] A determinação por MRI da normalização dos vasos (p.ex., usando eco de gradiente de MRI, eco de spin e intensificação de contraste para medir o volume do sangue, tamanho relativo dos vasos e permeabilidade vascular) em combinação com biomarcadores em circulação (células progenitoras (CPCs), CECs, SDF1 e FGF2 em circulação) também pode ser usada para identificar tumores resistentes a VEGFR2 para tratamento com um composto da invenção.

Composições Farmacêuticas e Combinações

[00291] Tendo em vista as suas propriedades farmacológicas úteis, os compostos em questão podem ser formulados em várias formas farmacêuticas para propósitos de administração.

[00292] Em uma modalidade, a composição farmacêutica (por exemplo, formulação) compreende pelo menos um composto ativo da

invenção em conjunto com um ou mais veículos, adjuvantes, excipientes, diluentes, enchimentos, tampões, estabilizantes, conservantes, lubrificantes ou outros materiais farmacêuticamente aceitáveis bem conhecidos dos versados na técnica e opcionalmente outros agentes terapêuticos ou profiláticos.

[00293] Para preparar as composições farmacêuticas da presente invenção, uma quantidade eficaz de um composto da presente invenção como o ingrediente ativo é combinada em mistura íntima com um transportador farmacêuticamente aceitável, transportador esse que pode tomar uma ampla variedade de formas dependendo da forma de preparação desejada para administração. As composições farmacêuticas podem estar em qualquer forma adequada para administração oral, parenteral, tópica, intranasal, oftálmica, ótica, retal, intravaginal ou transdérmica. Essas composições farmacêuticas estão desejavelmente na forma de dosagem unitária adequada, preferencialmente, para administração oralmente, retalmente, percutaneamente, ou por injeção parenteral. Por exemplo, na preparação das composições na forma de dosagem oral, qualquer um dos meios farmacêuticos usuais pode ser empregue, tal como, por exemplo, água, glicóis, óleos, álcoois e similares no caso de preparações líquidas orais tais como suspensões, xaropes, elixires e soluções; ou veículos sólidos tais como amidos, açúcares, caulim, lubrificantes, ligantes, agentes desintegrantes e similares no caso de pós, pílulas, cápsulas e comprimidos.

[00294] Devido à sua facilidade na administração, os comprimidos e as cápsulas representam a mais vantajosa forma unitária de dosagem oral, caso em que são obviamente empregues veículos farmacêuticos sólidos. Para composições parenterais, o veículo irá usualmente compreender água estéril, pelo menos em grande parte, embora outros ingredientes, para auxiliar a solubilidade por exemplo, possam estar incluídos. Podem ser preparadas soluções injetáveis, por

exemplo, nas quais o veículo compreende solução salina, solução de glucose ou uma mistura de solução salina e de glucose. Podem ser também preparadas suspensões injetáveis, caso em que podem ser empregues veículos líquidos, agentes de suspensão e similares apropriados. Nas composições adequadas para administração percutânea, o veículo compreende opcionalmente um agente intensificador da penetração e/ou um agente umetante adequado, opcionalmente combinado com aditivos adequados de qualquer natureza em proporções mínimas, aditivos esses que não causam um efeito prejudicial significativo à pele. Os referidos aditivos podem facilitar a administração na pele e/ou podem ajudar na preparação das composições desejadas. Essas composições podem ser administradas de várias maneiras, por exemplo, como um penso transdérmico, com uma deposição, como uma pomada. É especialmente vantajoso formular as composições farmacêuticas acima mencionadas na forma de dosagem unitária para facilidade de administração e uniformidade de dosagem. A forma de dosagem unitária como usada na especificação e reivindicações no presente documento se refere a unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias, cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de ingrediente ativo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o veículo farmacêutico requerido. Exemplos de tais formas de dosagem unitária são comprimidos (incluindo comprimidos sulcados ou revestidos), cápsulas, pílulas, pacotes de pós, bolachas, soluções ou suspensões injetáveis, colheres de chá, colheres de sopa e similares, e seus múltiplos segregados.

[00295] É especialmente vantajoso formular as composições farmacêuticas acima mencionadas na forma de dosagem unitária para facilidade de administração e uniformidade de dosagem. A forma de dosagem unitária como usada na especificação e reivindicações no

presente documento se refere a unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias, cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de ingrediente ativo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o veículo farmacêutico requerido. Exemplos de tais formas de dosagem unitária são comprimidos (incluindo comprimidos sulcados ou revestidos), cápsulas, pílulas, pacotes de pós, bolachas, soluções ou suspensões injetáveis, colheres de chá, colheres de sopa e similares, e seus múltiplos segregados.

[00296] O composto da invenção é administrado em uma quantidade suficiente para exercer a sua atividade antitumoral.

[00297] Os versados na técnica poderiam facilmente determinar a quantidade eficaz a partir dos resultados de teste apresentados doravante. Em geral é contemplado que uma quantidade terapeuticamente eficaz seria de 0,005 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal, e em particular de 0,005 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Pode ser apropriado administrar a dose requerida como única, duas, três, quatro ou mais subdoses a intervalos apropriados ao longo do dia. As referidas subdoses podem ser formuladas como formas de dosagem unitária, por exemplo, contendo 0,5 a 500 mg, em particular 1 mg a 500 mg, mais em particular 10 mg a 500 mg de ingrediente ativo por forma de dosagem unitária.

[00298] Dependendo do modo de administração, a composição farmacêutica irá preferencialmente compreender de 0,05 a 99% em peso, mais preferencialmente de 0,1 a 70% em peso, ainda mais preferencialmente de 0,1 a 50% em peso do composto da presente invenção, e de 1 a 99,95% em peso, mais preferencialmente de 30 a 99,9% em peso, ainda mais preferencialmente de 50 a 99,9% em peso de um veículo farmacêuticamente aceitável, sendo todas as percentagens baseadas no peso total da composição.

[00299] Como outro aspecto da presente invenção, uma combinação de um composto da presente invenção com outro agente anticancerígeno é prevista, especialmente para uso como um medicamento, mais especificamente para uso no tratamento de câncer ou doenças relacionadas.

[00300] Para o tratamento das condições acima, os compostos da invenção podem ser vantajosamente empregues em combinação com um ou mais de outros agentes medicinais, mais particularmente, com outros agentes anticancerígenos ou adjuvantes em terapia contra o câncer. Exemplos de agentes anticancerígenos ou adjuvantes (apoando agentes na terapia) incluem mas não estão limitados a:

- compostos de coordenação de platina, por exemplo, cisplatina opcionalmente combinada com amifostina, carboplatina ou oxaliplatina;
- compostos de taxano, por exemplo, paclitaxel, partículas ligadas a paclitaxel proteína (AbraxaneTM) ou docetaxel;
- inibidores da topoisomerase I tais como compostos de camptotecina, por exemplo, irinotecano, SN-38, topotecano, topotecano hcl;
- inibidores da topoisomerase II tais como epipodofilotoxinas antitumorais ou derivados de podofilotoxinas, por exemplo, etoposídeo, fosfato de etoposídeo ou teniposídeo;
- alcaloides de vinca antitumorais, por exemplo, vinblastina, vincristina ou vinorelbina;
- derivados nucleosídicos antitumorais, por exemplo, 5-fluorouracila, leucovorina, gemcitabina, gemcitabina hcl, capecitabina, cladribina, fludarabina, nelarabina;
- agentes alquilantes tais como mostarda de nitrogênio ou nitrosourea, por exemplo, ciclofosfamida, clorambucil, carmustina, tiotepa, melfalan (melfalan), lomustina, altretamina, bussulfan,

dacarbazina, estramustina, ifosfamida opcionalmente em combinação com mesna, pipobroman, procarbazona, estreptozocina, telozolomida, uracila;

- derivados de antraciclina antitumorais, por exemplo, daunorrubicina, doxorrubicina opcionalmente em combinação com dexrazoxano, dóxil, idarrubicina, mitoxantrona, epirubicina, epirubicina hcl, valrubicina;

- moléculas que visam o receptor de IGF-1, por exemplo, picropodofilina;

- derivados de tetracarcina, por exemplo, tetrocarcina A;

- glucocorticoides, por exemplo, prednisona;

- anticorpos, por exemplo, trastuzumab (anticorpo para HER2), rituximab (anticorpo para CD20), gemtuzumab, ozogamicina de gemtuzumab, cetuximab, pertuzumab, bevacizumab, alemtuzumab, eculizumab, ibritumomab tiuxetano, nofetumomab, panitumumab, tositumomab, CNTO 328;

- antagonistas de receptores de estrógeno ou moduladores de receptores de estrógeno seletivos ou inibidores da síntese de estrógeno, por exemplo, tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, droloxifeno, faslodex, raloxifeno ou letrozol;

- inibidores da aromatase tais como exemestano, anastrozol, letrozol, testolactona e vorozol;

- agentes de diferenciação tais como retinoides, vitamina D ou ácido retinoico e agentes de bloqueio do metabolismo de ácido retinoico (RAMBA), por exemplo, acutano;

- inibidores de DNA metiltransferase, por exemplo, azacitidina ou decitabina;

- antifolatos, por exemplo, premetrexed dissódico;

- antibióticos, por exemplo, antinomicina D, bleomicina, mitomicina C, dactinomicina, carminomicina, daunomicina, levamisol,

plicamicina, mitramicina;

- antimetabólitos, por exemplo, clofarabina, aminopterina, citosina arabinosídeo ou metotrexato, azacitidina, citarabina, floxuridina, pentostatina, tioguanina;

- agentes indutores da apoptose e agentes antiangiogênicos tais como inibidores de Bcl-2, por exemplo, YC 137, BH 312, ABT 737, gossipol, HA 14-1, TW 37 ou ácido decanoico;

- agentes de ligação à tubulina, por exemplo, combrestatina, colchicinas ou nocodazol;

- inibidores de cinase (por exemplo, inibidores de EGFR (receptor do fator de crescimento epitelial), MTKI (inibidores de cinase com múltiplos alvos), inibidores de mTOR, inibidores de cmet), por exemplo, flavoperidol, mesilato de imatinib, erlotinib, gefitinib, dasatinib, lapatinib, ditosilato de lapatinib, sorafenib, sunitinib, maleato de sunitinib, temsirolimus, 6-{difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)][1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil}quinolina ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il)metil]quinolina ou um seu sal farmaceuticamente aceitável;

- inibidores de farnesiltransferase, por exemplo, tipifarnib;

- inibidores de histona deacetilase (HDAC), por exemplo, butirato de sódio, ácido de hidroxamida de suberoílanilida (SAHA), depsipeptídeo (FR 901228), NVP-LAQ824, R306465, JNJ-26481585, tricostatina A, vorinostat;

- Inibidores da via da ubiquitina-proteassomo, por exemplo, PS-341, MLN.41 ou bortezomib;

- Yondelis;

- Inibidores de telomerase, por exemplo, telomestatina;

- Inibidores de metaloproteinases da matriz, por exemplo, batimastat, marimastat, prinostat ou metastat;

- Interleucinas recombinantes, por exemplo, aldesleucina, denileucina diftotox, interferon alfa 2a, interferon alfa 2b, peginterferon alfa 2b;
- Inibidores de MAPK
- Retinoides, por exemplo, alitretinoína, bexaroteno, tretinoína
- Trióxido arsênico
- Asparaginase
- Esteroides, por exemplo, propionato de dromostanolona, acetato de megestrol, nandrolona (decanoato, fenpropionato), dexametasona;
- Agonistas ou antagonistas de hormônio de liberação de gonadotropina, por exemplo, abarelix, acetato de goserelina, acetato de histrelina, acetato de leuprolida;
- Talidomida, lenalidomida
- Mercaptopurina, mitotano, pamidronato, pegademase, pegaspargase, rasburicase;
- Miméticos de BH3, por exemplo, ABT-737;
- Inibidores de MEK, por exemplo, PD98059, AZD6244, CI-1040;
- análogos do fator estimulador de colônias, por exemplo, filgrastim, pegfilgrastim, sargramostim; eritropoietina ou seus análogos (por exemplo, darbepoietina alfa); interleucina 11; oprelvecina; zoledronato, ácido zoledrônico; fentanila; bisfosfonato; palifermin;
- um inibidor da 17alfa-hidroxilase-17,20-liase do citocromo P450 esteroide (CYP17), por exemplo, abiraterona, acetato de abiraterona.

[00301] Em uma modalidade, a presente invenção se relaciona com uma combinação de um composto da fórmula (I), um seu sal farmaceuticamente aceitável ou seu solvato, ou quaisquer seus

subgrupos e exemplos, e 6-{difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)][1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil}quinolina ou um seu farmacêuticamente aceitável.

[00302] Em uma modalidade, a presente invenção se relaciona com uma combinação de um composto da fórmula (I), um seu sal farmacêuticamente aceitável ou seu solvato, ou quaisquer seus subgrupos e exemplos, e 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

[00303] Em uma modalidade, a presente invenção se relaciona com uma composição farmacêutica compreendendo um composto da fórmula (I), um seu sal farmacêuticamente aceitável ou seu solvato, ou quaisquer seus subgrupos e exemplos, e 6-{difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)][1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil}quinolina ou um seu farmacêuticamente aceitável.

[00304] Em uma modalidade, a presente invenção se relaciona com uma composição farmacêutica compreendendo um composto da fórmula (I), um seu sal farmacêuticamente aceitável ou seu solvato, ou quaisquer seus subgrupos e exemplos, e 6-[difluoro(6-piridin-4-il)[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-3-il]metil]quinolina ou um seu farmacêuticamente aceitável.

[00305] Os compostos da presente invenção também têm aplicações terapêuticas na sensibilização de células tumorais para radioterapia e quimioterapia.

[00306] Consequentemente, os compostos da presente invenção podem ser usados como "radiossensibilizador" e/ou "quimiossensibilizador" ou podem ser administrados em combinação com outro "radiossensibilizador" e/ou "quimiossensibilizador".

[00307] O termo "radiossensibilizador", como usado no presente documento, é definido como uma molécula, preferencialmente uma molécula de baixo peso molecular, administrada a animais em

quantidades terapeuticamente eficazes para aumentar a sensibilidade das células à radiação ionizante e/ou para promover o tratamento de doenças que são tratáveis com radiação ionizante.

[00308] O termo "quimiossensibilizador", como usado no presente documento, é definido como uma molécula, preferencialmente uma molécula de baixo peso molecular, administrada a animais em quantidades terapeuticamente eficazes para aumentar a sensibilidade de células à quimioterapia e/ou para promover o tratamento de doenças que são tratáveis com quimioterapêuticos.

[00309] Vários mecanismos para o modo de ação de radiosensibilizadores foram sugeridos na literatura, incluindo: radiosensibilizadores de células hipóxicas (por exemplo, compostos de 2-nitroimidazol, e compostos de dióxido de benzotriazina) mimetizando oxigênio ou alternativamente se comportando como agentes biorredutores sob hipóxia; os radiosensibilizadores de células não hipóxicas (por exemplo, pirimidinas halogenadas) podem ser análogos de bases de DNA e se incorporam preferencialmente no DNA de células cancerígenas e promovem desse modo a desagregação induzida por radiação de moléculas de DNA e/ou previnem os mecanismos normais de reparação de DNA; e vários outros mecanismos de ação potenciais foram propostos para radiosensibilizadores no tratamento de doença.

[00310] Muitos protocolos de tratamento contra o câncer empregam correntemente radiosensibilizadores em conjunção com radiação de raios X. Exemplos de radiosensibilizadores ativados por raios X incluem os, mas não estão limitados aos, seguintes: metronidazol, misonidazol, desmetilmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomicina C, RSU 1069, SR 4233, EO9, RB 6145, nicotinamida, 5-bromodesoxiuridina (BUdR), 5-iododesoxiuridina (IUdR), bromodesoxicitidina, fluorodesoxiuridina (FudR), hidroxureia, cisplatina e análogos e derivados terapeuticamente eficazes dos mesmos.

[00311] A terapia fotodinâmica (PDT) de cânceres emprega luz visível como o ativador da radiação do agente sensibilizador. Exemplos de radiosensibilizadores fotodinâmicos incluem, mas não se limitam aos seguintes: derivados de hematoporfirina, Fotofrina, derivados de benzoporfirina, etioporfirina de estanho, feoborbídeo-a, bacterioclorofila-a, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de zinco, e análogos e derivados terapeuticamente eficazes dos mesmos.

[00312] Os radiosensibilizadores podem ser administrados em conjunção com uma quantidade terapeuticamente eficaz de um ou mais compostos diferentes, incluindo mas não se limitando a: compostos que promovem a incorporação de radiosensibilizadores nas células-alvo; compostos que controlam o fluxo de compostos terapêuticos, nutrientes, e/ou oxigênio para as células-alvo; agentes quimioterapêuticos que atuam no tumor com ou sem radiação adicional; ou outros compostos terapeuticamente eficazes para tratamento de câncer ou outras doenças.

[00313] Os quimiossensibilizadores podem ser administrados em conjunção com uma quantidade terapeuticamente eficaz de um ou mais outros compostos, incluindo mas não se limitando a: compostos que promovem a incorporação de quimiossensibilizadores nas células alvo; compostos que controlam o fluxo de terapêuticos, nutrientes e/ou oxigênio para as células alvo; agentes quimioterapêuticos que atuam no tumor ou outros compostos terapeuticamente eficazes para tratamento de câncer ou outra doença. Verifica-se que antagonistas de cálcio, por exemplo verapamil, são úteis em combinação com agentes antineoplásicos para se estabelecer quimiossensibilidade em células tumorais resistentes a agentes quimioterapêuticos e para potencializar a eficácia de tais compostos em malignidades sensíveis a fármacos.

[00314] Tendo em vista as suas propriedades farmacológicas úteis,

os componentes das combinações de acordo com a invenção, i.e., o um ou mais outros agentes medicinais e o composto de acordo com a presente invenção podem ser formulados em várias formas farmacêuticas para propósitos de administração. Os componentes podem ser formulados separadamente em composições farmacêuticas individuais ou em uma composição farmacêutica unitária contendo todos os componentes.

[00315] A presente invenção se relaciona, por isso, com uma composição farmacêutica compreendendo o um ou mais outros agentes medicinais e o composto de acordo com a presente invenção em conjunto com um veículo farmacêutico.

[00316] A presente invenção refere-se adicionalmente ao uso de uma combinação de acordo com a invenção na fabricação de uma composição farmacêutica para inibição do crescimento de células tumorais.

[00317] A presente invenção refere-se adicionalmente a um produto contendo como primeiro ingrediente ativo um composto de acordo com a invenção e como ingrediente ativo adicional um ou mais agentes anticancerígenos, como uma preparação combinada para uso simultâneo, separado ou sequencial no tratamento de pacientes sofrendo de câncer.

[00318] O um ou mais outros agentes medicinais e o composto de acordo com a presente invenção podem ser administrados simultaneamente (por exemplo, em composições separadas ou unitárias) ou sequencialmente em qualquer ordem. Neste último caso, os dois ou mais compostos serão administrados no espaço de um período e em uma quantidade e modo que sejam suficientes para assegurar que é alcançado um efeito vantajoso ou sinérgico. Será apreciado que o método e ordem de administração preferenciais e as respectivas quantidades e regimes de dosagem para cada componente da

combinação dependerão do outro agente medicinal particular e composto da presente invenção sendo administrados, da sua via de administração, do tumor particular sendo tratado e do hospedeiro particular sendo tratado. O método e ordem de administração e as quantidades e regime de dosagem ótimos podem ser prontamente determinados por aqueles versados na técnica usando métodos convencionais e tendo em vista a informação apresentada no presente documento.

[00319] A razão de pesos entre o composto de acordo com a presente invenção e o um ou mais outro(s) agente(s) anticancerígeno(s) quando administrados como uma combinação pode ser determinada pelo versado na técnica. As referidas razão e dosagem e frequência exatas da administração dependem do composto particular de acordo com a invenção e do(s) outro(s) agente(s) anticancerígeno(s) usado(s), da condição clínica particular sendo tratada, da gravidade da condição clínica sendo tratada, da idade, peso, gênero, regime alimentar, momento da administração e estado físico geral do paciente particular, do modo de administração bem como de outra medicação que o indivíduo possa estar tomando, como é bem conhecido daqueles versados na técnica. Além do mais é evidente que a quantidade diária eficaz pode ser diminuída ou aumentada dependendo da resposta do sujeito tratado e/ou dependendo da avaliação do médico prescrevendo os compostos da presente invenção. Uma razão de pesos particular para o presente composto da fórmula (I) e outro agente anticancerígeno pode variar de 1/10 a 10/1, mais em particular de 1/5 a 5/1, ainda mais em particular de 1/3 a 3/1.

[00320] O composto de coordenação de platina é vantajosamente administrado em uma dosagem de 1 a 500 mg por metro quadrado (mg/m^2) de área superficial corporal, por exemplo 50 a 400 mg/m^2 , particularmente para cisplatina em uma dosagem de cerca de 75

mg/m² e para carboplatina em cerca de 300 mg/m² por ciclo de tratamento.

[00321] O composto taxano é vantajosamente administrado em uma dosagem de 50 a 400 mg por metro quadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por exemplo 75 a 250 mg/m², particularmente para o paclitaxel em uma dosagem de cerca de 175 a 250 mg/m² e para o docetaxel em cerca de 75 a 150 mg/m² por ciclo de tratamento.

[00322] O composto camptotecina é vantajosamente administrado em uma dosagem de 0,1 a 400 mg por metro quadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por exemplo 1 a 300 mg/m², particularmente para irinotecano em uma dosagem de cerca de 100 a 350 mg/m² e para topotecano em cerca de 1 a 2 mg/m² por ciclo de tratamento.

[00323] O derivado de podofilotoxina antitumoral é vantajosamente administrado em uma dosagem de 30 a 300 mg por metro quadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por exemplo 50 a 250 mg/m², particularmente para etoposídeo em uma dosagem de cerca de 35 a 100 mg/m² e para teniposídeo em cerca de 50 a 250 mg/m² por ciclo de tratamento.

[00324] O vinca alcaloide antitumoral é vantajosamente administrado em uma dosagem de 2 a 30 mg por metro quadrado (mg/m²) de área superficial corporal, particularmente para vinblastina em uma dosagem de cerca de 3 a 12 mg/m², para vincristina em uma dosagem de cerca de 1 a 2 mg/m² e para vinorelbina em uma dosagem de cerca de 10 a 30 mg/m² por ciclo de tratamento.

[00325] O derivado de nucleosídeo antitumoral é vantajosamente administrado em uma dosagem de 200 a 2.500 mg por metro quadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por exemplo, 700 a 1500 mg/m², particularmente para 5-FU em uma dosagem de 200 a 500 mg/m², para gemcitabina em uma dosagem de cerca de 800 a 1.200 mg/m² e para capecitabina em cerca de 1.000 a 2.500 mg/m²

por ciclo de tratamento.

[00326] Os agentes alquilantes tais como mostarda de nitrogênio ou nitrosourea são vantajosamente administrados em uma dosagem de 100 a 500 mg por metro quadrado (mg/m^2) de área superficial corporal, por exemplo 120 a 200 mg/m^2 , particularmente para ciclofosfamida em uma dosagem de cerca de 100 a 500 mg/m^2 , para clorambucil em uma dosagem de cerca de 0,1 a 0,2 mg/kg , para carmustina em uma dosagem de cerca de 150 a 200 mg/m^2 , e para lomustina em uma dosagem de cerca de 100 a 150 mg/m^2 por ciclo de tratamento.

[00327] O derivado de antraciclina antitumoral é vantajosamente administrado em uma dosagem de 10 a 75 mg por metro quadrado (mg/m^2) de área superficial corporal, por exemplo, 15 a 60 mg/m^2 , particularmente para doxorubicina em uma dosagem de cerca de 40 a 75 mg/m^2 , para daunorrubicina em uma dosagem de cerca de 25 a 45 mg/m^2 e para idarrubicina em uma dosagem de cerca de 10 a 15 mg/m^2 por ciclo de tratamento.

[00328] O agente antiestrogênio é vantajosamente administrado em uma dosagem de cerca de 1 a 100 mg diariamente dependendo do agente particular e da condição sendo tratada. O tamoxifeno é vantajosamente administrado oralmente em uma dosagem de 5 a 50 mg, preferencialmente 10 a 20 mg duas vezes por dia, continuando a terapia durante tempo suficiente para se alcançar e manter um efeito terapêutico. O toremifeno é vantajosamente administrado oralmente em uma dosagem de cerca de 60 mg uma vez por dia, continuando a terapia durante tempo suficiente para se alcançar e manter um efeito terapêutico. O anastrozol é vantajosamente administrado oralmente em uma dosagem de cerca de 1 mg uma vez por dia. O droloxifeno é vantajosamente administrado oralmente em uma dosagem de cerca de 20-100 mg uma vez por dia. O raloxifeno é vantajosamente administrado oralmente em uma dosagem de cerca de 60 mg uma vez por

dia. O exemestano é vantajosamente administrado oralmente em uma dosagem de cerca de 25 mg uma vez por dia.

[00329] Os anticorpos são vantajosamente administrados em uma dosagem de cerca de 1 a 5 mg por metro quadrado (mg/m^2) de área superficial corporal, ou como conhecido na técnica, se diferente. O trastuzumab é vantajosamente administrado em uma dosagem de 1 a 5 mg por metro quadrado (mg/m^2) de área superficial corporal, particularmente 2 a 4 mg/m^2 por ciclo de tratamento.

[00330] Essas dosagens podem ser administradas, por exemplo, uma vez, duas vezes ou mais por ciclo de tratamento, que pode ser repetida por exemplo a cada 7, 14, 21 ou 28 dias.

[00331] Os componentes da fórmula (I), os seus sais de adição farmacologicamente aceitáveis, em particular sais de adição de ácido farmacologicamente aceitáveis, e formas estereoisoméricas podem ter propriedades de diagnóstico valiosas na medida em que podem ser usadas para detecção ou identificação da formação de um complexo entre um composto marcado e outras moléculas, peptídeos, proteínas, enzimas ou receptores.

[00332] Os métodos de detecção ou identificação podem usar compostos que estão marcados com agentes de marcação tais como radioisótopos, enzimas, substâncias fluorescentes, substâncias luminosas, etc. Exemplos de radioisótopos incluem ^{125}I , ^{131}I , ^3H e ^{14}C . As enzimas são usualmente tornadas detectáveis por conjugação de um substrato apropriado que, por seu turno, catalisa uma reação detectável. Seus exemplos incluem, por exemplo, beta-galactosidase, beta-glucosidase, fosfatase alcalina, peroxidase e malato desidrogenase, preferencialmente peroxidase de rábano-silvestre. As substâncias luminosas incluem, por exemplo, luminol, derivados de luminol, luciferina, aquorina e luciferase.

[00333] As amostras biológicas podem ser definidas como tecido

corporal ou fluidos corporais. Exemplos de fluidos corporais são fluido cerebrospinal, sangue, plasma, soro, urina, expectoração, saliva e similares.

Rotas Sintéticas Gerais

[00334] Os seguintes exemplos ilustram a presente invenção mas são somente exemplos e não se destinam a limitar o escopo das reivindicações de qualquer modo.

[00335] Os intermediários da fórmula (II) podem ser preparados como descrito em WO2011/135376, WO2013/061074 e WO2014/174307, que são incorporados no presente documento por referência.

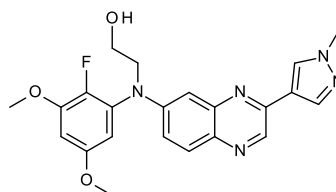
Parte Experimental

[00336] Doravante, o termo 'DCM' ou ' CH_2Cl_2 ' significa diclorometano, 'Me' significa metila, 'Et' significa etila, 'MeOH' ou ' CH_3OH ' significa metanol, 'DMF' significa dimetilformamida, ' Et_2O ' significa éter dietílico, 'EtOAc' significa acetato de etila, 'ACN' ou ' CH_3CN ' significa acetonitrila, ' CO_2 ' significa dióxido de carbono ' $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ' significa acetato de amônio, ' H_2O ' significa água, 'NaCl' significa cloreto de sódio, 'THF' significa tetra-hidrofurano, ' MgSO_4 ' significa sulfato de magnésio, ' NH_4OH ' significa hidróxido de amônio, ' K_2CO_3 ' significa carbonato de dipotássio, ' BBr_3 ' significa tribrometo de boro, ' PPh_3 ' significa trifenilfosfina, 'DMSO' significa sulfóxido de dimetila, 'EDTA' significa ácido etilenodiaminetetraacético, 'SFC' significa Cromatografia de Fluido Supercrítico, 'MP' significa ponto de fusão, 'rt' significa temperatura ambiente.

A. Preparação dos intermediários

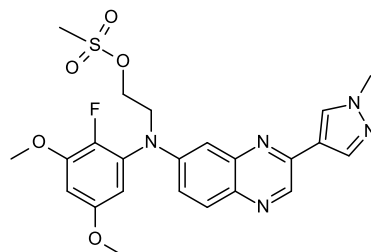
[00337] O Intermediário 1 ou 7-bromo-2-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-quinoxalina é descrito como intermediário 2 no documento WO2011/135376 e pode ser preparado de acordo com os protocolos descritos nesse documento para o intermediário 2.

gota a gota a 5 °C sob fluxo de nitrogênio e a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente ao longo de 24 horas. A mistura foi derramada em água esfriada e o produto foi extraído com EtOAc. A camada orgânica foi lavada com H₂O, seca sobre MgSO₄, filtrada e evaporada para originar 1,2 g (quant.) do intermediário 3. O produto em bruto foi usado sem qualquer purificação na etapa seguinte.



c) Preparação do intermediário 4

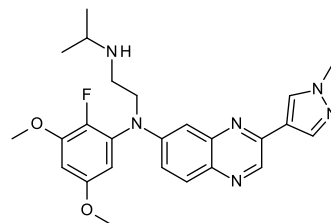
[00340] Fluoreto de tetrabutilamônio (1M em THF) (2 mL; 2 mmol) foi adicionado a uma solução do intermediário 3 (1 g; 1,85 mmol) em THF (20 mL) e a mistura reacional foi agitada ao longo de 3 horas à temperatura ambiente. A mistura reacional foi repartida entre água e EtOAc. A camada orgânica foi lavada com salmoura, seca sobre MgSO₄, filtrada e evaporada até à secura. O resíduo (1,2 g) foi purificado por cromatografia sobre sílica-gel (SiOH irregular, 15-40 µm, 80 g, eluente: DCM a 98%, MeOH a 2%, NH₄OH a 0,1%). As frações puras foram coletadas e o solvente evaporado. O resíduo (500 mg) foi cristalizado a partir de éter de dietila. O precipitado foi filtrado e seco, dando origem a 410 mg (52%) de intermediário 4. MP: 172 °C (K).



d) Preparação do intermediário 5

[00341] Cloreto de metanosulfonila (0,3 mL; 3,88 mmol) foi adicionado gota a gota a 5 °C a uma solução do intermediário 4 (547 mg; 1,29 mmol) e trietilamina (0,9 mL; 6,46 mmol) em DCM (15 mL). A mistura reacional foi agitada a essa temperatura durante 1 hora,

diluída com DCM e vertida em uma solução aquosa de K_2CO_3 a 10%. A camada orgânica foi decantada, seca sobre $MgSO_4$, filtrada e evaporada para dar 850 mg (>100%) do intermediário 5. O produto em bruto foi usado sem purificação na etapa seguinte.

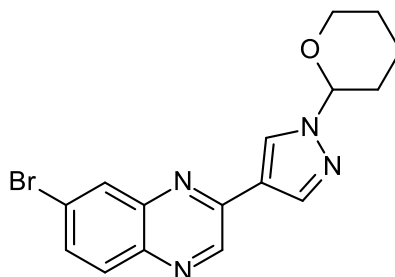


e) Preparação do intermediário 6

[00342] Uma mistura do intermediário 5 (0,648 g; 1,29 mmol) e isopropilamina (2,4 mL; 28 mmol) em CH_3CN (15 mL) foi aquecida a $100^\circ C$ durante 24 horas em um tubo selado. A mistura reacional foi resfriada até à temperatura ambiente, diluída com DCM e vertida em água. A camada orgânica foi decantada, seca sobre $MgSO_4$, filtrada e evaporada até à secura. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica-gel (SiOH irregular, 24 g; gradiente de MeOH a 3%, DCM a 97% até MeOH a 10%, DCM a 90%). As frações puras foram coletadas e evaporadas para dar 452 mg (75%) do intermediário 6.

Exemplo A2

[00343] O Intermediário 7 ou 7-bromo-2-[1-(tetra-hidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-4-il]-quinoxalina é descrito no documento WO2011/135376 e pode ser preparado de acordo com o protocolo descritos nesse documento para a preparação do intermediário 2.

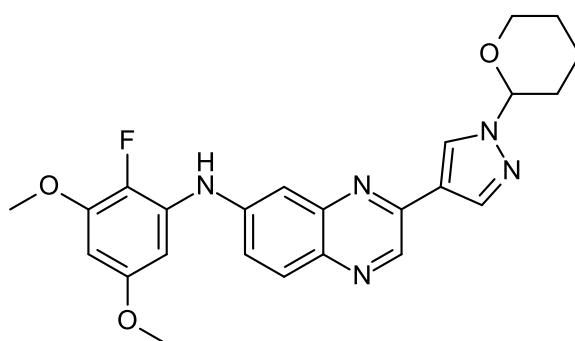


Preparação do intermediário 7

[00344] 7-bromo-2-cloroquinoxalina (87 g, 312,8 mmol), 1-(tetra-hidro-2H-piran-2-il)-4-(4, 4, 5, 5-tetrametil-1, 3, 2-dioxaborolan-2-il)-1H-

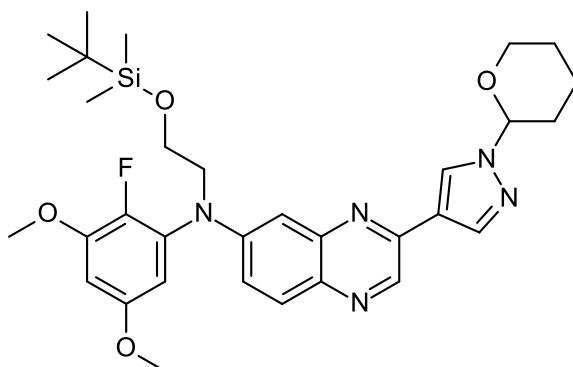
pirazol (76,6 g, 312,8 mmol), carbonato de sódio aquoso a 2M (156,4 mL, 318,8 mmol) em éter de dimetila de etilenoglicol (1,5 L) foram desgaseificados com N₂ durante 10 minutos. Depois, tetraquis (trisfenilfosfina)paládio (0) (8,6 g, 7,6 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi aquecida até ao refluxo durante a noite. A mistura foi derramada em H₂O e EtOAc. O precipitado foi filtrado e seco, dando origem a 68 g (60%) de intermediário 7.

a) Preparação de intermediário 8 :



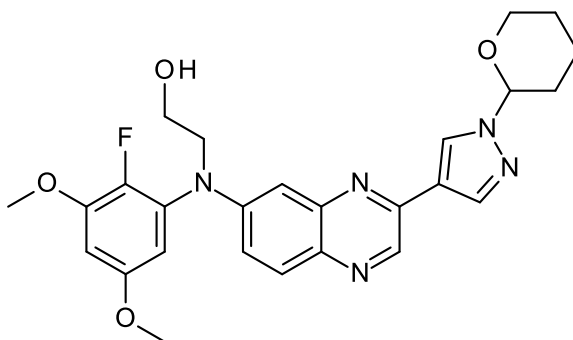
[00345] Uma mistura de intermediário 7 (4 g; 11 mmol), 2-fluoro-3,5-dimetoxianilina (2,5 g; 14,4 mmol), terc-butóxido de sódio (3,21 g; 33,4 mmol) e rac-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil (0,347 g; 0,557 mmol) em dimetiléter de etilenoglicol (200 mL) foi desgaseificada à temperatura ambiente sob fluxo de nitrogênio. Após 10 minutos, acetato de paládio (II) (125 mg; 0,56 mmol) foi adicionado em porções à temperatura ambiente sob fluxo de nitrogênio. A mistura reacional foi aquecida a 100°C durante 3 horas. A mistura reacional foi resfriada até à temperatura ambiente e vertida em água gelada e EtOAc. A mistura foi filtrada através de uma camada de celite®. A camada orgânica foi separada, lavada com uma solução saturada de NaCl, seca em MgSO₄, filtrada e evaporada até à secura. O resíduo (5,8 g) foi purificado por cromatografia em sílica-gel (sílica nua irregular, 150 g, Fase móvel: 99% de DCM, 1% de MeOH). As frações contendo o produto foram misturadas e concentradas para originar 2,8 g (56%) do intermediário 8.

b) Preparação de intermediário 9 :



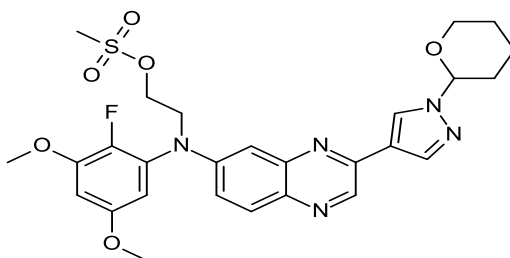
[00346] Hidreto de sódio (0,479 g; 11,97 mmol) foi adicionado em porções a uma solução do intermediário 8 (2,69 g; 5,98 mmol) em DMF (30 mL) a 5°C sob fluxo de nitrogênio. A mistura foi agitada a 5°C durante 30 minutos. (2-Bromoetoxi)-*tert*-butildimetilsilano (3,21 mL; 14,96 mmol) foi adicionado gota a gota a 5 °C sob fluxo de nitrogênio. A mistura reacional foi agitada durante 1 hora a 5 °C, de seguida foi deixada a atingir a temperatura ambiente e de seguida foi agitada a essa temperatura durante 4 horas. A mistura reacional foi vertida em água gelada e EtOAc foi adicionado. A camada orgânica foi decantada, seca sobre MgSO₄, filtrada e evaporada até à secura. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica-gel (SiOH irregular, 40 g; fase móvel: gradiente de MeOH a 0%, DCM a 100% até MeOH a 2%, DCM a 98%). As frações puras foram coletadas e evaporadas até à secura originando 3,4 g (93%) do intermediário 9.

c) Preparação do intermediário 10 :



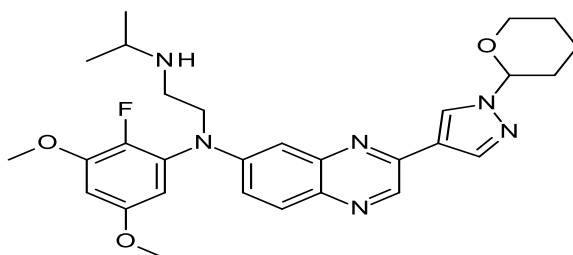
[00347] A 5 a 10 °C, fluoreto de tetrabutilamônio (1M em THF) (6,71 mL; 6,71 mmol) foi adicionado a uma solução do intermediário 9 (3,4 g; 5,59 mmol) em THF (84 mL) e a mistura reacional foi agitada ao longo de 3 horas permitindo que a temperatura atingisse a temperatura ambiente. A mistura foi vertida em água gelada e EtOAc foi adicionado. A mistura foi basificada com solução aquosa a 10% de carbonato de potássio. A camada orgânica foi separada, lavada com salmoura, seca sobre MgSO_4 , filtrada e o solvente foi evaporado para dar 3,77 g (óleo marrom) do intermediário 10 que foi usado diretamente na etapa seguinte sem purificação adicional.

d) Preparação do intermediário 11:



[00348] Cloreto de metanosulfonila (1,77 mL; 22,92 mmol) foi adicionado gota a gota a 5 °C a uma solução do intermediário 10 (3,77 g; 7,64 mmol) e trietilamina (5,32 mL; 38,19 mmol) em DCM (75 mL). A mistura reacional foi agitada a 5 °C durante 1 hora e depois 1 hora à temperatura ambiente. A mistura reacional foi vertida em água gelada e DCM foi adicionado. A camada orgânica foi separada, seca sobre MgSO_4 , filtrada e o solvente foi evaporado até à secura (30 °C) para dar 5,5 g (óleo marrom) do intermediário 11 que foi usado diretamente na etapa seguinte sem purificação adicional.

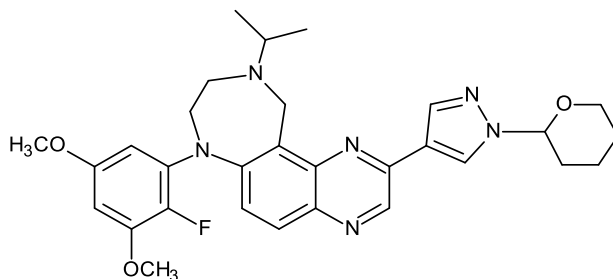
e) Preparação do intermediário 12:



[00349] A reação foi realizada 10 vezes, cada vez, em 550 mg do intermediário 11 e de seguida, as 10 reações foram combinadas para a purificação.

[00350] Em um tubo selado, uma mistura do intermediário 11 (550 mg; 0,96 mmol), isopropilamina (6,6 mL; 76,97 mmol) em acetonitrila (8 mL) foi aquecida a 140 °C usando um micro-ondas de modo único com uma potência de saída variando desde 0 até 400 W por 1 hora de tempo de paragem fixo. As 10 reações foram combinadas e a mistura resultante foi vertida em água e EtOAc. A camada orgânica foi lavada com água, salmoura, seca sobre MgSO₄, filtrada e evaporada. O resíduo (4,34 mg) foi purificado por cromatografia sobre sílica-gel (SiO₂, 80 g, fase móvel: DCM a 95%, MeOH a 5%, NH₄OH a 0,5%). As frações puras foram coletadas e o solvente foi evaporado para dar 2,71 g (53%; espuma amarela) do intermediário 12.

f) Preparação do intermediário 13:

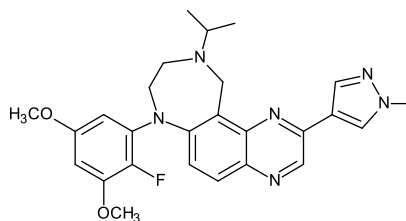


[00351] Uma mistura do intermediário 12 (2,71 g; 5,07 mmol) e uma solução de formaldeído (1,9 mL; 25,34 mmol, 37% em água) em dioxano (60 mL) foi aquecida a 60 °C durante 3 dias. Adicionou-se água e EtOAc. A mistura foi extraída várias vezes com EtOAc. As camadas orgânicas foram combinadas, de seguida lavadas com salmoura, secas sobre MgSO₄, filtradas e o solvente foi evaporado para dar 2,84 g de espuma amarela. Esse resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica-gel (irregular, 15-40 µm, 80 g: Fase móvel: NH₄OH a 0,1%, DCM a 99%, MeOH a 1%). As frações puras foram coletadas e o solvente foi evaporado para dar 1,75 g (63%;

espuma amarela) do intermediário 13.

B. Preparação dos compostos da fórmula (I)

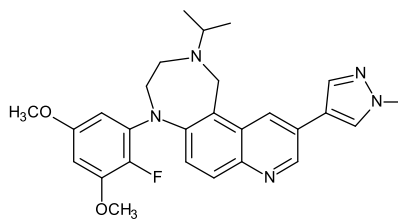
Exemplo B1:



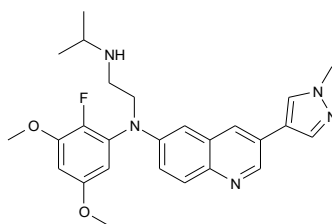
Preparação do composto 1

[00352] Uma solução do intermediário 6 (382 mg; 0,82mmol) e formaldeído (37% solução em água ; 308 μ L; 4,11 mmol) em dioxano (10 mL) foi aquecida a 60 °C durante 3 dias. Adicionaram-se H₂O e EtOAc. A camada orgânica foi decantada, seca sobre MgSO₄, filtrada e evaporada até à secura. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica-gel (Sílica nua esférica 5 μ m 150 x 30,0 mm, gradiente: heptano a 71%, MeOH a 1% (+10% NH₄OH), EtOAc a 28% até heptano a 0%, MeOH a 20% (+10% NH₄OH), EtOAc a 80%). As frações puras foram coletadas e evaporadas até à secura. O resíduo resultante (253 mg) foi cristalizado a partir de ACN. O precipitado foi filtrado e seco, dando origem a 167 mg (42%) do composto 1 . MP: 166 °C (K).

Exemplo B2:



Preparação do composto 2



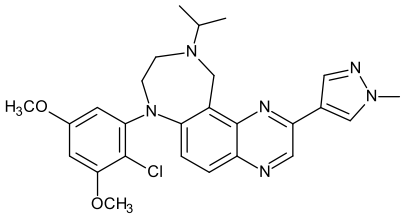
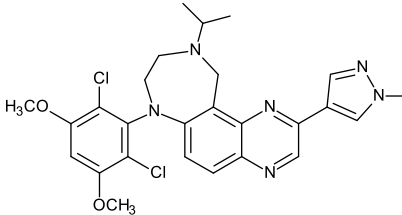
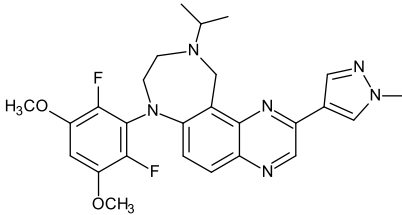
[00353] Uma solução de (composto 2 de WO2013/061074) (0,123 mg; 0,27 mmol), formaldeído (solução a 37%

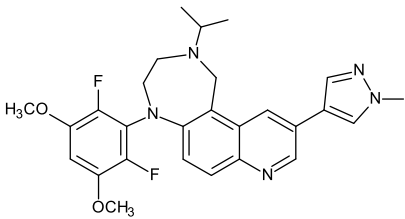
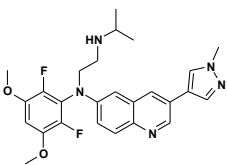
em água; 0,08 mL; 1 mmol) e dioxano (4 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 144 horas. De seguida, adicionaram-se H₂O e EtOAc. A camada orgânica foi separada, foi seca sobre MgSO₄, filtrada e evaporada até à secura.

[00354] O resíduo resultante (127 mg) foi purificado por cromatografia de sílica-gel (15-40 µm, 40 g, CH₂Cl₂/CH₃OH/NH₄OH: 96/4/0.1) As frações puras foram coletadas e evaporadas até à secura para dar um composto intermediário (41 mg) que foi liofilizado como acetonitrila/água (20/80) para dar 41 mg (33%, pó amarelo) de composto 2 .M.P.: 110 °C (engomado).

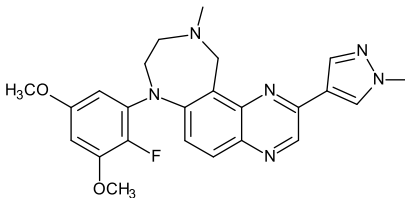
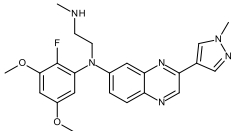
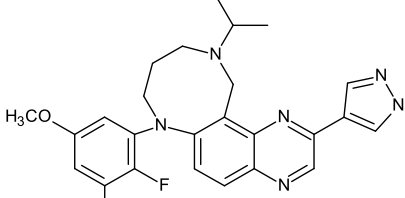
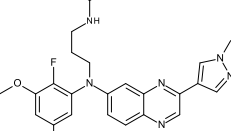
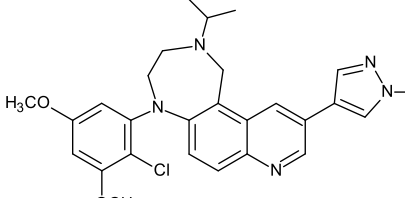
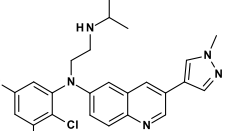
[00355] Outros compostos foram preparados de acordo com os protocolos acima dos exemplos B1 ou B2.

Por exemplo,

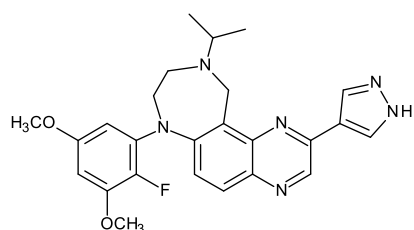
 <p>Composto 4</p>	<p>Intermediário de partida . (composto 441 de WO2011/135376)</p>
 <p>Composto 5</p>	<p>Intermediário de partida . (composto 729 de WO2011/135376)</p>
 <p>Composto 6</p>	<p>Intermediário de partida . (composto 687 de WO2011/135376)</p>

 <p>Composto 12</p>	<p>Intermediário de partida</p>  <p>(composto 42 de WO2013/061074)</p>
--	--

[00356] Outros compostos são preparados de acordo com os protocolos acima dos exemplos B1 ou B2.

 <p>Composto 7</p>	 <p>Intermediário de partida que é preparado de acordo com o protocolo conforme descrito para os compostos 441 ou 687 de WO2011/135376</p>
 <p>Composto 8</p>	 <p>Intermediário de partida que é preparado de acordo com o protocolo conforme descrito para os compostos 441 ou 687 de WO2011/135376</p>
 <p>Composto 13</p>	 <p>Intermediário de partida que é preparado de acordo com o protocolo conforme descrito para o compostos 42 de WO2013/061074</p>

Exemplo B3:



Preparação do composto 3

2,07

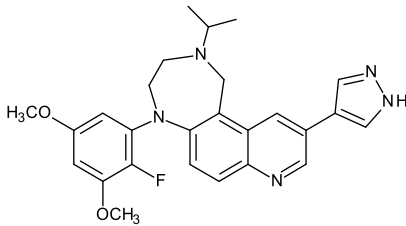
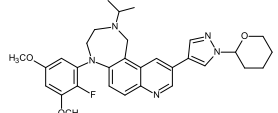
HCl 1,41 H₂O

[00357] A 5 °C, uma solução de ácido clorídrico em álcool isopropílico (2 mL; 10,24 mmol) wfoi adicionado a uma solução amarela do

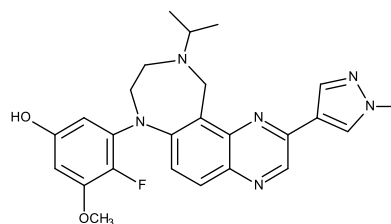
intermediário 13 (800 mg; 1,46 mmol) em metanol (2 mL). A solução tornou-se vermelha. A mistura reacional foi então agitada a 5 °C durante 2 horas. Éter dietílico foi adicionado e a mistura foi agitada durante 1 hora. O precipitado foi filtrado e seco sob vácuo para dar 705 mg (96%, sólido vermelho) do composto 3. M.P.: 210 °C (Kofler)

[00358] Outros compostos foram preparados de acordo com o protocolo acima do exemplo B3.

Por exemplo,

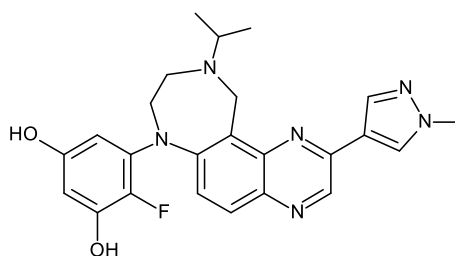
 <p>Composto 16</p>	 <p>Intermediário de partida que foi preparado de acordo com o protocolo para o intermediário 13</p>
--	---

Exemplo B4:



Preparação do composto 11

, e

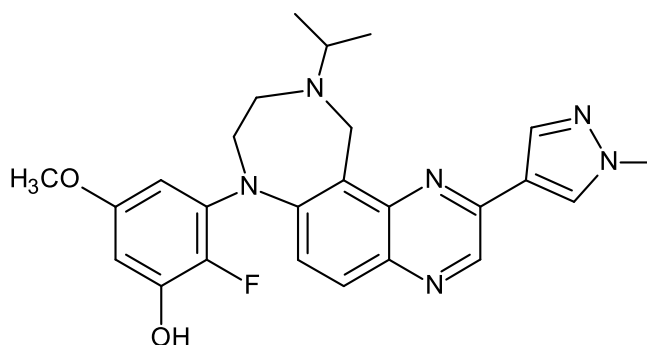


Composto 9

[00359] O composto 11 foi preparado por adição gota a gota de uma solução a 1 M de tribrometo de boro em DCM (4,2 mL; 4,2 mmol) a uma solução do composto 1 (400 mg; 0,84 mmol) em DCM (20 mL) a -10 °C/0 °C. A solução foi deixada aquecer lentamente para a temperatura ambiente e foi agitada por 15 horas. A mistura reacional foi diluída com DCM, vertida em água gelada, em seguida basificada com K₂CO₃ sólido e a camada orgânica foi decantada, lavada com

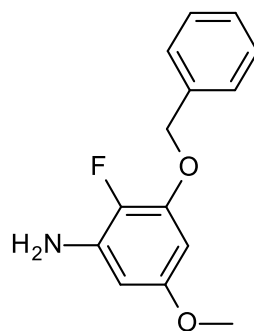
salmoura, seca sobre MgSO_4 , filtrada e evaporada até à secura. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica-gel (SiOH irregular, 24 g; fase móvel: NH_4OH a 0,1%, MeOH a 8%, DCM a 92%). As frações contendo o produto foram coletadas e evaporadas até à secura. O resíduo foi purificado por cromatografia de fase reversa (YMC-actus Triart-C18 10 μm 30*150 mm; fase móvel: gradiente desde NH_4HCO_3 a 75% (0,2% aq), ACN a 25% até NH_4HCO_3 a 35% (0,2% aq), ACN a 65%). As frações puras foram coletadas, evaporadas até à secura e cristalizadas a partir de Et_2O rendendo o composto 11 (15 mg; 4%)

[00360] O composto 9 foi preparado por adição gota a gota de uma solução a 1 M de tribrometo de boro em DCM (4,5 mL; 4,5 mmol) a uma solução do composto 1 (430 mg; 0,90 mmol) em DCM (30 mL) a $-10^\circ\text{C}/0^\circ\text{C}$. A solução foi deixada aquecer lentamente para a temperatura ambiente e foi agitada por 15 horas. A mistura reacional foi diluída com DCM , vertida em água gelada, de seguida basificada com K_2CO_3 sólido. A camada aquosa foi concentrada até 15 mL e agitada durante 3 dias à temperatura ambiente e o precipitado foi filtrado. O resíduo foi tomado com ACN , lavado com MeOH e de seguida Et_2O e seco sobre vácuo para render o composto 9 (35 mg; 9%).



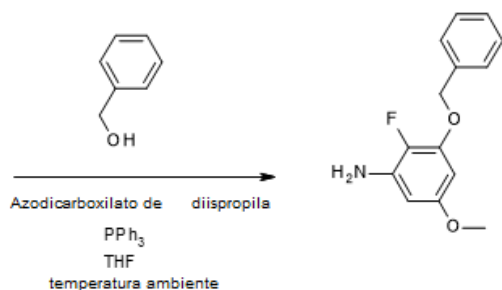
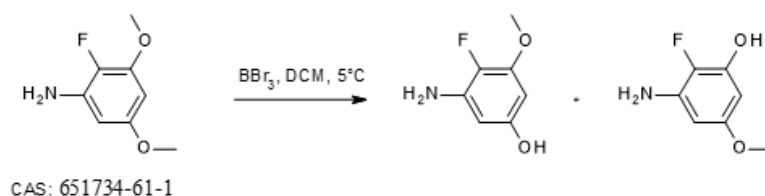
[00361] O Composto não foi identificado através do protocolo acima.

[00362] No entanto, esse composto é preparado seguindo um processo similar aquele descrito para o composto 1 iniciando em 3-

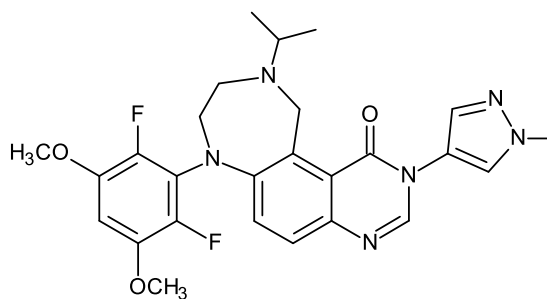


benzilóxi-2-fluoro-5-metoxianilina . A proteção de benzila é removida por hidrogenação a 100 kpa (1 bar) ou sob pressão.

[00363] Essa 3-benzilóxi-2-fluoro-5-metoxianilina é preparada de acordo com o esquema abaixo:

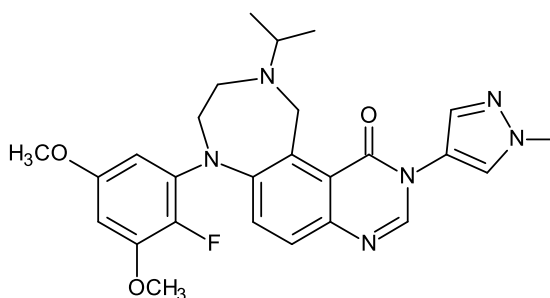


Exemplo B5 :



[00364] O composto 14

e o



composto 15 são preparados de acordo com o método relatado no esquema 2 anterior.

Parte Analítica

[00365] **LCMS** (Cromatografia líquida/Espectrometria de massa) (ver Tabela abaixo)

[00366] A medição por Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC) foi realizada usando uma bomba de LC, um detector de arranjo de díodos (DAD) ou de UV e uma coluna como especificada nos respectivos métodos. Se necessário, foram incluídos detectores adicionais (ver tabela de métodos abaixo).

[00367] O fluxo da coluna foi conduzido para o Espectrômetro de Massa (MS) que estava configurado com uma fonte de íons à pressão atmosférica. Está dentro do conhecimento do versado definir os parâmetros de ajuste (por exemplo, gama de varredura, tempo de permanência..) de modo a se obterem íons que permitam a identificação do peso molecular (PM) monoisotópico nominal do composto. A aquisição de dados foi realizada com software apropriado.

[00368] Os compostos são descritos pelos seus tempos de retenção (R_t) experimentais e íons. Se não especificado diferentemente na tabela de dados, o íon molecular relatado corresponde ao $^+$ (molécula protonada) e/ou $^-$ (molécula desprotonada). No caso de o composto não ter sido diretamente ionizável, é especificado o tipo de aduto (i.e., $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$, etc...). Para moléculas com múltiplos padrões isotópicos (Br, Cl..), o valor relatado é o obtido para a massa isotópica mais baixa. Todos os resultados foram obtidos com incertezas experimentais que estão comumente associadas ao método usado.

[00369] Doravante, "SQD" significa Detector de Quadrupolo Único, "RT" temperatura ambiente, "BEH" híbrido de etilsiloxano/sílica em ponte, "HSS" Sílica de Elevada Resistência, "DAD" Detector de Arranjo de Díodos.

[00370] Tabela de métodos: Códigos dos Métodos de LCMS (Fluxo expresso em mL/min; temperatura da coluna (T) em °C; Tempo de operação em minutos).

	Instrumento	Coluna	Fase Mmóvel
Método 1	Waters: Acquity UPLC® - DAD e Quattro Micro™	Waters: BEH C18 (1,7 µm, 2,1 x 100 mm)	A: CH ₃ COONH ₄ a 95% a 7 mM/CH ₃ CN a 5%, B: CH ₃ CN
Método 2	Waters: Acquity UPLC® H-Class - DAD e QDa	BEH®-C18 (1,7 µm, 2,1 x 1.000 mm)	A: CH ₃ COONH ₄ a 95% a 7 mM/CH ₃ CN a 5%, B: CH ₃ CN

Continuação

gradiente	Fluxo	Tempo de operação
	T da Coluna	
A a 84,2% durante 0,49 minutos, até A a 10,5% em 2,18 minutos, mantido durante 1,94 minutos, de volta para A a 84,2% em 0,73 minutos, mantido durante 0,73 minutos.	0,343	6,2
	40	
A a 95% até A a 5% em 1 min, mantido durante 1,6 min, de volta para A a 95% em 1,2 min, mantido durante 0,5 min.	0,5	3,3
	40	

Pontos de fusão

[00371] Os pontos de fusão foram obtidos com uma bancada quente de Kofler, consistindo em uma placa aquecida com um gradiente linear de temperatura, um ponteiro deslizante e uma escala de temperaturas em graus Celsius.

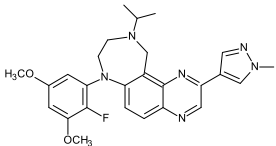
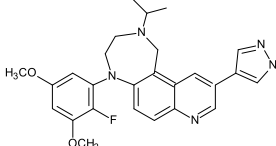
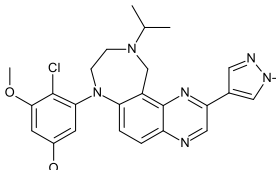
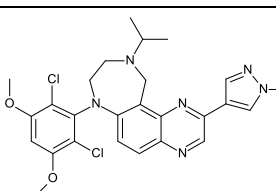
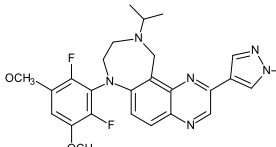
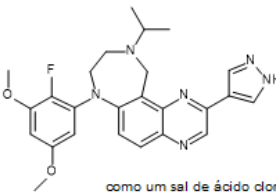
RMN

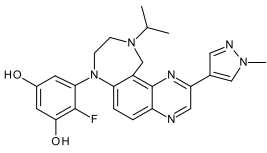
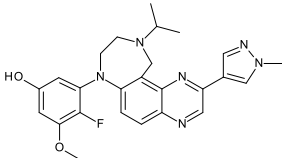
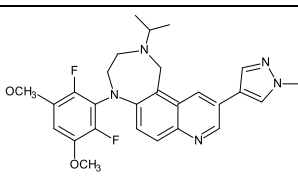
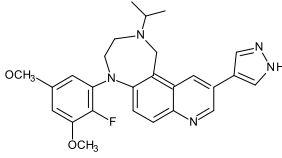
[00372] Os experimentos de RMN são levados a cabo à temperatura ambiente usando um espectrômetro Bruker Avance 500 equipado com uma cabeça de sonda de tripla ressonância inversa (¹H, ¹³C, ¹⁵N TXI) com gradientes em z e operando a 500 MHz para o próton e a 125 MHz para o carbono, ou usando um espectrômetro Bruker 400 usando bloqueio de deutério interno equipado com uma cabeça de sonda de

ressonância dupla inversa (^1H , ^{13}C , SEI) com gradientes em z e operando a 400 MHz para o próton e 100MHz para o carbono.

Tabela A1: Co. No. significa número do composto; Tempo de retenção (R_t) em minutos; MP significa ponto de fusão ($^{\circ}\text{C}$).

[00373] Como entendido por um versado na técnica, os compostos sintetizados usando os protocolos como indicado podem existir como um solvato, p.ex., hidrato e/ou conter solvente residual ou impurezas mínimas.

Co. N°	Composto	MP ($^{\circ}\text{C}$)	Kofler (K)	R_t	+	Método de LCMS
1		166	K	2,71	477	Método 1
2		110 (goma)	K	2,73	476	Método 1
4		182	K	2,78	493	Método 1
5		110 (goma)	K	2,80	527	Método 1
6		-	-	1,15	495	Método 2
3	 como um sal de ácido clorídrico	210	K	2,51	463	Método 1

Co. N°	Composto	MP (°C)	Kofler (K)	R _t	+	Método de LCMS
9		230	K	1,93	449	Método 1
11		35 (goma)	K	2,28	463	Método 1
12		128	K	2,77	494	Método 1
16		138	K	2,56	462	Método 1

Composto 1

¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 9,10 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,68 (d, J=9,14 Hz, 1H), 7,03 (d, J=9,14 Hz, 1H), 6,51 (dd, J=2,84, 6,62 Hz, 1H), 6,43 (dd, J=2,84, 5,67 Hz, 1H), 4,46 (br s, 2H), 3,97 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,74-3,79 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 2,99 (quin, J=6,54 Hz, 1H), 2,85-2,92 (m, 2H), 1,14 (d, J=6,62 Hz, 6H)

Composto 2

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,02 (d, J=2,02 Hz, 1H), 8,52 (d, J=1,52 Hz, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 7,67 (d, J=9,09 Hz, 1H), 7,03 (d, J=9,09 Hz, 1H), 6,45 (dd, J=2,78, 6,32 Hz, 1H), 6,35 (dd, J=2,78, 5,81 Hz, 1H), 4,16 (s, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,66-3,78 (m, 5H), 3,10 (quin, J=6,44 Hz, 1H), 2,83 (br t, J=4,55 Hz, 2H), 1,12 (d, J=6,57 Hz, 6H)

Parte farmacológica**Ensaio biológicos A****FGFR1 (ensaio enzimático)**

[00374] Em um volume de reação final de 30 µL, FGFR1 (h) (25

ng/mL) é incubado com HEPES a 50 mM pH 7,5, MnCl_2 a 6 mM, DTT a 1 mM, Na_3VO_4 a 0,1 mM, Triton-X-100 a 0,01%, Btn-Flt3 a 500 nM e ATP a 5 μM na presença de composto (DMSO a 1% final). Após incubação durante 60 minutos à temperatura ambiente, a reação é parada com EU-anti P-Tyr a 2,27 nM, EDTA a 7 mM, SA-XL-665 a 31,25 nM e BSA a 0,02% que está presente durante 60 minutos à temperatura ambiente. O sinal da Transferência de Energia de Ressonância de Fluorescência Resolvida no Tempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) é medido depois e os resultados são expressos em RFU (Unidades de Fluorescência Relativa). No presente ensaio, o efeito inibidor de diferentes concentrações de compostos (gama 10 μM a 0,1 nM) é determinado e usado para se calcular um valor de IC_{50} (M) e pIC_{50} ($-\log\text{IC}_{50}$).

FGFR2 (ensaio enzimático)

[00375] Em um volume de reação final de 30 μL , FGFR2 (h) (150 ng/mL) é incubado com HEPES a 50 mM pH 7,5, MnCl_2 a 6 mM, DTT a 1 mM, Na_3VO_4 a 0,1 mM, Triton-X-100 a 0,01%, Btn-Flt3 a 500 nM e ATP a 0,4 μM na presença de composto (DMSO a 1% final). Após incubação durante 60 minutos à temperatura ambiente, a reação é parada com EU-anti P-Tyr a 2,27 nM, EDTA a 7 mM, SA-XL-665 a 31,25 nM e BSA a 0,02% que está presente durante 60 minutos à temperatura ambiente. O sinal da Transferência de Energia de Ressonância de Fluorescência Resolvida no Tempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) é medido depois e os resultados são expressos em RFU (Unidades de Fluorescência Relativa). No presente ensaio, o efeito inibidor de diferentes concentrações de compostos (gama 10 μM a 0,1 nM) é determinado e usado para se calcular um valor de IC_{50} (M) e pIC_{50} ($-\log\text{IC}_{50}$).

FGFR3 (ensaio enzimático)

[00376] Em um volume de reação final de 30 μL , FGFR3 (h) (40

ng/mL) é incubado com HEPES a 50 mM pH 7,5, MnCl_2 a 6 mM, DTT a 1 mM, Na_3VO_4 a 0,1 mM, Triton-X-100 a 0,01%, Btn-Flt3 a 500 nM e ATP a 25 μM na presença de composto (DMSO a 1% final). Após incubação durante 60 minutos à temperatura ambiente, a reação é parada com EU-anti P-Tyr a 2,27 nM, EDTA a 7 mM, SA-XL-665 a 31,25 nM e BSA a 0,02% que está presente durante 60 minutos à temperatura ambiente. O sinal da Transferência de Energia de Ressonância de Fluorescência Resolvida no Tempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) é medido depois e os resultados são expressos em RFU (Unidades de Fluorescência Relativa). No presente ensaio, o efeito inibidor de diferentes concentrações de compostos (gama 10 μM a 0,1 nM) é determinado e usado para se calcular um valor de IC_{50} (M) e pIC_{50} ($-\log\text{IC}_{50}$).

EGFR4 (ensaio enzimático)

[00377] Em um volume de reação final de 30 μL , EGFR4 (h) (60 ng/mL) é incubado com HEPES a 50 mM pH 7,5, MnCl_2 a 6 mM, DTT a 1 mM, Na_3VO_4 a 0,1 mM, Triton-X-100 a 0,01%, Btn-Flt3 a 500 nM e ATP a 5 μM na presença de composto (DMSO a 1% final). Após incubação durante 60 minutos à temperatura ambiente, a reação é parada com EU-anti P-Tyr a 2,27 nM, EDTA a 7 mM, SA-XL-665 a 31,25 nM e BSA a 0,02% que está presente durante 60 minutos à temperatura ambiente. O sinal da Transferência de Energia de Ressonância de Fluorescência Resolvida no Tempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) é medido depois e os resultados são expressos em RFU (Unidades de Fluorescência Relativa). No presente ensaio, o efeito inibidor de diferentes concentrações de compostos (gama 10 μM a 0,1 nM) é determinado e usado para se calcular um valor de IC_{50} (M) e pIC_{50} ($-\log\text{IC}_{50}$).

KDR (VEGFR2) (ensaio enzimático)

[00378] Em um volume de reação final de 30 μL , KDR (h) (150

ng/mL) é incubado com HEPES a 50 mM pH 7,5, MnCl_2 a 6 mM, DTT a 1 mM, Na_3VO_4 a 0,1 mM, Triton-X-100 a 0,01%, Bdn-Fit3 a 500 nM e ATP a 3 μM na presença de composto (DMSO a 1% final). Após incubação durante 120 minutos à temperatura ambiente, a reação é parada com EU-anti P-Tyr a 2,27 nM, EDTA a 7 mM, SA-XL-665 a 31,25 nM e BSA a 0,02% que está presente durante 60 minutos à temperatura ambiente. O sinal da Transferência de Energia de Ressonância de Fluorescência Resolvida no Tempo (TR-FRET) (ex340 nm. Em 620 nm, em 655 nm) é medido depois e os resultados são expressos em RFU (Unidades de Fluorescência Relativa). No presente ensaio, o efeito inibidor de diferentes concentrações de compostos (gama 10 μM a 0,1 nM) é determinado e usado para se calcular um valor de IC_{50} (M) e pIC_{50} ($-\log\text{IC}_{50}$).

Ba/F3-FGFR1 (menos IL3 ou mais IL3) (ensaio de proliferação celular)

[00379] Em uma placa com 384 poços, 100 nL de diluição de composto em DMSO são pulverizados antes da adição de 50 μL de meio de cultura de células (RPMI-1640 isento de vermelho de fenol, FBS a 10%, L-Glutamina a 2 mM e Gentamicina a 50 $\mu\text{g/mL}$) contendo 20.000 células por poço de células transfectadas com Ba/F3-FGFR1. As células são colocadas em um incubador a 37 °C e CO_2 a 5%. Após 24 horas, 10 μL de solução Alamar Blue ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ a 0,5 mM, $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ a 0,5 mM, Resazurina a 0,15 mM e Tampão Fosfato a 100 mM) são adicionados aos poços, incubados durante 4 horas a 37 °C e CO_2 a 5% antes de as RFUs (Unidades de Fluorescência Relativa) (ex. 540 nm., em. 590 nm.) serem medidas em um leitor de placas de fluorescência.

[00380] No presente ensaio, o efeito inibidor de diferentes concentrações de compostos (gama 10 μM a 0,1 nM) é determinado e usado para se calcular um valor de IC_{50} (M) e pIC_{50} ($-\log\text{IC}_{50}$).

[00381] Como um contador de tela, a mesma experiência é realizada na presença de IL3 de murino a 10 ng/mL.

Ba/F3-FGFR3 (menos IL3 ou mais IL3) (ensaio de proliferação celular)

[00382] Em uma placa com 384 poços, 100 nL de diluição de composto em DMSO são pulverizados antes da adição de 50 µL de meio de cultura de células (RPMI-1640 isento de vermelho de fenol, FBS a 10%, L-Glutamina a 2 mM e Gentamicina a 50 µg/mL) contendo 20.000 células por poço de células transfectadas com Ba/F3-FGFR3. As células são colocadas em um incubador a 37 °C e CO₂ a 5%. Após 24 horas, 10 µL de solução Alamar Blue (K₃Fe(CN)₆ a 0,5 mM, K₄Fe(CN)₆ a 0,5 mM, Resazurina a 0,15 mM e Tampão Fosfato a 100 mM) são adicionados aos poços, incubados durante 4 horas a 37 °C e CO₂ a 5% antes de as RFUs (Unidades de Fluorescência Relativa) (ex. 540 nm., em. 590 nm.) serem medidas em um leitor de placas de fluorescência.

[00383] No presente ensaio, o efeito inibidor de diferentes concentrações de compostos (gama 10 µM a 0,1 nM) é determinado e usado para se calcular um valor de IC₅₀ (M) e pIC₅₀ (-logIC₅₀).

[00384] Como um contador de tela, a mesma experiência é realizada na presença de IL3 de murino a 10 ng/mL.

Ba/F3-KDR (menos IL3 ou mais IL3) (ensaio de proliferação celular)

[00385] Em uma placa com 384 poços, 100 nL de diluição de composto em DMSO são pulverizados antes da adição de 50 µL de meio de cultura de células (RPMI-1640 isento de vermelho de fenol, FBS a 10%, L-Glutamina a 2 mM e Gentamicina a 50 µg/mL) contendo 20.000 células por poço de células transfectadas com Ba/F3-KDR. As células são colocadas em um incubador a 37 °C e CO₂ a 5%. Após 24 horas, 10 µL de solução Alamar Blue (K₃Fe(CN)₆ a 0,5 mM, K₄Fe(CN)₆ a 0,5 mM, Resazurina a 0,15 mM e Tampão Fosfato a 100 mM) são adicionados aos poços, incubados durante 4 horas a 37 °C e CO₂ a 5% antes de as RFUs (Unidades de Fluorescência Relativa) (ex. 540 nm., em. 590 nm.) serem medidas

em um leitor de placas de fluorescência.

[00386] No presente ensaio, o efeito inibidor de diferentes concentrações de compostos (gama 10 μ M a 0,1 nM) é determinado e usado para se calcular um valor de IC_{50} (M) e pIC_{50} ($-\log IC_{50}$).

[00387] Como um contador de tela, a mesma experiência é realizada na presença de IL3 de murino a 10 ng/mL.

Ba/F3-FGFR4 (ensaio de proliferação celular)

[00388] Em uma placa com 384 poços, 100 nL de diluição de composto em DMSO são pulverizados antes da adição de 50 μ L de meio de cultura de células (RPMI-1640 isento de vermelho de fenol, FBS a 10%, L-Glutamina a 2 mM e Gentamicina a 50 μ g/mL) contendo 20.000 células por poço de células transfectadas com Ba/F3-FGFR4. As células são colocadas em um incubador a 37 °C e CO₂ a 5%. Após 24 horas, 10 μ L de solução Alamar Blue ($K_3Fe(CN)_6$ a 0,5 mM, $K_4Fe(CN)_6$ a 0,5 mM, Resazurina a 0,15 mM e Tampão Fosfato a 100 mM) são adicionados aos poços, incubados durante 4 horas a 37 °C e CO₂ a 5% antes de as RFUs (Unidades de Fluorescência Relativa) (ex. 540 nm., em. 590 nm.) serem medidas em um leitor de placas de fluorescência.

[00389] No presente ensaio, o efeito inibidor de diferentes concentrações de compostos (gama 10 μ M a 0,1 nM) é determinado e usado para se calcular um valor de IC_{50} (M) e pIC_{50} ($-\log IC_{50}$).

Ensaio biológicos B

Ensaio de Ligação Enzimática (KINOMEscan[®])

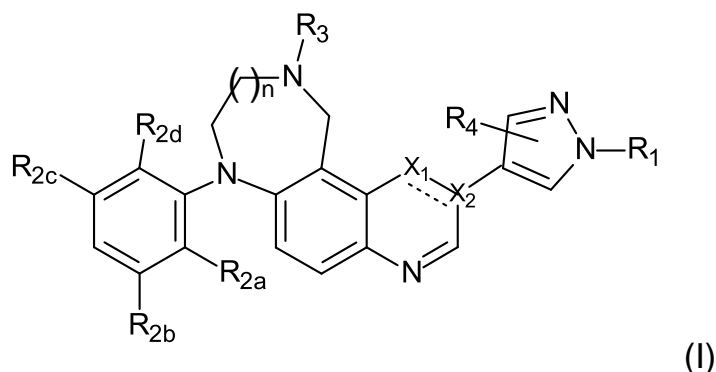
[00390] As afinidades de ligação à enzima cinase de compostos divulgados no presente documento foram determinadas usando a tecnologia KINOMEscan[®] realizada pela DiscoverX Corporation, San Diego, Califórnia, EUA (www.kinomescan.com). A Tabela A2 relata os valores de pK_d obtidos, com K_d (M) sendo o valor da constante de ligação do inibidor e com pK_d sendo $-\log K_d$:

Tabela A2

Composto	pKd FGFR1	pKd FGFR2	pKd FGFR3	pKd FGFR4	pKd VEGFR2
1	9,1	8,37	8,62	7,96	7,34
2	8,83	8,22	8,38	8,05	7,03
4	8,68	7,72	8,13	7,56	7,23
5	8,14	7,57	7,85	7,11	6,58
3	8,81	7,93	8,26	7,8	7,15
9	6,01	<5,52	<5,52	<5,52	<5,52
11	8,41	7,35	8,05	7,22	6,91
12	8,51	7,71	7,97	7,42	6,94
16	8,64	7,4	8,1	7,74	6,56

REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula (I)



incluindo qualquer forma tautomérica do mesmo, em que

X_1 é N e X_2 é C (a);

X_1 é CH e X_2 é C (b); ou

X_1 é C(=O) e X_2 é N (c);

e em que a linha pontilhada representa uma ligação no caso de (a) e (b) e em que a linha pontilhada está ausente no caso de (c);

n representa um número inteiro igual a 1 ou 2;

R_1 representa hidrogênio, alquila C_{1-6} , hidroxialquila C_{1-6} , alquila C_{1-6} substituída por $-C(=O)NHCH_3$, ou alquila C_{1-6} substituída por $-S(=O)_2$ -alquila C_{1-4} ;

R_{2a} representa flúor ou cloro;

R_{2b} representa metóxi ou hidroxila;

R_{2c} representa metóxi ou hidroxila;

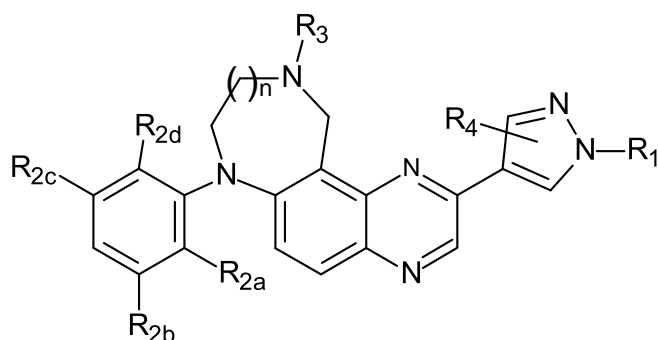
R_{2d} representa hidrogênio, flúor ou cloro;

R_3 representa hidrogênio, alquila C_{1-6} , cicloalquila C_{3-6} , ou alquila C_{1-2} substituída por cicloalquila C_{3-6} ;

R_4 representa hidrogênio, metila ou etila;

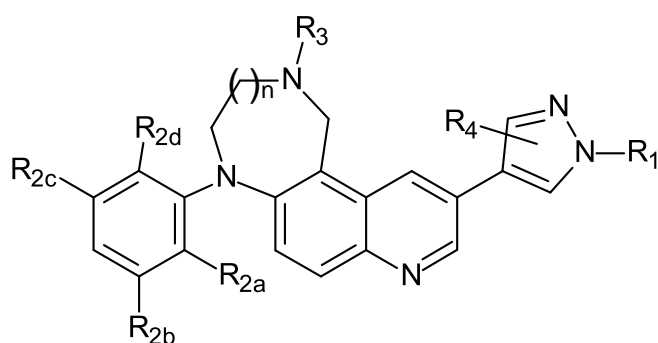
um seu sal farmaceuticamente aceitável.

2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o composto tem a seguinte estrutura



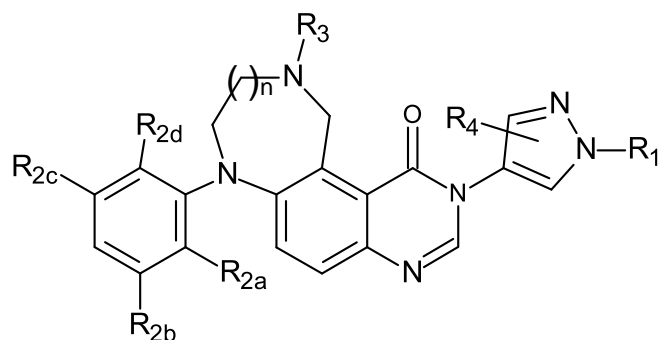
(Ia).

3. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o composto tem a seguinte estrutura



(Ib).

4. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o composto tem a seguinte estrutura



(Ic).

5. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que n representa um número inteiro igual a 1.

6. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que n representa um número inteiro igual a 2.

7. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que R_1 representa hidrogênio ou alquila C_{1-6} .

8. Composto, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que R_1 representa alquila C_{1-4} .

9. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que R_{2a} representa flúor.

10. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que R_{2b} representa metóxi.

11. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que R_{2c} representa metóxi.

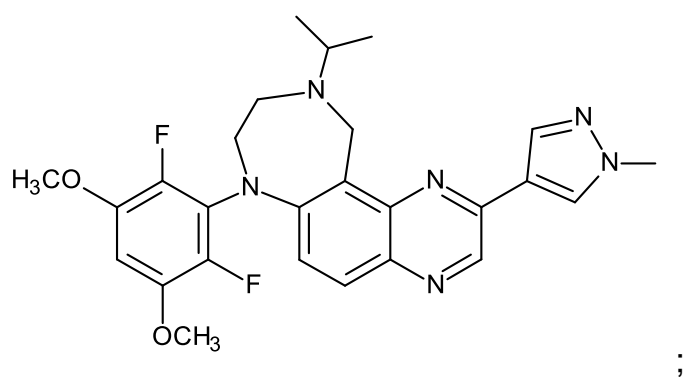
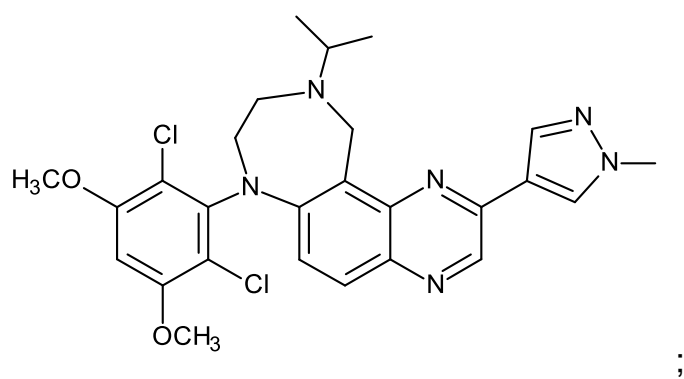
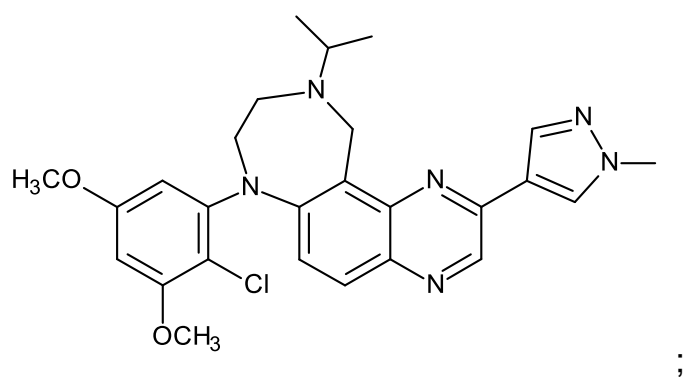
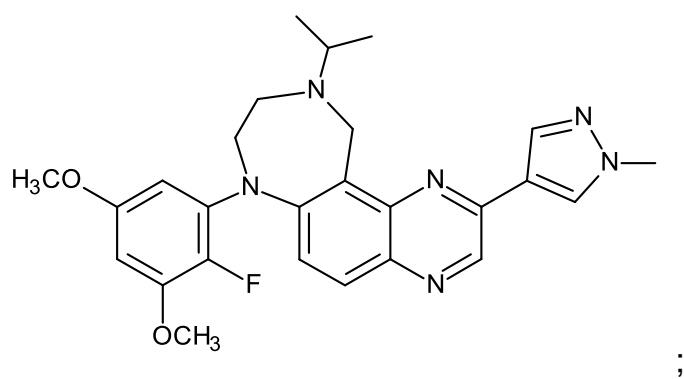
12. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que R_{2d} representa hidrogênio.

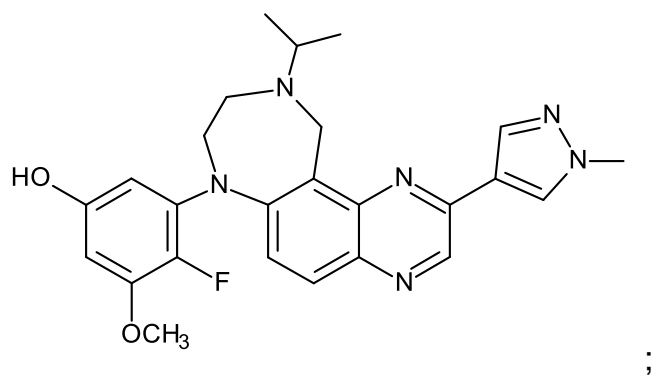
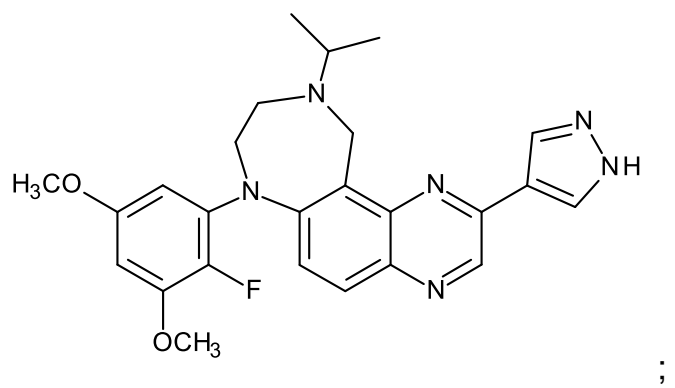
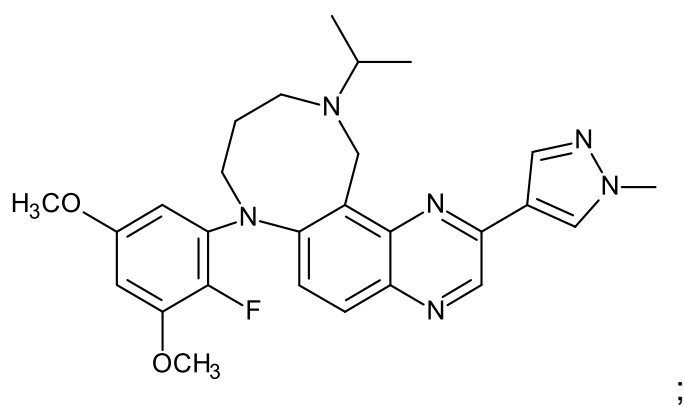
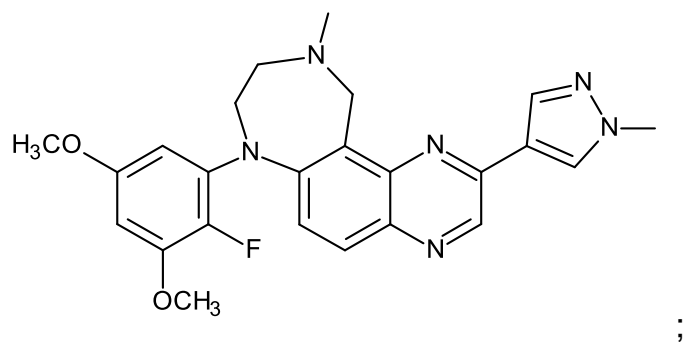
13. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que R_{2d} representa flúor ou cloro.

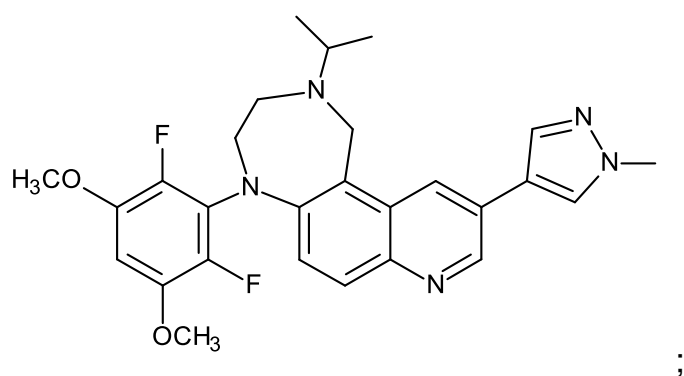
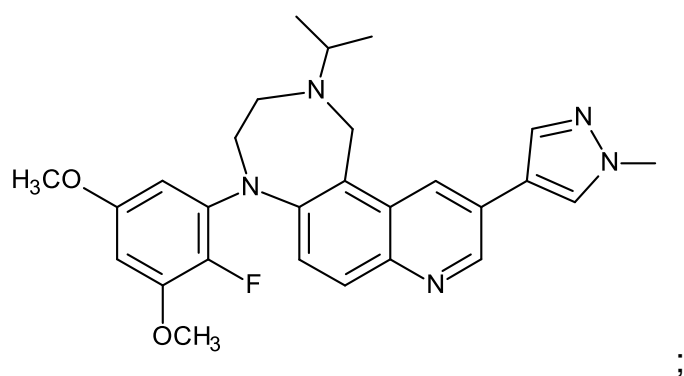
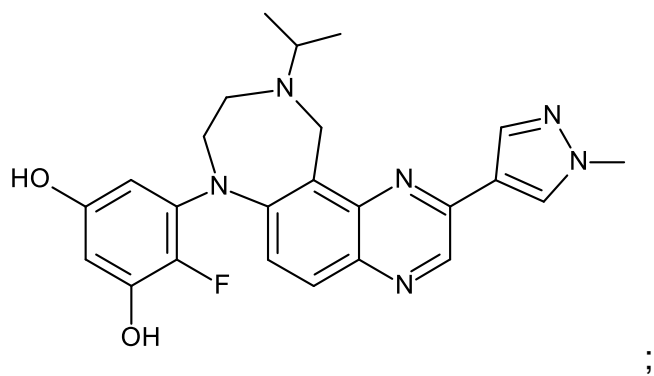
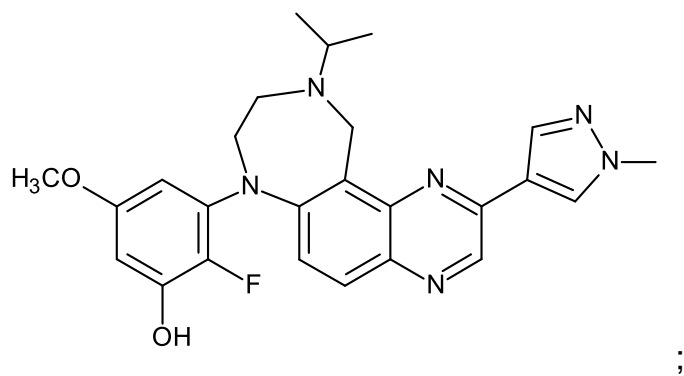
14. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de que R_3 representa alquila C_{1-6} .

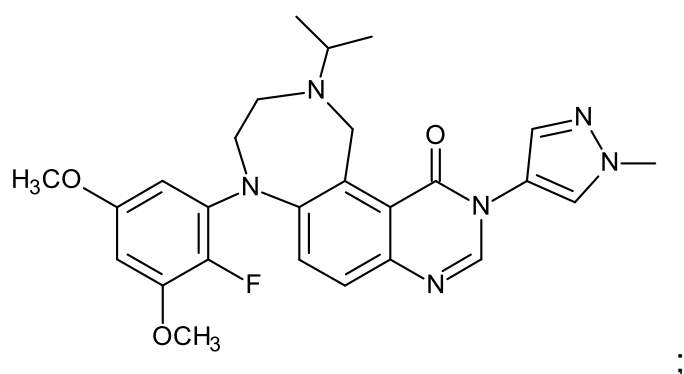
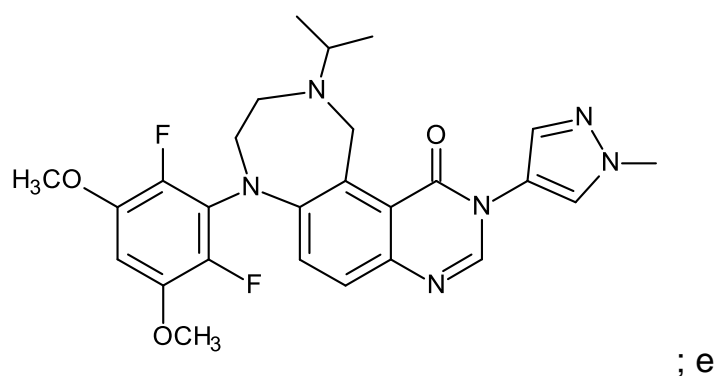
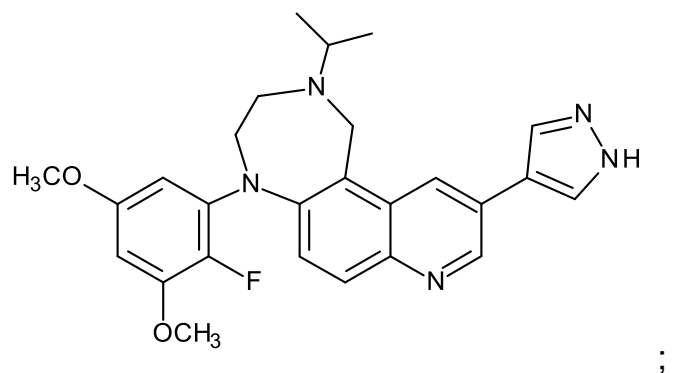
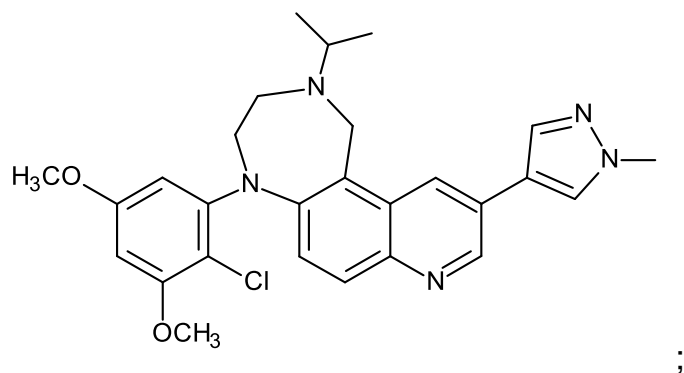
15. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de que R_4 representa hidrogênio.

16. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado de









um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

17. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um composto, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 16.

18. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para uso em terapia.

19. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para uso na profilaxia ou tratamento de câncer.

20. Uso de um composto, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para a profilaxia ou tratamento de câncer.