

(11) Número de Publicação: **PT 1807434 E**

(51) Classificação Internacional:  
**C07D 495/04** (2007.10) **A61K 31/4365**  
(2007.10)  
**A61P 25/00** (2007.10)

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

(22) Data de pedido: **2005.10.18**

(30) Prioridade(s): **2004.10.25 US 621785 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2007.07.18**

(45) Data e BPI da concessão: **2010.08.25**  
**184/2010**

(73) Titular(es):

**ELI LILLY AND COMPANY**

**LILLY CORPORATE CENTER INDIANAPOLIS, IN**  
**46285 US**

(72) Inventor(es):

**ALMUDENA RUBIO ESTEBAN**  
**DARRYL WAYNE HILLIARD**

**US**

**US**

(74) Mandatário:

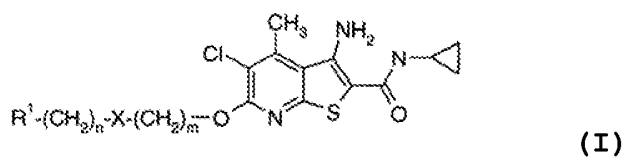
**ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS**  
**RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA**

**PT**

(54) Epígrafe: **TIENOPIRIDINAS A TÍTULO DE POTENCIADORES ALOSTÉRICOS DO RECEPTOR MUSCARÍNICO M4**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO PRESENTE DIZ RESPEITO A POTENCIADORES ALOSTÉRICOS SELECTIVOS COM A FÓRMULA (I); OU A SAIS ACEITÁVEIS DO PONTO DE VISTA FARMACÊUTICO DESTES COMPOSTOS, PARA O TRATAMENTO DE PATOLOGIAS ASSOCIADAS COM OS RECEPTORES MUSCARÍNICO M4.

**RESUMO****"TIENOPIRIDINAS A TÍTULO DE POTENCIADORES ALOSTÉRICOS DO  
RECEPTOR MUSCARÍNICO M<sub>4</sub>"**

A invenção presente diz respeito a potenciadores alostéricos selectivos com a Fórmula (I); ou a sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico destes compostos, para o tratamento de patologias associadas com os receptores muscarínicos M<sub>4</sub>.

**DESCRIÇÃO****"TIENOPIRIDINAS A TÍTULO DE POTENCIADORES ALOSTÉRICOS DO  
RECEPTOR MUSCARÍNICO $M_4$ "**

A invenção presente proporciona compostos com a Fórmula (I), suas composições, e um método para a potenciação alostérica do subtipo  $M_4$  do receptor muscarínico, que inclui administrar-se a um paciente uma quantidade eficaz de um composto com a Fórmula (I). Para além disto, a invenção presente diz respeito a processos para preparar os compostos com a Fórmula I e a intermediários para este efeito.

A invenção presente proporciona compostos que são moduladores alostéricos selectivos do subtipo  $M_4$  do receptor muscarínico. Crê-se que o receptor muscarínico  $M_4$  desempenha um papel na modulação da função das sinapses em áreas chave do cérebro, envolvidas na regulação da disposição, dos desejos, da atenção e do conhecimento. Em resultado, ele representa um novo alvo terapêutico para o tratamento da psicose; das patologias da atenção, tais como a patologia de défice de atenção e hiperactividade (ADHD); de patologias do conhecimento, incluindo a perda de memória; e do vício de drogas. Os subtipos  $M_2$  e  $M_4$  do receptor muscarínico também estão envolvidos nos efeitos analgésicos induzidos por agonistas muscarínicos, mas crê-se que os

efeitos colaterais de um tal tratamento estão principalmente associados à activação do receptor  $M_2$ . Portanto, compostos que modulem selectivamente os receptores  $M_4$  proporcionariam uma nova estratégia de tratamento para a dor neuropática, sem efeitos colaterais indesejáveis.

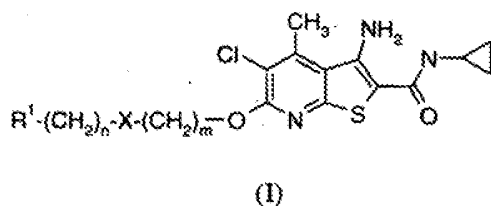
Ao contrário dos compostos que actuam no local de ligação do neurotransmissor (local ortoestérico), os moduladores alostéricos actuam num local distinto do receptor. A utilização de moduladores alostéricos proporciona diversas vantagens no tratamento de doenças. Christopoulos, Nature Reviews (2002) **1**: 198-210. Por exemplo, em condições de saturação (concentrações elevadas de potenciador alostérico) não se deveria esperar uma estimulação excessiva do receptor muscarínico  $M_4$ , uma vez que ele depende do neurotransmissor endógeno para a sua activação. Em Segundo lugar, os agonistas alostéricos exercem os seus efeitos fisiológicos apenas na presença de um agonista endógeno. Em resultado disto, os potenciadores alostéricos têm menor probabilidade de produzir o estado de dessensibilização do receptor ou de regulação em baixa, que estão associadas a uma estimulação colinérgica excessiva. Por último, os moduladores alostéricos evidenciarão provavelmente uma maior selectividade para com o receptor, em especial uma vez que o local de ligação ortoestérico é bem conservado entre subtipos de receptor muscarínico.

Hoje em dia, não foram ainda descritos moduladores alostéricos selectivos do receptor muscarínico do

subtipo M<sub>4</sub>. O desenvolvimento de potenciadores alostéricos selectivos para M<sub>4</sub> aumentará portando grandemente a capacidade de se tratarem patologias tais como a psicose e a dor, sem efeitos colaterais indesejáveis. Assim, a invenção presente proporciona uma classe de moduladores alostéricos de receptores muscarínicos M<sub>4</sub>, composições contendo estes compostos, e métodos de se utilizarem os compostos.

### BREVE SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A invenção proporciona compostos com a Fórmula (I):



na qual:

m seja 1, ou 2;

n seja 0, 1, ou 2;

X seja uma ligação, -O-, -SO<sub>p</sub>, -C(O)-, -NR<sup>2</sup>-,  
-C(O)-NR<sup>2</sup>-, ou -NR<sup>2</sup>-C(O)-;

p seja 0, 1, ou 2;

R<sup>1</sup> seja hidrogénio, hidroxilo, aquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, fenilo, piridilo, pirrolidinilo, piperazinilo, morfolino,

tiazolilo, imidazolilo, ou 1,3-dioxalanilo; grupos fenilo, piperazinilo, ou tiazolilo estes que podem opcionalmente ser substituídos com um substituinte seleccionado de entre o conjunto constituído por halo ou alquilo  $C_1-C_2$ ;

em que n não seja 0 quando p for 0, ou quando X for  $-O-$ ,  $-NR^2$ , ou  $-NR^2-C(O)-$ ;

$R^2$  seja hidrogénio ou alquilo  $C_1-C_2$ ; grupo alquilo  $C_1-C_2$  este que pode ser opcionalmente substituído com um hidroxilo; ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

Os compostos com a Fórmula I são potenciadores do receptor muscarínico. Especificamente, os compostos com a Fórmula I são potenciadores alostéricos do subtipo  $M_4$  do receptor muscarínico. Uma vez que estes compostos potenciam os efeitos fisiológicos associados à activação do receptor  $M_4$ , os compostos são úteis para o tratamento de patologias relacionadas com uma activação inadequada do receptor  $M_4$ . Incluem-se nestas patologias: a psicose (em especial, a esquizofrenia); as patologias do conhecimento (por exemplo, a perda de memória); as patologias da atenção (tais como a patologia do défice de atenção e hiperactividade); e a dor (em especial, a dor neuropática).

Numa concretização, esta invenção proporciona a uma composição farmacêutica incluindo, a título de ingrediente activo, um composto com a Fórmula I, ou um seu sal

aceitável do ponto de vista farmacêutico, em combinação com um ou mais veículos, diluentes ou excipientes aceitáveis do ponto de vista farmacêutico. Numa concretização adicional, a invenção presente diz respeito a um método para fazer composto representado pela Fórmula I, e intermediários a esse efeito.

Noutra concretização, a invenção presente proporciona um método para potenciar selectivamente um receptor de  $M_4$  levando o seu receptor ao contacto com um composto com a Fórmula I, ou com um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico. Noutra concretização, a invenção presente proporciona métodos para tratar patologias associadas com receptores muscarínicos do subtipo  $M_4$ , incluindo: administrar-se a um paciente que necessite dela uma quantidade eficaz de um composto com a Fórmula I. Isto é, a invenção presente proporciona a utilização de um composto com a Fórmula I ou de uma composição farmacêutica dele para o fabrico de um medicamento para o tratamento de patologias associadas com receptores muscarínicos  $M_4$ . A invenção presente também proporciona um composto com a Fórmula I para utilização em terapia.

Das patologias associadas aos receptores muscarínicos  $M_4$ , a psicose, a dor, as patologias da atenção, e as patologias do conhecimento, tais como a perda de memória, têm uma importância específica.

Portanto, numa concretização preferida, a inven-

ção presente proporciona um método para tratar a dor, incluindo: administrar-se a um paciente que dela necessite, uma quantidade eficiente de um composto com a Fórmula I, ou de um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

Noutra concretização preferida, a invenção presente proporciona um método para tratar a psicose, incluindo: administrar-se a um paciente que dela necessite, uma quantidade eficiente de um composto com a Fórmula I, ou de um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

Noutra concretização preferida, a invenção presente proporciona um método para tratar as patologias do conhecimento, incluindo: administrar-se a um paciente que dela necessite, uma quantidade eficiente de um composto com a Fórmula I, ou de um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

#### **DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO**

Os termos e as abreviaturas utilizados nas preparações e nos exemplos têm os seus significados normais a não ser quando se afirmar algo em contrário. Por exemplo "°C" refere-se a graus Célsius; "N" refere-se a normal ou a normalidade; "mol" refere-se a mole ou moles; "h" refere-se a hora(s); "eq" refere-se a equivalente; "g" refere-se a grama ou gramas; "L" refere-se a litro ou litros; "M" refere-se a molar ou a molaridade; "salmoura" refere-se a uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio; "J" refere Hertz; "ES" refere-se a electroaspersão; "MS" refere-se a

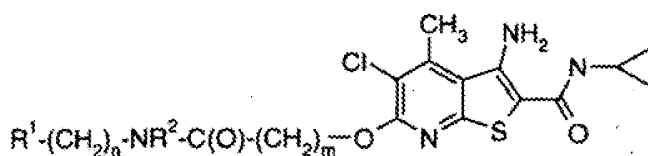


espectrometria de massa; "RMN" refere-se a espectroscopia de ressonância magnética nuclear; "CCF" refere-se a cromatografia em camada fina; "ACN" refere-se a acetonitrilo; "DMF" refere-se a N,N-dimetilformamida; "DMSO" refere-se a sulfóxido de dimetilo; "Et<sub>2</sub>O" significa éter dietílico; "EtOAc" significa acetato de etilo; "MeOH" significa metanol; "EtOH" significa etanol; "iPrOH" significa isopropanol; "TEA" significa trietilamina; "TFA" significa ácido trifluoroacético; "THF" significa tetrahydrofurano.

Tal como se utiliza neste documento, o termo "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>" significa cadeias alifáticas saturadas monovalentes, lineares ou ramificadas, com 1 a 4 átomos de carbono, e inclui, mas não se limita a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, e terc-butilo. Os termos "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>" e "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>" estão incluídos na definição de "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>".

"Halo", "halogéneo" e "halogeneto" representam um átomo de cloro, flúor, bromo ou iodo. Incluem-se nos halogéneos preferidos o cloro e o flúor.

O especialista da técnica considerará evidente que quando X é -NR<sup>2</sup>-C(O)-, o composto com a Fórmula (I) é tal como se representa adiante:



Alguns compostos da invenção presente podem existir sob a forma de estereoisómeros. Utilizam-se neste documento as designações de Cahn-Prelog-Ingold, (R)- e (S)-, bem como as designações de L- e D-, para a estereopquímica relativa dos isómeros do gliceraldeído, para referir isómeros específicos. Podem preparar-se os estereoisómeros específicos por síntese estereoespecífica ou por resolução recorrendo a métodos de recuperação conhecidas na técnica, tal como uma cromatografia sobre fases estacionárias quirais, e a recristalização fraccionada de sais de adição formados com reagentes utilizados com essa finalidade. São conhecidos na técnica métodos úteis para resolver e isolar estereoisómeros específicos, os quais estão descritos por E.L. Eliel e S. H. Wilen, *Stereochemistry of Organic Compounds*, (Wiley-Interscience, 1994), e por J. Jacques, A. Collet, e S.H. Wilen, *Enantiomers, Racemates, and Resolutions*, Wiley-Interscience, 1981). Entende-se que a invenção presente contempla todos os enantiómeros e misturas de enantiómeros, incluindo os racematos. O especialista da técnica entenderá que determinados compostos da invenção presente podem existir sob a forma de tautómeros. Entende-se que também se encontram no âmbito da invenção presente as formas tautoméricas dos compostos com a Fórmula (I).

Esta invenção inclui os sais aceitáveis d ponto de vista farmacêutico dos compostos com a Fórmula I. Um composto desta invenção pode possuir um grupo funcional suficientemente básico, que pode reagir com qualquer um de

entre diversos ácidos orgânicos e inorgânicos, para formar um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

A expressão "sal aceitável do ponto de vista farmacêutico", tal como se utiliza neste documento, refere um sal de um a com a Fórmula I acima. Deve entender-se que o contra-íão específico que faz parte de qualquer sal desta invenção não tem habitualmente uma natureza crítica, desde que o sal como um todo seja farmacologicamente aceitável e desde que este contra-íão não contribua propriedades indesejáveis ao sal como um todo.

Os compostos com a Fórmula I e os intermediários descritos neste documento formam sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico com uma grande variedade de ácidos orgânicos e inorgânicos, e nestes se incluem os sais fisiologicamente aceitáveis que se utilizam amiúde na indústria farmacêutica. Estes sais também fazem parte desta invenção. Um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico é formado a partir de um ácido aceitável do ponto de vista farmacêutico, como se sabe bem na técnica. Incluem-se nestes sais os sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico listados no Journal of Pharmaceutical Science, **66**, 2-19 (1977), que são bem conhecidos do especialista da técnica. Veja-se também o 'The Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection, and Use'. P. H. Stahl e C. G. Wermuth (Editores), Verlag, Zurich (Switzerland) 2002.

Incluem-se nos ácidos inorgânicos tipicamente

utilizados para formar estes sais, os ácidos clorídrico, bromídrico, iodídrico, nítrico, sulfúrico, fosfórico, hipofosfórico, metafosfórico, pirofosfórico, e outros semelhantes. Também se podem utilizar sais provenientes de ácidos orgânicos, tais como os ácidos alifáticos, tanto monocarboxílicos como dicarboxílicos, os ácidos alcanóicos substituídos com fenilo, os ácidos hidroxialcanóicos e hidroxialcanodióicos, os ácidos aromáticos, os ácidos sulfônicos, tanto alifáticos como aromáticos. Incluem-se portanto nestes sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico, o acetato, o fenilacetato, o trifluoroacetato, o acrilato, o ascorbato, o benzoato, o clorobenzoato, o dinitrobenzoato, o hidroxibenzoato, o metoxibenzoato, o metilbenzoato, o o-acetoxibenzoato, o naftaleno-2-benzoato, o brometo, o isobutirato, o fenilbutirato, o  $\alpha$ -hidroxibutirato, o butino-1,4-dicarboxilato, o hexino-1,4-dicarboxilato, o caprato, o caprilato, o cinamato, o citrato, o formato, o fumarato, o glicolato, o heptanoato, o hipurato, o lactato, o malato, o maleato, o hidroximaleato, o malonato, o mandelato, o mesilato, o nicotinato, o isonicotinato, o nitrato, o oxalato, o ftalato, o teraftalato, o propiolato, o propionato, o fenilpropionato, o salicilato, o sebacato, o succinato, o suberato, o benzenossulfonato, o p-bromobenzenossulfonato, o clorobenzenossulfonato, o etilsulfonato, o 2-hidroxietilsulfonato, o metilsulfonato, o naftaleno-1-sulfonato, o naftaleno-2-sulfonato, o naftaleno-1,5-sulfonato, o p-toluenossulfonato, o xilenossulfonato, o tartarato, e outros semelhantes.

Tal como se utiliza neste documento, o termo "paciente" refere-se a um mamífero que sofra de uma ou mais das patologias associadas com os receptores  $M_4$ . São exemplos de mamíferos abrangidos pelo âmbito do termo, as cobaias, os cães, os gatos, os ratos, os ratinhos, os bovinos, os equinos, os ovinos e os seres humanos. Entender-se-á que o paciente mais preferido é um ser humano.

Também se sabe que um especialista da técnica pode afectar as patologias tratando um paciente que actualmente sofra dessas patologias ou tratando de forma profiláctica um paciente que possa vir a sofrer dessas patologias, com uma quantidade eficaz do composto com a Fórmula I.

Deste modo, pretende-se que os termos "tratamento" e "tratar" se refiram a todos os processos nos quais possa conseguir-se uma diminuição da velocidade, uma interrupção, uma paragem, um controlo, ou mesmo terminar-se, a progressão das patologias a que se fez referência neste documento, incluindo o tratamento profiláctico dessas patologias, mas não indicam necessariamente uma eliminação total de todos os sintomas das patologias.

Tal como se utiliza neste documento, a expressão "quantidade eficaz" de um composto com a Fórmula I refere-se a uma quantidade que seja eficaz no tratamento das patologias descritas neste documento.

Tal como qualquer conjunto de compostos activos do ponto de vista farmacêutico, são preferidos alguns grupos para a sua aplicação final. Descrevem-se adiante as concretizações preferidas da invenção presente.

- (a) m é 1;
- (b) m é 2;
- (c) n é 0;
- (d) n é i;
- (e) n é 2;
- (f) X é uma ligação;
- (g) X é  $-C(O)-NR^2-$ ;
- (h) X é  $-O-$ ;
- (i)  $R^1$  é hidrogénio;
- (j)  $R^1$  é hidroxilo;
- (k)  $R^1$  é alquilo  $C_1-C_4$ ;
- (l)  $R^1$  é piridilo;
- (m)  $R^1$  é piperazinilo;
- (n)  $R^1$  é morfolino;
- (o)  $R^2$  é hidrogénio;

Incluem-se nos compostos preferidos da invenção presente: ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metoxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico;  
ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-(2-morfolin-4-il-etoxi)-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico.

O especialista da técnica entenderá que se podem seleccionar concretizações preferidas adicionais combinando

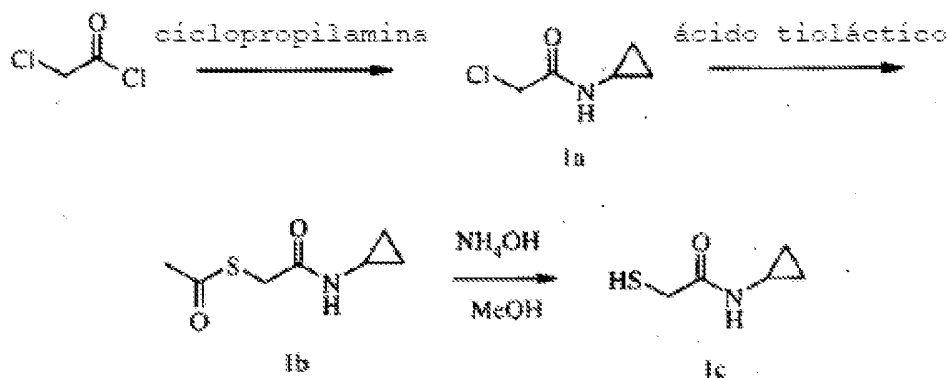
as concretizações preferidas acima, ou utilizando os exemplos incluídos neste documento como referência.

### **Esquemas**

Os compostos descritos neste documento podem ser feitos de acordo com os esquemas seguintes. Os esquemas, preparações, e exemplos não devem de modo algum ser entendidos como limitando de forma o processo de preparação dos compostos.

O especialista da técnica entenderá que a introdução de determinados substituintes criará assimetria nos compostos com a Fórmula (I). A invenção presente contempla todos os estereoisómeros, enantiómeros, e misturas de enantiómeros, incluindo racematos e diastereómeros. Prefere-se que os compostos da invenção contendo centros quirais sejam enantiómeros eles próprios.

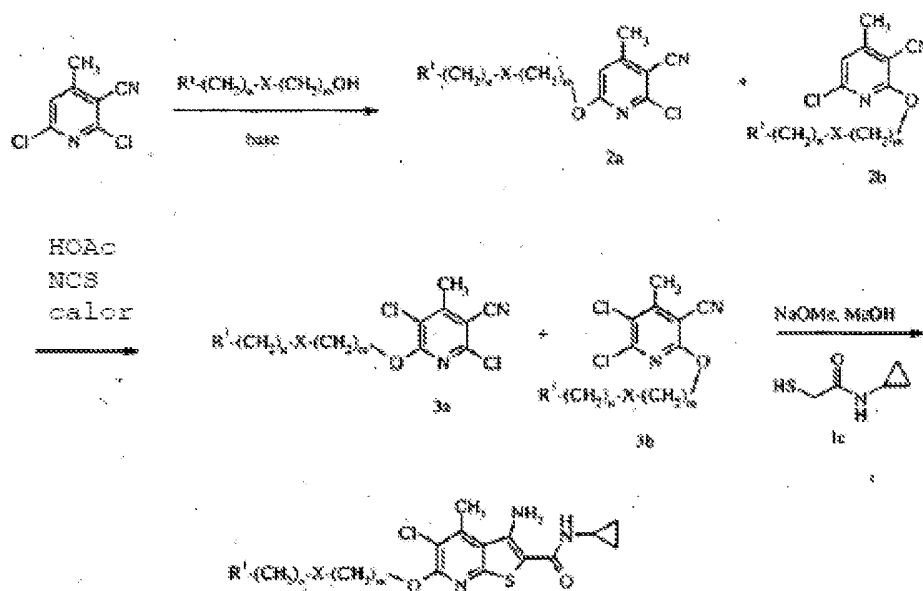
O especialista da técnica entenderá que os passos individuais nos esquemas que se seguem podem ser alterados, para proporcionar os compostos com a Fórmula (I). A ordem específica dos passos necessários para se produzirem os compostos com a Fórmula (I) depende do composto específico que se está a sintetizar, do composto de que se parte, e da labilidade relativa das espécies substituídas. Alguns substituintes foram eliminados nos esquema seguintes para os tornar mais claros e não se pretende que tal limite o ensinamento de forma alguma.

**Esquema I**

No primeiro esforço sintético (Esquema 1), faz-se reagir o cloreto de cloroacetilo com a ciclopropilamina na presença de uma base, por exemplo a TEA ou a piridina, num solvente aprótico, por exemplo, éter dietílico ou cloreto de metileno, a temperaturas de entre 0°C e a temperatura ambiente, para se obter o Composto Ia intermediário, uma amida. Trata-se o Composto Ia com ácido tioláctico e uma base, por exemplo, TEA num solvente dipolar aprótico, por exemplo diclorometano, para se obter a amida que é o Composto Ib intermediário. Hidrolisa-se o Composto Ib num álcool inferior (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), por exemplo, MeOH, com solução concentrada de hidróxido de amónio, a entre 0°C e a temperatura ambiente, para se obter o reagente tiol, Composto Ic. Pode isolar-se e purificar-se o produto por metodologias bem conhecidas na técnica, tais como a precipitação, a filtração, a extração, a evaporação, a trituração, a cromatografia, e a recristalização.



## Esquema II

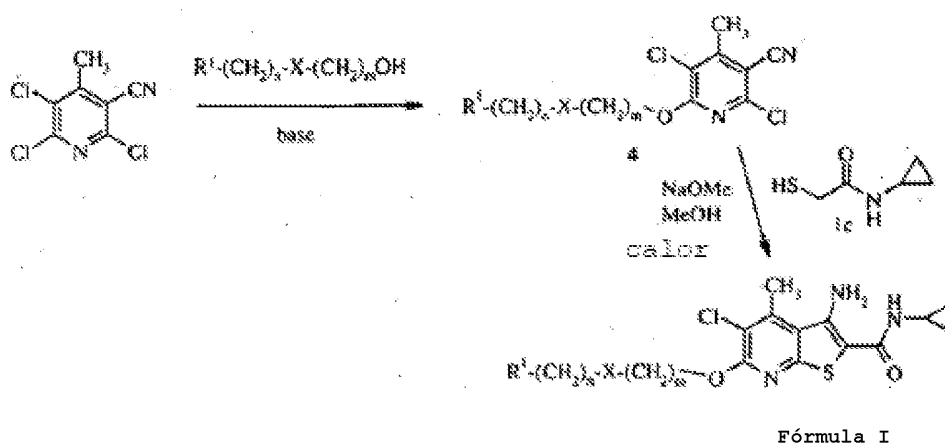


Fórmula I

Noutra aproximação para a síntese ilustrada no Esquema II, trata-se o 2,5-dicloro-4-metil-nicotinonitrilo com o anião de um alcóxido, gerado a partir de um alcanol e uma base, por exemplo, hidreto de sódio ou bis(trimetil-silil)amideto de lítio num alcanol como solvente a entre 0°C e a temperatura ambiente, durante um período de tempo de entre 30 minutos e 24 h, para se obter uma mistura de produtos de substituição 2a e 2b. Clora-se a mistura de 2a & 2b com 2-4 equivalentes de N-clorossuccinimida em ácido acético glacial a entre 100 e 140°C num reactor selado, durante 24 a 48 h para se obter a mistura de intermediários clorados 3a e 3b. Trata-se a mistura de intermediários clorados 3a e 3b com o Composto Ic na presença de uma base adequada, tal como um alcóxido de sódio, um alcóxido de potássio, ou um alcóxido de lítio, em que o alcóxido seja

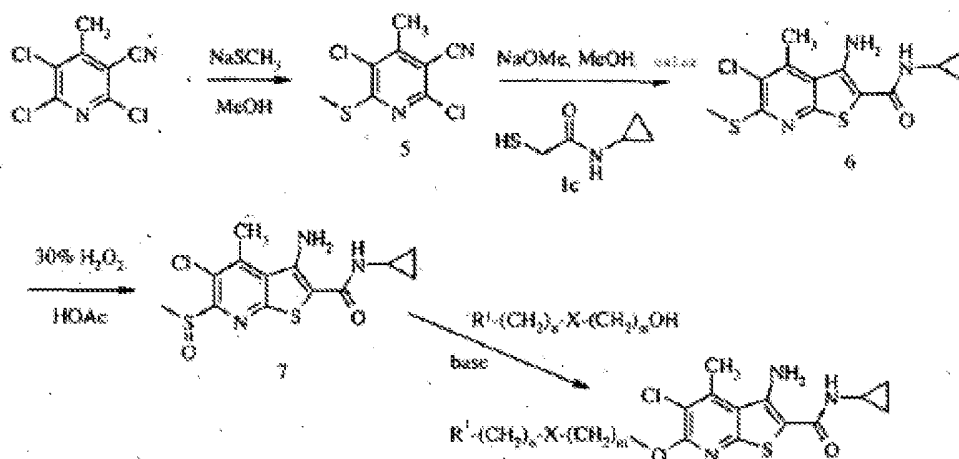
um alcóxido com massa molecular pequena. A base estará num alcanol, tal como o metanol. Uma base preferida dissolvida em alcanol é o metóxido de sódio em MeOH. Leva-se a cabo a reacção a entre 100 e 140 °C num reactor selado e durante entre 30 minutos e 4 h, para se obter o composto com a Fórmula I. Pode isolar-se purificar-se o produto por uma das técnicas descritas acima.

### Esquema III



No Esquema III, trata-se o 4-metil-2,5,6-tricloro-nicotinonitrilo com o anião de um alcóxido, gerado a partir de um alcanol e uma base, por exemplo, hidreto de sódio ou bis(trimetilsilil)amideto de lítio num alcanol solvente, a entre 0°C e a temperatura ambiente, durante entre 30 minutos e 24 h, para se obter um produto de substituição 4. Trata-se o intermediário 4 com o reagente, Composto Ic, tal como no Esquema I, para se obter o composto com a Fórmula I. Pode isolar-se purificar-se o produto por uma das técnicas descritas acima.

## Esquema IV

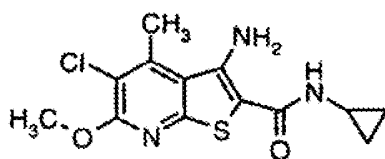


Fórmula I

No Esquema IV, trata-se o 4-metil-2,5,6-tricloro-nicotinonitrilo com um tioalcóxido de lítio, sódio ou potássio com pequena massa molecular ( $\text{C}_1\text{-C}_4$ ), tal como o tiometóxido de sódio, num alcanol com pequena massa molecular ( $\text{C}_1\text{-C}_4$ ), tal como o  $\text{MeOH}$ , para se obter o produto de substituição 5. Faz-se reagir o intermediário 5 com o Composto Ic do Esquema I para se obter o Composto 6. Oxida-se o Composto 6 com, por exemplo, peróxido de hidrogénio num alcanol de pequena massa molecular ( $\text{C}_1\text{-C}_4$ ), tal como o  $\text{MeOH}$ , a entre a temperatura ambiente e  $40^\circ\text{C}$  e durante entre 12 e 48 h, para se obter o sulfóxido 7. Por substituição do sulfóxido 7 com um alcóxido num alcanol, tal como no Esquema I ou no II, obtêm-se compostos com a Fórmula I. Pode isolar-se purificar-se o produto por uma das técnicas descritas acima.

**EXEMPLOS****Exemplo 1**

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metoxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



A. 2-Cloro-N-ciclopropil-acetamida

Adiciona-se gota a gota, a uma solução de ciclopropilamina (50,0 g, 0,876 mol) em diclorometano (700 mL) a 0°C, cloreto de 2-cloroacetilo (49,4 g, 0,436 mol) por intermédio de um tubo de carga. Agita-se a mistura resultante a 0°C durante 2 horas, depois filtra-se através de uma altura de Celite®. Concentra-se o filtrado a um sólido cor-de-laranja, que se suspende em 500 mL de hexano, e depois filtra-se. Seca-se o sólido cor-de-laranja obtido em vazio (do laboratório) durante 30 minutos. Obtém-se assim o composto em título as sob a forma de um sólido cor-de-laranja (58,12 g, 99 %). Massa (m/z): 134,1 (M<sup>+</sup>+1).

B. Éster S-ciclopropilcarbamoílmético do ácido tioacético.

Adiciona-se a uma solução de 2-cloro-N-ciclo-

propil-acetamida (58,1 g, 0,435 mol) em diclorometano (700 mL) a 0°C, ácido tioláctico (49,65 g, 0,652 mol). Agita-se a mistura a 0°C durante 5 minutos, e depois adiciona-se-lhe muito lentamente TEA (88,0 g, 0,870 mol) (reacção exotérmica). Agira-se a mistura a 0°C durante 2 horas, depois verte-se sobre 700 mL de água sob agitação. Acidifica-se a fase aquosa até pH 2 com HCl 5 N, agitam-se as fases e separam-se. Extrai-se a fase aquosa com diclorometano (2 x 400 mL). Lava-se o conjunto das fases orgânicas com salmoura, depois seca-se (sulfato de magnésio anidro), filtra-se, e concentra-se para se obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo alaranjado (74,5 g, 99 %). Massa (m/z): 174,1 ( $M^+ + 1$ ).

#### C. N-Ciclopropil-2-mercapto-acetamida.

Adiciona-se a uma solução de éster S-ciclopropilcarbamoílmético do ácido tioacético (17,0 g, 98,14 mmol) em MeOH (200 mL) uma solução de hidróxido de amónio a 28 % em água (17 mL). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 1 hora. Verte-se a solução reaccional sobre água (400 mL) e acidifica-se até pH 2 com HCl 5 N. Extrai-se a solução com EtOAc (6 x 200 mL) e seca-se o conjunto das fases orgânicas (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter o composto em título sob a forma de um sólido cor-de-laranja claro (12,87 g, 99 %). Massa (m/z): 132,1 ( $M^+ + 1$ ).

## D. 2,5-Dicloro-6-metoxi-4-metil-nicotinonitrilo.

Adiciona-se a uma suspensão de 2,5,6-tricloro-4-metil-nicotinonitrilo (11,0 g, 49,67 mmol, Tetrahedron, 1977, **33**, 113-117) em MeOH (125 mL) solução de metóxido de sódio (a 25 %, em peso, em MeOH) (11,92 mL, 52,15 mmol). Agita-se a mistura reaccional a 0°C durante 30 minutos, e depois à temperatura ambiente durante 1 hora. Termina-se a reacção adicionando água à mistura reaccional (300 mL) e forma-se um precipitado branco, espesso. Adicionam-se mais 200 mL de água e agita-se a mistura a 0°C durante 10 minutos. Separa-se o precipitado por filtração e seca-se (estufa de vácuo durante 16 horas a 60°C) para se obter o composto em título sob a forma de um sólido branco sujo (10,05 g, 93 %). Massa (m/z): 217,0 ( $M^+ + 1$ ).

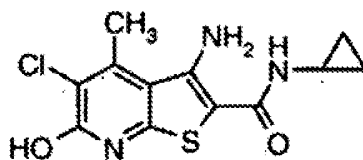
## E. Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metoxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

Adiciona-se a uma solução de N-ciclopropil-2-mercapto-acetamida (6,65 g, 50,68 mmol) em MeOH (100 mL), uma solução de metóxido de sódio (a 25 %, em peso, em MeOH) (11,59 mL, 50,68 mmol). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 10 minutos, e depois trata-se com 2,5-dicloro-6-metoxi-4-metil-nicotinonitrilo (10,0 g, 46,07 mmol). Sela-se o reactor e aquece-se a 100°C durante 2 horas. Arrefece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e verte-se sobre 500 mL de água fria. Forma-se um precipitado branco espesso. Agita-se a mistura a 0°C

durante 10 minutos, e depois separa-se o sólido por filtração. Coloca-se o sólido branco fofo (composto em título) numa estufa de vácuo a 60°C para secar de um dia para o outro (7,74 g, 54 %). Massa (m/z): 312,0 ( $M^+ + 1$ ).

### Exemplo 2

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-hidroxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



Adiciona-se a uma solução de ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metoxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (5,0 g, 16,04 mmol) em DMF (45 mL) tiometóxido de sódio sólido a 95 % (1,30 g, 17,64 mmol). Sela-se o reactor e aquece-se a 100°C durante 5 horas. Arrefece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e adiciona-se água (75 mL) para terminar a reacção. Acidifica-se a mistura até pH 2 por adição de HCl 5. Gradualmente forma-se um precipitado branco, espesso, que se agita a 0°C durante 10 minutos, e depois se separa por filtração. Seca-se o sólido na estufa de vácuo de um dia para o outro a 60°C para se obter o composto em título sob a forma de um sólido branco (4,13 g, 86 %). Massa (m/z): 298,0 ( $M^+ + 1$ ).

Exemplo 3

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-isopropoxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

A. Mistura a 1:1 de 2-cloro-6-isopropoxi-4-metil-nicotinonitrilo e 6-cloro-2-isopropoxi-4-metil-nicotinonitrilo.

Adiciona-se gota a gota a uma suspensão de 2,6-dicloro-4-metilnicotinonitrilo (0,500 g, 2,67 mmol) em 4 mL de 2-propanol a 0°C, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos) (2,67 mL, 2,67 mmol). Agita-se a mistura resultante a 0°C durante 20 minutos, e depois à temperatura ambiente durante 5 horas. Termina-se a reação adicionando água (10 mL) à mistura reaccional. Retoma-se a mistura em água e EtOAc (75 mL de cada), agitam-se as fases e separam-se. Lava-se a fase orgânica com salmoura, depois seca-se (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter o composto em título (sólido acastanhado, 0,510 g, 91 % de rendimento) uma mistura a 1:1 de regioisómeros (com base em dados de RMN). Massa (m/z): 211,0 ( $M^+ + 1$ ).

B. Mistura a 1:1 de 2,5-dicloro-6-isopropoxi-4-metil-nicotinonitrilo e 5,6-dicloro-2-isopropoxi-4-metil-nicotinonitrilo.

Adiciona-se a um tubo de ensaio em vidro espesso



e com tampa de rolhar uma mistura a 1:1 de 2-cloro-6-isopropoxi-4-metil-nicotinonitrilo e 6-cloro-2-isopropoxi-4-metil-nicotinonitrilo (0,510 g, 2,42 mmol), ácido acético glacial (7 mL), e N-clorossuccinimida (1,29 g, 9,68 mmol). Sela-se o tubo de ensaio, e aquece-se a mistura a 125°C durante 48 horas. Arrefece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e retoma-se em água e EtOAc (100 mL de cada). Agita-se a mistura e separam-se as fases. Lava-se a fase orgânica sucessivamente com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (100 mL), água (100 mL), e salmoura (100 mL). Seca-se a fase orgânica (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter Um óleo castanho. Uma cromatografia rápida (hexano:EtOAc a 5:1) permite obter-se o composto em título (sólido branco, 0,40 g, 67 % de rendimento) coo uma mistura a 1:1 de regioisómeros (com base em dados de RMN). Massa (m/z): 243,0 ( $M^+-1$ ).

C. Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-isopropoxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

Adiciona-se a uma solução de N-ciclopropil-2-mercapto-acetamida (0,498 g, 3,80 mmol) em MeOH (5 mL), uma solução de tiometóxido de sódio (a 25 %, em peso, em MeOH), (0,652 mL, 2,85 mmol). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 30 minutos, e depois trata-se com uma mistura a 1:1 de 2,5-dicloro-6-isopropoxi-4-metil-nicotinonitrilo e 5,6-dicloro-2-isopropoxy-4-metil-nicotinonitrilo (0,400 g, 1,63 mmol). Sela-se o reactor, aquece-se a 100°C durante 2,5 horas, e arrefece-se até à temperatura ambiente. Verte-se a mistura reaccional sobre água (60

mL), e depois extrai-se com EtOAc (2 x 40 mL). Lava-se o conjunto das fases orgânicas com salmoura (50 mL), seca-se (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter um sólido amarelo acastanhado. Uma cromatografia rápida (hexano:EtOAc a 1.,5:1) permite obter-se o composto em título sob a forma de um sólido acastanhado (20 mg). Massa (m/z): 340,1 ( $M^+ + 1$ ).

#### Exemplo 4

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-(2-metoxi-etoxi)-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

A. Mistura a 1:1 de 2-cloro-6-(2-metoxi-etoxi)-4-metil-nicotinonitrilo e 6-cloro-2-(2-metoxi-etoxi)-4-metil-nicotinonitrilo.

Adiciona-se gota a gota, a uma suspensão de 2,6-dicloro-4-metilnicotinonitrilo (0.500 g, 2,67 mmol) em 6 mL de 2-metoximetanol a 0°C, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (2,67 mL, 2,67 mmol). Agita-se a mistura resultante a 0°C durante 20 minutos, e depois à temperatura ambiente durante 5 horas. Termina-se a reação adicionando água (10 mL) à mistura reaccional. Retoma-se a mistura em água e EtOAc (75 mL de cada), agita-se a mistura e separam-se as fases. Lava-se a fase orgânica com salmoura, e depois seca-se (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se, e submete-se a uma cromatografia rápida (hexano:EtOAc a 5:1) para se obter o composto em título (sólido branco, 0,530 g, 88 % de

rendimento) como uma mistura a 1:1 de regioisômeros (com base em dados de RMN). Massa (m/z): 227,0 ( $M^+1$ ).

B. Mistura a 1:1 de 2,5-dicloro-6-(2-metoxi-etoxi)-4-metil-nicotinonitril e 5,6-dicloro-2-(2-metoxi-etoxi)-4-metil-nicotinonitrilo.

Adicionou-se a um tubo de ensaio espesso com tampa de rolhar, uma mistura a 1:1 de 2-cloro-6-(2-metoxi-etoxi)-4-metil-nicotinonitrilo e 6-cloro-2-(2-metoxi-etoxi)-4-metil-nicotinonitrilo (0,450 g, 1,99 mmol), ácido acético glacial (8 mL), e N-clorossuccinimida (1,06 g, 7,94 mmol). Sela-se o tubo de ensaio, e aquece-se a mistura a 110°C durante 24 horas. Arrefece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e retoma-se em água e EtOAc (100 mL de cada). Agita-se a mistura e separam-se as fases. Lava-se a fase orgânica sucessivamente com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (3 x 50 mL) e com água (100 mL). Seca-se a fase orgânica (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter o composto em título sob a forma de um óleo amarelo alaranjado (0,453 g, 87 % de rendimento), como uma mistura a 1:1 de regioisômeros (com base em dados de RMN). Massa (m/z): 261,0 ( $M^+1$ ).

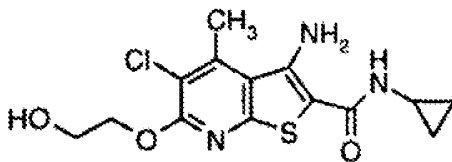
C. Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-(2-metoxi-etoxi)-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico.

Adiciona-se a uma solução de N-ciclopropil-2-mercapto-acetamida (0,452 g, 3,45 mmol) em MeOH (5 mL), uma

solução de metóxido de sódio (a 25 %, em peso, em MeOH), (0,589 mL, 2,58 mmol). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 30 minutos, depois tratou-se com uma mistura a 1:1 de 2,5-dicloro-6-(2-metoxi-etoxi)-4-metil-nicotinonitrilo e 5,6-dicloro-2-(2-metoxi-etoxi)-4-metil-nicotinonitrilo (0,450 g, 1,72 mmol). Sela-se o reactor, aquece-se a 100°C durante 2,5 horas, e arrefece-se até à temperatura ambiente. Verte-se a mistura reaccional sobre água (60 mL), e depois extrai-se com EtOAc (2 x 40 mL). Lava-se o conjunto das fases orgânicas com salmoura (50 mL), seca-se (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter um sólido amarelo acastanhado. Uma cromatografia rápida (hexano:EtOAc a 1,5:1) permite obter o composto em título sob a forma de um sólido de cor creme (53 mg, 10 %). Massa (m/z): 356,1 ( $M^+ + 1$ ).

#### Exemplo 5

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-(2-hidroxi-etoxi)-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



A. 2,5-Dicloro-4-metil-6-metilsulfanil-nicotinonitrilo.

Adiciona-se a uma suspensão de 2,5,6-tricloro-4-

metil-nicotinonitrilo (10,0 g, 45,2 mmol, Tetrahedron, 1977, **33**, 113-117) em MeOH (150 mL) a 0°C, tiometóxido de sódio sólido (3,33 g, 45,2 mmol). Agita-se a mistura a 0°C durante 1 hora, e depois à temperatura ambiente durante 1 hora. Termina-se a reacção pela adição de água (250 mL) à mistura reaccional. Retoma-se a mistura em água e EtOAc (500 mL de cada), agita-se a mistura e separam-se as fases. Seca-se a fase orgânica (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (10,5 g, 99 %). Massa (m/z): 233,0 ( $M^+ + 1$ ).

B. Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-metilsulfanil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

Adiciona-se a uma mistura de éster S-ciclopropil-carbamoílmético de ácido tioacético (8,58 g, 49,5 mmol) e MeOH (100 mL), uma solução de metóxido de sódio (a 25 %, em peso, em MeOH), (15,4 mL, 67,5 mmol). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 20 minutos, depois trata-se com 2,5-dicloro-4-metil-6-metilsulfanil-nicotinonitrilo (10,5 g, 45,0 mmol). Aquece-se a mistura ao refluxo a 100°C durante 2 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e termina-se adicionando água (100 mL) à mistura reaccional. Retoma-se a mistura em água e EtOAc (300 mL de cada), agitam-se as fases e separam-se. Extrai-se a fase aquosa com EtOAc (2 x 150 mL). Lava-se o conjunto das fases orgânicas com salmoura (200 mL), seca-se (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter

um sólido cor-de-laranja. Uma cromatografia rápida (hexano:EtOAc a 1:1) permite obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (8,4 g, 57 %). Massa (m/z): 328,1 ( $M^+ + 1$ ).

C. Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

Adiciona-se a uma suspensão de ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-metilsulfanil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (7,5 g, 22,87 mmol) em ácido acético glacial (75 mL), uma solução de 30 % de peróxido de hidrogénio em água (2,85 mL, 25,16 mmol). Agita-se a mistura a 35°C durante 16 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e verte-se sobre água (300 mL). Forma-se um precipitado amarelo brilhante. Agita-se a mistura a 0°C durante 1 hora e depois separa-se o sólido por filtração e seca-se a 60°C durante 3 horas para se obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo brilhante (5,58 g, 71 %). Massa (m/z): 344,1 ( $M^+ + 1$ ).

D. Éster metílico do ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético

Adiciona-se gota a gota a uma solução de glicolato de metilo (6,55 g, 72,71 mmol) em THF (35 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos) (36,35 mL, 36,35 mmol). Agita-

se a mistura resultante durante 20 minutos, e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (5,0 g, 14,54 mmol). Sela-se o reactor e aquece-se a 90°C durante 3 horas. Arrefece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e termina-se a reacção adicionando-lhe água (50 mL). Retoma-se a mistura em água e EtOAc (250 mL de cada), agitam-se as fases e depois separam-se. Extrai-se a fase aquosa com 2 x 100 mL de EtOAc. Seca-se o conjunto das fases orgânicas (sulfato de magnésio anidro), filtra-se, concentra-se, e submete-se a uma cromatografia rápida (hexano:EtOAc a 1:1) para se obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (3,1 g, 58 %). Massa (m/z): 370,1 ( $M^+ + 1$ ), 368,0 ( $M^+ - 1$ ).

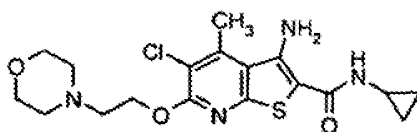
E. Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-(2-hidroxi-etoxi)-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

Adiciona-se gota a gota a uma solução de éster metílico do ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético (0,250 g, 0,676 mmol) em THF (3 mL) a -78°C, uma solução de hidreto de di-isobutilalumínio (1,5 M em tolueno), (1,35 mL, 2,03 mmol). Agita-se a solução reaccional a -78°C durante 30 minutos, e em seguida à temperatura ambiente durante 1 hora. Caso a reacção não se haja completado, de acordo com uma CCF (EtOAc:hexano a 2:1), pode adicionar-se mais 1,0 eq de hidreto de di-isobutilalumínio (1,5 M em tolueno), (0,45

mL, 0,676 mmol). Passados 15 minutos, termina-se a reacção adicionando à mistura reaccional 3 mL de uma mistura a 1:1 de MeOH:água. Retoma-se a mistura reaccional em água e EtOAc (50 mL de cada), agita-se e separam-se as fases. Extraí-se a fase aquosa com 2 x 50 mL de EtOAc, e seca-se o conjunto das fases orgânicas (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter um sólido amarelo. Retoma-se este sólido em EtOAc+hexano a 2:1, e depois de ele se dissolver, forma-se um precipitado amarelo. Recolhe-se o sólido por filtração e seca-se na estufa de vácuo a 60°C de um dia para o outro para se obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,155 g, 67 %). Massa (m/z): 342,1 ( $M^+ + 1$ ).

#### Exemplo 6

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-(2-mofolin-4-il-etoxi)-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



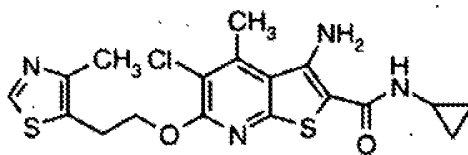
Adiciona-se gota a gota a uma solução de 4-(2-hidroxietil)morfolina (5,72 g, 43,62 mmol) em THF (25 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)-amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (21,80 mL, 21,80 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos, e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-



cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (3,0 g, 8,72 mmol). Sela-se o reactor e aquece-se a 80°C durante 3 horas. Arrefece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e termina-se a reacção adicionando-lhe água (200 mL). Forma-se um precipitado amarelo. Dilui-se a mistura até 350 mL com água e arrefece-se até 0°C. Separa-se o precipitado amarelo por filtração. Suspende-se o sólido em 100 mL de hexano:EtOAc a 3:1 e agita-se durante 10 minutos. Filtra-se a mistura e seca-se o sólido que se separou na estufa de vácuo de um dia para o outro para se obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (2,11 g, 59 %). Massa (m/z): 411,1 ( $M^+ + 1$ ), 409,1 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 7

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-[2-(4-metil-thiazol-5-il)-etoxi]-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

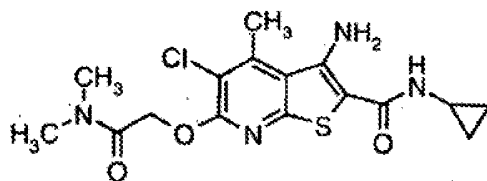


Adiciona-se a uma solução de 4-metil-5-tiazole-etanol (0,375 g, 2,62 mmol) em THF (1 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (1,74 mL, 1,74 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com carboxilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-

metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,300 g, 0,872 mmol). Agita-se a mistura reaccional à temperatura ambiente durante 18 horas, e depois termina-se a reacção adicionando água (5 mL) à mistura reaccional. Retoma-se a mistura em água e EtOAc (40 mL de cada). Adicionam-se cinco mL de HCl 1 N, agitam-se as fases e separam-se. Extrai-se a fase aquosa com EtOAc (50 mL) e seca-se o conjunto das fases orgânicas (sulfato de magnésio anidro), filtra-se, concentra-se, e submete-se a uma cromatografia rápida (hexano:EtOAc a 1:2) para se obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo claro (0,094 g, 25 %). Massa (m/z): 423,1 ( $M^+ + 1$ ), 421,1 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 8

Dimetilamida do ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético



A. Ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético

Adiciona-se a uma solução de éster metílico do ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético (0,940 g, 2,54 mmol) em

THF (20 mL), trimetilsilanolato de potássio a 95 % (1,63 g, 12,71 mmol). Agita-se a mistura resultante à temperatura ambiente durante 2 horas e depois termina-se a reacção adicionando água (50 mL) à mistura reaccional. Acidifica-se a mistura até pH 2 por adição de HCl 1 N, e depois extrai-se com EtOAc (100 mL). Lava-se a fase orgânica com salmoura (40 mL), e depois seca-se (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,693 g, 77 %). Massa (m/z): 355,9 ( $M^+ + 1$ ), 354,0 ( $M^+ - 1$ ).

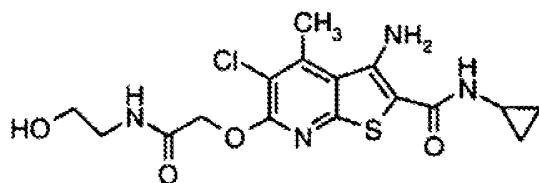
B. Dimetilamida do ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético

Adiciona-se a uma solução de ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético (0,200 g, 0,562 mmol) numa mistura a 1:1 de THF:DMF (1,5 mL de cada), hidrato de 1-hidroxibenzotriazole (0,099 g, 0,731 mmol), N,N-di-isopropiletilamina (0,109 g, 0,843 mmol), cloridrato de 1-[3-(dimetilamino)-propil]-3-etilcarbodi-imida (0,162 g, 0,843 mmol), e dimetilamina (2,0 M em MeOH), (0,85 mL, 1,69 mmol). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 24 horas, e depois a 50°C durante 24 horas. Arrefece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e termina-se a reacção adicionando água à mistura. Retoma-se a mistura em água e EtOAc (40 mL de cada), agita-se a mistura e separam-se as fases. Acidifica-se a fase aquosa até pH 3 com HCl 1

N, e depois extrai-se com EtOAc (40 mL). Seca-se o conjunto das fases orgânicas (sulfato de magnésio anidro), filtra-se, concentra-se, e submete-se a uma cromatografia rápida (100 % de EtOAc) para se obter o composto em título sob a forma de um sólido branco (0,040 g, 19 %). Massa (m/z): 383,2 ( $M^+ + 1$ ), 381,2 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 9

2-Hidroxietilamida do ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético

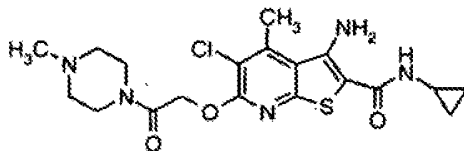


Adicionam-se a uma solução de ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético (0,200 g, 0,562 mmol) num mistura a 1:1 de THF:DMF (1,5 mL de cada), hidrato de 1-hidroxibenzotriazole (0,099 g, 0,731 mmol), N,N-di-isopropiletilamina (0,109 g, 0,843 mmol), cloridrato de 1-[3-(dimetilamino)-propil]-3-etilcarbodi-imida (0,162 g, 0,843 mmol), e etanolamina (0,103 g, 1,69 mmol). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 24 horas, e depois a 50°C durante 24 horas. Arrefece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e termina-se a reacção adicionando água à mistura. Retoma-se a mistura em água e EtOAc (40 mL

de cada), agita-se a mistura e separam-se as fases. Acidifica-se a fase aquosa até pH 3 com HCl 1 N e depois extrai-se com EtOAc (40 mL). Seca-se o conjunto das fases orgânicas (sulfato de magnésio anidro), filtra-se, concentra-se, e submete-se a uma cromatografia rápida (100 % de EtOAc) para se obter o composto em título sob a forma de um sólido creme (0,075 g, 34 %). Massa (m/z): 399,2 ( $M^+ + 1$ ), 397,2 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 10

(4-metil-piperazin-1-il)-amida do ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético

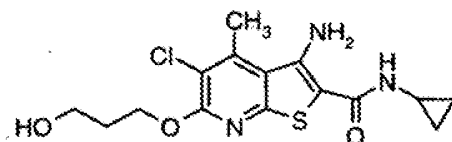


Adicionam-se a uma solução de ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b][piridin-6-iloxi)-acético (0,200 g, 0,562 mmol) numa mistura a 1:1 de THF:DMF (1,5 mL de cada), hidrato de 1-hidroxibenzotriazole (0,099 g, 0,731 mmol), N,N-di-isopropiletilamina (0,109 g, 0,843 mmol), cloridrato de 1-[3-(dimetilamino)-propil]-3-etilcarbodi-imida (0,162 g, 0,843 mmol), e N-metilpiperazina (0,169 g, 1,69 mmol). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 24 horas, e depois a 50°C durante 24 horas. Arrefece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e termina-se pela

adição de água à mistura reaccional. Retoma-se a mistura em água e EtOAc (40 mL de cada), agita-se a mistura e separam-se as fases. Acidifica-se a fase aquosa até pH 3 com HCl 1 N e depois extrai-se com EtOAc (40 mL). Seca-se o conjunto das fases orgânicas (sulfato de magnésio anidro), filtra-se, concentra-se, e submete-se a uma cromatografia rápida (100 % de EtOAc) para se obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,080 g, 33 %). Massa (m/z): 438,2 ( $M^+ + 1$ ), 436,2 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 11

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-(3-hidroxi-propoxi)-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

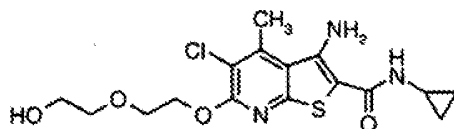


Adiciona-se gota a gota a uma solução de 1,3-propanodiol (1,053 g, 13,84 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanosulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 75°C durante 1 hora, arrefece-se até à temperatura ambiente, e

depois termina-se adicionando água (15 mL) à mistura reaccional. Adiciona-se gelo à mistura reaccional e, enquanto se agita, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e coloca-se numa estufa de vácuo para secar (a 60°C durante 16 horas). Isto permite obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,240 g, 67 %). Massa (m/z): 356,2 ( $M^+ + 1$ ), 354,1 ( $M^+ - 1$ ).

### Exemplo 12

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-[2-(2-hidroxi-etoxi)-etoxi]-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

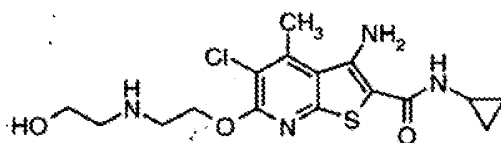


Adiciona-se gota a gota, a uma solução de dietilenoglicol (1,118 g, 10,54 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos) (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanosulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 75°C durante 1 hora, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se a reacção por adição de água (15 mL) à mistura reaccional. Adiciona-se gelo à mistura reaccional

e, enquanto se agita, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e coloca-se na estufa de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,150 g, 39 %). Massa (m/z): 386,2 ( $M^+ + 1$ ), 384,1 ( $M^+ - 1$ ).

### Exemplo 13

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-[2-(2-hidroxi-etilamino)-etoxi]-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



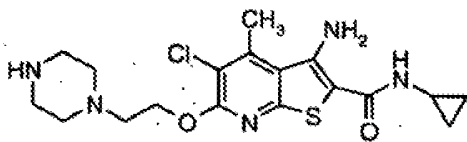
Adiciona-se gota a gota, a uma solução de dietanolamina (1,097 g, 10,43 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfonil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 75°C durante 1 hora, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se adicionando água (15 mL) à mistura reaccional. Adiciona-se gelo à mistura reaccional e, enquanto se agita, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e coloca-se na estufa de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Assim se obtém o composto em título sob



a forma de um sólido amarelo (0,216 g, 56 %). Massa (m/z): 385,2 ( $M^+ + 1$ ), 383,1 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 14

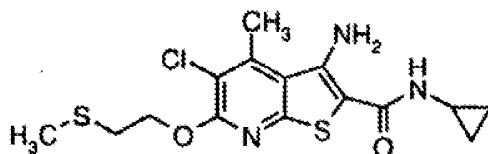
Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-(2-piperazin-1-il-etoxi)-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



Adiciona-se gota a gota, a uma solução de 1-(2-hidroxietil)piperazina (1,061 g, 8,15 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)-amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 75°C durante 1 hora, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se adicionando água (15 mL) à mistura reaccional. Adiciona-se gelo à mistura reaccional e, enquanto se agita, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e coloca-se na estufa de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,245 g, 71 %). Massa (m/z): 410,2 ( $M^+ + 1$ ), 408,2 ( $M^+ - 1$ ).

Exemplo 15

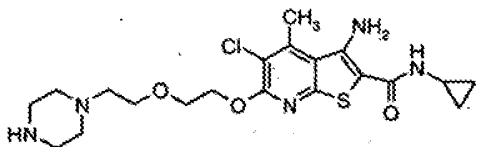
Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-(2-metilsulfanil-etoxi)-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



Adiciona-se gota a gota, a uma solução de 2-(metiltio)etanol (1,060 g, 11,50 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)-amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 80°C num tubo selado durante 1,5 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se adicionando água (15 mL) à mistura reaccional. Adiciona-se gelo à mistura reaccional e, enquanto se agita, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e coloca-se na estufa de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,203 g, 55 %). Massa (m/z): 372,1 ( $M^{+}+1$ ), 370,1 ( $M^{+}-1$ ).

Exemplo 16

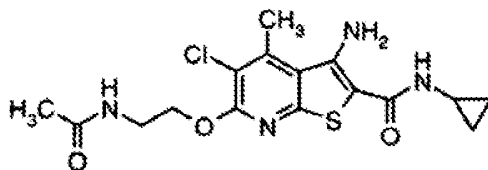
Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-[2-(2-piperazin-1-il-etoxi)-etoxi]-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



Adiciona-se gota a gota, a uma solução de 1-[2-(2-hidroxietoxi)etil]piperazina (1,061 g, 6,09 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 80°C num tubo selado durante 1,5 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se a reacção adicionando água (15 mL) à mistura reaccional. Adiciona-se gelo à mistura reaccional e, enquanto se agita, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e coloca-se na estufa de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,078 g, 17 %). Massa (m/z): 454,2 ( $M^+ + 1$ ), 452,2 ( $M^+ - 1$ ).

Exemplo 17

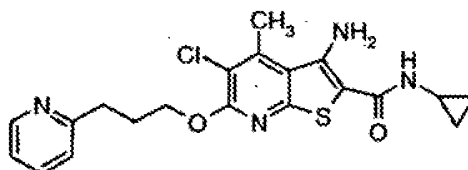
Ciclopropilamida do ácido 6-(2-acetiloamino-etoxi)-3-amino-5-cloro-4-metil]-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



Adiciona-se gota a gota, a uma solução de N-acetiletanolamina (1,120 g, 10,86 mmol) em THF (3 mL), à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)-amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 80°C num tubo selado durante 1,5 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se a reacção adicionando água (15 mL) à mistura reaccional. Adiciona-se gelo à mistura reaccional e, enquanto se agita, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e coloca-se na estufa de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,199 g, 52 %). Massa (m/z): 383,2 ( $M^+ + 1$ ), 381,1 ( $M^+ - 1$ ).

Exemplo 18

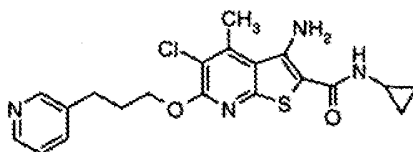
Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-(3-piridin-2-il-propoxi)-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



Adiciona-se gota a gota, a uma solução de 2-piridinapropanol (0,960 g, 7,0 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)-amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 75°C num tubo selado durante 1,5 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se a reacção adicionando de água (10 mL) à mistura reaccional. Transfere-se a mistura reaccional para um balão de Erlenmeyer e dilui-se a 75 mL com água. Arrefece-se a mistura até 0°C e agita-se. Durante este período de tempo, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e suspende-se numa mistura a 2:1 de EtOAc:hexano. Agita-se esta suspensão durante 10 minutos, filtra-se e coloca-se o sólido obtido numa estufa de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Deste modo se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,141 g, 34 %). Massa (m/z): 417,2 ( $M^+ + 1$ ), 415,1 ( $M^+ - 1$ ).

Exemplo 19

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-(3-piridin-3-il-propoxi)-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

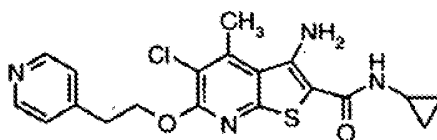


Adiciona-se gota a gota a uma solução de 3-piridinopropanol (0,960 g, 7,0 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida d ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 75°C num tubo selado durante 1,5 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se a reacção adicionando água (10 mL) à mistura reaccional. Transfere-se a mistura reaccional para um balão de Erlenmeyer e dilui-se a 75 mL com água. Arrefece-se a mistura até 0°C e agita-se. Durante este período de tempo, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e suspende-se numa mistura a 2:1 de EtOAc:hexano. Agita-se esta suspensão durante 10 minutos, filtra-se e coloca-se o sólido obtido numa estufa de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Assim se obtém o composto em título sob a forma de um

sólido amarelo (0,242 g, 58 %). Massa (m/z): 417,2 ( $M^+ + 1$ ), 415,2 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 20

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-(2-piridin-4-il-etoxi)-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

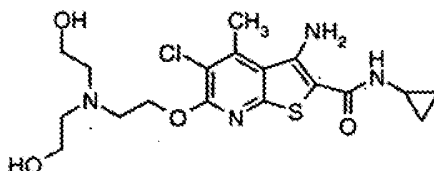


Adiciona-se gota a gota, a uma solução de 4-piridinaetanol (0,862 g, 7,0 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanosulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 75°C num tubo selado durante 1,5 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se a reacção adicionando água (10 mL) à mistura reaccional. Transfere-se a mistura reaccional para um balão de Erlenmeyer e dilui-se até 75 mL com água. Arrefece-se a mistura até 0°C e agita-se. Nesta altura, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e suspende-se numa mistura a 2:1 de EtOAc:hexano. Agita-se esta suspensão durante 10 minutos, filtra-se e coloca-se o sólido obtido numa estufa

de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,231 g, 57 %). Massa (m/z): 403,1 ( $M^+ + 1$ ), 401,1 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 21

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-6-{2-[bis-(2-hidroxietil)-amino]-etoxi}-5-cloro-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



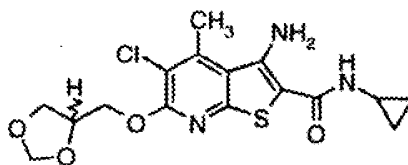
Adiciona-se gota a gota, a uma solução de tri-etanolamina (1,044 g, 7,0 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 75°C num tubo selado durante 1,5 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se a reacção adicionando água (10 mL) à mistura reaccional. Transfere-se a mistura reaccional para um balão de Erlenmeyer e dilui-se até 75 mL com água. Arrefece-se a mistura até 0°C e agita-se. Nesta altura, forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e suspende-se numa mistura a 2:1 de



EtOAc: hexano. Agita-se esta suspensão durante 10 minutos, filtra-se e coloca-se o sólido obtido na estufa de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,179 g, 41 %). Massa (m/z): 429,2 ( $M^+ + 1$ ), 427,2 ( $M^+ - 1$ ).

### Exemplo 22

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-([1,3]dioxolan-4-ilmetoxi)-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

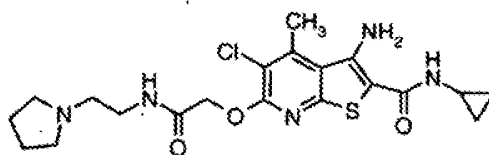


Adiciona-se gota a gota, a uma solução de glicerolformal (0,729 g, 7,0 mmol) em THF (3 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (3,50 mL, 3,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfonil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 75°C num tubo selado durante 1,5 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se a reacção adicionando água (10 mL) à mistura reaccional. Transfere-se a mistura reaccional para um balão de Erlenmeyer e dilui-se a 75 mL com água. Arrefece-se a até 0°C e agita-se. Nesta altura, forma-se um precipitado branco. Separa-se este sólido por

filtração e suspende-se numa mistura a 2:1 de EtOAc:hexano. Agita-se esta mistura durante 10 minutos, filtra-se e coloca-se o sólido obtido na estufa de vácuo para secar (60°C durante 16 horas). Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido branco (0,195 g, 51 %). Massa (m/z): 384,1 ( $M^+ + 1$ ), 382,1 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 23

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-[(2-pirrolidin-1-il-etilcarbamoil)-metoxi]-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

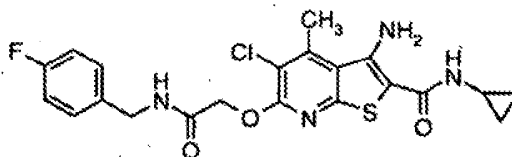


Adicionam-se a uma solução de ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético (0,300 g, 0,843 mmol) numa mistura a 1:1 de THF:DMF (2,0 mL de cada), hidrato de 1-hidroxibenzotriazole (0,148 g, 1,096 mmol), N,N-di-isopropiletilamina (0,163 g, 1,265 mmol), cloridrato de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodi-imida (0,242 g, 1,265 mmol), e 1-(2-amino-etil)pirrolidina (0,289 g, 2,529 mmol). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 16 horas. Termina-se a reacção adicionando água (25 mL) à mistura reaccional. Forma-se um precipitado amarelo. Arrefece-se a mistura a 0°C e agita-se durante 10 minutos, e filtra-se.

Seca-se o sólido obtido na estufa de vácuo durante 3 horas a 60°C. Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,069 g, 18 %). Massa (m/z): 452,2 ( $M^+ + 1$ ), 450,2 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 24

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-[(4-fluoro-benzylcarbamoíl)-metoxi]-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

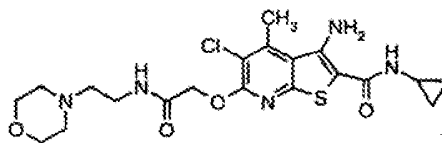


Adicionam-se a uma solução de ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético (0,300 g, 0,843 mmol) numa mistura a 1:1 de THF:DMF (2,0 mL de cada), hidrato de 1-hidroxibenzotriazole (0,148 g, 1,096 mmol), N,N-di-isopropiletilamina (0,163 g, 1,265 mmol), cloridrato de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodi-imida (0,242 g, 1,265 mmol), e 4-fluorobenzilamina (0,317 g, 2,529 mmol). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 16 horas. Termina-se a reacção adicionando água (25 mL) à mistura reaccional. Forma-se um precipitado amarelo. Arrefece-se a mistura até 0°C e agita-se durante 10 minutos, depois filtra-se. Suspende-se o sólido obtido em hexano:EtOAc a 10:1 e agita-se durante 10 minutos. Recolhe-se o sólido por filtração e

seca-se na estufa de vácuo a 50°C durante 1 hora. Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo claro (0,143 g, 37 %). Massa (m/z): 463,1 ( $M^{+}+1$ ), 461,1 ( $M^{+}-1$ ).

#### Exemplo 25

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-[(2-morfolin-4-il-etilcarbamoil)-metoxi]-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

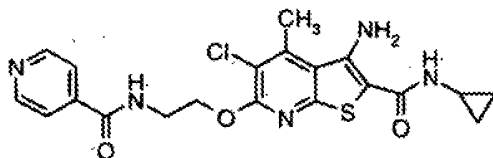


Adicionam-se a uma solução de ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético (0,300 g, 0,843 mmol) numa mistura a 1:1 de THF:DMF (2,0 mL de cada), hidrato de 1-hidroxibenzotriazole (0,148 g, 1,096 mmol), N,N-di-isopropiletilamina (0,163 g, 1,265 mmol), cloridrato de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodi-imida (0,242 g, 1,265 mmol), e 4-(2-amino-etil)morfolina (0,329 g, 2,529 mmol). Agita-se a solução resultante à temperatura ambiente durante 16 horas. Termina-se a reacção pela adição de água (25 mL) à mistura reaccional. Caso não se forme nenhum precipitado, pode acidificar-se a mistura até pH 2 com HCl 1 N, e extrai-se com EtOAc (25 mL). Despreza-se a fase orgânica e torna-se a fase aquosa básica (pH 12) com NaOH 5 N, e extrai-se com

EtOAc (40 mL). Seca-se a fase orgânica (sulfato de magnésio anidro), filtra-se e concentra-se para se obter um sólido amarelo. Suspende-se o sólido numa mistura a 3:1 de hexano:EtOAc (10 mL), e depois filtra-se. Seca-se o sólido que se obteve na estufa de vácuo a 50°C durante 72 horas. Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,053 g, 13 %). Massa (m/z): 468,2 ( $M^+ + 1$ ), 466,2 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 26

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-{2-[(piridina-4-carbonil)-amino]-etoxi}-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

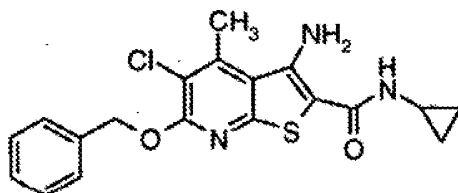


Adiciona-se gota a gota, a uma solução de N-(2-hidroxietil)-isonicotinamida (0,831 g, 5,00 mmol) em THF (2,5 mL), à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (2,50 mL, 2,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanossulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 80°C num tubo selado durante 2 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, e depois termina-se

a reacção adicionando água (15 mL) à mistura reaccional. Dilui-se a mistura até 100 mL com água, e depois arrefece-se até 0°C e agita-se. Forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração, suspende-se em EtOAc, e filtra-se de novo para se obter um sólido amarelo que se coloca numa estufa de vácuo para secar (a 50°C durante 3 horas). Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido amarelo (0,046 g, 10 %). Massa (m/z): 446,3 ( $M^+ + 1$ ), 444,2 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 27

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-6-benziloxi-5-cloro-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

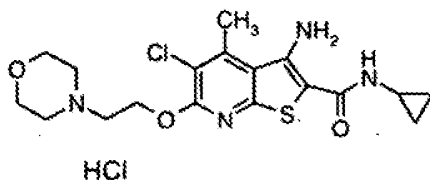


Adiciona-se gota a gota, a uma solução de álcool benzílico (0,541 g, 5,00 mmol) em THF (2,5 mL) à temperatura ambiente, uma solução de bis(trimetilsilil)amideto de lítio (1,0 M em hexanos), (2,50 mL, 2,50 mmol). Agita-se a mistura reaccional durante 15 minutos e depois trata-se com ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metanosulfinil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-2-carboxílico (0,345 g, 1,00 mmol). Aquece-se a mistura reaccional a 80°C num tubo selado durante 2 horas, arrefece-se até à temperatura

ambiente, e depois termina-se a reacção adicionando água (15 mL) à mistura reaccional. Dilui-se a mistura até 100 mL com água e depois arrefece-se até 0°C e agita-se. Nesta altura forma-se um precipitado amarelo. Separa-se este sólido por filtração e purifica-se por cromatografia rápida (hexano: EtOAc a 1,5:1) para se obter o composto em título sob a forma de um sólido amarelo claro (0,130 g, 33 %). Massa (m/z): 388,2 ( $M^+ + 1$ ), 386,2 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 28

Cloridrato da ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-(2-morfolin-4-il-etoxi)-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico

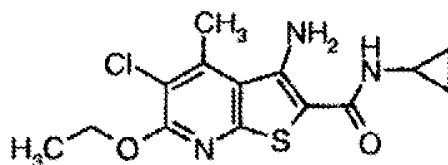


Aquece-se a 50°C uma mistura de ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-(2-morfolin-4-il-etoxi)-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,800 g, 1,95 mmol) e MeOH (50 mL). Trata-se esta mistura com THF (5 mL) e com DMF (5 mL). Ainda à temperatura de 50°C, acidifica-se a mistura até pH 1 com HCl concentrado. Forma-se uma solução homogénea. Deixa-se arrefecer lentamente a solução até à temperatura ambiente. Nesta altura, forma-se um precipitado branco. Separa-se este sólido por filtração e seca-se na estufa de vácuo durante 72 horas a 50°C. Assim se obtém o

composto em título sob a forma de um sólido branco (0,562 g, 65 %). Massa (m/z): 411,1 ( $M^+ + 1$ )-HCl, 445,1 ( $M^+ - 1$ ).

#### Exemplo 29

Ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-etoxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico



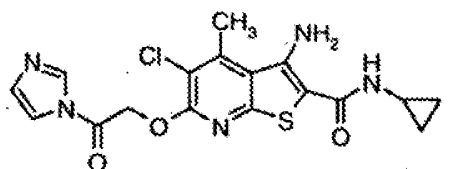
Suspende-se hidreto de sódio (0,037 g, 0,925 mmol) em 1,2-dimetoxi-etano anidro (5,0 mL) sob atmosfera de azoto. Arrefece-se a suspensão até 0°C. Adiciona-se a esta suspensão, por intermédio de uma cânula, uma solução de ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-hidroxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico (0,300 g, 1,01 mmol) em DMF anidro (5,0 mL). Remove-se o banho de gelo, e aquece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente. Depois de se agitar a mistura reaccional durante 25 minutos à temperatura ambiente, adiciona-se-lhe brometo de lítio sólido (0,175 g, 2,02 mmol), e agita-se a mistura reaccional durante mais duas horas. Por último, adiciona-se-lhe iodeto de etilo (0,24 mL, 0,47 g, 3,00 mmol), e agita-se a mistura reaccional durante 36 horas à temperatura ambiente. No final do período reaccional, termina-se adicionando água à mistura. Separa-se o sólido por filtração, e depois purifica-se por cromatografia rápida (gradiente de



hexanos:EtOAc) para se obter o composto em título sob a forma de um sólido branco (24,3 mg, 8 % de rendimento). Massa (m/z): 326,0 ( $M^+ + 1$ ), 324,0 ( $M^+ - 1$ ).

### Exemplo 30

(Imidazol-1-il)-amida do ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético



Adiciona-se a uma solução de ácido (3-amino-5-cloro-2-ciclopropilcarbamoil-4-metil-tieno[2,3-b]piridin-6-iloxi)-acético (0,350 g, 0,98 mmol) em DMF (4 mL) à temperatura ambiente, 1,1'-carbonildi-imidazole (0,239 g, 1,48 mmol). Aquece-se a solução resultante a 40°C durante 20 minutos. Nesta altura, forma-se um precipitado de cor creme. Arrefece-se a mistura até 10°C, e adiciona-se-lhe 2-aminopiridina (0,231 g, 2,46 mmol) sem solvente. Agita-se a mistura à temperatura ambiente durante 30 minutos, e depois termina-se a reacção adicionando-lhe solução aquosa de bicarbonato de sódio (10 mL). Forma-se um precipitado branco espesso. Dilui-se a mistura com água (25 mL), agita-se durante 10 minutos, e depois filtra-se. Seca-se o sólido que se obteve na estufa de vácuo durante 16 horas. Assim se obtém o composto em título sob a forma de um sólido branco (0,228 g, 58 %). Massa (m/z): 404,0 ( $M^+ - 1$ ).

Podem administrar-se os compostos da invenção presente por si sós ou sob a forma de uma composição farmacêutica, isto é, combinados com veículos ou excipientes aceitáveis do ponto de vista farmacêutico, cuja natureza e proporções são determinadas pela solubilidade e pelas propriedades químicas do composto seleccionado, pela via de administração pretendida, e pela prática farmacêutica habitual. Os compostos da invenção presente, embora eficazes por si próprios, podem ser formulados e administrados sob a forma de seus sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico, com objectivos de estabilidade, conveniência ou cristalização, maior solubilidade, e outros semelhantes.

Deste modo, a invenção presente proporciona composições farmacêuticas que incluem um composto com a Fórmula I e um diluente aceitável do ponto de vista farmacêutico.

Podem administrar-se os compostos com a Fórmula I por diversas vias. Para levar a cabo o tratamento de um paciente que sofra das patologias descritas neste documento, pode administrar-se um composto com a Fórmula I sob uma qualquer forma ou de um qualquer modo que torne o composto biodisponível na quantidade eficaz, incluindo as vias oral e parenteral. Por exemplo, podem administrar-se os compostos com a Fórmula I, por via oral, por inalação, ou pelas vias subcutânea, intramuscular, endovenosa, transdérmica, intranasal, rectal, ocular, tópica, sublingual,

bucal, ou outras vias. Em geral prefere-se a via oral de administração para o tratamento das patologias neurológicas e psiquiátricas descritas neste documento. Um especialista na técnica de preparação de formulações pode facilmente seleccionar a forma e o modo de administração adequados consoante as características específicas do composto seleccionado, a patologia ou o estado que se pretenda tratar, o estágio da patologia ou do estado, e outras circunstâncias relevantes. (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Edição, Mack Publishing Co. (1990)). As composições farmacêuticas são preparadas de um modo bem conhecido na técnica farmacêutica. O veículo ou excipiente pode ser um material sólido, semi-sólido, ou líquido que possa servir como veículo ou meio para o ingrediente activo. São bem conhecidos na técnica veículos ou excipientes adequados. A composição farmacêutica pode estar adaptada para administração oral, por inalação, parenteral, ou tópica, e pode ser administrada ao paciente sob a forma de comprimidos, cápsulas, aerossóis, inalações, supositórios, soluções, suspensões, ou outras semelhantes.

Podem administrar-se os compostos da invenção presente por via oral, por exemplo, com um diluente inerte ou em cápsulas ou após compressão a comprimidos. Para a administração terapêutica por via oral, podem incorporar-se os compostos com excipientes e utilizar-se sob a forma de comprimidos, trociscos, cápsulas, elixires, suspensões, xaropes, hóstias, gomas de mascar e outras semelhantes. Estas preparações deveriam conter pelo menos 4 % do

composto da invenção presente, o ingrediente activo, mas esta quantidade pode variar consoante a forma específica e pode convenientemente ser de entre 4 % e cerca de 70 % do peso da unidade. A quantidade de composto presente nas composições é tal que se obtém uma dosagem adequada. As composições e preparações preferidas de acordo com a invenção presente podem ser determinadas por um indivíduo com conhecimentos da técnica.

Os comprimidos, pílulas, cápsulas, trociscos, e outros semelhantes, podem também conter um ou mais dos adjuvantes seguintes: aglomerantes tais como a povidona, a hidroxipropilcelulose, a celulose microcrstalina, a goma de tragacanto ou a gelatina; excipientes tais como fosfato dicálcico, amido, ou lactose; agentes desintegrantes tais como o ácido algínico, Primogel, amido de milho e outros semelhantes; lubrificantes tais como o talco, o estearato de magnésio ou Sterotex; agentes de escorregamento tais como o dióxido de silício coloidal; e agentes edulcorantes, tais como a sacarose, o aspartame, ou a sacarina, ou um agente saborizante, tal como hortelã-pimenta, salicilato de metilo ou sabor a laranja. Quando a forma de unidade de dosagem for uma cápsula, ela pode conter, para além de materiais do tipo dos enumerados acima, um veículo líquido tal como o polietilenoglicol ou um óleo gordo. Outras formas de unidade de dosagem podem conter diversos materiais que modificam a forma física da unidade de dosagem, por exemplo, revestimentos. Deste modo, podem revestir-se comprimidos ou pílulas com açúcar, shellac, ou

outros agentes de revestimento. Um xarope pode conter, para além dos compostos presentes, sacarose a título de agente edulcorante, e determinados conservantes, corantes e saborizantes. Os materiais utilizados na preparação destas diversas composições devem ser puros do ponto de vista farmacêutico, bem como não tóxicos nas quantidades utilizadas. Para administração terapêutica por via parenteral, podem incorporar-se os compostos da invenção presente numa solução ou numa suspensão. Estas preparações contêm tipicamente pelo menos 0,001 % de um composto da invenção, mas podendo variar entre 0,001 e cerca de 90 % do seu peso. A quantidade de composto com a Fórmula 1 presente em tais composições é tal que se obtenha uma dosagem adequada. As soluções ou suspensões também podem incluir um ou mais dos adjuvantes que se seguem: diluentes estéreis, tais como água para injeção, solução salina, óleos fixados, polietilenoglicóis, glicerina, propilenoglicol ou outros solventes sintéticos; agentes antibacterianos, tais como álcool benzílico ou metilparabeno; antioxidantes, tais como o ácido ascórbico ou o bissulfito de sódio; agentes quelantes, tais como o ácido etilenodiaminotetra-acético; tampões, tais como os acetatos, citratos ou fosfatos; e agentes para o ajustamento da tonicidade, tais como o cloreto de sódio ou a dextrose. Pode embalar-se a preparação parenteral dentro de ampolas, seringas descartáveis ou frascos para diversas doses feitos em vidro ou em plástico. Um especialista na técnica sabe determinar quais as composições e preparações que são preferidas.

Os compostos da invenção presente também podem ser administrados por via tópica, e para esse efeito, o veículo pode de forma adequada incluir como base uma solução, um unguento, ou um gel. Esta base pode incluir por exemplo, um ou mais dos seguintes: petrolatum, lanolina, polietilenoglicóis, cera de abelhas, óleo mineral, diluentes tais como água e álcool, e emulsionantes, e estabilizantes. As formulações tópicas podem conter uma concentração de um composto com a Fórmula I ou de um seu sal farmacêutico de entre 0,1 e cerca de 10 %, em peso/volume).

Os compostos com a Fórmula I são potenciadores alostéricos do subtipo  $M_4$  dos receptores muscarínicos. Para além disto, os compostos com a Fórmula 1 potenciam selectivamente os receptores  $M_4$  em relação aos outros receptores muscarínicos. A actividade dos compostos da invenção presente pode ser determinada pelos métodos adiante.

Mobilização do cálcio em células inteiras expressando de forma estável receptores muscarínicos humanos

#### A. Linhas de Células Estáveis

Podem utilizar-se técnicas habituais de clonagem molecular para gerar linhas de células estáveis que expressam os receptores muscarínicos humanos  $M_1$ - $M_5$ . Os receptores  $M_1$ ,  $M_3$  e  $M_5$  são expressos em linhas de células de ovário de hamster Chinês (CHO), enquanto  $M_2$  e  $M_4$  são

expressos em linhas de células AV12  $G_{\alpha 15}$ . O cADN que codifica para estes receptores muscarínicos corresponde à sequência publicada na base de dados de nucleótidos NCBI para os números de acesso: AF498915, AF498916, AF498917, AF498918 e AF498919, respectivamente para  $M_1$ - $M_5$ .

#### B. Métodos

Utilizando um corante fluorescente sensível ao cálcio, pode detectar-se a actividade agonista ou de potenciação de um dado composto com uma única experiência recorrendo a um instrumento de Leitura de Placas Por Imagem com Luz Fluorescente (FLIPR). Plaqueiam-se as células em placas negras revestidas com Poli-D-Lisina/de fundo transparente (Becton Dickinson) a 40.000 células por mL (a 100  $\mu$ L/poço) e meio de crescimento, 24 horas antes de se fazer a experiência. Remove-se o meio antes da adição de 50  $\mu$ L de solução de corante fluorescente (HBSS contendo Hepes 20 mM, 10  $\mu$ M em Fluo-3-AM, com 0,05 % de ácido plurónico F127; suplementado com probenecid 2,5 mM para as determinações em células CHO). Incubam-se as células com o corante durante 75 minutos antes de substituir por tampão do ensaio (Hepes 20 mM em solução balanceada de sais de Hanks (Gibco); suplementada com probenecid 2,5 mM para as determinações em células CHO). Transfere-se a placa para a máquina FLIPR (Molecular Devices) para os registos das fluorescências. Excitam-se periodicamente as células com luz de 488 nm, e fez-se passar a luz fluorescente emitida através de um filtro para 510-570 nm, detectando-se em seguida com uma câmara CCD arrefecida. Um programa compu-

tacional rege as adições automáticas de múltiplos compostos. Incubam-se previamente as células com concentrações crescentes dos compostos. Passados 2 minutos, adiciona-se uma gama de concentrações de acetilcolina a cada concentração de casa composto. Se o composto é um potenciador alostérico, poderá detectar-se uma potenciação da resposta a acetilcolina dependente da concentração do composto. A eficácia dos compostos potenciadores pode ser classificada pela sua afinidade e pela sua capacidade de cooperação. Pode ser utilizado um método alternativo para se obter uma estimativa da afinidade dos compostos da invenção presente, e para classificar os compostos com base nesta afinidade estimada. Neste método, adiciona-se a todos os poços uma única concentração de carbacol que é cerca de 10 % de uma concentração saturante, e adicionam-se concentrações crescentes dos compostos em teste da invenção presente. Deriva-se um valor de afinidade estimada por cálculo do valor de  $EC_{50}$  para a potenciação dos 10 % de carbacol - resposta. Pode usar-se este método para colocar por ordem os compostos descritos neste documento, nos Exemplos.

Tal como se confirmou com o composto do Exemplo 1, a acetilcolina e o carbacol (ambos agonistas não seletivos do receptor muscarínico completo) são potenciados de um modo equivalente na presença de um modulador alostérico.

### C. Análise de Dados e Resultados

Podem estimar-se os parâmetros alostéricos utilizando as equações de Lazareno *et al.*, Mol. Pharmacol.



(1995) **48**: 362-378. O efeito de aumentar as concentrações do composto do Exemplo 1 sobre as curvas de concentração resposta a ACh nas células, usando linhas de células recombinantes (AV 12 G<sub>α15</sub> hM<sub>2</sub> ou hM<sub>4</sub> e CHO hM<sub>1</sub>, hM<sub>3</sub> ou hM<sub>5</sub>) pode ser testado utilizando o FLIPR. Recolhem-se os dados em duplicado, a partir de pelo menos três experiências independentes. Não se observa nenhum efeito alostérico significativo nas células CHO que expressam de forma estável os receptores hM<sub>1</sub>, hM<sub>3</sub> ou hM<sub>5</sub>. O factor de cooperatividade e a afinidade do composto do Exemplo 1 para os receptores hM<sub>4</sub> são estimados serem respectivamente de  $34,5 \pm 3,5$  e de  $200 \pm 42$  nM. Também se observa um efeito alostérico modesto sobre os receptores hM<sub>2</sub> mas ele é pequeno demais para poder ser estimado com precisão.

Utilizando a determinação com FLIPR para a potenciação com 10 % de carbacol, tal como se descreveu acima aquando da classificação relativa dos compostos da invenção presente, cada um dos compostos descritos neste documento a título de EXEMPLOS apresenta uma afinidade estimada para os receptores hM<sub>4</sub> < 500 nM.

#### Determinação da libertação de neurotransmissores

##### A. Métodos

Sacrificam-se dois ratos macho *Lister Hooded* por asfixia com dióxido de carbono e deslocação cervical.

Removem-se rapidamente os cérebros, e dissecta-se o *striatum* que se corta por três vezes, a uma dimensão de 150  $\mu\text{m}$ . Suspendem-se as lâminas em 12 mL de tampão HEPES (128 mM em NaCl, 2,4 mM em KCl, 3,2 mM em  $\text{CaCl}_2$ , 1,2 mM em  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,2 mM em  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 25 mM em HEPES, 10 mM em Glucose, pH 7,5). Lavaram-se as lâminas duas vezes, voltando a suspender-se de cada vez em tampão fresco, depois incubou-se a 37°C durante 30 minutos com cloreto de colina- $[\text{}^3\text{H}]$  (250 nM). Passados 30 minutos, levaram-se a cabo mais quatro lavagens, e colocou-se em cada poço de uma placa de 96 poços 100  $\mu\text{L}$  de lâminas (placa *Multiscreen* Millipore MABCN de 96 poços). Remove-se a solução em que banham as lâminas por filtração sobre vazio (sistema múltiplo Millipore Univac), e depois adiciona-se a cada poço mais 70  $\mu\text{L}$  de tampão HEPES (+/- composto), e coloca-se a placa de novo na incubadora durante 5 minutos. Terminada a incubação de 5 minutos, remove-se o tampão por filtração sobre vazio para uma placa de recolha (placas de amostra flexíveis Wallac de 96 poços). Adiciona-se então solução de estimulação (70  $\mu\text{L}$ /poço: 20 mM de potássio +/- composto), e coloca-se a placa na incubadora durante mais 5 minutos. Remove-se então o tampão de estimulação por filtração sobre vazio para uma segunda placa de recolha. No final da experiência, estima-se a quantidade de tecido em cada poço colocando as placas num congelador durante uma hora, pressionando os discos filtrantes para os retirar, e adicionando Soluene<sup>®</sup> (para digerir as lâminas), deixando-se

durante mais uma hora. Mede-se a radioactividade do tecido digerido utilizando uma contagem da cintilação líquida. Calcula-se a libertação de neurotransmissor sob a forma de uma fracção da radioactividade total presente no poço.

## B. Resultados

Testa-se o efeito de potenciação dos compostos em tecidos nativos através da sua capacidade para potenciar uma auto-inibição da libertação de acetilcolina a partir de lâminas do *striatum*, tal como induzida por potássio 20 mM. Este processo é considerado como mediado por M<sub>4</sub> via auto-regulação pré-sináptica no *striatum*, Zhang. W. et al., J. Neurosci. (2002) **22**: 1709-1717. Utilizando os métodos acima, um composto representativo da invenção presente (Exemplo 1) exhibe uma potenciação da auto-inibição dependente da concentração, com um valor de IC<sub>50</sub> de 1,5 µM.

Foram descritos diversos modelos pré-clínicos em animais de laboratório, para diversas de entre as patologias associadas aos receptores muscarínicos. Por exemplo, a inibição da resposta de esquiva condicionada (CAR) por antipsicóticos neurolépticos e atípicos é um dos modelos farmacológicos mais estudados da psicose. Até à data, foi demonstrado que todos os antipsicóticos clinicamente eficazes suprimem selectivamente a CAR (cf. Wadenberg & Hicks, 1999. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, **23**: 851-8).

## Resposta de Esquiva Condicionada

## A. Métodos

Treinaram-se ratos macho Fisher-344 (N = 5-8) com um paradigma de esquiva no qual o rato tem que mudar de local para evitar ou escapar a um choque na pata. O aparelho da Coulbourn Instruments é uma câmara de operação de deslocação. Cada sessão inclui um total de 50 ensaios, apresentados com um intervalo entre ensaios de 30 segundos, e cada ensaio começa com a iluminação de uma luz da dependência em simultâneo com a abertura de uma porta em guilhotina. São atribuídos 10 segundos ao rato para atravessar para o outro lado (uma resposta de esquiva) antes de ser aplicado à pata um choque de 1 mA. O choque continua até que o rato atravesse para o outro lado (uma resposta de esquiva) ou passem 10 segundos (ausência ou falha de esquiva). Os ratos são bem treinados nesta tarefa, com um desempenho de esquiva em linha de base > 95 %. Regista-se em cada sessão o número de esquivas, escapes e falhas de escape, utilizando-se para análise.

Doseiam-se grupos de ratos com (1) veículo (10 % de goma-arábica em água estéril), (2) uma dose inferior à eficaz de do agonista muscarínico sesquifumarato de oxotremorina (Oxo por si só), ou (3) Oxo na presença de doses crescentes de composto em teste (de 10 mg/kg a 60 mg/kg), seguindo-se (4) um novo teste com Oxo por si só. Cada composto em teste é administrado por via oral 2 horas

antes do teste. Administra-se o Oxo (0,03 mg/kg) por via subcutânea 30 minutos antes do teste. Analisaram-se os dados com uma análise de Variância num só sentido (concebida no interior do grupo) (ANOVA). Nos casos em que o resultado da ANOVA eram significativos ( $p < 0,05$ ), podem fazer-se comparações *post-hoc* nas quais se comparam doses do composto com o Oxo por si só (teste t emparelhado).

#### B. Resultados

Exemplo Número	Resposta de Esquiva Condicionada (Média $\pm$ E.P.M)					
	Veículo	Oxo por si só	Oxo + Composto em Teste			Oxo por si só
			10 mg/kg	30 mg/kg	60 mg/kg	
1	9,7 $\pm$ 1,6	93 $\pm$ 1,8	46* $\pm$ 7,4	<b>11</b> * $\pm$ 1,9	ND	91 $\pm$ 0,9
6	96 $\pm$ 1,2	93 $\pm$ 1,2	90 $\pm$ 3,4	<b>54</b> * $\pm$ 10,2	ND	90 $\pm$ 2,5
10	97 $\pm$ 1,2	89 $\pm$ 3,8	85 $\pm$ 5,3	<b>54</b> * $\pm$ 7,6	<b>48</b> * $\pm$ 14,1	89 $\pm$ 3,2
28	96 $\pm$ 1,5	92 $\pm$ 1,5	ND	84 $\pm$ 6,3	<b>61</b> * $\pm$ 16,1	91 $\pm$ 2,0

A determinação da esquiva condicionada é altamente capaz para prever a eficácia antipsicótica em clínica. Os potenciadores representativos do receptor muscarínico M<sub>4</sub> exibem um perfil do tipo do dos antipsicóticos na resposta ao paradigma de esquiva condicionada. Embora estes potenciadores de M<sub>4</sub> não sejam activos quando testados por si só (dados não incluídos), estes compostos potenciam a eficácia de doses não activas do agonista muscarínico oxotremorina.

Os resultados dos estudos de mobilização do cálcio

cio e da libertação de neurotransmissores demonstram a capacidade dos compostos da invenção presente para actuarem como potenciadores dos receptores muscarínicos  $M_4$ . Reconhece-se que seria de esperar que os compostos da invenção potenciassem os efeitos de activação dos receptores  $M_4$ . Deste modo, espera-se que os compostos da invenção presente sejam úteis para o tratamento de diversas patologias associadas aos receptores muscarínicos, tal como as que se descrevem como sendo tratadas neste documento, bem como outras patologias que se possam tratar com tais potenciadores alostéricos, como o poderão entender os especialistas da técnica.

Tratam-se as patologias associadas aos receptores muscarínicos  $M_4$  administrando uma quantidade eficaz de um composto ou de uma composição farmacêutica com a Fórmula I. A entidade responsável pelo diagnóstico que esteja de serviço pode facilmente determinar uma quantidade eficaz, uma vez que é especialista da técnica, recorrendo às técnicas convencionais e observando os resultados obtidos em circunstâncias análogas. Na determinação de uma quantidade eficaz da dose de um composto com a Fórmula I, o médico assistente leva em conta um determinado número de factores incluindo, mas sem que se limitem a: qual o composto com a Fórmula I que será administrado; qual a espécie de mamífero, a sua dimensão, a sua idade, e o seu estado geral de saúde; qual a patologia que especificamente envolvida; qual o grau de envolvimento ou a severidade da patologia; qual a resposta do paciente individual; qual o modo de

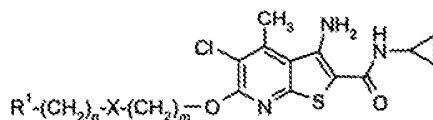
administração; quais as características de biodisponibilidade da preparação que se administra; qual o regime de dose que se selecciona; a utilização concomitante de outros medicamentos; e outras circunstâncias relevantes.

Espera-se que a quantidade eficaz de um composto com a Fórmula I varie entre cerca de 0,001 miligrama por quilograma de massa corporal e por dia (mg/kg/dia), e cerca de 100 mg/kg/dia. Um especialista na técnica pode facilmente determinar as quantidades preferidas.

Lisboa, 15 de Setembro de 2010

**REIVINDICAÇÕES**

1. Um composto com a Fórmula I:



(I)

na qual:

m seja 1, ou 2;

n seja 0, 1, ou 2;

X seja uma ligação, -O-, -SO<sub>p</sub>, -C(O)-, -NR<sup>2</sup>-,  
-C(O)-NR<sup>2</sup>-, ou -NR<sup>2</sup>-C(O)-;

p seja 0, 1, ou 2;

R<sup>1</sup> seja hidrogénio, hidroxilo, aquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>,  
fenilo, piridilo, pirrolidinilo, piperazinilo,  
morfolino, tiazolilo, imidazolilo, ou 1,3-  
dioxalanilo;

grupos fenilo, piperazinilo, ou tiazolilo  
estes que podem opcionalmente ser substi-  
tuídos com um substituinte seleccionado de  
entre o conjunto constituído por halo ou  
alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>;



em que  $n$  não seja 0 quando  $p$  for 0, ou quando  $X$  for  $-O-$ ,  $-NR^2$ , ou  $-NR^2-C(O)-$ ;

$R^2$  seja hidrogénio ou alquilo  $C_1-C_2$ ;

grupo alquilo  $C_1-C_2$  este que pode ser opcionalmente substituído com um hidroxilo;

ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

2. O composto da **Reivindicação 1**, em que  $X$  seja uma ligação.

3. O composto da **Reivindicação 1 ou da 2**, em que  $n$  seja 0.

4. O composto de qualquer uma das **Reivindicações 1 a 3**, em que  $m$  seja 1.

5. O composto da **Reivindicação 4**, em que  $R^1$  seja hidrogénio.

6. O composto de qualquer uma das **Reivindicações 1 a 3**, em que  $m$  seja 2.

7. O composto da **Reivindicação 6**, em que  $R^1$  seja morfolino.

8. O composto da **Reivindicação 1**, que seja a ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-metoxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

9. O composto da **Reivindicação 1**, que seja a ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-4-metil-6-(2-morfolin-4-il-etoxi)-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

10. Um composto que seja a ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-hidroxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico ou a ciclopropilamida do ácido 3-amino-5-cloro-6-isopropoxi-4-metil-tieno[2,3-b]piridino-2-carboxílico.

11. O composto de qualquer uma das **Reivindicações 1 a 9**, para utilização em terapia.

12. A utilização do composto de qualquer uma das **Reivindicações 1 a 9**, no fabrico de um medicamento para tratar a psicose, as patologias do conhecimento, as patologias da atenção ou a dor,

13. Um composto tal como o reivindicado em qualquer uma das **Reivindicações 1 a 9**, para o tratamento e/ou a prevenção da psicose, das patologias do conhecimento, das patologias da atenção ou da dor.

14. Uma composição farmacêutica que inclua o composto de qualquer uma das **Reivindicações 1 a 9**, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, em combinação com um veículo, excipiente ou diluente aceitável do ponto de vista farmacêutico.

Lisboa, 15 de Setembro de 2010