

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

**(51) Classificação Internacional:**

**A01N 35/00** (2017.01) **A61K 31/11** (2017.01)  
**C07D 213/80** (2017.01) **C07D 215/14** (2017.01)  
**C07C 69/76** (2017.01) **C07D 231/56** (2017.01)  
**C07D 401/04** (2017.01) **C07D 471/04** (2017.01)  
**C07D 257/04** (2017.01) **C07D 487/04** (2017.01)  
**C07D 211/62** (2017.01) **C07D 213/30** (2017.01)  
**C07C 65/21** (2017.01) **C07C 65/30** (2017.01)  
**A61K 31/192** (2017.01) **A61K 31/235** (2017.01)  
**A61K 31/41** (2017.01) **A61K 31/416** (2017.01)  
**A61K 31/437** (2017.01) **A61K 31/4406**  
(2017.01)  
**A61K 31/4439** (2017.01)

(22) Data de pedido: **2012.12.28**

(30) Prioridade(s): **2011.12.28 US**  
**201161581053 P** **2012.06.18 US**  
**201261661320 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2014.11.05**

(45) Data e BPI da concessão: **2017.08.09**  
**206/2017**

(73) Titular(es):

**GLOBAL BLOOD THERAPEUTICS, INC.**  
**400 EAST JAMIE COURT SUITE 101 SOUTH**  
**SAN FRANCISCO, CA 94080** **US**

(72) Inventor(es):

**BRIAN METCALF** **US**  
**JEFFREY WARRINGTON** **US**  
**CHIHYUAN CHUANG** **US**  
**KUMAR PAULVANNAN** **US**  
**MATTHEW P. JACOBSON** **US**

(74) Mandatário:

**MARIA SILVINA VIEIRA PEREIRA FERREIRA**  
**RUA CASTILHO Nº 50, 9º ANDAR 1269-163 LISBOA** **PT**

(54) Epígrafe: **COMPOSTOS DE BENZALDEÍDO SUBSTITUÍDO E MÉTODOS PARA A SUA UTILIZAÇÃO NO AUMENTO DA OXIGENAÇÃO DE TECIDOS**

(57) Resumo:

SÃO APRESENTADOS BENZALDEÍDOS SUBSTITUÍDOS E SEUS DERIVADOS QUE ATUAM COMO MODULADORES ALOSTÉRICOS DE HEMOGLOBINA, MÉTODOS E INTERMEDIÁRIOS PARA A SUA PREPARAÇÃO, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO OS MODULADORES, E MÉTODOS PARA A SUA UTILIZAÇÃO NO TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS MEDIADOS PELA HEMOGLOBINA E DISTÚRBIOS QUE BENEFICIARIAM DE MAIOR OXIGENAÇÃO DOS TECIDOS.

## **RESUMO**

### **"COMPOSTOS DE BENZALDEÍDO SUBSTITUÍDO E MÉTODOS PARA A SUA UTILIZAÇÃO NO AUMENTO DA OXIGENAÇÃO DE TECIDOS"**

São apresentados benzaldeídos substituídos e seus derivados que atuam como moduladores alostéricos de hemoglobina, métodos e intermediários para a sua preparação, composições farmacêuticas compreendendo os moduladores, e métodos para a sua utilização no tratamento de distúrbios mediados pela hemoglobina e distúrbios que beneficiariam de maior oxigenação dos tecidos.

## **DESCRIÇÃO**

### **"COMPOSTOS DE BENZALDEÍDO SUBSTITUÍDO E MÉTODOS PARA A SUA UTILIZAÇÃO NO AUMENTO DA OXIGENAÇÃO DE TECIDOS"**

#### **CAMPO DA INVENÇÃO**

A presente invenção diz genericamente respeito a um novo benzaldeído substituído e seus tautómeros ou sais farmaceuticamente aceitáveis que atuam como moduladores alostéricos da hemoglobina, métodos e intermediários para a sua preparação, composições farmacêuticas compreendendo os moduladores e o referido novo benzaldeído substituído e seus tautómeros ou sais farmaceuticamente aceitáveis para utilização no tratamento de distúrbios mediados pela hemoglobina e distúrbios que beneficiariam de maior oxigenação dos tecidos.

#### **ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

A hemoglobina (Hb) é uma proteína tetramérica nos eritrócitos que transporta até quatro moléculas de oxigénio desde os pulmões até vários tecidos e órgãos em todo o corpo. A hemoglobina liga e liberta oxigénio através de mudanças conformacionais e encontra-se no estado tenso (T) quando não está ligada ao oxigénio e no estado relaxado (R) quando está ligada ao oxigénio. O equilíbrio entre os dois estados conformacionais encontra-se sob regulação alostérica. Compostos naturais como 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG), protões e dióxido de carbono estabilizam a hemoglobina no seu estado T desoxigenado, enquanto o oxigénio estabiliza a hemoglobina no seu estado R oxigenado. Foram descobertos também outros estados R

relaxados, contudo o seu papel na regulação alostérica não foi totalmente elucidado.

A doença falciforme é uma doença prevalente particularmente entre pessoas de ascendência africana e mediterrânea. A hemoglobina falciforme (HbS) contém uma mutação pontual pela qual ácido glutâmico é substituído por valina, permitindo que o estado T se torne suscetível de polimerização, dotando os eritrócitos contendo HbS da sua forma falciforme característica. As células falciformes são também mais rígidas do que os eritrócitos normais e a sua falta de flexibilidade pode levar a bloqueios nos vasos sanguíneos. Foi descoberto que determinados aldeídos sintéticos deslocam o equilíbrio do estado T formando polímero para o estado R não formando polímero (Nnamani et al. Chemistry & Biodiversity Vol. 5, 2008 páginas 1762-1769) agindo como moduladores alostéricos para estabilizar o estado R por meio de formação de uma base de Schiff com um grupo amino na hemoglobina.

A US 7,160,910 revela 2-furfuraldeídos e compostos relacionados que são também moduladores alostéricos da hemoglobina. Foi descoberto que um composto 5-hidroximetil-2-furfuraldeído (5HMF) em particular é um modulador de hemoglobina potente tanto *in vitro* como *in vivo*. Descobriu-se que os ratos transgênicos produzindo HbS humana que foram tratados com 5HMF têm tempos de sobrevivência significativamente melhores quando expostos a hipóxia extrema (5% de oxigênio). Sob estas condições hipóxicas, descobriu-se que os ratos tratados com 5HMF também têm quantidades reduzidas de eritrócitos falciformes induzidos por hipoxia em comparação com ratos não tratados.

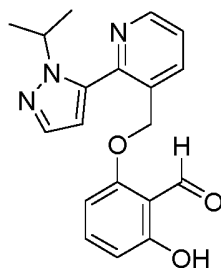
Existe a necessidade de terapêuticas que possam deslocar o equilíbrio entre estados desoxigenados e oxigenados de Hb

para tratar distúrbios que sejam mediados por Hb ou por Hb anormal tal como HbS. Existe também a necessidade de terapêuticas para tratar distúrbios que beneficiariam de ter Hb no estado R com uma maior afinidade de oxigénio. Tal terapêutica teria aplicações variando, por exemplo, de sensibilização de células tumorais hipóxicas que são resistentes a radioterapia ou quimioterapia padrão devido aos baixos níveis de oxigénio na célula, para tratar distúrbios pulmonares e ligados a hipertensão e promover a cicatrização de feridas.

ROLAN, P. E. et al., British Journal Of Clinical Pharmacology, vol. 35, nº 4, páginas 419 - 425 (1993) discute tucaresol para utilização no tratamento de anemia falciforme. OSHEIZA ABDULMALIK et al., Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography, vol. 125, nº 11, páginas 788 - 928 (2011) discute derivados de vanilina para utilização no tratamento de anemia falciforme. NNAMANI I N et al., Chemistry & Biodiversity, Helvetica Chimica Acta, vol. 5, nº 9, páginas 1762 - 1769 (2008) discute derivados piridila de benzaldeído para utilização no tratamento de anemia falciforme.

#### BREVE RESUMO DA INVENÇÃO

A presente invenção apresenta um composto que é



ou um seu tautômero ou sal farmaceuticamente aceitável.

A presente invenção também apresenta uma composição farmacêutica compreendendo um composto como definido acima, ou um seu tautômero ou sal farmaceuticamente aceitável e um excipiente farmaceuticamente aceitável.

## DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

### *1. Definições*

Como aqui usados, os termos abaixo têm os seguintes significados, salvo indicação em contrário.

As abreviaturas aqui usadas são convencionais, salvo indicação em contrário: aq = aquoso, Boc = t-butilcarboxi, (Boc)<sub>2</sub>O = dicarbonato de di-*terc*-butilo, °C = graus Célsius, mCPBA = ácido m-cloroperoxibenzoico, DCM = diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), DIBAL = hidreto de diisobutilalumínio, DMF = dimetilformamida, EtOAc = acetato de etilo, g = grama, H<sub>2</sub> = hidrogénio, H<sub>2</sub>O = água, HBr = brometo de hidrogénio, HCl = cloreto de hidrogénio, HPLC = cromatografia líquida de alta pressão, h = hora, LAH = hidreto de alumínio e lítio (LiAlH<sub>4</sub>), MeCN = acetonitrilo, MS = espectroscopia de massa, m/z = razão de massa para carga, MHz = Mega Hertz, MeOH = metanol, µM = micromolar, µL = microlitro, mg = miligrama, mM = milimolar, mmol = milimole, mL = mililitro, min = minuto, M = molar, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> = carbonato de sódio, ng = nanograma, N = Normal, NMR = ressonância magnética nuclear, Pd/C = paládio em carbono, rp = fase reversa, sat = saturado, t.a. = temperatura ambiente, TEA = trietilamina, THF = tetrahidrofurano, TFA = ácido trifluoroacético, TLC = cromatografia em camada fina e TMS = trimetilsililo.

Deve ser aqui notado que, como usado neste relatório descritivo e nas reivindicações anexas, as formas

singulares "um", "uma" e "a/o" incluem a referência plural a não ser que o contexto dite claramente de outro modo.

"Alcoxi" refere-se a -O(alquilo) em que alquilo é como aqui definido. Exemplos representativos de grupos alcoxi incluem metoxi, etoxi, *t*-butoxi e semelhantes.

"Alquilo", por si só ou como parte de um outro substituinte, significa, salvo indicação em contrário, um radical hidrocarboneto alifático totalmente saturado de cadeia linear ou ramificada, tendo o número de átomos de carbono designado. Por exemplo, "C<sub>1-8</sub>-alquilo" refere-se a um radical de hidrocarboneto linear ou ramificados, contendo de 1 a 8 átomos de carbono que é derivado pela remoção de um átomo de hidrogénio de um átomo de carbono simples de um alcano de origem. Alquilo inclui isómeros de cadeia ramificada de grupos de alquilo de cadeia linear como isopropilo, *t*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo e afins. Grupos alquilo representativos incluem grupos alquilo de cadeia linear ou ramificada tendo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 átomos de carbono. Outros grupos alquilo representativos incluem grupos alquilo de cadeia linear ou ramificada tendo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 átomos de carbono.

"Alquenilo" refere-se a um radical hidrocarboneto monovalente ou um radical hidrocarboneto monovalente ramificado tendo o número de átomos de carbono indicado no prefixo e contendo pelo menos uma ligação dupla, mas não mais de três ligações duplas. Por exemplo, C<sub>2-8</sub>-alquenilo deve incluir etenilo, propenilo, 1,3-butadienilo e afins.

"Alquinilo" significa um radical hidrocarboneto monovalente ou um radical hidrocarboneto monovalente ramificado contendo pelo menos uma ligação dupla e tendo o número de

átomos de carbono indicado no prefixo. O termo "alquinilo" também deve incluir os grupos alquilo tendo uma ligação tripla e uma ligação dupla. Por exemplo, C<sub>2-8</sub>-alquinilo deve incluir etinilo, propinilo e afins.

O termo "moduladores alostéricos" refere-se a compostos que se ligam à hemoglobina para modular a sua afinidade com o oxigénio. Num grupo de formas de realização, os moduladores atuam como estabilizadores ou desestabilizadores de uma particular conformação de hemoglobina. Num grupo de formas de realização, os moduladores estabilizam o estado R relaxado. Noutras formas de realização, os moduladores desestabilizam o estado tenso T. Num grupo de formas de realização, os moduladores alostéricos podem desestabilizar uma conformação enquanto estabilizam a outra. Em tais formas de realização, os moduladores estabilizam um estado R relaxado e desestabilizam o estado tenso T. Os moduladores, para além de modular a afinidade de hemoglobina para o oxigénio, podem também conferir propriedades adicionais à hemoglobina tal como aumentar a sua solubilidade. A presente divulgação não se destina a estar limitada ao mecanismo pelo qual os moduladores alostéricos interagem com e regulam a hemoglobina. Num grupo de formas de realização, os moduladores alostéricos inibem a polimerização de HbS e a falcização de eritrócitos. Num grupo de formas de realização, a ligação de moduladores alostéricos aqui apresentada para a hemoglobina pode ocorrer através de interações covalentes ou não covalentes. Numa forma de realização, os moduladores alostéricos reagem através do seu substituinte aldeído com um grupo amino numa cadeia lateral de aminoácido hemoglobina para formar uma base de Schiff.

"Amino" refere-se a um radical monovalente -NH<sub>2</sub>.



"Arilo" por si próprio ou como parte de outro substituinte refere-se a um grupo hidrocarboneto, aromático poliinsaturado contendo entre 6 a 14 átomos de carbono que podem ser um anel simples ou vários anéis (até três anéis) fundidos uns com os outros ou ligados de forma covalente. Assim, a frase inclui, mas não se limita a, grupos como fenilo, bifenilo, antracenilo, naftilo, a título de exemplo. Exemplos não limitativos de grupos arilo incluem fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo e 4-bifenilo.

"Ligação" quando usada como um elemento num grupo Markush, significa que o grupo correspondente não existe, e os grupos de ambos os lados estão diretamente ligados.

"Cicloalquilo" refere-se a um grupo cíclico saturado ou parcialmente saturado de entre 3 a 14 átomos de carbono e sem heteroátomos de anel e tendo um anel único ou múltiplos anéis incluindo sistemas de anel fundidos, em ponte e espiro. O termo "cicloalquilo" inclui grupos cicloalquenilo, um anel cicloalquilo parcialmente saturado tendo pelo menos um ponto de insaturação de anel  $>C=C<$ . Exemplos de grupos cicloalquilo incluem, por exemplo, adamantilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclooctilo e ciclohexenilo. " $C_{u'-v'}$ cicloalquilo" refere-se a grupos cicloalquilo tendo átomos de carbono  $u'$  a  $v'$  como membros de anel. " $C_{u'-v'}$ cicloalquenilo" refere-se a grupos cicloalquenilo tendo átomos de carbono  $u'$  a  $v'$  como membros de anel.

O termo "hemoglobina" como usado neste documento refere-se a qualquer proteína hemoglobina, incluindo hemoglobina normal (Hb) e hemoglobina falciforme (HbS).

"Heteroarilo" refere-se a um radical cíclico ou policíclico tendo pelo menos um anel aromático e de um a cinco

heteroátomos de anel selecionados de entre N, O e S, e opcionalmente um ou mais substituintes oxo (=O) associados a um ou mais átomos de anel de carbono, e em que os átomos de anel de nitrogénio e enxofre são opcionalmente oxidados. Um grupo heteroarilo pode ser associado ao resto da molécula através de um heteroátomo ou através de um átomo de carbono e pode conter de 5 a 10 átomos de carbono. Grupos heteroarilo incluem um ou mais anéis aromáticos policíclicos fundidos para grupos cicloalquilo ou heterocicloalquilo não aromáticos, e em que o ponto de fixação ao resto da molécula pode ser através de qualquer átomo de anel adequado de qualquer anel. Num grupo heteroarilo policíclico, o ou os heteroátomos de anel podem estar num anel aromático ou não aromático ou em ambos. O termo "anel aromático" inclui qualquer anel tendo pelo menos uma estrutura de ressonância planar onde  $2n+2$  eletrões pi são deslocalizados no anel. Exemplos de grupos heteroarilo incluem, mas não se limitam a, grupos imidazopiridinilo, grupos pirrolopiridinilo, grupos pirazolopiridinilo, grupos triazolopiridinilo, grupos pirazolopirazinilo, grupos piridinilo, grupos pirazinilo, grupos oxazolilo, grupos imidazolilo, grupos triazolilo, grupos tetrazolilo, grupos pirazolilo, grupos quinolinilo, grupos isoquinolinilo, grupos indazolilo, grupos benzooxazolilo, grupos naftiridinilo e grupos quinoxalinilo. Outros exemplos não limitativos de grupos heteroarilo incluem xantina, hipoxantina, 5-benzotiazolilo, purinilo, 2-benzimidazolilo, benzopirazolilo, 5-indolilo, azaindole, 1-isoquinolilo, 5-isoquinolilo, 2-quinoxalinilo, 5-quinoxalinilo, 3-quinolilo, 6-quinolil 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 1-pirazolilo, 3-pirazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, pirazinilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-piridilo, 3-

piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo e 4-pirimidilo. "Heteroarilo bicíclico" refere-se a um radical heteroarilo que contém dois anéis.

O termo "heterocicloalquilo" refere-se a um grupo cicloalquilo contendo pelo menos um heteroátomo de anel e opcionalmente um ou mais substituintes oxo. Como aqui usado, o termo "heteroátomo" pretende incluir oxigénio (O), nitrogénio (N), e enxofre (S), em que os heteroátomos são opcionalmente oxidados e o ou os átomos de nitrogénio são opcionalmente quaternizados. Cada heterociclo pode ser ligado a qualquer carbono de anel ou heteroátomo. Cada heterociclo pode ter um ou mais anéis. Quando estão presentes vários anéis, eles podem ser fundidos uns com os outros. Cada heterociclo contém normalmente 1, 2, 3, 4 ou 5 heteroátomos selecionados independentemente. De preferência, estes grupos contêm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 átomos de carbono, 0, 1, 2, 3, 4 ou 5 átomos de nitrogénio, 0, 1 ou 2 átomos de enxofre e 0, 1 ou 2 átomos de oxigénio. Mais preferencialmente, estes grupos contêm 1, 2 ou 3 átomos de nitrogénio, 0 a 1 átomos de enxofre e 0 a 1 átomos de oxigénio. Exemplos não limitativos de grupos heterociclos incluem morfolin-3-ona, piperazina-2-ona, piperazin-1-óxido, piperidina, morfolina, piperazina, isoxazolina, pirazolina, imidazolina, pirrolidina e afins.

"Halo" ou "halogénio" por si só ou como parte de um outro substituinte, significam, salvo indicação em contrário, um átomo de flúor, cloro, bromo ou iodo. Além disso, termos como "haloalquilo", destinam-se a incluir alquilo em que um ou mais hidrogénios são substituídos por átomos de halogénio, que podem ser os mesmos ou diferentes, num número que varia de um até ao número máximo de halogénios permitido por exemplo, para alquilo,  $(2m' + 1)$ , onde  $m'$  é o número total de átomos de carbono no grupo alquilo. Por

exemplo, o termo "haloC1-8alquilo" pretende incluir difluorometilo, trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo e afins. O termo "haloalquenilo" e "haloalquinilo" refere-se a radicais alquenilo e alquinilo tendo um ou mais átomos de halogénio. Para além disso, o termo "haloalcoxi" refere-se a um radical alcoxi substituído com um ou mais átomos de halogénio. Em um grupo de formas de realização, os grupos haloalquilo, haloalquenilo, haloalquinilo e haloalcoxi têm de um a cinco ou de um a três átomos halo. Exemplos de grupos haloalcoxi incluem difluorometoxi e trifluorometoxi. Num grupo de formas de realização, os átomos halo dos grupos haloalquenilo e haloalquinilo estão ligados às porções alifáticas destes grupos.

Os termos "opcional" ou "opcionalmente" como usados ao longo do relatório descritivo significam que o evento ou circunstância posteriormente descrito pode ocorrer, mas não tem necessariamente de ocorrer, e que a descrição inclui casos onde o evento ou a circunstância ocorrem e casos nos quais não ocorrem. Por exemplo, "grupo heteroarilo opcionalmente substituído por um grupo alquilo" significa que o alquilo pode, mas não precisa, estar presente, e a descrição inclui situações onde o grupo heteroarilo é substituído por um grupo alquilo e situações onde o grupo heteroarilo não é substituído pelo grupo alquilo.

"Oxo" refere-se ao átomo divalente =O.

Em cada uma das formas de realização acima designando um número de átomos, por exemplo, "C<sub>1-8</sub>" deve incluir todas as formas de realização possíveis que têm um átomo a menos. Exemplos não limitativos incluem C<sub>1-4</sub>, C<sub>1-5</sub>, C<sub>1-6</sub>, C<sub>1-7</sub>, C<sub>2-8</sub>, C<sub>2-7</sub>, C<sub>3-8</sub>, C<sub>3-7</sub> e afins.

O termo "sais farmacologicamente aceitáveis" deve incluir sais dos compostos ativos que são preparados com ácidos ou bases relativamente não tóxicos, dependendo dos substituintes particulares encontrados nos compostos descritos neste documento. Quando compostos da presente invenção contêm funcionalidades relativamente ácidas, podem ser obtidos sais de adição base por contacto da forma neutra de tais compostos com uma quantidade suficiente da base desejada, quer simples ou num solvente inerte adequado. Exemplos de sais derivados de bases inorgânicas farmacologicamente aceitáveis incluem alumínio, amónio, cálcio, cobre, férrico, ferroso, lítio, magnésio, mangânico, manganoso, potássio, sódio, zinco e afins. Sais derivados de bases orgânicas farmacologicamente aceitáveis incluem sais de amins primárias, secundárias e terciárias, incluindo amins substituídas, amins cíclicas, amins ocorrendo naturalmente e afins, tais como arginina, betaína, cafeína, colina, N, N'-dibenziletlenodiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilenodiamina, N-etilmorfolina N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina e afins. Quando compostos da presente invenção contêm funcionalidades relativamente básicas, podem ser obtidos sais de adição ácidos por contacto da forma neutra de tais compostos com uma quantidade suficiente do ácido desejado, quer simples quer num solvente inerte adequado. Exemplos de sais de adição ácidos farmacologicamente aceitáveis incluem os derivados de ácidos inorgânicos como clorídrico, bromídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, iodídrico, ou ácidos fosforosos e

afins, bem como os sais derivados de ácidos orgânicos relativamente não tóxicos como acético, propiônico, isobutírico, malônico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, mandélico, ftálico, benzenossulfônico, *p*-tolilsulfônico, cítrico, tartárico, metanossulfônico e afins. Também se incluem sais de aminoácidos como arginato e afins, e sais de ácidos orgânicos como ácidos glucurônico ou galacturônico e afins (ver, por exemplo, Berge, S.M. et al., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Science, 66:1-19, 1977). Certos compostos específicos da presente invenção contêm funcionalidades básicas e acídicas que permitem que os compostos sejam convertidos em sais de adição base ou ácidos.

As formas neutras dos compostos podem ser regeneradas contactando o sal com uma base ou ácido e isolando o composto original de maneira convencional. A forma original do composto difere das várias formas de sal em certas propriedades físicas, tais como solubilidade em solventes polares, mas de outra forma os sais são equivalentes à forma original do composto para os propósitos da presente invenção.

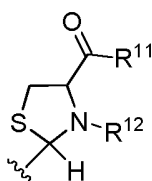
O termo "transportador ou excipiente farmacêuticamente aceitável" significa um transportador ou excipiente que é útil na preparação de uma composição farmacêutica que é geralmente segura, não tóxica e nem biologicamente nem de outra forma indesejável, e inclui um excipiente que seja aceitável para uso veterinário, bem como para uso humano farmacêutico. Um "transportador ou excipiente farmacêuticamente aceitável" como usado neste relatório descritivo e nas reivindicações inclui um ou mais de um tal transportador ou excipiente.

Os termos "quantidade farmacologicamente eficaz", "quantidade terapêuticamente eficaz" ou "dose terapêuticamente eficaz" refere-se ao montante de composto que irá provocar a resposta biológica ou médica de um tecido, sistema, animal ou humano que está sendo procurada pelo investigador, veterinário, médico ou outro clínico. O termo "quantidade terapêuticamente eficaz" inclui a quantidade de um composto que, quando administrada, é suficiente para prevenir o desenvolvimento de, ou aliviar a certo ponto, um ou mais dos sintomas da enfermidade ou distúrbio a ser tratado. A quantidade terapêuticamente eficaz variará dependendo do composto, distúrbio ou enfermidade e da sua gravidade e idade, peso, etc., do mamífero a ser tratado.

"Grupo protetor" refere-se a um grupo de átomos que, quando ligado a um grupo funcional reativo numa molécula, mascara, reduz ou previne a reatividade do grupo funcional. Tipicamente, um grupo protetor pode ser seletivamente removido como desejado durante o curso de uma síntese. Exemplos de grupos protetores podem ser encontrados em Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 3<sup>a</sup> Ed., 1999, John Wiley & Sons, Nova Iorque e Harrison et al., *Compendium of Synthetic Organic Methods*, Vols. 1-8, 1971-1996, John Wiley & Sons, Nova Iorque. Grupos protetores amino representativos incluem, mas não se limitam a, formilo, acetilo, trifluoroacetilo, benzilo, benziloxicarbonilo ("CBZ"), terc-butoxicarbonilo ("Boc"), trimetilsililo ("TMS"), 2-trimetilsilil-etanosulfonilo ("TES"), tritilo e grupos de tritilo substituído, aliloxicarbonilo, 9-fluorenil-metiloxicarbonilo ("FMOC"), nitro-veratrilocarbonilo ("NVOC") e afins. Grupos protetores representativos incluem, mas não estão limitados a, aqueles onde o grupo hidroxila é acilado ou alquilado tal como éteres benzílicos e tritílicos, bem como éteres

alquílicos, éteres tetrahidropiranílicos, éteres trialquilsilílicos (por exemplo, grupos TMS ou TIPPS) e éteres alílicos.

O termo "grupo protetor de aldeído" refere-se a qualquer grupo protetor conhecido usado para mascarar a funcionalidade aldeído. Grupos protetores de aldeído incluem acetais e hemiacetais. Os acetais e hemiacetais podem ser preparados a partir de álcoois C<sub>1-8</sub> ou diois C<sub>2-8</sub>. Num grupo de formas de realização, o grupo protetor de aldeído é um acetal cíclico com cinco ou seis membros formado a partir da condensação do aldeído com etileno ou propileno glicol. Num outro grupo de formas de realização, o grupo protetor de aldeído é uma imina ou hidroximina. Os grupos protetores de aldeído da presente divulgação também incluem grupos de pró-fármaco que convertem o aldeído num pró-fármaco, onde o aldeído é formado *in vivo* como o agente ativo sob condições fisiológicas após administração do pró-fármaco. O grupo pró-fármaco também pode servir para aumentar a biodisponibilidade do aldeído. Num grupo de formas de realização, o grupo pró-fármaco é hidrolisado *in vivo* para se tornar no aldeído. Num grupo de formas de realização, o grupo protetor de aldeído é um grupo pró-fármaco de tiazolidina ou N-acetiltiazolidina. Num grupo de formas de realização, o grupo protetor de aldeído é um grupo pró-fármaco de tiazolidina revelado na US 6,355,661. Num grupo de formas de realização, os moduladores aqui fornecidos são condensados com L-cisteína ou um derivado de L-cisteína, para formar o correspondente pró-fármaco de aldeído protegido de tiazolidina. Num grupo de formas de realização, a tiazolidina tem a fórmula





em que  $R^{11}$  é selecionado do grupo constituído por OH, alcoxi, alcoxi substituído, cicloalcoxi, cicloalcoxi substituído, ariloxi, ariloxi substituído, heteroariloxi, heteroariloxi substituído,  $N(R^{13})_2$  onde  $R^{13}$  é independentemente H, alquilo, alquilo substituído, alquenilo, alquenilo substituído, arilo, arilo substituído, heteroarilo, e heteroarilo substituído;  $R^{12}$  é H ou  $-L-R^{14}$ , em que L é carbonilo ou sulfonilo;  $R^{14}$  é selecionado do grupo constituído por alquilo, alquilo substituído, arilo, arilo substituído, heteroarilo, e heteroarilo substituído; a linha ondulada significa o ponto de fixação ao anel fenilo dos moduladores alostéricos aqui revelados; e o termo "substituído" refere-se à substituição por um ou mais substituintes selecionados de entre o grupo constituído por COOH, CHO, oxiacilo, aciloxi, cicloaciloxi, fenol, fenoxi, piridinilo, pirrolidinilo, amino, amido, hidroxil, alcoxi, cicloalcoxi, F, Cl, Br, NO<sub>2</sub>, ciano, sulfurilo e afins. Também divulgados neste documento são moduladores tendo um grupo protetor de tiazolidina onde  $R^{11}$  é alcoxi e  $R^{12}$  é H, ou onde  $R^{11}$  é OH e  $R^{12}$  é alquil - C(O)alquilo, ou onde  $R^{11}$  é NH(heteroaril) e  $R^{12}$  é -C(O)alquilo.

O termo "doença falciforme" refere-se a doenças mediadas por hemoglobina falciforme (HbS) que resulta de um único ponto de mutação na hemoglobina (Hb). As doenças falciformes incluem a anemia falciforme, doença de hemoglobina C falciforme (HbSC), talassemia beta-mais falciforme (HbS/ $\beta^+$ ) e talassemia beta-zero falciforme (HbS/ $\beta^0$ ).

O "paciente" é definido neste documento como incluindo animais como mamíferos, incluindo, mas não se limitando a, primatas (por exemplo, seres humanos), vacas, ovelhas, cabras, cavalos, cães, gatos, coelhos, ratos, ratinhos e

afins. Em formas de realização preferenciais, o paciente é um ser humano.

"Tautómero" refere-se a formas alternativas de uma molécula que diferem na posição de um próton, tais como tautómeros ceto-enol e imina-enamina, ou as formas tautoméricas de grupos heteroarilo contendo um átomo de anel  $-N=C(H)-NH-$ , tais como pirazóis, imidazóis, benzimidazóis, triazóis e tetrazóis. Um especialista da área reconhecerá que são possíveis outras modalidades de átomo de anel tautomérico.

Os termos "tratar", "tratando", "tratamento" e respectivas variações gramaticais como aqui usados incluem retardar, aliviar, mitigar ou reduzir, parcial ou completamente, a intensidade, progressão ou agravamento de um ou mais sintomas de um distúrbio ou enfermidade e/ou aliviar, mitigar ou impedir uma ou mais causas de um distúrbio ou enfermidade. Tratamentos de acordo com a invenção podem ser aplicados preventiva, profilática, paliativa ou corretivamente.

O símbolo > quando usado em conexão com um substituinte significa que o substituinte é um substituinte divalente ligado a dois átomos diferentes através de um único átomo no substituinte.

Compostos que têm a mesma fórmula molecular, mas diferem na natureza ou na sequência de ligação dos seus átomos ou na disposição dos seus átomos no espaço, são denominados "isómeros". Isómeros que diferem na disposição dos seus átomos no espaço são denominados "estereoisómeros". "Estereoisómero" e "estereoisómeros" referem-se a compostos que existem em diferentes formas estereoisoméricas se possuírem um ou mais centros assimétricos ou uma ligação dupla com substituição assimétrica e, portanto, podem ser

produzidos como estereoisómeros individuais ou como misturas. Estereoisómeros incluem enantiómeros e diastereómeros. Estereoisómeros que não são imagens espelhadas um do outro são chamados de "diastereómeros" e aqueles que são imagens espelhadas não-superponíveis um do outro são denominados "enantiómeros". Quando um composto possui um centro assimétrico, por exemplo, está ligado a quatro grupos diferentes, é possível um par de enantiómeros. Um enantiómero pode ser caracterizado pela configuração absoluta do seu centro assimétrico e é descrito pelas regras de sequenciamento R e S de Cahn e Prelog, ou pela forma como a molécula gira o plano da luz polarizada e é designado como dextrógiro ou levógiro (*i. e.*, como isómeros (+) ou (-), respetivamente). Um composto quiral pode existir como enantiómero individual ou como uma sua mistura. Uma mistura contendo proporções iguais dos enantiómeros é chamada de "mistura racémica". Salvo indicação em contrário, a descrição destina-se a incluir estereoisómeros individuais, bem como misturas. Os métodos para a determinação da estereoquímica e a separação dos estereoisómeros são conhecidos na técnica (ver discussão no Capítulo 4 de ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY, 4ª edição J. March, John Wiley and Sons, Nova Iorque, 1992) diferem na quiralidade de um ou mais estereocentros.

Os compostos da presente invenção também podem conter proporções antinaturais de isótopos atômicos em um ou mais dos átomos que constituem esses compostos. Por exemplo, os compostos podem ser radiomarcados com isótopos, como por exemplo deutério ( $^2\text{H}$ ), trítio ( $^3\text{H}$ ), iodo-125 ( $^{125}\text{I}$ ) ou carbono-14 ( $^{14}\text{C}$ ). Todas as variações isotópicas dos compostos da presente invenção, radioativas ou não, destinam-se a ser englobadas no âmbito da presente invenção.

Salvo indicação em contrário, a nomenclatura dos substituintes que não são explicitamente definidos neste documento é determinada nomeando a porção terminal da funcionalidade seguida da funcionalidade adjacente para o ponto de fixação. Por exemplo, o substituinte "alcoxialquilo" refere-se a um grupo alquilo que é substituído com alcoxi e "hidroxialquilo" refere-se a um grupo alquilo que é substituído com hidroxil. Para ambos estes substituintes, o ponto de fixação é o grupo alquilo.

Entende-se que as definições e as fórmulas fornecidas neste documento não pretendem incluir padrões de substituição inadmissíveis (por exemplo, metilo substituído com 5 grupos fluoro). Tais padrões de substituição de substituição inadmissível são bem conhecidos para o entendimento na técnica.

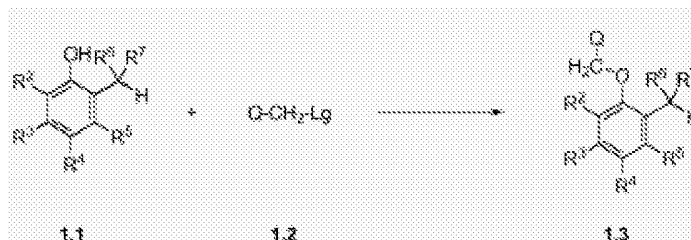
Num grupo de formas de realização, é disponibilizada uma composição farmacêutica que compreende um composto de acordo com a invenção ou um seu tautômero ou sal farmaceuticamente aceitável.

Os compostos da presente invenção podem ser preparados por técnicas de síntese orgânica conhecidas, incluindo os métodos descritos em mais detalhes nos Exemplos.

Neste documento também são divulgados métodos para preparar os compostos aqui divulgados.

Por exemplo, o Esquema I mostra uma via sintética apropriada. Fenol **1.1** é contactado com intermediário **1.2** na presença de uma base sob condições formadoras de éter para dar origem a éter **1.3**, onde Lg representa um grupo lábil, como um grupo lábil de halogênio.

Esquema I



em que no Esquema I:

Q é selecionado do grupo constituído por arilo, heteroarilo e heterocicloalquilo, cada um opcionalmente substituído por um a três Ra;

R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> e R<sup>5</sup> são selecionados independentemente do grupo composto por hidrogénio, halo, R<sup>b</sup>, OR<sup>d</sup>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>OR<sup>d</sup>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>NR<sup>d</sup>R<sup>d</sup>, OC(O)R<sup>e</sup>, SR<sup>d</sup>, CN, NO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sup>d</sup>, CONR<sup>d</sup>R<sup>d</sup>, C(O)R<sup>d</sup>, OC(O)NR<sup>d</sup>R<sup>d</sup>, NR<sup>d</sup>R<sup>d</sup>, NR<sup>d</sup>C(O)R<sup>e</sup>, NR<sup>d</sup>C(O)<sub>2</sub>R<sup>e</sup>, NR<sup>d</sup>C(O)NR<sup>d</sup>R<sup>d</sup>, S(O)R<sup>e</sup>, S(O)<sub>2</sub>R<sup>e</sup>, NR<sup>d</sup>S(O)<sub>2</sub>R<sup>e</sup>, S(O)<sub>2</sub>NR<sup>d</sup>R<sup>d</sup>, e N<sub>3</sub>, em que z é 0, 1, 2, 3, 4, 5, ou 6; ou R<sup>5</sup> é -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>R<sup>5a</sup> em que p é 0 ou 1 e R<sup>5a</sup> é OH;

R<sup>6</sup> e R<sup>7</sup> formam juntamente oxo ou um grupo protetor de aldeído, ou R<sup>6</sup> juntamente com R<sup>5</sup> forma um éter cíclico onde R<sup>5a</sup> é O, R<sup>6</sup> é uma ligação e R<sup>7</sup> é selecionado do grupo constituído por OH, C<sub>1-8</sub>alcoxi e haloC<sub>1-8</sub>alcoxi;

cada Ra é independentemente selecionado do grupo constituído por halo, R<sup>b</sup>, OR<sup>d</sup>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>OR<sup>d</sup>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>d</sup>R<sup>d</sup>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>d</sup>C(O)R<sup>e</sup>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>d</sup>C(O)<sub>2</sub>R<sup>e</sup>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>d</sup>S(O)<sub>2</sub>R<sup>e</sup>, NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>OC(O)R<sup>e</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>SR<sup>d</sup>, CN, NO<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>CO<sub>2</sub>(C<sub>1-8</sub>alquil)OH, -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>CO<sub>2</sub>(C<sub>1-8</sub>alquil)(heteroaril)C(O)(C<sub>1-8</sub>alquil), -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>CO<sub>2</sub>R<sup>d</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>CONR<sup>d</sup>R<sup>d</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>NR<sup>d</sup>C(O)R<sup>e</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>NR<sup>d</sup>C(O)<sub>2</sub>R<sup>e</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>C(O)R<sup>d</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>OC(O)NR<sup>d</sup>R<sup>d</sup>, -NR<sup>d</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>OR<sup>d</sup>, -NR<sup>d</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>N-R<sup>d</sup>R<sup>d</sup>, -NR<sup>d</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>d</sup>C(O)R<sup>e</sup>, -NR<sup>d</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>d</sup>C(O)<sub>2</sub>R<sup>e</sup>, -NR<sup>d</sup>(CH<sub>2</sub>)<sub>u</sub>NR<sup>d</sup>S(O)<sub>2</sub>R<sup>e</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>k</sub>NR<sup>d</sup>C(O)R<sup>e</sup>,

$-(\text{CH}_2)_k\text{N}-\text{R}^{\text{d}}\text{C}(\text{O})_2\text{R}^{\text{d}},$        $-(\text{CH}_2)_k\text{NR}^{\text{d}}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{d}},$        $-(\text{CH}_2)_k\text{S}(\text{O})\text{R}^{\text{e}},$   
 $-(\text{CH}_2)_k\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{e}},$        $-(\text{CH}_2)_k\text{NR}^{\text{d}}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{e}},$        $-(\text{CH}_2)_k\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{d}},$        $\text{N}_3,$   
 $-(\text{CH}_2)_k\text{arilo}$  opcionalmente substituído por um a três  $\text{R}^{\text{c}},$   
 $-\text{NR}^{\text{d}}(\text{CH}_2)_k\text{arilo}$  opcionalmente substituído por um a três  $\text{R}^{\text{c}},$   
 $-(\text{CH}_2)_k\text{heteroarilo}$  opcionalmente substituído por um a três  $\text{R}^{\text{c}},$   
 $-\text{NR}^{\text{d}}(\text{CH}_2)_k\text{heteroararilo}$  opcionalmente substituído por um a três  $\text{R}^{\text{c}},$   
 $-(\text{CH}_2)_k\text{heterocicloalquilo}$  opcionalmente substituído por um a três  $\text{R}^{\text{c}},$  e  $-\text{NR}^{\text{d}}(\text{CH}_2)_k\text{heterocicloalquilo}$  opcionalmente substituído por um a três  $\text{R}^{\text{c}}$  em que  $k$  é 0, 1, 2, 3, 4, 5, ou 6 e  $u$  é 1, 2, 3, 4, 5 ou 6;

cada  $\text{R}^{\text{b}}$  é independentemente selecionado do grupo constituído por  $\text{C}_{1-8}\text{alquilo},$   $\text{C}_{2-8}\text{alquenilo}$  e  $\text{C}_{2-8}\text{alquinilo},$  cada um opcionalmente independentemente substituído por um a três halo,  $\text{OR}^{\text{d}}$  ou  $\text{NR}^{\text{d}}\text{R}^{\text{d}};$

cada  $\text{R}^{\text{c}}$  é independentemente selecionado do grupo constituído por halo,  $\text{C}_{1-8}\text{alquilo},$  halo $\text{C}_{1-8}\text{alquilo},$   $\text{C}_{2-8}\text{alquenilo},$  halo $\text{C}_{2-8}\text{alquenilo},$   $\text{C}_{2-8}\text{alquinilo},$  halo $\text{C}_{2-8}\text{alquinilo},$   $(\text{CH}_2)_m\text{OR}^{\text{f}},$   $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{\text{g}},$   $\text{SR}^{\text{f}},$   $\text{CN},$   $\text{NO}_2,$   $\text{CO}_2\text{R}^{\text{f}},$   $\text{CONR}^{\text{f}}\text{R}^{\text{f}},$   $\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{f}},$   $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{R}^{\text{f}},$   $(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{\text{f}}\text{R}^{\text{f}},$   $\text{NR}^{\text{f}}\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{g}},$   $\text{NR}^{\text{f}}\text{C}(\text{O})_2\text{R}^{\text{g}},$   $\text{NR}^{\text{f}}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{\text{f}}\text{R}^{\text{f}},$   $\text{S}(\text{O})\text{R}^{\text{g}},$   $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{g}},$   $\text{NR}^{\text{f}}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{g}},$   $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\text{f}}\text{R}^{\text{f}},$   $\text{N}_3,$  heteroarilo opcionalmente substituído com um a três  $\text{R}^{\text{h}},$  e heterocicloalquilo opcionalmente substituído com um a três  $\text{R}^{\text{h}}$  em que

$m$  é selecionado do grupo constituído por 0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6;

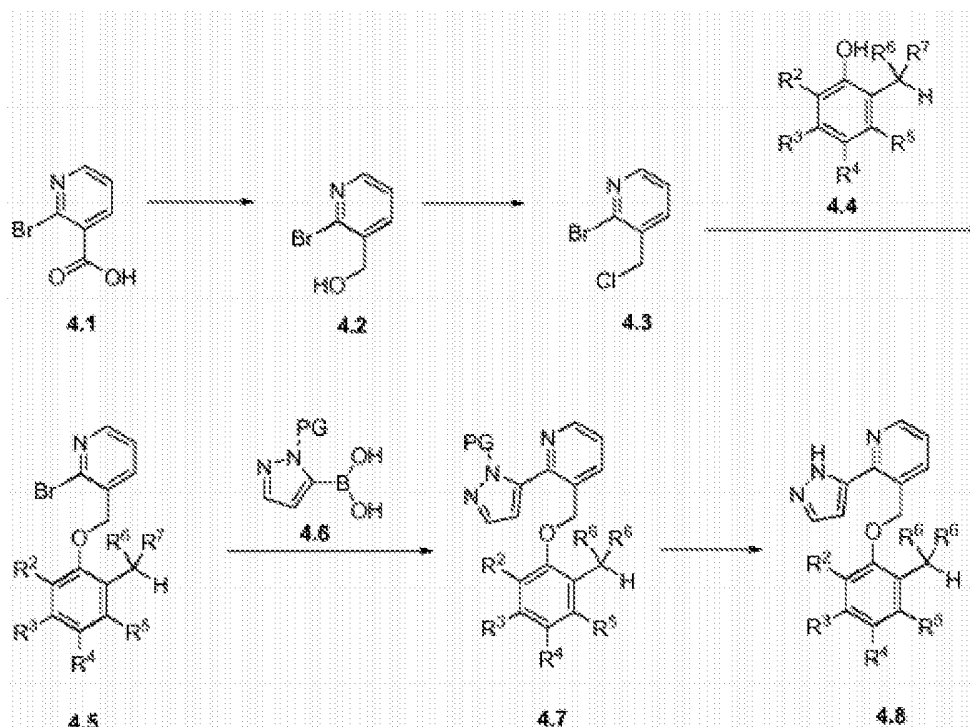
cada  $\text{R}^{\text{h}}$  é independentemente selecionado do grupo constituído por halo,  $\text{C}_{1-8}\text{alquilo},$  halo $\text{C}_{1-8}\text{alquilo},$   $\text{OR}^{\text{j}},$   $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{\text{j}},$   $\text{SR}^{\text{j}},$   $\text{NO}_2,$   $\text{CO}_2\text{R}^{\text{j}},$   $\text{CONR}^{\text{j}}\text{R}^{\text{j}},$   $\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{j}},$   $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{\text{j}}\text{R}^{\text{j}},$   $\text{NR}^{\text{j}}\text{R}^{\text{j}},$   $\text{NR}^{\text{j}}\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{t}},$   $\text{NR}^{\text{j}}\text{C}(\text{O})_2\text{R}^{\text{t}},$   $\text{NR}^{\text{j}}(\text{O})\text{NR}^{\text{j}}\text{R}^{\text{j}},$   $\text{S}(\text{O})\text{R}^{\text{t}},$   $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{t}},$   $\text{NR}^{\text{j}}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{t}}$  e  $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\text{j}}\text{R}^{\text{j}};$

$R^d$ ,  $R^f$  e  $R^j$  são cada um independentemente selecionados do grupo constituído por hidrogénio,  $C_{1-8}$ alquilo, halo $C_{1-8}$ alquilo,  $C_{2-8}$ alquenilo, halo $C_{2-8}$ alquenilo,  $C_{2-8}$ alquinilo e halo $C_{2-8}$ alquinilo; e

$R^e$ ,  $R^g$  e  $R^t$  são cada um independentemente selecionados do grupo constituído por  $C_{1-8}$ alquilo, halo $C_{1-8}$ alquilol,  $C_{2-8}$ alquenilo, halo $C_{2-8}$ alquenilo,  $C_{2-8}$ alquinilo e halo $C_{2-8}$ alquinilo.

O Esquema IV mostra um exemplo de outras etapas sintéticas. Ácido **4.1** é reduzido a álcool **4.2** usando métodos conhecidos, tais como formando o anidrido (por exemplo, tratamento com trietilamina e cloroformiato de *i*-butilo) seguido de redução com  $NaBH_4$ . Álcool **4.2** é convertido em cloreto **4.3** tal como por tratamento com cloreto de tionilo. Acoplamento do haleto com álcool **4.4** sob condições formadoras de éter dá origem ao precursor **4.5** que pode ser funcionalizado com uma variedade de grupos de  $R^a$  heteroarilo. Por exemplo, **4.5** pode ser acoplado com pirazol **4.6** sob condições de acoplamento organometálicas conhecidas (por exemplo,  $Pd(PPh_3)_4$ ) para dar origem a **4.7**, onde PG é um grupo protetor de nitrogénio como um grupo protetor de sililo que pode ser removido para dar origem ao produto **4.8**.

Esquema IV



Um entendido na técnica reconhecerá que em determinadas formas de realização pode ser vantajoso usar uma estratégia de grupo protetor. O grupo protetor pode ser removido usando métodos conhecidos dos entendidos na técnica.

Num grupo de formas de realização, alguns dos compostos divulgados neste documento podem ser utilizados genericamente como a base livre. Em alternativa, alguns dos compostos podem ser utilizados sob a forma de sais de adição ácidos.

Entende-se que noutro grupo de formas de realização, qualquer uma das formas de realização acima pode também ser combinada com outras formas de realização listadas neste documento, para formar outras formas de realização divulgadas neste documento. Da mesma forma, entende-se que em outras formas de realização, a listagem dos grupos



inclui formas de realização em que um ou mais dos elementos desses grupos não são incluídos.

## *II. Composições e Métodos de Administração*

Dependendo do modo pretendido de administração, as composições farmacêuticas podem ser sob a forma de formas de dosagem sólidas, semi-sólidas ou líquidas, de preferência em forma de dosagem unitária adequada para administração única de uma dosagem precisa. Além de uma quantidade eficaz do ou dos compostos ativos, as composições podem conter excipientes farmacêuticamente aceitáveis adequados, incluindo adjuvantes que facilitem a transformação dos compostos ativos em preparações que podem ser usadas farmacêuticamente. "Excipiente farmacêuticamente aceitável" refere-se a um excipiente ou mistura de excipientes que não interfere com a eficácia da atividade biológica do ou dos compostos ativos e que não é tóxico ou de outra forma indesejável para o paciente ao qual é administrado.

Para composições sólidas, excipientes convencionais incluem, por exemplo, níveis farmacêuticos de manitol, lactose, amido, estearato de magnésio, sacarina sódica, talco, celulose, glicose, sacarose, carbonato de magnésio e afins. Composições farmacologicamente administráveis líquidas podem, por exemplo, ser preparadas por dissolução, dispersão, etc., de um composto ativo como aqui descrito e adjuvantes farmacêuticos opcionais em água ou num excipiente aquoso, tal como, por exemplo, água, solução salina, dextrose aquosa e afins, para formar uma solução ou suspensão. Se desejado, a composição farmacêutica a ser administrada pode também conter pequenas quantidades de excipientes auxiliares não tóxicos como agentes humectantes ou emulsionantes, agentes de tamponamento de pH e

similares, por exemplo, acetato de sódio, monolaurato de sorbitano, acetato de sódio trietanolamina, oleato de trietanolamina, etc.

Para administração oral, a composição geralmente tomará a forma de um comprimido ou cápsula, ou pode ser uma solução, suspensão aquosa ou não aquosa ou xarope. Comprimidos e cápsulas são formas de administração oral preferenciais. Comprimidos e cápsulas para uso oral geralmente incluirão um ou mais excipientes comumente usados como a lactose e amido de milho. Agentes lubrificantes, tais como o estearato de magnésio, são também normalmente adicionados. Quando são usadas suspensões líquidas, o agente ativo pode ser combinado com excipientes de emulsão e suspensão. Se desejado, podem ser adicionados também agentes de aroma, coloração e/ou adoçantes. Outros excipientes opcionais para incorporação numa formulação oral incluem conservantes, agentes de suspensão, agentes espessantes e afins.

Podem ser preparadas formulações injetáveis em formas convencionais, como soluções líquidas ou suspensões, formas sólidas apropriadas para solubilização ou suspensão num líquido antes da injeção, ou como emulsões ou formulações lipossomais. A formulação injetável esterilizada também pode ser uma solução injetável esterilizada ou uma suspensão num diluente ou solvente parenteralmente aceitável não tóxico. Entre os veículos e solventes aceitáveis que podem ser utilizados estão água, solução de Ringer e solução isotónica de cloreto de sódio. Além disso, ésteres ou poliois gordos esterilizados de óleos fixos são convencionalmente empregados como solventes ou meios de suspensão.

As composições farmacêuticas desta invenção também podem ser formuladas na forma liofilizada para administração

parenteral. Formulações liofilizadas podem ser reconstituídas por adição de água ou outro meio aquoso e depois ainda mais diluídas com um diluente adequado antes de usar. A formulação líquida é geralmente uma solução tamponada aquosa isotónica. Exemplos de diluentes adequados são solução isotónica salina, 5% de dextrose em água e solução tamponada de acetato de sódio ou amónio. Podem ser adicionados excipientes sólidos ou líquidos farmacêuticamente aceitáveis para potencializar ou estabilizar a composição, ou para facilitar a preparação da composição.

Tipicamente, uma composição farmacêutica da presente invenção é embalada num recipiente com um rótulo, ou instruções ou ambos, indicando a utilização da composição farmacêutica no tratamento da doença indicada.

A composição farmacêutica pode além disso conter um ou mais outros agentes farmacologicamente ativos, para além de um composto desta invenção.

As formas de dosagem contendo quantidades eficazes dos moduladores estão dentro dos limites da experimentação de rotina e no âmbito da invenção. Uma dose terapeuticamente eficaz pode variar dependendo da via de administração e da forma de dosagem. O composto ou compostos representativos da invenção são uma formulação que apresenta um elevado índice terapêutico. O índice terapêutico é a proporção de dose entre efeitos tóxicos e terapêuticos, que pode ser expresso como a relação entre a  $LD_{50}$  e  $ED_{50}$ .  $LD_{50}$  é a dose letal para 50% da população e  $ED_{50}$  é a dose terapeuticamente eficaz em 50% da população.  $LD_{50}$  e  $ED_{50}$  são determinadas por procedimentos farmacêuticos padrão em culturas de células animais ou animais de laboratório. Deve ser entendido que um regime de dosagem e tratamento

específico para qualquer paciente particular dependerá de uma variedade de fatores, incluindo a atividade do composto específico empregado, da idade, peso corporal, saúde geral, sexo e dieta do paciente e do tempo de administração, taxa de excreção, combinação de drogas, avaliação do médico responsável e a gravidade da doença específica a ser tratada. A quantidade de ingrediente ou ingredientes ativos dependerá do composto em particular e de outro agente terapêutico, se presente, na composição.

### *III. Métodos*

A presente invenção fornece também um composto conforme divulgado neste documento para utilização num método para aumentar a oxigenação dos tecidos, o método compreendendo a administração a um paciente necessitado de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto de qualquer uma das formas de realização acima ou um seu tautômero ou sal farmacêuticamente aceitável.

A presente invenção fornece também um composto conforme divulgado neste documento para tratar uma enfermidade associada a deficiência de oxigenação, o método compreendendo a administração a um paciente necessitado de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto de qualquer uma das formas de realização acima ou um seu tautômero ou sal farmacêuticamente aceitável.

A presente invenção fornece também um composto conforme divulgado neste documento para tratar doença falciforme, cancro, distúrbio pulmonar, acidente vascular cerebral, doença das alturas, úlcera, escaras, doença de Alzheimer, síndrome de doença respiratória aguda e uma ferida, o método compreendendo a administração a um paciente necessitado de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um

composto de qualquer uma das formas de realização acima ou um seu tautômero ou sal farmaceuticamente aceitável.

#### *IV. Exemplos*

Os seguintes exemplos destinam-se a ilustrar, mas não a limitar, o âmbito da presente invenção. Compostos que fiquem fora do âmbito das reivindicações são incluídos para propósitos de referência.

##### *EXEMPLOS PREPARATIVOS*

Os materiais de partida e os reagentes utilizados na preparação destes compostos geralmente são disponibilizados por fornecedores comerciais, tais como a Aldrich Chemical Co., ou são preparados por métodos conhecidos dos entendidos na técnica seguindo procedimentos definidos em referências como Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis; Wiley & Sons: Nova Iorque, 1967-2004, Volumes 1-22; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Elsevier Science Publishers, 1989, Volumes 1-5 e Suplementos; e Organic Reactions, Wiley & Sons: Nova Iorque, 2005, Volumes 1-65.

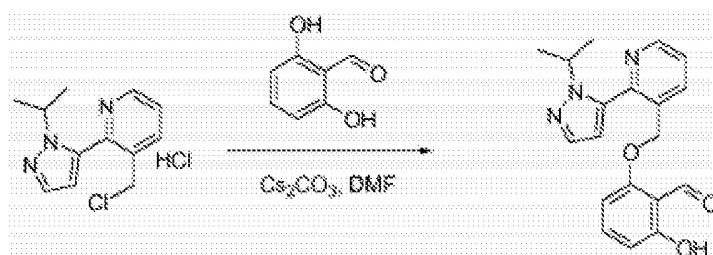
Os materiais de partida e intermediários dos esquemas de reação sintética podem ser isolados e purificados, se desejado, usando técnicas convencionais, incluindo, mas não se limitando a, filtração, destilação, cristalização, cromatografia e afins. Tais materiais podem ser caracterizados usando meios convencionais, incluindo constantes físicas e dados espectrais.

Salvo indicação em contrário, as reações descritas neste documento são conduzidas de preferência sob atmosfera inerte à pressão atmosférica numa temperatura de reação que

varia entre cerca de  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  a cerca de  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , mais preferencialmente de cerca de  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  a cerca de  $125\text{ }^{\circ}\text{C}$ , e muito preferencial e convenientemente próximo da temperatura ambiente, por exemplo, cerca de  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  a cerca de  $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Com referência aos exemplos que se seguem, os compostos divulgados neste documento foram sintetizados usando os métodos descritos neste documento, ou outros métodos conhecidos na técnica.

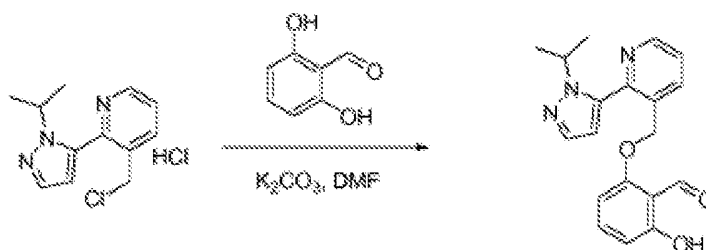
*Exemplo 1. Preparação de 2-hidroxi-6-((2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldeído.*



Uma mistura de 2,6-dihidroxibenzaldeído (1,96 g, 14,2 mmol, 2 eq.) e  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (7,5 g, 21,3 mmol, 3 eq.) em DMF (180 mL) foi agitada à t.a. durante 30 minutos. A esta mistura foi adicionado cloridrato de 3-(clorometil)-2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridina (1,93 g, 7,1 mmol, 1 eq.) à t.a. Continuou-se a agitar a mistura à t.a. O/N, sendo depois filtrada, concentrada e purificada em sílica gel usando uma mistura de EtOAc e hexanos como eluente para dar origem a 2-hidroxi-6-((2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldeído (920 mg, 37%) como um óleo amarelo claro.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11,96 (s, 1H), 10,40 (s, 1H), 8,77 (dd,  $J = 4,8, 1,5$  Hz, 1H), 8,00 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,63 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 7,49 - 7,34 (m, 2H), 6,59 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H), 6,37 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 6,29 (d,  $J = 8,2$

Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,67 (sep,  $J = 6,7$  Hz, 1H), 1,50 (d,  $J = 6,6$  Hz, 6H). LRMS ( $M+H^+$ )  $m/z$  338,1

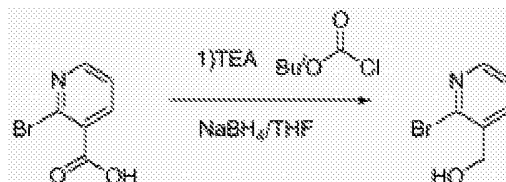
2-Hidroxi-6-((2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldeído pode também ser preparado de acordo com o seguinte método:



Uma mistura de 2,6-dihidroxibenzaldeído (1,58 g, 11,47 mmol, 2 eq.) e  $K_2CO_3$  (2,4 g, 17,22 mmol, 3 eq.) em DMF (150 mL) foi agitada à t.a. durante 10 minutos. A esta mistura foi adicionado cloridrato de 3-(clorometil)-2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridina (1,56 g, 5,74 mmol, 1 eq.) à t.a. A mistura foi aquecida a 50 °C durante 2 horas, sendo depois filtrada, concentrada e purificada em sílica gel usando uma mistura de EtOAc e hexanos como eluente para dar origem a 2-hidroxi-6-((2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldeído (1,71 g, 88%) como um sólido amarelo claro.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  11,96 (s, 1H), 10,40 (s, 1H), 8,77 (dd,  $J = 4,8, 1,5$  Hz, 1H), 8,00 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,63 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 7,49 - 7,34 (m, 2H), 6,59 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H), 6,37 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 6,29 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,67 (sep,  $J = 6,7$  Hz, 1H), 1,50 (d,  $J = 6,6$  Hz, 6H). LRMS ( $M+H^+$ )  $m/z$  338,1

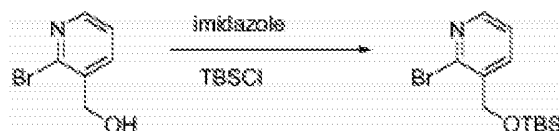
*Exemplo 2. Preparação de cloridrato de 3-(clorometil)-2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridina.*

## Etapa 1:



A uma solução de ácido 2-bromonicotínico (4,0 g, 20 mmol) e trietilamina (3,34 mL, 24 mmol, 1,2 eq.) em THF (100 mL) foi adicionado cloroformiato de *i*-butilo (3,12 mL, 24 mmol, 1,2 eq.) a 0 °C. A mistura foi agitada a 0 °C durante 10 minutos e filtrada. A este filtrado foi adicionada uma suspensão NaBH<sub>4</sub> (1,52 g, 40 mmol, 2 eq.) em água (1,0 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 30 minutos, adicionada água (3 mL), continuou-se a agitar por 2 horas e concentrou-se até à secura. O produto bruto foi purificado em sílica gel usando uma mistura de acetato de etilo e hexanos como eluente para dar origem a (2-bromopiridin-3-il)metanol (3,4 g, 90%) como um sólido branco. LRMS (M+H<sup>+</sup>) m/z 188,0.

## Etapa 2

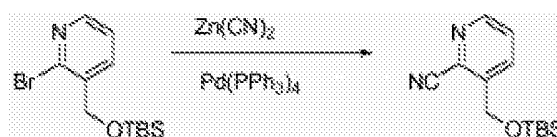


A uma mistura de (2-bromopiridin-3-il)metanol (20,0 g, 106,4 mmol, 1 eq.) e imidazol (14,5 g, 212,8 mmol, 2 eq.) em DMF (50,0 mL) foi adicionado TBSCl (19,2 g, 150,7 mmol, 1,2 eq.) à t.a. A mistura foi agitada à t.a. durante 1 hora e diluída com uma mistura de água (100 mL) e EtOAc (300 mL). A camada orgânica foi lavada com solução de NH<sub>4</sub>Cl



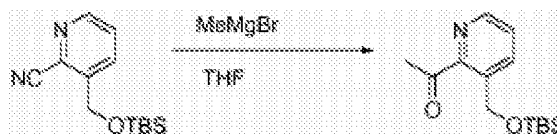
(sat.) e solução salina, seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , concentrada e purificada em sílica gel usando EtOAc/hexanos a 10% como eluente para dar origem a 2-bromo-3-((terc-butildimetilsililoxi)metil)piridina (30,1 g, 94%) como um óleo incolor. LRMS ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $m/z$  302,0.

### Etapa 3



Uma mistura de 2-bromo-3-((terc-butildimetilsililoxi)metil)piridina (30,1 g, 100,0 mmol, 1 eq.) e  $\text{Zn}(\text{CN})_2$  (23,5 g, 200,0 mmol, 2,0 eq.) em DMF (100,0 mL) foi purificada com  $\text{N}_2$  durante 5 minutos e adicionado  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (5,78 g, 5,0 mmol, 0,05 eq.). A mistura foi aquecida a 120 °C durante 2 horas sob  $\text{N}_2$ , arrefecida, filtrada, concentrada e purificada em sílica gel usando uma mistura de EtOAc e hexanos como eluente para dar origem a 3-((terc-butildimetilsililoxi)metil)picolinonitrilo (20,4 g, 82%) como um óleo incolor. LRMS ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $m/z$  249,1.

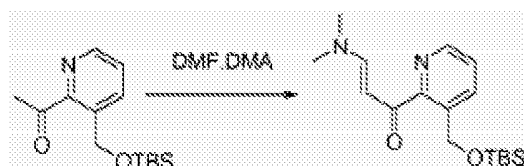
### Etapa 4:



Foi adicionado brometo de metilmagnésio (3M/éter, 41,0 mL, 123,4 mmol) a uma solução agitada de 3-((terc-butildimetilsililoxi)metil)picolinonitrilo (20,4 g, 82,25 mmol) em THF (100,0 mL) a -78 °C. A mistura de reação foi

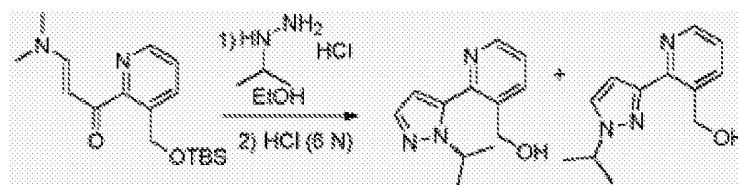
aquecida até à t.a., interrompida com solução aquosa de ácido cítrico e extraída duas vezes com EtOAc (50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução de  $\text{NaHCO}_3(\text{sat.})$  e solução salina, secas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , concentradas e purificadas em sílica gel usando uma mistura de EtOAc/hexanos como eluente para dar origem a 1-(3-((terc-butildimetilsililoxi)metil)piridin-2-il)etanona (12,9 g, 59%) como um óleo incolor. LRMS ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $m/z$  266,2.

Etapa 5:



1-(3-((terc-butildimetilsililoxi)metil)piridin-2-il)etanona (10,8 g, 40,75 mmol) em dimetoxi-N,N-dimetilmetanamina (15,0 mL) foi aquecida até ao refluxo durante 3 dias. A mistura foi concentrada e usada para a próxima etapa sem mais purificação. LRMS ( $\text{M}+\text{H}^+$ )  $m/z$  321,1.

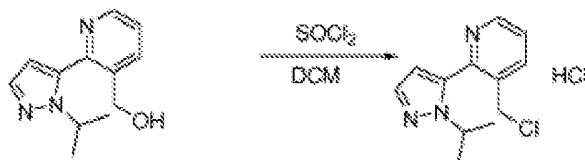
Etapa 6:



A (*E*)-1-(3-((terc-butildimetilsililoxi)metil)piridin-2-il)-3-(dimetilamino)prop-2-en-1-ona (produto em bruto, 1,03 g, 3,22 mmol, 1 eq.) em EtOH (10 mL) foi adicionado cloridrato de isopropilhidrazina (430 mg, 3,86 mmol, 1,2 eq.). A mistura foi aquecida a 80 °C durante 2 horas, arrefecida,

adicionado HCl (6 N, 0,5 mL) e agitada O/N. A mistura foi concentrada e diluída com EtOAc (80 mL) e solução de NaHCO<sub>3</sub> (sat.) (10 mL). As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída três vezes com EtOAc. As camadas orgânicas combinadas foram secas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, concentradas e purificadas em sílica gel usando EtOAc como eluente para dar origem a (2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metanol (500 mg, 71%) e (2-(1-isopropil-1H-pirazol-3-il)piridin-3-il)metanol (55 mg, 25%) como óleos amarelos claros. Dados para 2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metanol: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,67 (dd, *J* = 4,7, 1,5 Hz, 1H), 8,0 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,61 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,39 (dd, *J* = 7,8, 4,8 Hz, 1H), 6,37 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 4,67 (s, 2H), 4,55 (sep, *J* = 6,6 Hz 1H), 1,98-2,05 (br, 1H), 1,47 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H). LRMS (M+H<sup>+</sup>) *m/z* 218,1. Dados para (2-(1-isopropil-1H-pirazol-3-il)piridin-3-il)anol: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,62 (dd, *J* = 4,8, 1,6 Hz, 1H), 7,72 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,23 (dd, *J* = 7,6, 4,8 Hz, 1H), 6,99 (dd, *J* = 8,0, 6,5 Hz, 1H), 6,07 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,67 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 4,58 (sep, *J* = 6,7 Hz, 1H), 1,60 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H). LRMS (M+H<sup>+</sup>) *m/z* 218,1.

Etapa 7:



A (2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metanol (560 mg, 2,58 mmol) em DCM (10 mL) foi adicionado SOCl<sub>2</sub> (3,0 mL) à t.a. A mistura de reação foi agitada à t.a. durante 4 horas, sendo depois concentrada até à secura. O sólido bruto foi suspenso em tolueno e concentrado até à secura. O

processo foi repetido três vezes e secado sob vácuo para dar origem a cloridrato de 3-(clorometil)-2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridina (700 mg) como um sólido esbranquiçado, que foi usado para a próxima etapa sem mais purificação.

#### *ENSAIO IN VITRO*

*Exemplo 3. Modulação da afinidade do oxigénio da hemoglobina pelo procedimento de ensaio de compostos de benzaldeído substituído.*

Curvas de equilíbrio de oxigénio (OEC) em hemoglobina S purificada (HbS) foram medidas pela alteração em p50, a pressão parcial de oxigénio à qual os locais de ligação hemo na amostra HbS estão 50% saturados com oxigénio. HbS foi purificado com um procedimento modificado (Antonini and Brunori, 1971; Hemoglobin and Myoglobin in their Reactions with Ligands; North Holland Publishing Company; Amsterdão, Londres) de sangue obtido de pacientes falciformes homozigotos através do Hemoglobinopathy Center do Children's Hospital Oakland Research Institute (CHORI) com aprovação do Institutional Review Board. Curvas de equilíbrio de oxigénio foram realizadas com um analisador HEMOX, TCS Scientific, New Hope, PA). Quinhentos µL de 250 µM de HbS purificado foram diluídos em 4,5 mL de tampão HEMOX (30 mM de TES, 130 mM de NaCl, 5 mM de KCl, pH= 7,4), resultando numa concentração final de hemoglobina de 25 µM. Os compostos foram adicionados nas concentrações finais desejadas. A mistura foi incubada durante 45 min a 37 °C e de seguida transferida para a câmara de amostra Hemox. As amostras foram saturadas com oxigénio por lavagem com ar comprimido, durante 10 minutos. As amostras foram então lavadas com nitrogénio puro e a absorvância de deoxi-Hb foi

registada como uma função da solução  $pO_2$ . Os dados de equilíbrio de oxigénio foram então adaptados ao modelo de Hill para obter valores para  $p50$ . As curvas de desoxigenação para HbS sozinho (controlo) e HbS na presença de compostos foram recolhidas com o software TCS. O  $p50$  para HbS purificado foi tipicamente  $13,8 \pm 1,6$ . Foram obtidos valores delta  $p50$  do valor  $p50$  para controlo menos o valor  $p50$  para HbS tratado com composto dividido pelo valor  $p50$  para o controlo. Um valor delta  $p50$  positivo corresponde a uma curva inclinada para a esquerda e um valor  $p50$  inferior relativo ao controlo, indicando que o composto age para modular HbS para aumentar a sua afinidade para o oxigénio.

#### *Exemplo 4. Ensaio de polimerização.*

São realizados ensaios de polimerização *in vitro* usando HbS purificado colocado em tampão de fosfato de potássio a 1,8 M em pH 7,4. Usando um protocolo ligeiramente modificado (Antonini and Brunori, 1971), HbS é purificado pelo CRO VIRUSYS, de sangue obtido de pacientes falciformes homozigotos através do Hemoglobinopathy Center do Children's Hospital Oakland Research Institute (CHORI) com aprovação do Institutional Review Board. São preparados compostos em DMSO a 100% e uma quantidade desejada é adicionada a 50 mM de HbS purificado numa concentração final de DMSO de 0,3%. A concentração de fosfato de potássio final é ajustada para 1,8 M usando uma combinação de solução de estoque de fosfato de potássio a 2,5 M e água em pH 7,4. A mistura de reação é incubada durante uma hora a 37 °C e depois transferida para uma placa de 24 poços para desoxigenação numa caixa de luva contendo 99,5% de nitrogénio e 0,5% de oxigénio. A placa de 24 poços não é coberta e é incubada a 4 °C, num arrefecedor de placas

dentro da caixa de luvas durante uma hora e meia. 50 mL da mistura reacional são transferidos para uma placa de 96 poços e a absorvância a 700 nm é medida a cada minuto durante uma hora a 37 °C num leitor de placas localizado dentro da caixa de luvas. Um gráfico da absorvância contra o tempo é realizado usando um ajuste sigmoidal Boltzman e é medido o tempo de atraso (de zero a tempo a metade de  $V_{max}$ ). Para comparar e classificar os compostos, os tempos de atraso são expressos como percentagem de atraso (%DT), que é definido como a diferença em tempos de atraso para HbS/composto e HbS isolado multiplicado por 100 e dividido pelo tempo de atraso para HbS isolado.

Os compostos listados em baixo foram testados no ensaio de polimerização. Os intervalos de atividade são definidos pelo número de símbolos de adaga (†) indicado. † denota atividade  $\geq 40\%$  mas  $\leq 80\%$ ; †† denota atividade  $> 80\%$  mas  $\leq 120\%$ ; ††† denota atividade  $> 120\%$  mas  $\leq 140\%$ ; †††† denota atividade  $> 160\%$ .

Composto	% de atraso delta
Exemplo 1	††
Ácido 4-((2-formil-3-hidroxifenoxi)metil)benzoico	††
2-((3-(2H-tetrazol-5-il)benzil)oxi)-6-hidroxibenzaldeído	†
2-((4-(2H-tetrazol-5-il)benzil)oxi)-6-hidroxibenzaldeído	††
metil 4-((2-formilfenoxi)metil)benzoato	†
Ácido 4-((2-formilfenoxi)metil)benzoico	††
metil 3-((2-formilfenoxi)metil)benzoato	†
2-bromo-3-((2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldeído	†

#### Exemplo 5. Ensaio R/T

Foi usado um ensaio de transição relaxado-para-tenso ("ensaio R/T") para determinar a capacidade de compostos de benzaldeído substituído manterem o estado de hemoglobina relaxado (R) de elevada afinidade com oxigénio sob

condições não oxigenadas. Esta capacidade pode ser expressa como um valor de "delta R" (ou seja, a alteração do período de tempo do estado R depois da hemoglobina ser tratada com um composto, em relação ao período sem tratamento com o composto). Delta R é a %R que resta após o tratamento de compostos em comparação com nenhum tratamento (por exemplo, se R% sem tratamento for de 8%, enquanto que com o tratamento com um composto alvo é de 48% R em 30  $\mu$ M, então a %R é de 40% para o composto).

Uma mistura de HbS/A foi purificada de sangue obtido de pacientes falciformes homozigotos através do Hemoglobinopathy Center do Children's Hospital Oakland Research Institute (CHORI) com aprovação do Institutional Review Board. HbS/A (na concentração final de 3  $\mu$ M) foi incubado por 1 hora a 37 °C na presença ou ausência de compostos em tampão de fosfato de potássio a 50  $\mu$ M, pH = 7,4 e 30  $\mu$ M de 2, 3 difosfoglicerato (DPG) em placas de 96 poços com um volume final de 160  $\mu$ l. Foram adicionados compostos a concentrações diferentes (3  $\mu$ M a 100  $\mu$ M de concentrações finais). As placas foram cobertas com uma película de Mylar. Após a incubação estar concluída, a cobertura de Mylar foi removida e as placas foram colocadas num leitor de placas Spectrostar Nano previamente aquecido a 37 °C. Cinco minutos depois, N<sub>2</sub> (taxa de fluxo = 20 L/min) foi vertido para o espectrofotômetro. Foram feitas medições espectroscópicas (300 nm a 700 nm) a cada 5 minutos durante 2 horas. Foi realizada análise dos dados por meio de regressão linear dos dados recuperados para todos os comprimentos de onda.

A tabela 1 abaixo lista os valores delta R onde + indica um delta R de entre 0 e 30, ++ indica um delta R de entre 30 e 50, e +++ indica um delta R de 50 ou maior. Salvo

indicação em contrário, os compostos da tabela 1 foram testados a 9  $\mu$ M.

Tabela 1. Delta R

<i>Composto</i>	<i>delta R (%)</i>
Exemplo 1	+++ (30 $\mu$ m)
2-(imidazo[1,2-a]piridin-2-ilmetoxi)-5-metoxibenzaldeído	++
5-metoxi-2-(quinolin-5-ilmetoxi)benzaldeído	++
5-metoxi-2-((8-metilimidazo[1,2-a]piridin-2-il)metoxi)benzaldeído	+
2-((1H-indazol-4-il)metoxi)-5-metoxibenzaldeído	++
5-metoxi-2-(piridin-3-ilmetoxi)benzaldeído	+
Ácido 4-((2-formil-3-hidroxifenoxi)metil)benzoico	+++ (30 $\mu$ m)
2-((3-(2H-tetrazol-5-il)benzil)oxi)-6-hidroxibenzaldeído	+++
2-((4-(2H-tetrazol-5-il)benzil)oxi)-6-hidroxibenzaldeído	+++

#### *Exemplo 6. Ensaio de Sangue Total*

Curvas de equilíbrio de oxigénio (OEC) de sangue total antes e após tratamento com diferentes concentrações de compostos de benzaldeído substituído foram realizadas da seguinte forma usando um analisador HEMOX (TCS Scientific, New Hope, 25 PA). Amostras de sangue de pacientes falciformes homozigotos foram obtidas através do Hemoglobinopathy Center do Children's Hospital Oakland Research Institute (CHORI) com aprovação do Institutional Review Board. O hematócrito foi ajustado para 20% utilizando plasma autólogo e as amostras de sangue foram incubadas por 1 hora a 37 °C, na ausência ou presença de compostos. 100  $\mu$ l destas amostras foram adicionados a 5 mL de tampão Hemox (30 mM de TES, 130 mM de NaCl, 5 mM de KCl, pH= 7,4) a 37 °C e de seguida transferidos para a câmara de amostra Hemox. As amostras foram saturadas com oxigénio por lavagem com ar comprimido, durante 10 minutos. As amostras foram então lavadas com nitrogénio puro e as respectivas absorvâncias de oxi- e deoxi-Hb foram registadas como uma função da solução pO<sub>2</sub>. Os dados de equilíbrio de oxigénio



foram então adaptados ao modelo de Hill para obter valores para p50. As curvas de desoxigenação para sangue total isolado (controlo) e sangue total na presença do composto foram recolhidas com o software TCS.

A tabela 2 abaixo lista os valores delta p50% onde + indica um delta p50% de entre 0 e 29, ++ indica um delta p50% de entre 30 e 50, e +++ indica um delta p50% de 50 ou maior. Os compostos da tabela 2 foram testados a 1000 µM. Um valor delta p50 positivo corresponde a uma curva inclinada para a esquerda e um valor p50 inferior relativo ao controlo, indicando que o composto age para modular HbS para aumentar a sua afinidade para o oxigénio.

*Tabela 2. Valores delta p50% para Ensaio de Sangue Total*

<i>Composto</i>	<i>delta p50%</i>
Exemplo 1	+++
Ácido 4-((2-formil-3-hidroxifenoxi)metil)benzoico	+
2-((3-(2H-tetrazol-5-il)benzil)oxi)-6-hidroxibenzaldeído	+
2-((4-(2H-tetrazol-5-il)benzil)oxi)-6-hidroxibenzaldeído	+

*Exemplo 7. Estudo Farmacocinético do Exemplo 1 (sal HCl)*

#### *ESTUDO I.V.*

Ratos Sprague Dawley foram tratados com 7,8 mg/kg de Exemplo 1 dissolvido em 10% de DMA: 50% de PEG: 16% de ca vitron. Em pontos de tempo especificado, 10 µL de sangue total/plasma foram removidos de ratos e tratados com 490 µL de tampão a pH 3 + 500 µL de ACN/IS, de seguida agitados por 1 hora, centrifugados por 10 minutos a 57 rpm, a 4 °C. O sobrenadante foi transferido para uma placa de filtro e centrifugado a 2000 rpm durante 1 minuto a 4 °C. As amostras foram então analisadas por LC-MS/MS monitorizando

o aldeído original. As concentrações no sangue e no plasma são mostradas na tabela 3. Os parâmetros P/K chave são mostrados na Tabela 4.

*Tabela 3*

Exemplo 1 7,8mpk IV em rato						
	Concentração de sangue ( $\mu$ M)			Concentração de plasma ( $\mu$ M)		
tempo (min)	A	B	C	A	B	C
0	BLLOQ	BLLOQ	BLLOQ	BLLOQ	BLLOQ	BLLOQ
5	259	246	281	7,56	8,68	7,44
15	287	341	285	8,38	8,42	7,16
30	283	333	292	Nenhuma amostra	8,66	7,1
60	256	203	285	6,12	7,52	7,22
120	263	274	280	3,92	6,02	5,22
240	248	225	259	3,72	5,24	5,88
480	118	136	22,9	2,06	2,66	3,15
1440	81,1	85	70,8	1,07	1,38	1,51

*Tabela 4*

Exemplo 1 7,8mpk IV em rato			
		Sangue	Plasma
t1/2 beta	min.	749,0	619,1
CL	ml/min/kg	0,08	4,45
Vss	L/kg	0,09	4,11
AUClast	min* $\mu$ mol/L	215846,3	4114,8

#### *ESTUDO ORAL*

Ratos SD foram tratados por gavagem com 44 mg/kg e 100 mg/kg, dissolvido em 10% de DMA: 90% de PEG. Em pontos temporais determinados, foi recolhido sangue e processado como descrito acima no estudo IV. Os parâmetros chave são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5

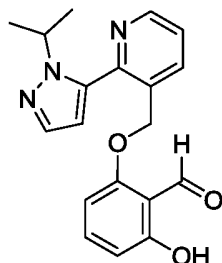
Exemplo 1 :2 PO em ratos							
Sangue					Plasma		
				proporção			proporção
dose	mg/kg	44	100	2,27	44	100	2,27
Tmax	min.	320,00	720,00		200,00	680,00	
Cmax	μmol/L	381,33	1096,67	2,88	14,79	44,53	3,01
AUClast	min*μmol/L	395638,27	1384101,11	3,50	12517,54	52836,17	4,22

Qualquer conflito entre qualquer referência aqui citada e os ensinamentos deste relatório descritivo deve ser resolvido a favor do último. Da mesma forma, qualquer conflito entre uma definição reconhecida na técnica de uma palavra ou frase e uma definição da palavra ou frase conforme prevista neste relatório descritivo deverá ser resolvido em favor do último.

Lisboa, 12 de outubro de 2017

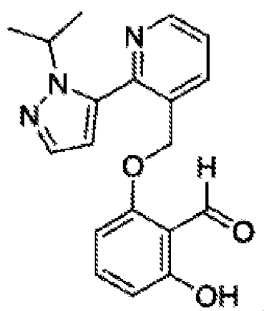
## REIVINDICAÇÕES

1. Um composto que é



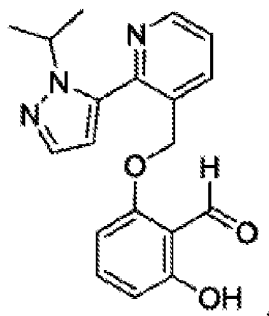
ou um seu tautômero ou sal farmaceuticamente aceitável.

2. O composto de acordo com a reivindicação 1, em que o composto é:



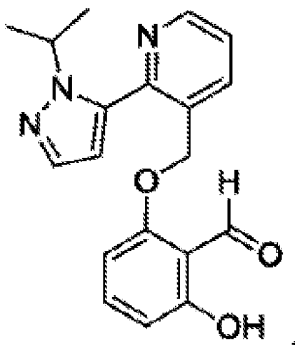
3. Uma composição farmacêutica compreendendo um composto de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2, ou um seu tautômero ou sal farmaceuticamente aceitável, e um excipiente farmaceuticamente aceitável.

4. Uma composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 3, em que o composto é:



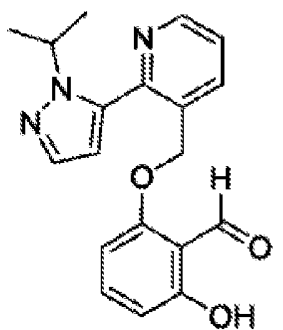
5. Um composto de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2, ou um seu tautômero ou sal farmacologicamente aceitável, para utilização num método para aumentar a oxigenação dos tecidos.

6. O composto de acordo com a reivindicação 5, para utilização num método para aumentar a oxigenação dos tecidos em que o composto é:



7. Um composto de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2, ou um seu tautômero ou sal farmacologicamente aceitável, para utilização num método para tratar uma enfermidade associada a deficiência de oxigênio.

8. O composto de acordo com a reivindicação 7, para tratar uma enfermidade associada a deficiência de oxigênio em que o composto é:



**9.** O composto para utilização de acordo com a reivindicação 7 ou reivindicação 8, em que a enfermidade é selecionada do grupo constituído por doença falciforme, cancro, distúrbio pulmonar, acidente vascular cerebral, doença das alturas, úlcera, escaras, doença de Alzheimer, síndrome de doença respiratória aguda e uma ferida.

**10.** O composto para utilização de acordo com a reivindicação 9, em que a enfermidade é doença falciforme.

**11.** O composto para utilização de acordo com a reivindicação 9, em que a enfermidade é uma doença pulmonar.

**12.** O composto para utilização de acordo com a reivindicação 9, em que a enfermidade é síndrome de doença respiratória aguda.

Lisboa, 12 de outubro de 2017