



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) PI0619706-0 A2



(22) Data de Depósito: 03/11/2006
(43) Data da Publicação: 11/10/2011
(RPI 2127)

(51) Int.CI.:
A61K 31/66
A01N 57/00
A01N 43/54

(54) Título: COMPOSTO, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA INIBIR A ATIVIDADE DA PROTEÍNA AURORA QUINASE NUMA AMOSTRA BIOLÓGICA, MÉTODO PARA TRATAR UM DISTÚRIO PROLIFERATIVO NUM PACIENTE, MÉTODO PARA TRATAR CÂNCER NUM INDIVÍDUO

(30) Prioridade Unionista: 03/11/2005 US 60/732,951,
04/11/2005 US 60/733,557

(73) Titular(es): Vertex Pharmaceuticals Incorporated

(72) Inventor(es): Andrew Miller, Chris Davis, Damien Fraysse, Daniel Robinson, Hayley Binch, Joanne Pinder, Michael Mortimore, Michael O Donnell, Simon Everitt

(74) Procurador(es): Paulo Sérgio Scatamburlo

(86) Pedido Internacional: PCT US2006042994 de
03/11/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/056164de
18/05/2007

(57) Resumo: COMPOSTO, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA INIBIR A ATIVIDADE DA PROTEÍNA AURORA QUINASE NUMA AMOSTRA BIOLÓGICA, MÉTODO PARA TRATAR UM DISTÚRIO PROLIFERATIVO NUM PACIENTE, MÉTODO PARA TRATAR CÂNCER NUM INDIVÍDUO. A presente invenção refere-se a compostos úteis como inibidores de proteínas quinase. A invenção também provê composições farmaceuticamente aceitáveis compreendendo esses compostos e métodos para utilizar os compostos e composições no tratamento de diversas doenças, condições e distúrbios. A invenção também provê processos para preparar compostos da invenção.

Prot0619706-0

"COMPOSTO, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA INIBIR A ATIVIDADE DA PROTEÍNA AURORA QUINASE NUMA AMOSTRA BIOLÓGICA, MÉTODO PARA TRATAR UM DISTÚRBIO PROLIFERATIVO NUM PACIENTE, MÉTODO PARA TRATAR CÂNCER NUM INDIVÍDUO".

5 Campo técnico da invenção

A presente invenção refere-se a compostos úteis como inibidores da proteína Aurora quinase. A invenção também refere-se a composições farmaceuticamente aceitáveis compreendendo os compostos da invenção, a métodos para 10 utilizar os compostos e composições no tratamento de diversos distúrbios, e a processos para a preparação dos compostos.

Histórico da invenção

As proteínas Aurora são uma família de três 15 serina/treonina quinases relacionadas (denominadas Aurora-A, -B e -C) que são essenciais para a progressão através da fase mitótica do ciclo celular. Especificamente, a Aurora-A desempenha um papel crucial na maturação e segregação centrossômica, na formação do 20 fuso mitótico e na segregação constante de cromossomos. A Aurora-B é uma proteína cromossomal transitória ("chromosomal passenger protein") que desempenha um papel central na regulação do alinhamento de cromossomos na placa metafásica, do ponto de controle de montagem do 25 fuso e para a finalização correta da citocinese.

A superexpressão de Aurora-A, -B ou -C foi observada numa categoria de cânceres humanos, inclusive o colorretal, ovariano, gástrico e adenocarcinomas ductais invasivos.

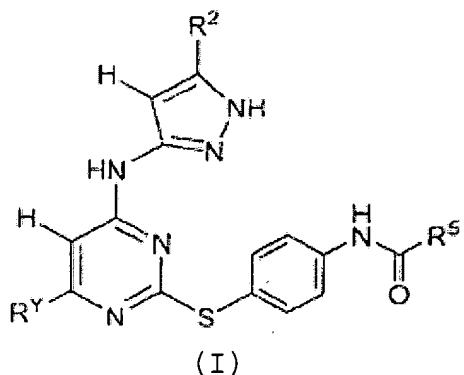
Diversos estudos demonstram agora que a depleção ou 30 inibição de Aurora-A ou -B nas linhagens de células cancerosas humanas pelo siRNA, anticorpos negativos dominantes ou anticorpos neutralizantes interrompe o progresso através de mitose com o acúmulo de células com 4N DNA, e, em alguns casos, isso é acompanhado pela 35 endoreduplicação e morte celular.

As Aurora quinases são alvos atrativos devido a sua associação com numerosos cânceres humanos e às funções

que desempenham na proliferação de tais células cancerosas. Seria desejável ter um inibidor da Aurora quinase com propriedades favoráveis de semelhança com fármacos, tal como a capacidade de inibir a proliferação celular. Conseqüentemente, existe a necessidade de compostos que inibam as Aurora quinases e que também exibam propriedades favoráveis de semelhança com fármaco.

Sumário da invenção

A presente invenção provê compostos e suas composições farmaceuticamente aceitáveis que são úteis como inibidores das proteínas Aurora quinase. Esses compostos são representados pela fórmula I:

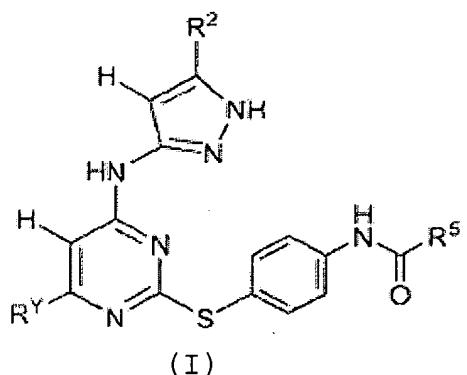


ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, onde as variáveis são conforme aqui definidas.

Esses compostos e suas composições farmaceuticamente aceitáveis são úteis para inibir as quinases in vitro, in vivo, e ex vivo. Tais usos incluem tratar ou prevenir distúrbios mieloproliferativos e distúrbios proliferativos tais como melanoma, mieloma, leucemia, linfoma, neuroblastoma, e câncer. Outros usos incluem o estudo de quinases em fenômenos biológicos e patológicos; o estudo de vias de transdução do sinal intracelular mediadas por tais quinases; e a avaliação comparativa de novos inibidores de quinase.

Descrição detalhada da invenção

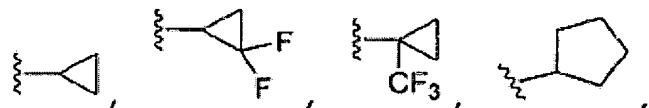
A presente invenção provê um composto da fórmula I:



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, onde:

R^2 é alquila C_{1-3} ou ciclopropila;

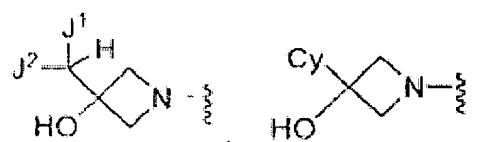
R^5 é CH_2CH_3 , CH_2CF_3 , $CH_2CH_2CF_3$



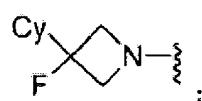
5 ou



R^Y é



ou

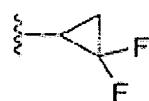


J^1 é H ou CH_3 ;

J^2 é alquila C_{1-4} ; e

10 Cy é cicloalquila C_{3-5} .

Em alguns aspectos da presente invenção, R^5 é selecionado de CH_2CF_3 , $CH_2CH_2CF_3$,



ou



Em outras concretizações, R^5 é selecionado de CH_2CF_3 ou



Em outras concretizações ainda, R^5 é CH_2CF_3 .

Em outros aspectos da presente invenção, R^Y é



ou



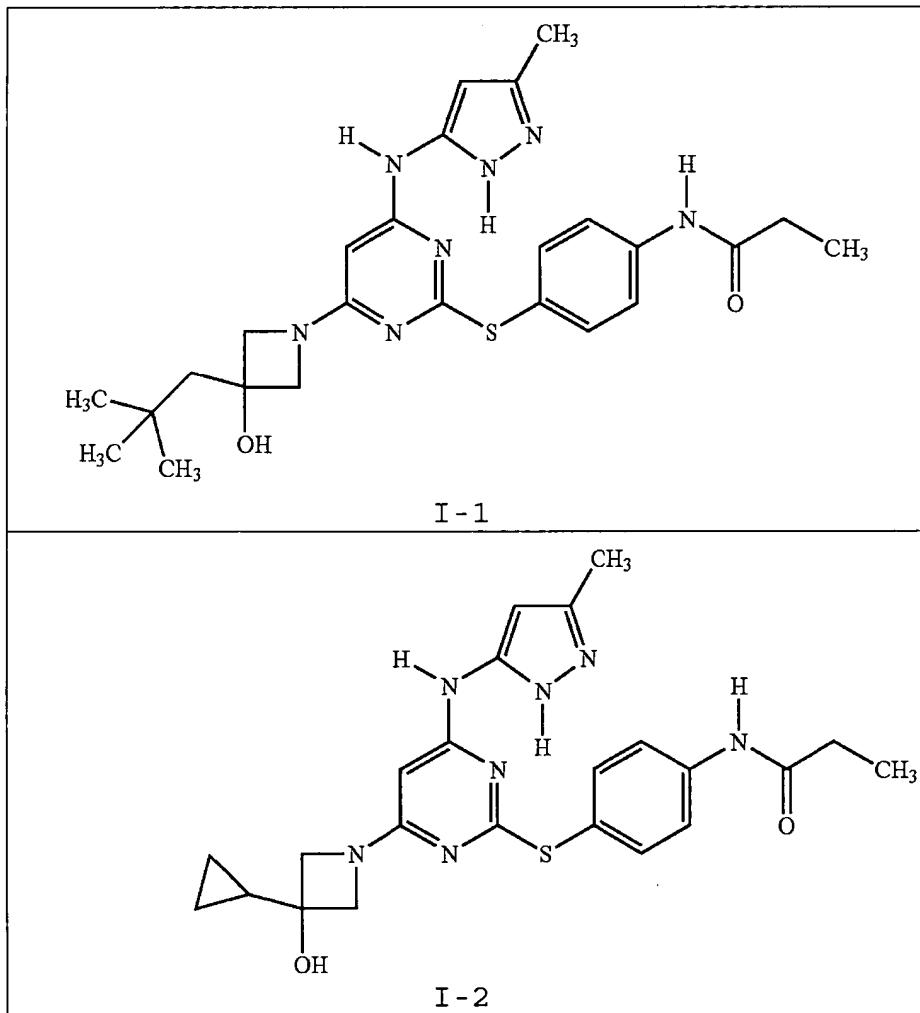
Em algumas concretizações, R^Y é

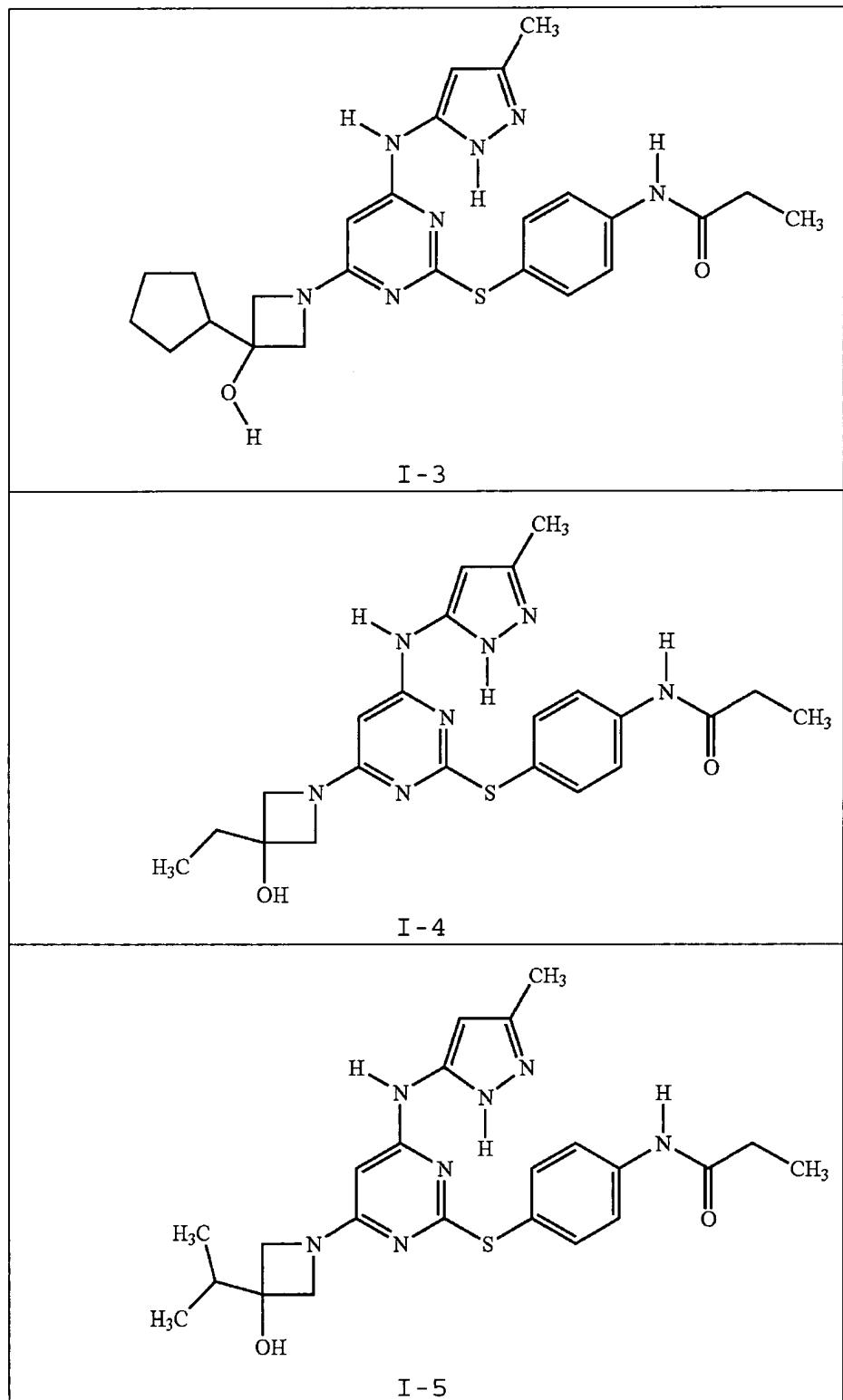


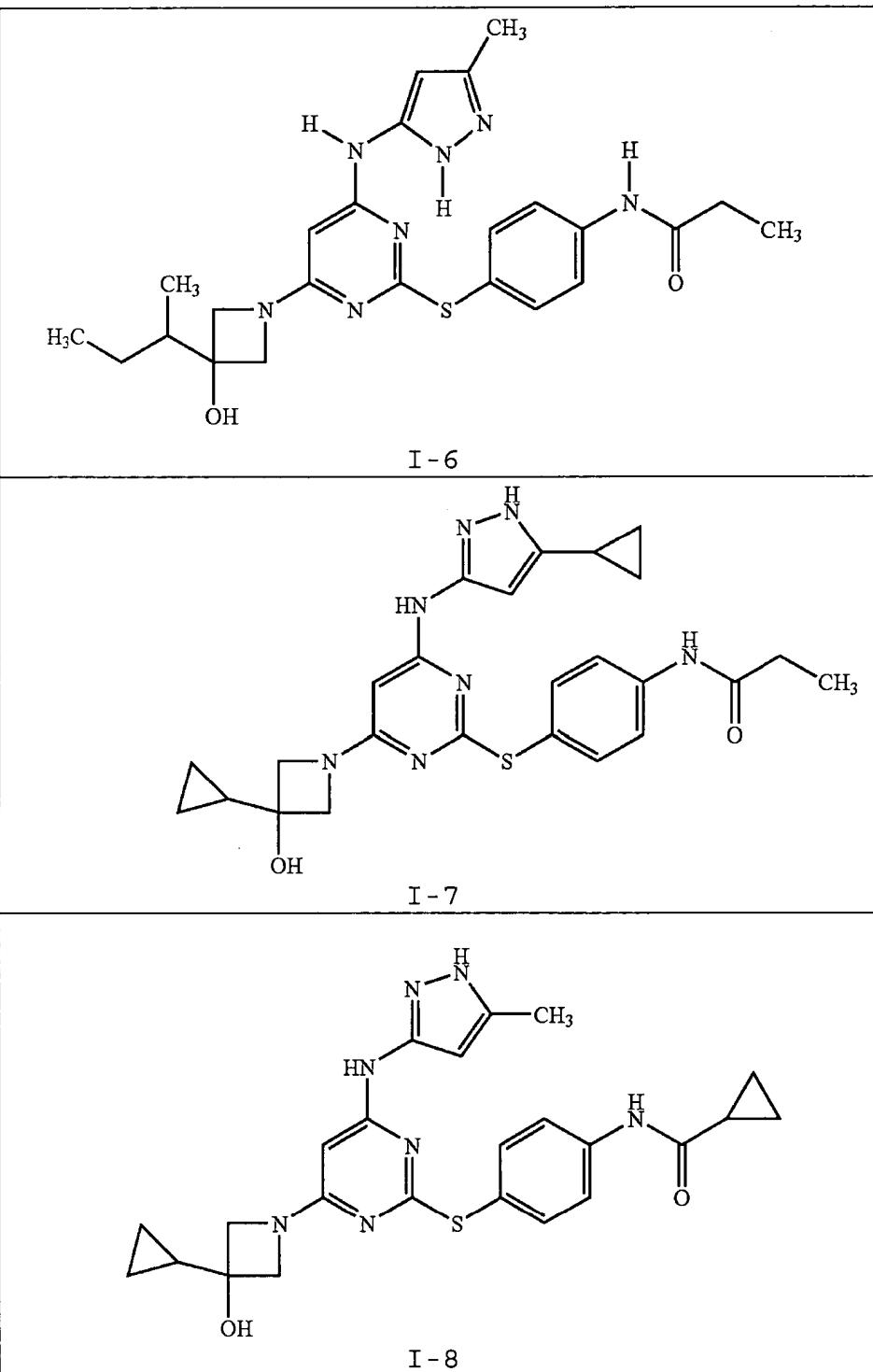
5 Em algumas concretizações, Cy é ciclopropila.

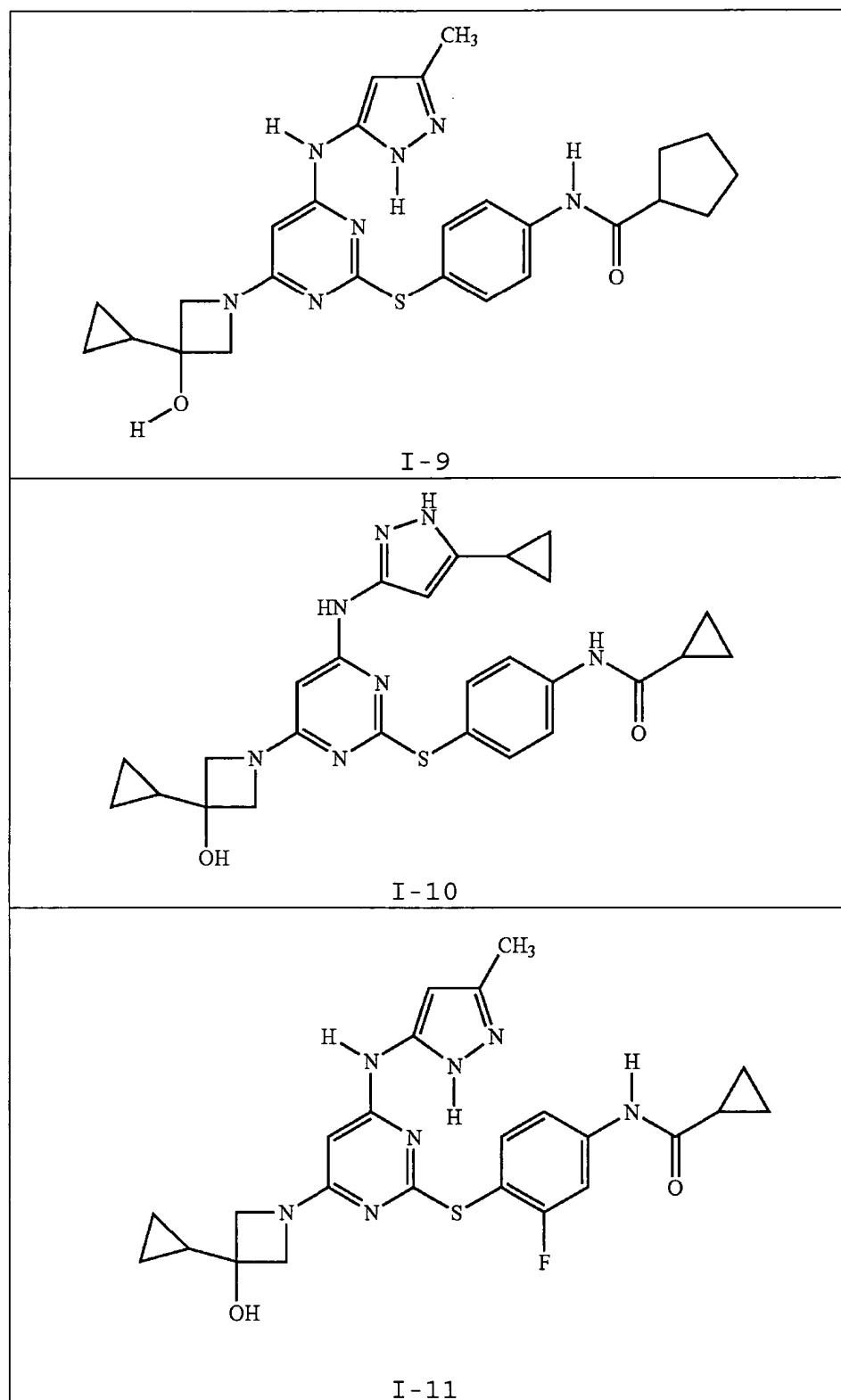
Em outros aspectos da presente invenção, R^2 é metila.

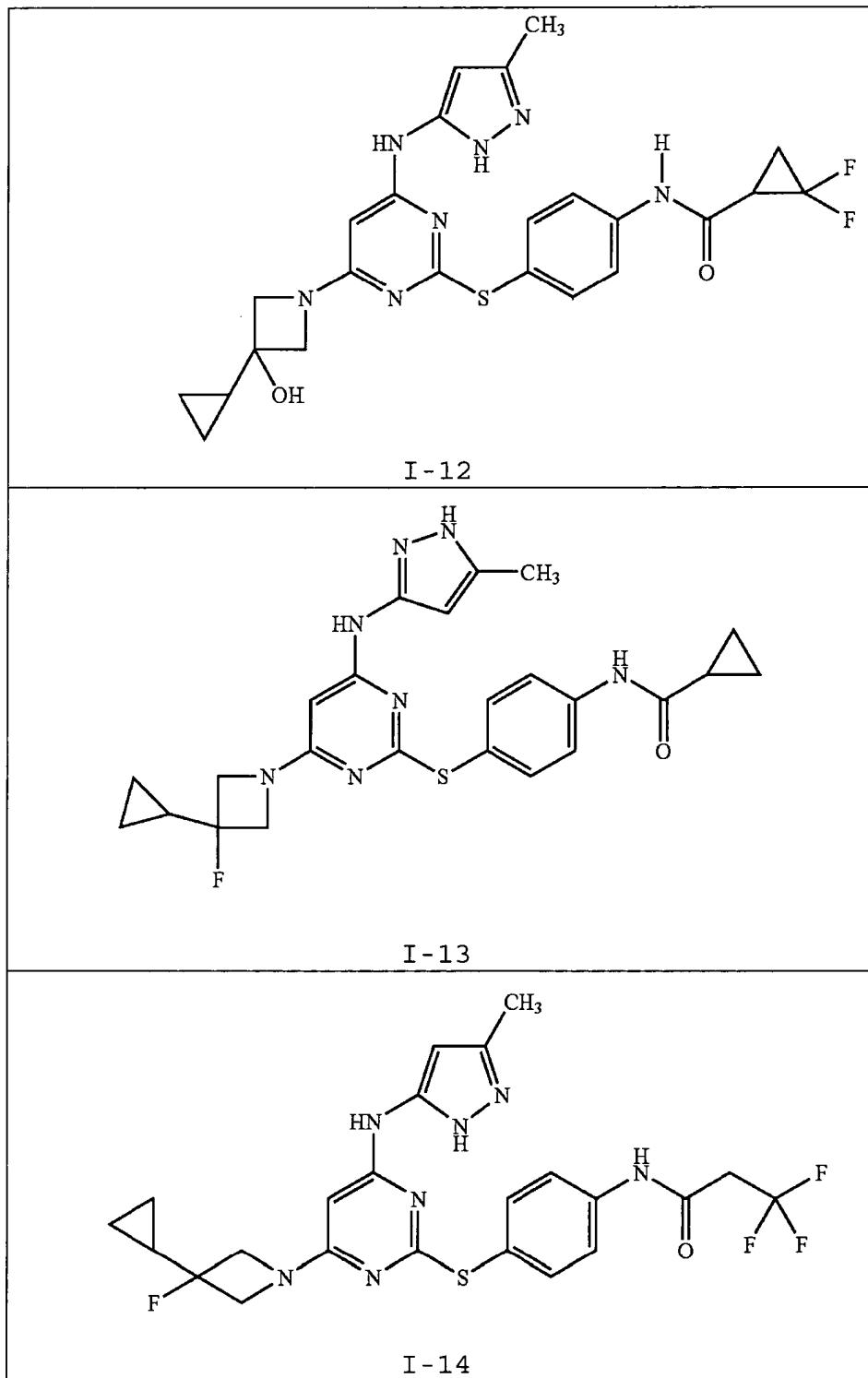
Um aspecto provê um composto selecionado da Tabela 1 (ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo) :

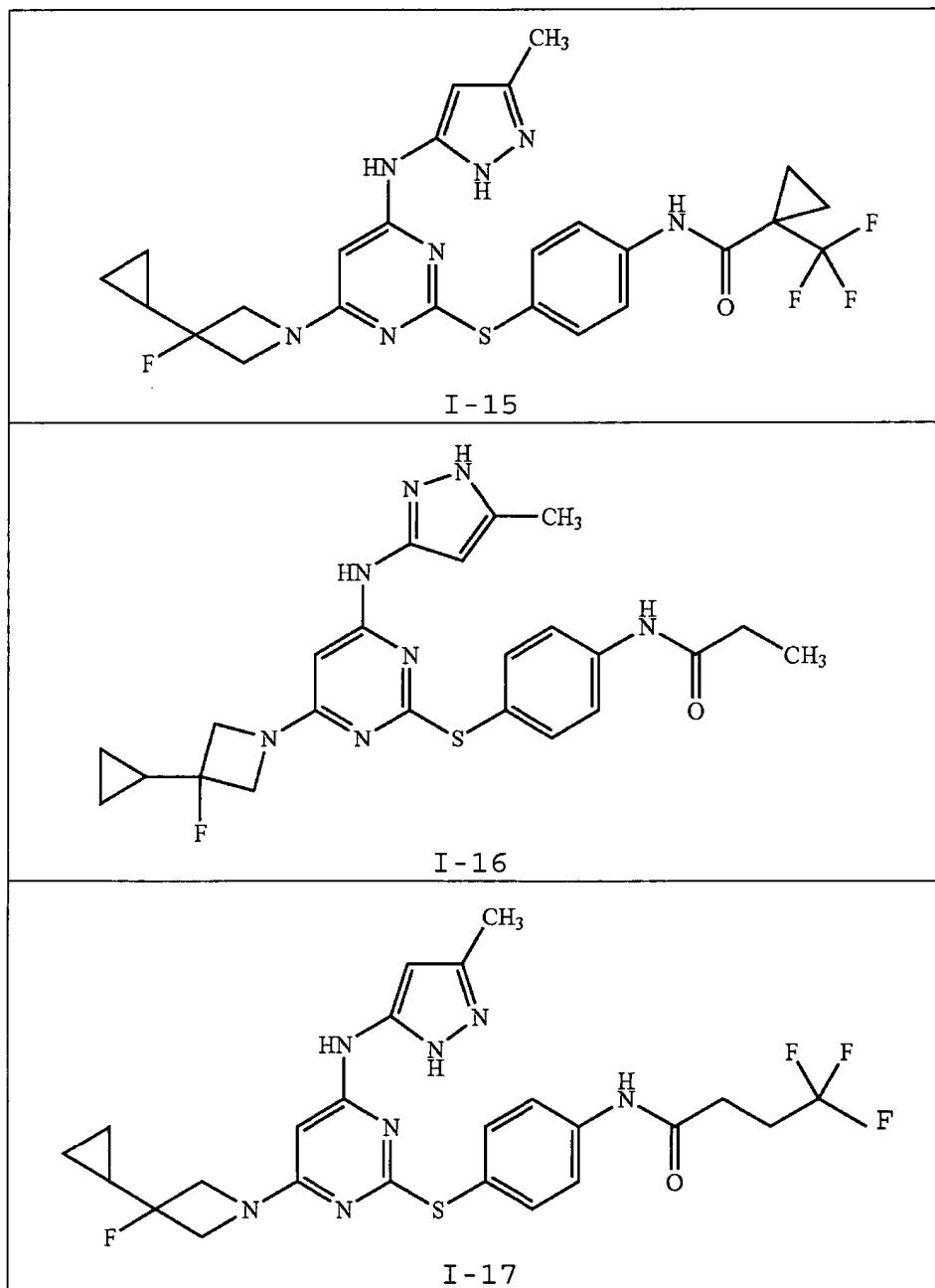


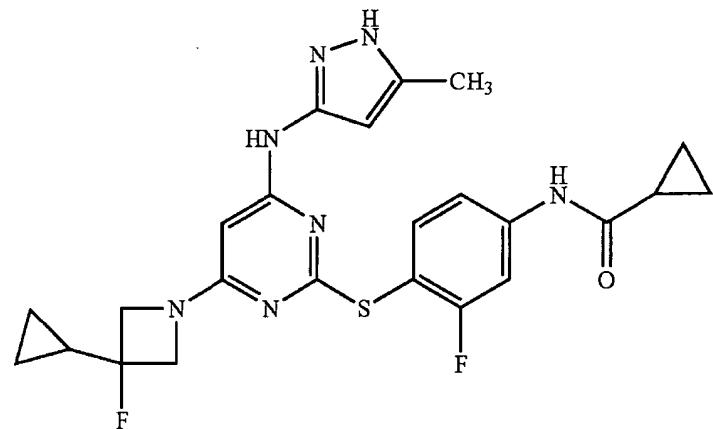




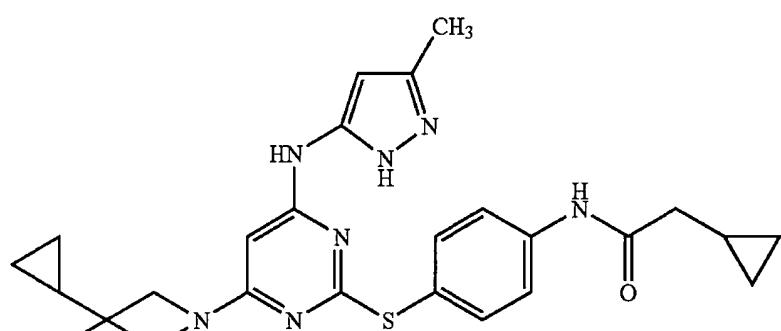




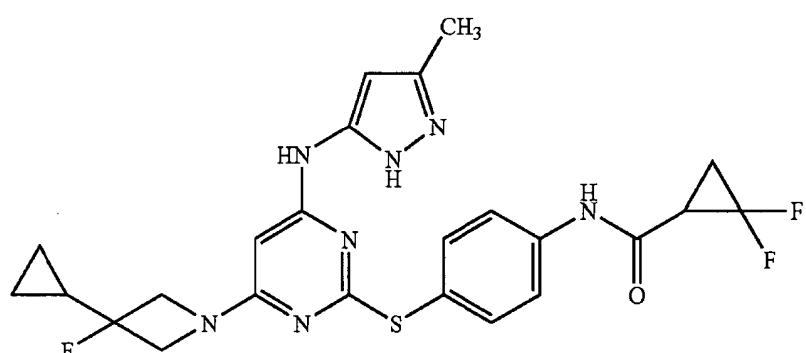




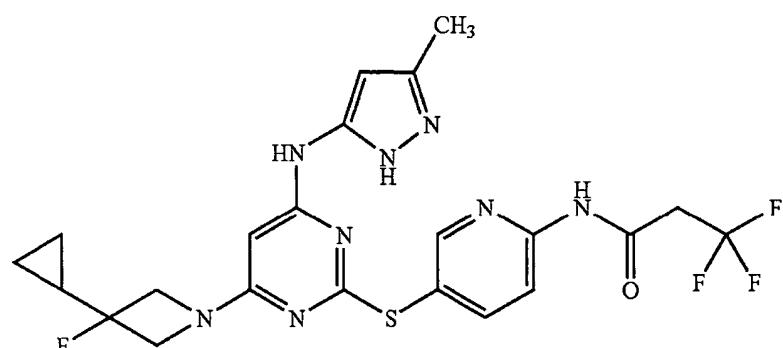
I - 18



I - 19



I - 20



I - 21

Para fins da presente invenção, os elementos químicos são identificados de acordo com a Tabela Periódica de Elementos, versão CAS, *Handbook of Chemistry and Physics*, 75thEd. Adicionalmente, princípios gerais de química orgânica são descritos em textos conhecidos pelo habilitado na técnica, inclusive, por exemplo, "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, e "March's Advanced Organic Chemistry", 5thEd., Ed.: Smith, M.B. e March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001, cujos conteúdos são aqui incorporados por referência.

Conforme aqui descrito, uma faixa numérica especificada de átomos inclui qualquer número inteiro nela contida. Por exemplo, um grupo que possui de 1-4 átomos poderia ter 1, 2, 3, ou 4 átomos.

Conforme aqui descrito, os compostos da invenção podem ser opcionalmente substituídos com um ou mais substituintes, tais como geralmente ilustrados acima, ou conforme exemplificado por classes, subclasses e espécies específicas da invenção. Será apreciado que a expressão "opcionalmente substituído" é utilizada alternativamente com a expressão "substituído ou não substituído". Em geral, o termo "substituído", seja precedido pelo termo "opcionalmente" ou não, refere-se à substituição de radicais hidrogênio numa dada estrutura com o radical de um substituinte especificado. Salvo se indicado de outra forma, um grupo opcionalmente substituído pode ter um substituinte em cada posição substituível do grupo e, quando mais de uma posição em qualquer dada estrutura puder ser substituída com mais de um substituinte selecionado de um grupo especificado, o substituinte pode ser ou igual ou diferente em cada posição. Combinações de substituintes previstos na presente invenção são preferivelmente os que resultam na formação de compostos estáveis ou quimicamente viáveis.

O termo "estável", conforme aqui utilizado, refere-se a compostos que não são substancialmente alterados quando

submetidos a condições que permitam sua produção, detecção e preferivelmente sua recuperação, purificação, e uso para uma ou mais das finalidades aqui descritas. Em algumas concretizações, um composto estável ou quimicamente viável é um composto não substancialmente alterado quando mantido a uma temperatura de 40°C ou menos, na ausência de umidade ou de outras condições quimicamente reativas, por pelo menos uma semana.

O termo "alquila" conforme aqui utilizado, significa um hidrocarboneto, de cadeia linear, não ramificada ou ramificada que é completamente saturado e que possui um único ponto de ligação com o restante da molécula. Exemplos específicos de grupos alquila incluem, porém não se restringem a metila, etila, isopropila, n-propila e sec-butila.

O termo "cicloalquila" refere-se a um hidrocarboneto monocíclico que é completamente saturado e que possui um único ponto de ligação com o restante da molécula. Grupos cicloalquila apropriados incluem, porém não se restringem a ciclopropila, ciclobutila, e ciclopentila.

O termo "insaturado", conforme aqui utilizado, significa que uma porção possui uma ou mais unidades de insaturação.

O termo "haloalquila" significa um alquila substituído com um ou mais átomos de halogênio, e que inclui grupos alquila perfluorados, tal como CF_3 .

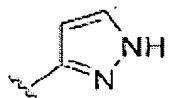
O termo "halogênio" significa F, Cl, Br, ou I.

O termo "grupo protetor", conforme aqui utilizado, refere-se a um agente usado para temporariamente bloquear um ou mais sítios reativos desejados num composto multifuncional. Em certas concretizações, um grupo protetor possui uma ou mais, ou preferivelmente todas as seguintes características: a). reage seletivamente com bom rendimento para dar um substrato protegido que é estável para as reações que ocorrem em um ou mais dos outros sítios reativos; b). é seletivamente removível com bom rendimento por reagentes que não ataquem o grupo

funcional regenerado. Grupos protetores representativos são detalhados em Greene, T.W., Wuts, P.G. em "Protective Groups in Organic Synthesis", Third Edition, John Wiley & Sons, New York: 1999 e outras edições deste livro, cujo conteúdo é aqui incorporado por referência. O termo "grupo nitrogênio protetor", conforme aqui utilizado, refere-se a agentes utilizados para temporariamente bloquear um ou mais sítios reativos de nitrogênio num composto multifuncional. Grupos nitrogênio protetores preferidos também possuem as características exemplificadas acima, e certos grupos nitrogênio protetores representativos são também detalhados no Capítulo 7 em Greene, Y.W., Wuts, P.G. em "Protective Groups in Organic Synthesis", Third Edition, John Wiley & Sons, New York: 1999, cujo conteúdo foi aqui incorporado por referência.

Salvo se indicado de outra forma, as estruturas aqui descritas também pretendem incluir todas as formas isoméricas (ex: enantioméricas, diastereoméricas, e geométricas (ou conformacionais)) da estrutura; por exemplo, as configurações R e S para cada centro assimétrico, isômeros de ligação dupla (Z) e (E) e isômeros conformacionais (Z) e (E). Portanto, isômeros estereoquímicos simples, bem como misturas enantioméricas, diastereoméricas e geométricas (ou conformacionais) dos compostos da presente invenção estão incluídas no escopo da invenção.

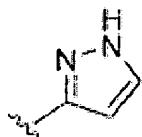
Salvo se indicado de outra forma, todas as formas tautoméricas dos compostos da invenção estão incluídas no escopo da presente invenção. Conforme é entendido pelo habilitado na técnica, um grupo pirazol pode ser representado em uma variedade de formas. Por exemplo, uma estrutura representada como



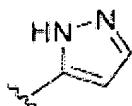
também representa outros tautômeros possíveis, tais como



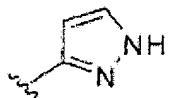
Da mesma forma, uma estrutura representada como



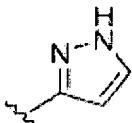
também representa outros tautômeros possíveis, tais como



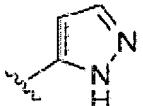
Salvo se indicado de outra forma, um substituinte pode
5 girar livremente em torno de quaisquer ligações
giratórias. Por exemplo, um substituinte representado
como



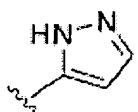
também representa



Da mesma forma, um substituinte representado como



10 também representa



Adicionalmente, salvo se indicado de outra forma, as estruturas aqui representadas, também pretendem incluir compostos que diferem somente quanto à presença de um ou mais átomos isotopicamente enriquecidos. Por exemplo, os
15 compostos que possuem as estruturas da presente invenção,
exceto quanto à substituição de hidrogênio com deutério
ou tritíio, ou a substituição de um carbono com um carbono

^{13}C ou ^{14}C enriquecido também estão incluídos no escopo da presente invenção. Tais compostos são úteis, por exemplo, como ferramentas ou sondas analíticas em ensaios biológicos.

5 Os compostos da presente invenção podem ser preparados à luz do relatório utilizando etapas geralmente conhecidas pelo habilitado na técnica. Tais compostos podem ser analisados através de métodos conhecidos, inclusive, mas não limitados a LCMS (espectrometria de massa acoplada à cromatografia líquida) e NMR (ressonância magnética nuclear). Deve ficar entendido que as condições específicas mostradas abaixo são apenas exemplos, e não pretendem limitar o escopo das condições que podem ser usadas no preparo dos compostos da presente invenção. Em 10 vez disso, a presente invenção também inclui condições que seriam evidentes aos habilitados na técnica à luz do presente relatório para preparo dos compostos da presente invenção. Salvo se indicado de outra forma, todas as variáveis nos esquemas seguintes são aqui definidas.

15

20 São utilizadas as seguintes abreviações:

DIPPEA é diisopropiletilamina

DMF é dimetilformamida

n-BuOH é n-butanol

t-BuOH é ter-butanol

25 EtOH é etanol

MeOH é metanol

EtOAc é acetato de etila

TFA é ácido trifluoroacético

DMSO é dimetil sulfóxido

30 Rt é tempo de retenção

DCM é diclorometano

MeCN é acetonitrila

THF tetrahidrofurano

TBTU é tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-

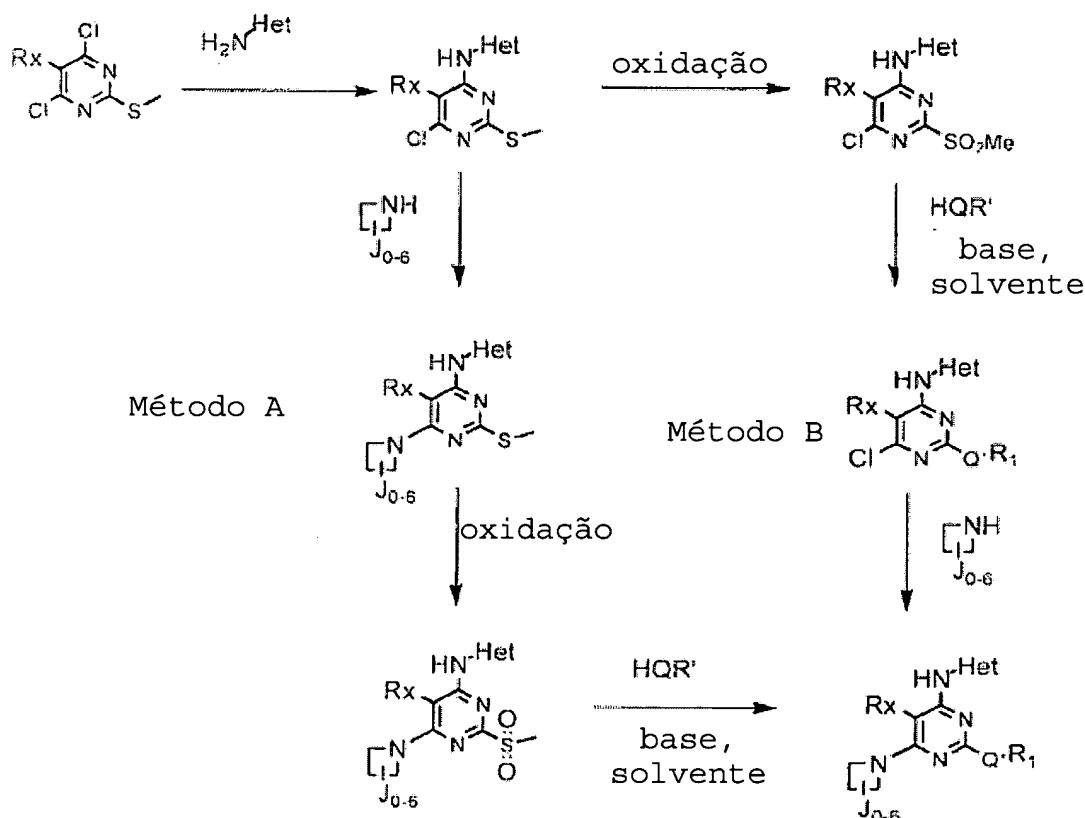
35 1,1,3,3-tetrametilurônio

HPLC é cromatografia líquida de alto desempenho

LCMS espectrometria de massa acoplada à cromatografia líquida

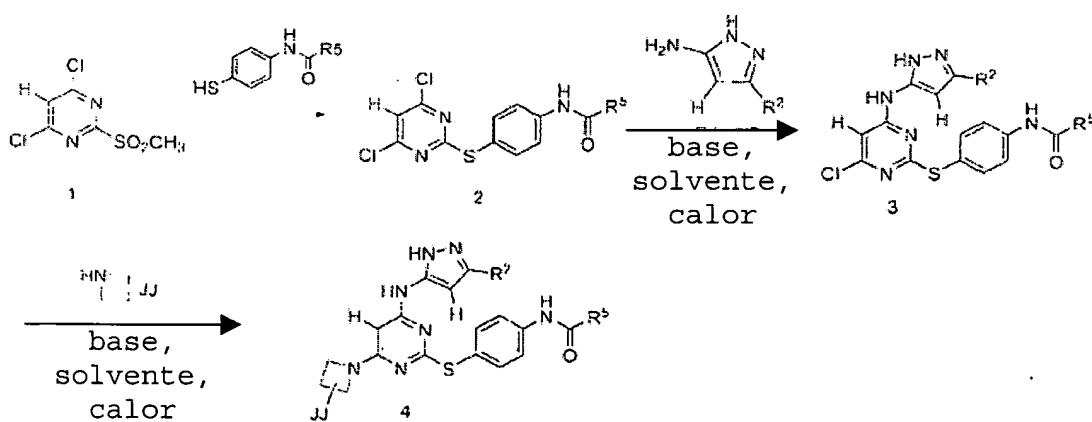
^1H NMR é ressonância magnética nuclear

Esquema Geral



- 5 O esquema geral acima mostra alguns métodos para o preparo de compostos da presente invenção.

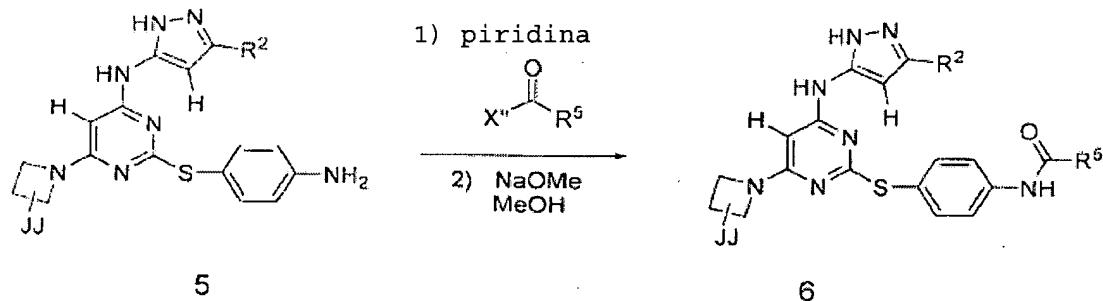
Esquema I



O Esquema I acima mostra uma via geral para a preparação de compostos da fórmula 4 (no Esquema I), onde JJ correspondem às substituições na azetidina conforme aqui descrito e onde R^2 e R^5 são conforme aqui definidos. A

pirimidina desclorada da fórmula 1 é combinada com HQ-R¹ para formar um composto de fórmula 2. Em algumas concretizações, os dois compostos são aquecidos na presença de um solvente apropriado (ex: t-BuOH) por 16 horas. Em outras concretizações, os dois compostos são misturados a 0°C na presença de acetonitrila e trietilamina durante 1 hora. O composto de fórmula 2 é então aquecido na presença de um solvente apropriado (ex: DMF) e uma base apropriada (ex: DIPEA/NaI) com um aminopirazol opcionalmente substituído para formar um composto de fórmula 3, que é aquecido na presença de azetidina na presença de um solvente apropriado (ex: n-BuOH) para formar um composto de fórmula 4.

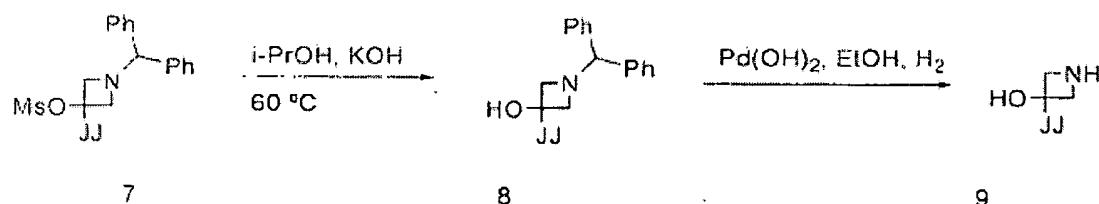
Esquema II



O Esquema II acima mostra uma via geral de preparação de compostos de fórmula 6 (no Esquema II), onde JJ corresponde às substituições na azetidina conforme aqui descrito e onde R² e R⁵ são conforme aqui definido. O composto de fórmula 5 é combinado com um cloreto ácido apropriado (onde X" é Cl) na presença de piridina para formar um composto intermediário que, quando da mistura na presença de metóxido de sódio e metanol, forma o composto de fórmula 6. Em algumas concretizações, X" pode ser OH, quando então um reagente acoplador de ácido apropriado é usado para acoplar o ácido à amina. Exemplos de reagentes acopladores de ácido apropriados incluem, porém não se restringem a EDC, DCI e HOBT. Solventes apropriados para essas reações de acoplamento incluem, porém não se restringem a THF, CH₂Cl₂, e dioxano.

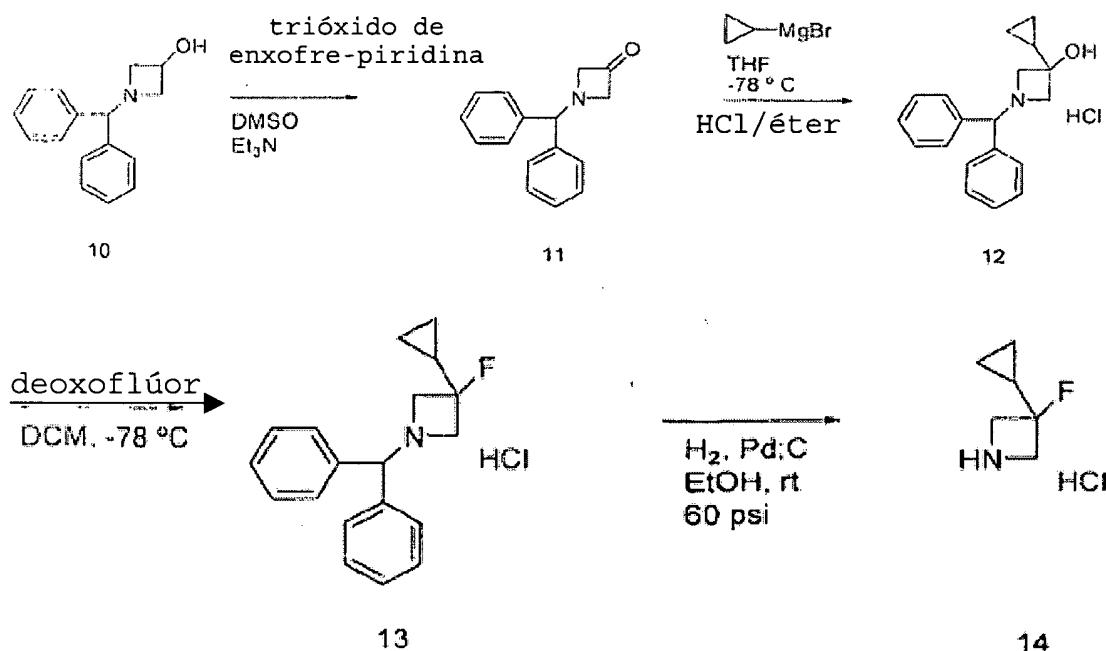
Os esquemas seguintes mostram métodos para sintetizar diversos tipos de azetidinas. Essas azetidinas podem ser usadas para formar compostos da presente invenção de acordo com os métodos aqui descritos.

5 Esquema A



O Esquema A acima mostra uma via geral para a preparação de azetidinas substituídas com OH onde JJ é $-\text{CHJ}^1\text{J}^2$ ou Cy.

Esquema B



- 10 O Esquema B mostra uma via geral para a preparação de azetidinas substituídas com ciclopropila-fluoro. O composto 10 é oxidado sob condições apropriadas para formar o composto 11, que, sob condições Grignard adequadas, é combinado com ciclopropila-MgBr para formar
 15 a azeditina substituída com ciclopropila 12. O composto 12 é então fluorado sob condições de fluoração apropriadas para formar 13, que é hidrogenado sob condições Pd/C para formar a azetidina livre desprotegida

14.

Conseqüentemente, a presente invenção refere-se a processos para preparar os compostos da presente invenção.

5 Métodos para avaliar a atividade dos compostos da presente invenção (ex: ensaios de quinase) são conhecidos no estado da técnica e são também descritos nos exemplos estabelecidos.

A atividade dos compostos como inibidores de proteína
10 quinase pode ser testada *in vitro*, *in vivo* ou numa linhagem celular. Ensaios *in vitro* incluem ensaios que determinam a inibição ou da atividade da quinase ou da atividade de ATPase da quinase ativada. Os ensaios alternados *in vitro* quantificam a capacidade de o
15 inibidor ligar-se à proteína quinase e podem ser medidos radiomarcando-se o inibidor antes da ligação, isolando-se o complexo inibidor/quinase e determinando-se a quantidade de ligado radiomarcado, ou executando um experimento competitivo no qual novos inibidores são
20 incubados com o ligado de quinase a radioligantes conhecidos.

Outro aspecto da invenção refere-se à inibição da atividade da quinase numa amostra biológica, cujo método compreende contatar dita amostra biológica com um
25 composto de fórmula I ou uma composição compreendendo dito composto. O termo "amostra biológica", conforme aqui utilizado, significa uma amostra *in vitro* ou *ex-vivo*, incluindo, sem limitação, culturas celulares ou seus extratos; material biopsiado obtido de um mamífero ou
30 seus extratos; e sangue, saliva, urina, fezes, sêmen, lágrimas ou outros fluidos corporais ou seus extratos.

A inibição da atividade da quinase numa amostra biológica é útil para uma variedade de objetivos conhecidos pelo habilitado na técnica. Exemplos de tais objetivos
35 incluem, porém não se restringem à transfusão de sangue, armazenamento de amostra biológica para transplante de órgão, e ensaios biológicos.

A inibição da atividade da quinase numa amostra biológica é também útil para o estudo de quinases em fenômenos biológicos e patológicos, para o estudo de vias de transdução de sinal intracelular mediado por tais quinases, e para a avaliação comparativa de novos inibidores de quinase.

Os inibidores da proteína Aurora quinase ou de seus sais farmacêuticos podem ser formulados em composições farmacêuticas para administração em animais ou humanos.

Essas composições farmacêuticas, que compreendem uma quantidade do inibidor da proteína Aurora eficaz para tratar ou prevenir uma condição mediada por Aurora e um portador farmaceuticamente aceitável, são outra concretização da presente invenção.

O termo "condição mediada por Aurora" ou "doença mediada por Aurora" conforme aqui utilizado, significa qualquer doença ou outra condição nociva à saúde na qual a Aurora (Aurora A, Aurora B e Aurora C) é conhecida por desempenhar alguma função. Tais condições incluem, sem limitação, câncer, distúrbios proliferativos, e distúrbios mieloproliferativos.

Exemplos de distúrbios mieloproliferativos incluem, porém não se restringem a policitemia vera, trombocitemia, metaplasia mielóide com mielofibrose, leucemia mielógena crônica (CML), leucemia mielomonocítica crônica, síndrome hipereosinofílica, leucemia mielomonocítica juvenil, e doença mastocitária sistêmica.

O termo "câncer" também inclui, porém não se restringe aos seguintes tipos de câncer: epidermóide Oral: cavidade bucal, lábios, língua, boca, faringe; Cardíaco: sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rabdomiosarcoma, liposarcoma), mixoma, rabdomioma, fibroma, lipoma e teratoma; Pulmão: carcinoma broncogênico (de célula escamosa ou epidermóide, indiferenciado de pequenas células, indiferenciado de grandes células, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma

condromatoso, mesotelioma; Gastrointestinal: esôfago (carcinoma de células escamosas, laringe, adenocarcinoma, leiomirosarcoma, linfoma), estômago (carcinoma, linfoma, leiomirosarcoma), pâncreas (adenocarcinoma ductal, 5 insulinoma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinóides, vipoma), intestino grosso e delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinóides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grosso (adenocarcinoma, adenoma tubular, 10 adenoma viloso, hamartoma, leiomioma), cólon, cólon-reto, colorretal; reto. Trato Genito-urinário: rins (adenocarcinoma, tumor de Wilm [nefroblastoma], linfoma, leucemia), bexiga e uretra (carcinoma de células escamosas, carcinoma celular transitório, 15 adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículo (seminoma, teratoma, carcinoma embrionário, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma celular intersticial, carcinoma, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatóides, lipoma); Fígado: hepatoma 20 (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma, vias biliares; Ósseo: sarcoma osteogênico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno 25 (sarcoma de célula reticular), mieloma múltiplo, tumor maligno de célula gigante, cordoma, osteocondroma, (exostoses osteocartilaginosas), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteóide e tumores de célula gigante; Sistema Nervoso Central: 30 Esqueleto (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteíte deformante), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatose), cérebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma [pinealoma], glioblastoma multiforme, oligodendrogioma, 35 schwanoma, retinoblastoma, tumores congênitos), medula espinhal, neurofibroma, meningioma, glioma, sarcoma); Ginecológico: útero (carcinoma endometrial), colo do

útero (carcinoma cervical, displasia cervical pré-tumoral), ovários (carcinoma ovariano [cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma não classificado], tumores de células granulosas-tecais,
5 tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma de célula escamosa, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrióide (rabdomiossarcoma
10 embrionário), trompas de Falópio (carcinoma), mama; Hematológico: sangue (leucemia mielóide[aguda e crônica], leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crônica, doenças mieloproliferativas, mieloma múltiplo, síndrome mielodisplásica); doença de Hodgkin, linfoma
15 não-Hodgkin [linfoma maligno] célula pilosa; distúrbios linfóides; Pele: melanoma maligno, carcinoma de célula basal, carcinoma de célula escamosa, sarcoma de Kaposi, ceratoacantoma, nevo displásico (mola), lipoma, angioma, dermatofibroma, quelóides, psoríase; Glândula Tireóide:
20 carcinoma papilar da tireóide, carcinoma folicular da tireóide; carcinoma medular da tireóide, câncer de tireóide indiferenciado, neoplasia endócrina múltipla tipo 2A, neoplasia endócrina múltipla tipo 2B, câncer medular de tireóide familiar, feocromocitoma,
25 paraganglioma; e Glândulas Supra-Renais: neuroblastoma. Assim, o termo "célula cancerosa", conforme aqui citado, inclui uma célula afetada por qualquer uma das condições acima identificadas. Em algumas concretizações, o câncer é selecionado de colorretal, tireóide, ou câncer de mama.
30 Em algumas concretizações, os compostos da presente invenção são úteis para tratar câncer, tais como colorretal, tireóide, de mama, e câncer de pulmão; e distúrbios mieloproliferativos, tais como policitemia vera, trombocitemia, metaplasia mielóide com
35 mielofibrose, leucemia mielógena crônica, leucemia mielomonocítica crônica, síndrome hipereosinofílica, leucemia mielomonocítica juvenil, e doença mastocitária

sistêmica.

Em algumas concretizações, os compostos da presente invenção são úteis para tratar distúrbios hematopoiéticos, em especial, leucemia mielógena aguda (AML), leucemia mielógena crônica (CML), leucemia promielocítica aguda (APL), e leucemia linfocítica aguda (ALL).

Além dos compostos da presente invenção, derivados ou profármacos farmaceuticamente aceitáveis dos compostos da presente invenção podem também ser empregados em composições para tratar ou prevenir os distúrbios acima identificados.

Um "derivado ou profármaco farmaceuticamente aceitável" significa qualquer éster, sal de um éster farmaceuticamente aceitável ou outro derivado de um composto da presente invenção que, mediante administração a um receptor, é capaz de prover, seja direta ou indiretamente, um composto da presente invenção ou metabólito inibitoriamente ativo ou seu resíduo. Tais derivados ou profármacos incluem os que aumentam a biodisponibilidade dos compostos da presente invenção, quando tais compostos são administrados a um paciente (ex: permitindo que um composto administrado oralmente seja mais facilmente absorvido pela corrente sanguínea) ou que aumentam a liberação do composto original para um compartimento biológico (ex: cérebro ou sistema linfático) em relação às espécies originais.

Exemplos de profármacos farmaceuticamente aceitáveis dos compostos da presente invenção incluem, sem restrição, ésteres, ésteres de aminoácido, ésteres de fosfato, sais metálicos e ésteres de sulfonato.

Os compostos da presente invenção podem existir na forma livre para tratamento, ou, quando apropriado, como um sal farmaceuticamente aceitável.

Conforme aqui utilizado, o termo "sal farmaceuticamente aceitável" refere-se a sais de um composto que são, no escopo de critério médico confiável, adequados para uso

em contato com os tecidos de humanos e animais inferiores sem toxicidade, irritação, resposta alérgica indevidas e similares, e são proporcionais à razoável relação risco/benefício.

5 Sais farmaceuticamente aceitáveis dos compostos da presente invenção incluem os derivados de ácidos e bases inorgânicos e orgânicos. Esses sais podem ser preparados in situ durante o isolamento e purificação final dos compostos. Sais de adição de ácido podem ser preparados
10 1). reagindo-se o composto purificado na sua forma em base livre com um ácido orgânico ou inorgânico apropriado e 2). isolando-se o sal assim formado.

Exemplos de sais de adição de ácido apropriados incluem acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato,
15 benzenossulfonato, bissulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanossulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, glicolato, hemissulfato, heptanoato, hexanoato, cloridrato,
20 bromidrato, iodidrato, 2-hidroxietanossulfonato, lactato, maleato, malonato, metanossulfonato, 2-naftalenossulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato,
25 succinato, sulfato, tartarato, tiocianato, tosilato e undecanoato. Outros ácidos, tais como oxálico, embora não sejam por si próprios farmaceuticamente aceitáveis, podem ser empregados na preparação de sais úteis como intermediários para obter compostos da invenção e seus
30 sais de adição de ácido farmaceuticamente aceitáveis.

Sais de adição de base podem ser preparados 1). reagindo-se o composto purificado em sua forma ácida com uma base orgânica ou inorgânica apropriada e 2). isolando-se o sal assim formado.

35 Sais derivados de bases apropriadas incluem sais metálicos alcalinos (ex: sódio e potássio), sais metálicos alcalinoterrosos (ex: magnésio), amônio e

$N^+(alquila\ C_{1-4})_4$. A presente invenção também prevê a quaternização de quaisquer grupos básicos contendo nitrogênio dos compostos aqui descritos. Produtos solúveis em água ou óleo ou dispersíveis podem ser obtidos através de tal quaternização.

Sais de adição de base também incluem sais metálicos alcalinos ou metálicos alcalinoterrosos. Sais metálicos alcalinos ou metálicos alcalinoterrosos incluem sódio, lítio, potássio, cálcio, magnésio e similares. Outros sais farmaceuticamente aceitáveis incluem, quando apropriado, cátions atóxicos de amônio, amônio quaternário e de amina formados utilizando contra-íons tais como haleto, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquila inferior e sulfonato de arila. Outros ácidos e bases, embora não sejam por si próprios farmaceuticamente aceitáveis, podem ser empregados na preparação de sais úteis como intermediários na obtenção dos compostos da invenção e seus sais de adição de ácido ou de base farmaceuticamente aceitáveis. Portadores farmaceuticamente aceitáveis que podem ser usados nessas composições farmacêuticas incluem, porém não se restringem a trocadores iônicos, alumina, estearato de alumínio, lecitina, proteínas séricas, tais como albumina sérica humana, substâncias tampão tais como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potássio, misturas glicerídicas parciais de ácidos graxos vegetais saturados, água, sais ou eletrólitos, tais como sulfato de protamina, hidrogeno fosfato dissódico, hidrogeno fosfato de potássio, cloreto de sódio, sais de zinco, sílica coloidal, trisilicato de magnésio, polivinil pirrolidona, substâncias à base de celulose, polietileno glicol, carboximetilcelulose sódica, poliacrilatos, ceras, polímeros em bloco de polietileno-polioxipropileno, polietileno glicol e gordura de lã.

As composições da presente invenção podem ser administradas oralmente, parenteralmente, através de

inalação por pulverização, topicamente, retalmente, nasalmente, bucalmente, vaginalmente ou através de um reservatório implantado. O termo "parenteral", conforme aqui utilizado, inclui injeção subcutânea, intravenosa,

5 intramuscular, intra-articular, intra-sinovial, intraesternal, intratecal, intraperitoneal, intrahepática, intralesional e intracraniana ou técnicas de infusão.

Formas injetáveis estéreis das composições da presente
10 invenção podem ser uma suspensão aquosa ou oleaginosa.

Essas suspensões podem ser formuladas de acordo com as técnicas conhecidas no estado da técnica utilizando agentes de dispersão ou umectantes apropriados e agentes de suspensão. A preparação injetável estéril pode também

15 ser uma solução ou suspensão estéril injetável num diluente ou solvente atóxico parenteralmente aceitável, por exemplo, como uma solução em 1,3-butanodiol. Entre os veículos e solventes aceitáveis que podem ser empregados estão a água, solução de Ringer e solução isotônica de

20 cloreto de sódio. Além disso, óleos fixos estéreis são convencionalmente empregados como meio solvente ou de suspensão. Para essa finalidade, um óleo fixo suave pode ser empregado, incluindo os mono ou diglicerídeos sintéticos. Ácidos graxos, tais como ácido oleico e seus

25 derivados de glicerídeo são úteis na preparação de injetáveis, da mesma forma que os óleos naturais farmaceuticamente aceitáveis, tais como óleo de oliva ou óleo de rícino, especialmente em suas versões polioxietiladas. Essas soluções ou suspensões oleosas

30 podem também conter um diluente ou dispersante alcoólico de cadeia longa, tais como carboximetil celulose ou agentes dispersantes similares que são comumente utilizados na formulação de formas de dosagem farmaceuticamente aceitáveis incluindo emulsões e

35 suspensões. Outros surfactantes comumente utilizados, tais como os Tweens, Spans e outros agentes emulsificantes ou intensificadores de biodisponibilidade

que são comumente utilizados na fabricação de formas de dosagem sólidas, líquidas ou outras formas de dosagem farmaceuticamente aceitáveis podem também ser usados para fins da formulação.

5 As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser oralmente administradas em qualquer forma de dosagem oralmente aceitável inclusive, porém não restrito a cápsulas, comprimidos, suspensões ou soluções aquosas. No caso de comprimidos para uso oral, portadores comumente utilizados podem incluir lactose e amido de milho. Agentes lubrificantes, tais como estearato de magnésio, podem também ser adicionados. Para administração oral na forma de cápsula, diluentes úteis podem incluir lactose e amido de milho seco. Quando suspensões aquosas são necessárias para uso oral, o ingrediente ativo pode ser combinado com agentes emulsificantes e de suspensão. Se desejado, certos agentes adoçantes, aromatizantes ou corantes podem também ser adicionados.

Alternativamente, as composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas na forma de supositórios para administração retal. Estes podem ser preparados misturando-se o agente com um excipiente não irritante apropriado que seja sólido à temperatura ambiente, mas líquido à temperatura retal de forma a se derreter no reto para liberação do fármaco. Tais materiais podem incluir manteiga de cacau, cera de abelhas e polietileno glicóis.

As composições farmacêuticas da presente invenção podem também ser administradas topicalmente, especialmente quando o alvo de tratamento inclui áreas ou órgãos de fácil acesso pelas aplicações tópicas, incluindo doenças dos olhos, pele, ou do trato intestinal inferior. Formulações tópicas apropriadas podem ser preparadas para cada uma dessas áreas ou órgãos.

35 A aplicação tópica no trato intestinal inferior pode ser efetuada numa formulação de supositório retal (vide acima) ou numa formulação de enema apropriada. Adesivos

transdérmicos topicamente podem também ser usados.

Para aplicações tópicas, as composições farmacêuticas podem ser formuladas numa pomada apropriada contendo o componente ativo suspenso ou dissolvido em um ou mais

5 portadores. Portadores para administração tópica dos compostos da presente invenção podem incluir, porém não se restringem a óleo mineral, petrolato líquido, petrolato branco, composto de propileno glicol, polioxietíleno, polioxipropileno, cera emulsificante e
10 água. Alternativamente, as composições farmacêuticas podem ser formuladas numa loção ou creme adequado contendo os componentes ativos suspensos ou dissolvidos em um ou mais portadores farmaceuticamente aceitáveis. Portadores apropriados podem incluir, porém não se
15 restringem a óleo mineral, monoestearato de sorbitan, polisorbato 60, cera de cetil ésteres, álcool cetearílico, 2-octildodecanol, álcool benzílico e água. Para uso oftálmico, as composições farmacêuticas podem ser formuladas na forma de suspensões micronizadas em
20 solução salina estéril isotônica de pH ajustado, ou na forma de soluções em solução salina estéril isotônica com pH ajustado, com ou sem preservativo tal como cloreto de benzilalcônio. Alternativamente, para usos oftálmicos, as composições farmacêuticas podem ser formuladas numa
25 pomada tal como petrolato.

As composições farmacêuticas da presente invenção podem também ser administradas através de aerosol ou inalação nasal. Tais composições podem ser preparadas como soluções em solução salina, empregando álcool benzílico ou outros preservativos, promotores de absorção para aumentar a biodisponibilidade, fluorocarbonetos, e/ou outros agentes solubilizantes ou dispersantes convencionais.

A quantidade de inibidor de quinase que pode ser

35 combinada com os materiais portadores para produzir uma forma de dosagem única variará dependendo do hospedeiro tratado, do modo específico de administração e da

indicação. Em uma concretização, as composições devem ser formuladas de forma que uma dosagem entre 0,01 - 100 mg/kg peso corporal/dia do inibidor possa ser administrada a um paciente recebendo essas composições.

5 Em outra concretização, as composições devem ser formuladas de forma que uma dosagem entre 0,1 - 100 mg/kg de peso corporal/dia do inibidor possa ser administrada a um paciente recebendo essas composições.

Deve ficar entendido que uma dosagem e regime de tratamento específicos para qualquer paciente em particular dependerá de uma variedade de fatores, inclusive da atividade do composto específico empregado, da faixa etária, peso corporal, saúde geral, sexo, dieta, tempo de administração, taxa de excreção, combinação farmacológica, e do critério do médico responsável e da gravidade da doença específica que estiver sendo tratada. A quantidade de inibidor também dependerá do composto específico na composição.

De acordo com outra concretização, a invenção provê métodos para tratar ou prevenir câncer, um distúrbio proliferativo ou um distúrbio mieloproliferativo compreendendo a etapa de administrar a um paciente um dos compostos ou composições farmacêuticas aqui descritas.

O termo "paciente", conforme aqui utilizado, significa um animal, incluindo um ser humano.

Em algumas concretizações, dito método é usado para tratar ou prevenir um distúrbio hematopoiético, tal como leucemia mielógena aguda (AML), leucemia promielocítica aguda (APL), leucemia mielógena crônica (CML), ou 30 leucemia linfocítica aguda (ALL).

Em outras concretizações, dito método é utilizado para tratar ou prevenir distúrbios mieloproliferativos, tais como policitemia vera, trombocitemia, metaplasia mielóide com mielofibrose, leucemia mielógena crônica (CML), 35 leucemia mielomonocítica crônica, síndrome hipereosinofílica, leucemia mielomonocítica juvenil e doença mastocitária sistêmica.

Em outras concretizações ainda, dito método é utilizado para tratar ou prevenir câncer, tais como câncer de mama, cólon, próstata, pele, pâncreas, cérebro, trato genito-urinário, sistema linfático, estômago, laringe e pulmão, incluindo adenocarcinoma pulmonar, câncer pulmonar de pequenas células, e câncer pulmonar não de pequenas células.

Outra concretização provê um método para tratar ou prevenir câncer, compreendendo a etapa de administrar a um paciente um composto de fórmula I ou uma composição compreendendo dito composto.

Outro aspecto da invenção refere-se a inibir a atividade de quinase num paciente, cujo método compreende administrar ao paciente um composto de fórmula I ou uma composição compreendendo dito composto. Em algumas concretizações, dita quinase é uma Aurora quinase (Aurora A, Aurora B, Aurora C), Abl, Abl(T315I), Arg, FLT-3, JAK-2, MLK1, PLK4, Tie2, ou TrkA.

Dependendo das condições específicas a serem tratadas ou prevenidas, fármacos adicionais podem ser administrados juntamente com os compostos da presente invenção. Em alguns casos, esses fármacos adicionais são normalmente administrados para tratar ou prevenir a mesma condição. Por exemplo, os agentes quimioterápicos ou outros agentes anti-proliferativos podem ser combinados com os compostos da presente invenção para tratar doenças proliferativas.

Outro aspecto da presente invenção é dirigido para um método para tratar câncer num indivíduo necessitado do mesmo, compreendendo a administração seqüencial ou a co-administração de um composto da presente invenção ou de um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e outro agente terapêutico. Em algumas concretizações, dito agente terapêutico adicional é selecionado de um agente antineoplásico, agente anti-proliferativo, ou de um agente quimioterápico.

Em algumas concretizações, dito agente terapêutico adicional é selecionado de camptotecina, o inibidor de

MEK: U0126, um inibidor de KSP (proteína de fuso tipo cinesina), adriamicina, interferons, e derivados de platina, tal como Cisplatina.

Em outras concretizações, dito agente terapêutico adicional é selecionado de taxanos, inibidores de bcr-abl (tal como Gleevec, dasatinibe, e nilotinibe); inibidores de EGFR (tal como Tarceva e Iressa); agentes danificadores de DNA (tal como cisplatina, oxaliplatina, carboplatina, inibidores de topoisomerase, e antraciclinas); e anti-metabólitos (tal como AraC e 5-FU).

Em outras concretizações ainda, dito agente terapêutico adicional é selecionado de camptotecina, doxorrubicina, idarubicina, cisplatina, taxol, taxotere, vincristina, tarceva, o inibidor de MEK, U0126, um inibidor de KSP, vorinostat, Gleevec, dasatinibe e nilotinibe.

Em outra concretização, dito agente terapêutico adicional é selecionado de inibidores de Her-2 (tal como Herceptina); inibidores de HDAC (tal como vorinostat), inibidores de VEGFR (tal como Avastin), inibidores de c-KIT e FLT-3 (tal como sunitinibe) inibidores de BRAF (tal como BAY 43-9006 da Bayer), inibidores de MEK (tal como o PD0325901 da Pfizer); venenos do fuso (tal como Epothilonas e partículas de paclitaxel ligadas a proteína (tal como Abraxane®).

Outras terapias ou agentes antineoplásicos que podem ser usados em combinação com os agentes antineoplásicos da invenção da presente invenção incluem cirurgia, radioterapia (em alguns exemplos, radiação gama, 30 radioterapia por feixe de neutrons, radioterapia por feixe de elétrons, terapia protônica, braquiterapia, e isótopos radioativos sistêmicos, para citar alguns), terapia endócrina, modificadores de resposta biológica (interferons, interleucinas, e fator de necrose tumoral (TNF) para citar alguns), hipertermia e crioterapia, agentes para atenuar quaisquer efeitos adversos (ex: antieméticos), e outros fármacos quimioterápicos

aprovados, inclusive, porém não restritos a fármacos alquilantes (mecloretamina, clorambucil, ciclofosfamida, Melfalan, Ifosfamida), antimetabólicos (Metotrexate), antagonistas de purina e antagonistas de pirimidina (6-mercaptopurina, 5-Fluorouracil, Cytarabine, Gemciutabine), venenos do fuso (Vinblastina, Vincristina, Vinorelbina, Paclitaxel), podofilotoxinas (Etoposídeo, Irinotecan, Topotecan), antibióticos (Doxorubicina, Bleomicina, Mitomicina), nitrosouréias (Carmustina, Lomustina), íons inorgânicos (Cisplatina, Carboplatina), enzimas (Asparaginase), e hormônios (Tamoxifeno, Leuprorelin, Flutamida, e Megestrol), Gleevec™, dexametasona, e ciclofosfamida.

Um composto da presente invenção pode também ser útil para tratar câncer em combinação com os seguintes agentes terapêuticos: abarelix (Plenaxis depot®); aldesleucina (Prokine®); Aldesleukin (Proleukin®); Alemtuzumab (Campath®); alitretinoína (Panretin®); allopurinol (Zyloprim®); altretamina (Hexalen®); amifostina (Ethylol®); anastrozol (Arimidex®); trióxido arsênico (Trisenox®); asparaginase (Elspar®); azacitidina (Vidaza®); bevacizumab (Avastin®); cápsulas de bexaroteno (Targretin®); gel de bexaroteno (Targretin®); bleomicina (Blenoxane®); bortezomib (Velcade®); busulfan intravenoso (Busulfex®); busulfan oral (Myleran®); calusterona (Methosarb®); capecitabina (Xeloda®); carboplatina (Paraplatin®); carmustina (BCNU®, BiCNU®); carmustina (Gliadel®); carmustina com Polifeprosan 20 Implante (Gliadel Wafer®); celecoxibe (Celebrex®); cetuximabe (Erbitux®); clorambucil (Leukeran®); cisplatina (Platinol®); cladribina (Leustatin®, 2-CdA®); clofarabina (Clolar®); ciclofosfamida (Cytoxan®, Neosar®); ciclofosfamida (Cytoxan Injection®); ciclofosfamida (Cytoxan Tablet®); citarabina (Cytosar-U®); citarabina liposomal (DepoCyt®); dacarbazine (DTIC-Dome®); dactinomicina, actinomicina D (Cosmegen®); Darbepoetin alfa (Aranesp®); daunorubicina lipossômica (Danuoxome®);

daunorubicina, daunomicina (Daunorubicin[®]) ;
 daunorubicina, daunomicina (Cerubidine[®]) ; Denileukin
 diftitox (Ontak[®]) ; dexrazoxano (Zinecard[®]) ; docetaxel
 (Taxotere[®]) ; doxorubicina (Adriamycin PFS[®]) ; doxorubicina
 5 (Adriamycin[®], Rubex[®]) ; doxorubicina (Adriamycin PFS
 Injection[®]) ; doxorubicina lipossômica (Doxil[®]) ;
 propionato de dromostanolona (dromostanolone[®]) ;
 propionato de dromostanolona (Masterone injection[®]) ;
 Solução de Elliott's B (Elliott's B Solution[®]) ;
 10 epirubicina (Ellence[®]) ; Epoetina alfa (epogen[®]) ;
 erlotinibe (Tarceva[®]) ; estramustina (Emcyt[®]) ; fosfato de
 etoposídeo (Etopophos[®]) ; etoposídeo, VP-16 (Vepesid[®]) ;
 exemestano (Aromasin[®]) ; Filgrastim (Neupogen[®]) ;
 floxuridina (intraarterial) (FUDR[®]) ; fludarabina
 15 (Fludara[®]) ; fluorouracil, 5-FU (Adrucil[®]) ; fulvestrant
 (Faslodex[®]) ; gefitinibe (Iressa[®]) ; gemcitabina (Gemzar[®]) ;
 gemtuzumab ozogamicina (Mylotarg[®]) ; acetato de goserelina
 (Zoladex Implant[®]) ; acetato de goserelina (Zoladex[®]) ;
 acetato de histrelina (Histrelin implant[®]) ; hidroxiuréia
 20 (Hydrea[®]) ; Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin[®]) ; idarubicina
 (Idamycin[®]) ; ifosfamida (IFEX[®]) ; mesilato de imatinibe
 (Gleevec[®]) ; interferon alfa 2a (Roferon A[®]) ; Interferon
 alfa-2b (Intron A[®]) ; irinotecan (Camptosar[®]) ;
 lenalidomida (Revlimid[®]) ; letrozol (Femara[®]) ; leucovorin
 25 (Wellcovorin[®], Leucovorin[®]) ; Acetato de Leuprolide
 (Eligard[®]) ; levamisol (Ergamisol[®]) ; lomustina, CCNU
 (CeeBU[®]) ; mecloretamina, mostarda de nitrogênio
 (Mustargen[®]) ; acetato de megestrol (Megace[®]) ; melfalan,
 L-PAM (Alkeran[®]) ; mercaptopurina, 6-MP (Purinethol[®]) ;
 30 mesna (Mesnex[®]) ; mesna (Mesnex tabs[®]) ; metotrexato
 (Methotrexate[®]) ; metoxsalen (Uvadex[®]) ; mitomicina C
 (Mutamycin[®]) ; mitotano (Lysodren[®]) ; mitoxantrona
 (Novantrone[®]) ; fenpropionato de nandrolona (Durabolin-
 50[®]) ; nelarabina (Arranon[®]) ; Nofetumomab (Verluma[®]) ;
 35 Oprelvekin (Neumega[®]) ; oxaliplatina (Eloxatin[®]) ;
 paclitaxel (Paxene[®]) ; paclitaxel (Taxol[®]) ; partículas de
 paclitaxel ligadas a proteína (Abraxane[®]) ; palifermin

(Kepivance[®]); pamidronato (Aredia[®]); pegademase (Adagen (Pegademase Bovine)[®]); pegaspargase (Oncaspar[®]); Pegfilgrastim (Neulasta[®]); pemtrexed dissódico (Alimta[®]); pentostatina (Nipent[®]); pipobroman (Vercyte[®]); 5 plicamicina, mitramicina (Mithracin[®]); porfimer sódico (Photofrin[®]); procarbazina (Matulane[®]); quinacrina (Atabrine[®]); Rasburicase (Elitek[®]); Rituximab (Rituxan[®]); sargramostim (Leukine[®]); Sargramostim (Prokine[®]); sorafenib (Nexavar[®]); estreptozocina (Zanosar[®]); maleato de sunitinibe (Sutent[®]); talco (Sclerosol[®]); tamoxifeno (Nolvadex[®]); temozolomida (Temodar[®]); teniposídeo, VM-26 (Vumon[®]); testolactona (Teslac[®]); tioguanina, 6-TG (Thioguanine[®]); tiotepa (Thioplex[®]); topotecan (Hycamtin[®]); toremifeno (Fareston[®]); Tositumomab 10 (Bexxar[®]); Tositumomab/I-131 tositumomab (Bexxar[®]); Trastuzumab (Herceptin[®]); tretinoína, ATRA (Vesanoid[®]); Uracil Mustard (Uracil Mustard Capsules[®]); valrubicina (Valstar[®]); vinblastina (Velban[®]); vincristina (Oncovin[®]); vinorelbina (Navelbine[®]); zoledronato 15 (Zometa[®]) e vorinostat (Zolinza[®]).

Para uma discussão abrangente de terapias antineoplásicas consulte <http://www.nci.nih.gov/>, uma listagem de fármacos oncológicos aprovados pelo FDA em <http://www.fda.gov/cder/cancer/druglistframe.htm>, and The 25 Merck Manual, Seventeenth Ed. 1999, cujos conteúdos são aqui incorporados por referência.

Outra concretização provê um uso simultâneo, separado ou seqüencial de uma preparação combinada.

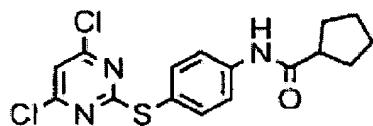
Os agentes adicionais podem ser administrados 30 separadamente, como parte de um regime de dosagem múltiplo do composto ou da composição contendo inibidor de quinase. Alternativamente, esses agentes podem fazer parte de uma forma de dosagem única, misturado com o inibidor de quinase numa composição única.

35 Para que a presente invenção seja melhor compreendida, os seguintes exemplos preparatórios e de teste são descritos abaixo. Esses exemplos são para fins de ilustração

apenas, não devendo ser interpretados como restringindo o escopo da invenção em nenhum aspecto. Todos os documentos aqui citados são aqui incorporados por referência.

EXEMPLOS

- 5 Conforme aqui utilizado, o termo "R_t(min)" refere-se ao tempo de retenção de HPLC, em minutos, associado com o composto. Salvo se indicado de outra forma, o método de HPLC utilizado para obter o tempo de retenção relatado é o seguinte:
- 10 Coluna : Coluna ACE C8, 4,6 x 150 mm
Gradiente: 0-100% acetonitrila+metanol 60:40 (20 mM Tris fosfato)
Taxa de escoamento : 1,5 ml/minuto
Detecção: 225 nm.
- 15 Amostras de espectrometria de massa foram analisadas num espectrômetro de massa MicroMass Quattro Micro operado num modo MS simples com ionização por eletropulverização. As amostras foram introduzidas no espectrômetro de massa utilizando cromatografia. A fase móvel para todas as
20 análises de espectrometria de massa consistia de 10 mM acetato de amônio pH 7 e uma mistura 1:1 de acetonitrila-metanol, as condições de gradiente de coluna foram de 5%-100% acetonitrila-metanol durante um tempo de gradiente de 3,5 min e 5 mins de tempo de operação numa coluna ACE
25 C8 3,0 x 75 mm. Taxa de escoamento foi de 1,2 ml/min.
Os espectros ¹H-NMR foram registrados a 400 MHz utilizando um instrumento Bruker DPX 400. Os compostos seguintes de fórmula I foram preparados e analisados como segue.
- 30 Exemplo 1



N- (4- (4,6-dicloropirimidin-2-iltio)fenil)ciclopentano carboxamida

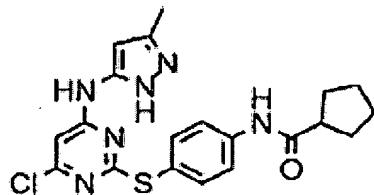
Uma solução de 4,6-dicloro-2-(metilsulfonil)pirimidina (1,96g, 8,69 mmol) e N- (4-

mercaptopfenil)ciclopentanocarboxamida (2,06g, 8,69 mmol) em acetonitrila (40 ml) foi resfriada até 0°C. Trietilamina (0,88g, 8,69 mmol, 1,21 ml) foi adicionada gota a gota e a solução agitada durante 10 min a 0°C

5 durante 10 min e então à temperatura ambiente durante 2 horas. Água (15 ml) foi adicionada e a suspensão filtrada, lavada com água (30 ml) e então secada para dar o composto título na forma de um sólido amarelo-pálido (1,87g, 49%)

10 ^1H NMR (DMSO-d₆) 1.50 - 1.61 (2H, m), 1.65 - 1.78 (4H, m), 1.82 - 1.93 (2H, m), 2.76 - 1.82 (1H, m), 7.52 (2H, d), 1.70 - 1.75 (3H, m), 10.08 (1H, s). ES+ 368.

Exemplo 2



N- (4- (4- (3-metil-1H-pirazol-5-ilamino)-6-cloropirimidin-2-iltio)fenil) ciclopentanocarboxamida

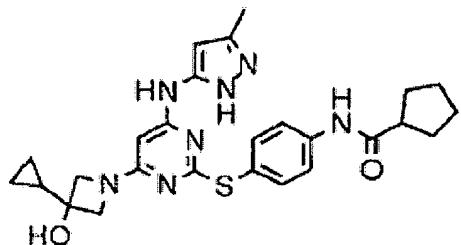
A uma solução de 3-metil-1H-pirazol-5-amina (160 mg, 1.63 mmol) e N- (4- (4,6-dicloropirimidin-2-iltio)fenil)ciclopentano carboxamida (600 mg, 1.63 mmol) em dimetyl formamida (10 ml) adicionou-se

20 diisopropiletilamina (248 mg, 1.96 mmol, 0.34 ml). A mistura foi então aquecida até 80°C durante 18 horas e deixada resfriar até temperatura ambiente. EtOAc (40 ml) foi adicionado e lavado com salmoura, secado (MgSO_4) e concentrado em vácuo. O produto bruto foi então purificado através de cromatografia de flasheamento 7:3 EtOAc:hexano E EtOAc E 5% MeOH:EtOAc para dar um composto título na forma de um sólido esbranquiçado (431 mg, 62%).

^1H NMR (DMSO-d₆) 1.50 - 1.55 (2H, m), 1.61 - 1.78 (4H, m), 1.79 - 1.85 (2H, m), 1.90 (3H, brs), 2.72 - 1.81 (1H, m), 5.21 (1H, brs), 6.46 (1H, brs), 7.52 (2H, d), 7.78 (2H, d), 10.11 (1H, s), 10.18 (1H, brs), 11.95 (1H, brs).

30 ES+ 429.

Exemplo 3



N-((4-((4-(3-metil-1H-pirazol-5-ilamino)-6-(3-ciclopropil-3-hidroxiazetidin-1-il)pirimidin-2-il)sulfanil)fenil)ciclopentanocarboxamida (I-9)

5 A uma suspensão de *N*-(4-(4-(3-metil-1H-pirazol-5-ilamino)-6-cloropirimidin-2-iltio)fenil)ciclopentanocarboxamida (200 mg, 0.47 mmol) e cloridrato de 3-ciclopropil azetidin-3-ol (70 mg, 0.47 mmol) em n-BuOH (5 ml) adicionou-se diisopropiletilamina (239 mg, 1.88 mmol, 0.30 ml). A mistura foi aquecida até 100°C durante 16 horas e então deixada esfriar até temperatura ambiente e diluída com EtOAc (30 ml) e NaHCO₃ sat. A camada orgânica foi lavada com salmoura, secada (Na₂SO₄) e concentrada. O produto bruto foi então purificado 10 através de cromatografia de flasheamento EtOAc E 5% MeOH:EtOAc para dar o composto título na forma de um sólido esbranquiçado. (70 mg, 30%). ¹H NMR (DMSO-d₆) 0.30 - 0.35 (2H, m), 0.39 - 0.44 (2H, m), 1.16 - 1.21 (1H, m), 1.56 - 1.75 (6H, m), 1.83 - 1.90 (2H, m), 2.00 (3H, s), 2.76 - 2.82 (1H, m), 3.65 (4H, dd), 5.35 (1H, s), 5.58 (1H, s), 7.47 (2H, d), 7.72 (2H, d), 9.19 (1H, s), 10.06 (1H, s), 11.65 (1H, s). ES+ 506.

A Tabela 2 abrixo mostra dados para certos compostos representativos preparados de acordo com o método descrito no Esquema I e nos Exemplos 1-3. Os números de composto correspondem aos compostos mostrados na Tabela 25 1.

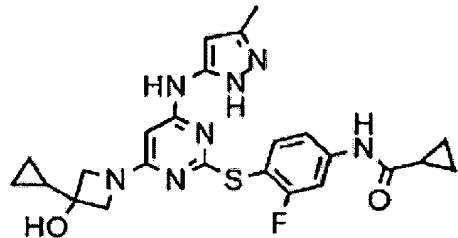
Tabela 2

Composto No.	M+1 (obs)	1H NMR	Rt (mins)
I-1	496.00	(DMSO-d6) : 0.98 (9H, s), 1.10 (3H, t), 1.66 (2H, brs), 1.98 (3H, brs), 2.34 (2H, q), 3.69 (2H, d), 3.83 (2H, d), 5.35 (1H, brs), 5.70 (1H, s), 5.75 (1H, vbrs), 7.46 (2H, d), 7.70 (2H, d), 9.18 (1H, brs), 10.08 (1H, s), 11.68 (1H, brs).	8.93
I-2	466.00	(DMSO-d6) : 0.29-0.33 (2H, m), 0.40-0.49 (2H, m), 1.10 (3H, t), 1.18 -1.21 (1H, m), 1.99 (3H, brs), 2.34 (2H, q), 3.63 (2H, d), 3.68 (2H, d), 5.36 (1H, s), 5.60 (1H, s), 7.47 (2H, d), 7.70 (2H, d), 9.21 (1H, brs), 10.08 (1H, s), 11.67 (1H, brs).	7.63
I-3	494.50	(DMSO-d6) : 1.15 (3H, t), 1.3-1.4 (2H, m), 1.5-1.8 (6H, m), 2.02 (3H, s), 2.17-2.23 (1H, m), 2.42 (2H, q), 3.68 (2H, d), 3.82 (2H, d), 5.5 (1H, s), 5.65 (1H, s), 5.72 (1H, brs), 7.52 (2H, d), 7.78 (2H, d), 9.22 (1H, brs), 10.12 (1H, s), 11.7 (1H, brs)	8.9
I-4	454.00	(DMSO-d6) : 0.89 (3H, t), 1.10 (3H, t), 1.65 (2H, brq), 1.99 (3H, brs), 2.35 (2H, q), 3.64 (2H, d), 3.75 (2H, d), 5.38 (1H, brs), 5.51 (1H, s), 5.62 (1H, vbrs), 7.47 (2H, d), 7.70 (2H, d), 9.16 (1H, brs), 10.05 (1H, brs), 11.65 (1H, brs).	7.87
I-5	468.00	(DMSO-d6) : 0.87 (6H, d), 1.10 (3H, t), 1.81 (1H, sep), 1.99 (3H, brs), 2.34 (2H, q), 3.61 (2H, d), 3.81 (2H, d), 5.37 (1H, brs), 5.47 (1H, brs), 5.63 (1H, vbrs), 7.47 (2H, d), 7.70 (2H, d), 9.17 (1H, brs), 10.05 (1H, s), 11.65 (1H, brs).	8.35

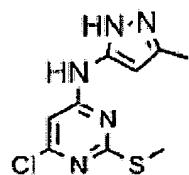
I-6	482.49	(DMSO-d6) : 0.90-0.83 (6 H, m), 1.12-1.08 (4 H, m), 1.54-1.46 (2 H, m), 2.02 (3 H, s), 2.35 (2 H, q), 3.14 (1 H, br m), 3.68 (2 H, t), 3.88 (2 H, t), 5.40 (1 H, s), 5.61 (1 H, br s), 7.50 (2 H, d), 7.72 (2 H, d), 9.63 (1 H, br s), 10.14 (1 H, s).	8.830
I-7	492.84	(DMSO-d6) : 0.32 (2H, d), 0.41 (2H, d), 0.53 (2H, d), 0.82 (2H, d), 1.08 (3H, t), 1.20 (1H, m), 1.70 (1H, m), 2.34 (2H, q), 3.65 (4H, q), 5.34 (1H, s), 5.68 (1H, br s), 7.52 (2H, d), 7.71 (2H, d), 9.33 (1H, s), 10.04 (1H, s)	8.402
I-8	478.78	(DMSO-d6) : 0.34 (2H, d), 0.40 (2H, d), 0.81 (4H, d), 1.19 (1H, m), 1.81 (1H, m), 2.01 (3H, s), 3.66 (4H, q), 5.40 (1H, s), 5.61 (1H, br s), 7.48 (2H, d), 7.71 (2H, d), 9.37 (1H, s), 10.39 (1H, s)	8.229
I-9	506.00	(DMSO-d6) : 0.30 - 0.35 (2H, m), 0.39 - 0.44 (2H, m), 1.16 - 1.21 (1H, m), 1.56 - 1.75 (6H, m), 1.83 - 1.90 (2H, m), 2.00 (3H, s), 2.76 - 2.82 (1H, m), 3.65 (4H, dd), 5.35 (1H, s), 5.58 (1H, s), 7.47 (2H, d), 7.72 (2H, d), 9.19 (1H, s), 10.06 (1H, s), 11.65 (1H, s).	8.938
I-10	504.83	(DMSO-d6) : 0.32 (2H, d), 0.42 (2H, d), 0.55 (2H, m), 0.82 (6H, m), 1.19 (1H, m), 1.70 (1H, m), 1.80 (1H, m), 3.65 (4H, q), 5.43 (1H, s), 5.65 (1H, br s), 7.47 (2H, d), 7.69 (2H, d), 9.68 (1H, s), 10.42 (1H, s)	8.544
I-12	514.80	(DMSO-d6) : 0.35-0.41 (2H,m), 0.45-0.51 (2H,m), 1.2-1.28 (2H,s), 2.1-2.15 (5H,m), 2.8-2.9 (1H,m), 3.68-3.75 (4H,m), 5.45 (1H,s), 5.65 (1H,brs), 7.58 (2H,d), 7.78 (2H,d), 9.23 (1H,brs), 10.7 (1H,s), 11.7 (1H,brs)	8.18

I-13	480.00	(MeOD) : 0.40-0.45 (2H, m), 0.57-0.62 (2H, m), 0.80-0.85 (2H, m), 0.90-0.95 (2H, m), 1.30-1.40 (1H, m), 1.80-1.85 (1H, m), 2.05-2.10 (1H, s), 3.80-4.00 (4H, m), 5.40-5.50 (2H, m), 7.50-7.55 (2H, d), 7.65-7.70 (2H, d).	9.148
I-14	522.00	(MeOD) : 0.40-0.45 (2H, m), 0.60-0.65 (2H, m), 1.3-1.4 (1H, m), 2.05 (2H, s), 3.25-3.40 (2H, m), 3.85-3.40 (4H, m), 5.40-5.50 (2H, m), 7.50-7.55 (2H, d), 7.65-7.70 (2H, d).	9.235
I-15	548.00	(MeOD) : 0.35-0.40 (2H, m), 0.55-0.60 (2H, m), 1.25-1.35 (6H, m), 2.0 (3H, m), 3.80-3.90 (4H, m), 5.35-5.40 (2H, m), 7.45-7.50 (2H, d), 7.60-7.65 (2H, d).	9.715
I-16	468.40	CD ₃ OD: 0.80 (2H, m), 1.10 (2H, d), 1.65 (3H, t), 1.90 (1H, m), 2.50 (3H, s), 2.88 (2H, q), 4.40 (4H, m), 5.94 (2H, m), 7.49 (2H, d), 8.10 (2H, d).	9.035
I-17	536.36	(DMSO-d6) : 0.42-0.46 (2H, m), 0.60-0.63 (2H, m), 1.4 (1H, m), 1.98 (3H, s), 2.59-2.68 (4H, m), 3.80-3.93 (4H, m), 5.36 (1H, brs), 5.75 (1H, brs), 7.50-7.52 (2H, d), 7.69-7.71 (2H, d), 9.37 (1H, s), 10.31 (1H, s) and 11.75 (1H, brs);	9.58

Exemplo 4

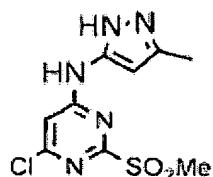


*N-((4-((4-(3-metil-1*H*-pirazol-5-ilamino)-6-(3-ciclopropil-3-hidroxiazetidin-1-il)pirimidin-2-il)sulfanil)-3-fluorofenil)ciclopropanocarboxamida* (I-11)



6-Cloro-N-(3-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-metiltio)pirimidin-4-amina

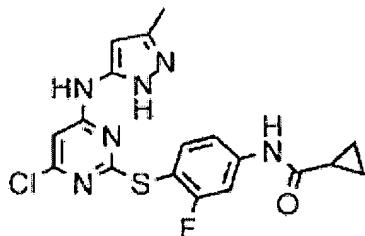
A uma solução agitada de 4,6-dicloro-2-(metiltio)pirimidina (25 g, 0.128 mol) em DMF (100 ml) adicionou-se diisopropilamina (19.8 g, 0.154 mol) seguido de 3-amino-5-metilpirazol (13.7 g, 0.154 mol) em porções durante 10 minutos. A solução foi aquecida até 50°C durante 16 horas, após o que todo material de partida foi reagido (através de análise por LC/MS). A mistura foi resfriada até temp. ambiente e despejada em água (250 ml). O precipitado foi filtrado e o sólido úmido transformado em pasta em dietil éter (300 ml). O sólido foi novamente filtrado e novamente transformado em pasta em metanol (100 ml). O produto filtrado foi secado ao ar no sinterizador, e então novamente secado sob vácuo o que deu o composto título na forma de um sólido esbranquiçado (22.1g, rendimento 66%). ^1H NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 2.22 (3H, s, CH_3), 3.31 (3H, s, CH_3), 6.00-7.50 (2H, br, CH), 10.17 (1H, s, NH), 12.10 (1H, s, NH); MS ES + 256.08, ES - 254.25.



6-cloro-N-(3-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-(metilsulfonil)pirimidin-4-amina

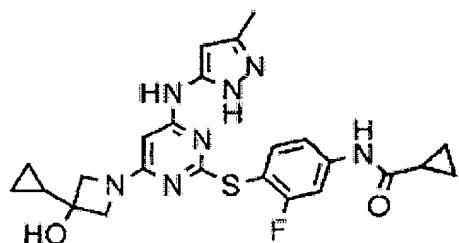
A uma suspensão agitada de 6-cloro-N-(3-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-(metilsulfonil)pirimidin-4-amina (8 g, 31.2 mmol) em metanol (200 ml) a 0°C adicionou-se uma suspensão de Oxone (44 g, 71.7 mmol) em água (100 ml) em porções durante 10 minutos. A mistura foi agitada durante 30 minutos a 0°C e então aquecida até temperatura ambiente e agitada por mais 2 horas. A mistura de reação foi filtrada e o sólido resultante transformado em pasta em bicarbonato de sódio aquoso. A mistura foi filtrada e o sólido lavado com água, e então dietil éter. O sólido foi

transformado em pasta em acetato de etila, filtrado e secado o que deu o composto título na forma de um sólido esbranquiçado (7.9 g, 88%); ¹H NMR (¹D6-DMSO) δ 2.24 (3H, s), 3.35 (3H, s), 5.85 (0.5H, brs), 6.50 (0.5H, brs), 6.95 (0.5H, brs), 8.00 (0.5H, brs), 10.95 (1H, s), 12.28 (1H, s); MS ES + 288.07, ES - 286.25.



N-(4-(4-(3-metil-1H-pirazol-5-ilamino)-6-cloropirimidin-2-iltio)-3-fluorofenil)ciclopropanocarboxamida

Uma solução de *N*-(3-fluoro-4-mercaptopfenil)ciclopropano-10 carboxamida (1.0 g, 4.8 mmol) e 6-cloro-*N*-(3-metil-1H-pirazol-5-il)-2-(metilsulfonil)pirimidin-4-amina (1.4 g, 4.8 mmol) em t-butanol (10 ml) foi aquecida até 70°C durante 18 h. A mistura de reação resfriada até temperatura ambiente foi então diluída com EtOAc (60 ml), lavada com solução sat. de NaHCO₃ (30 ml), salmoura (30 ml), secada (MgSO₄), filtrada e concentrada em vácuo. O produto bruto foi purificado através de cromatografia de flasheamento sobre sílica (EtOAc/petrol 20 a 60%) para dar o composto título na forma de um sólido branco (800mg, 40%). ES+ 419.



N-(4-((4-(3-metil-1H-pirazol-5-ylamino)-6-(3-ciclopropil-3-hidroxiazetidin-1-il)pirimidin-2-il)sulfanil)-3-fluorofenil)ciclopropanocarboxamida (I-11)

Uma mistura de *N*-(4-(4-(3-metil-1H-pirazol-5-ylamino)-6-cloropirimidin-2-iltio)-3-fluorofenil)ciclopropano-25 carboxamida (160 mg, 0.38 mmol), cloridrato de 3-

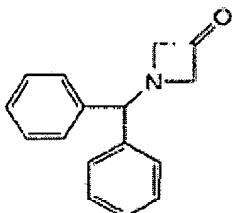
cicloropilazetidin-3-ol (70 mg, 0.49 mmol) e DIPEA (0.20 ml) em n-butanol (1.5 ml) foi aquecida em microondas a 130°C durante 1 h. A mistura de reação foi então resfriada até temperatura ambiente, diluída com EtOAc (20 ml), lavada com solução sat. de NaHCO₃ (10 ml), água (2 x 10 ml), salmoura (10 ml), secada (MgSO₄), filtrada e evaporada em vácuo. O produto bruto foi purificado através de cromatografia de flasheamento sobre sílica (EtOAc/Petrol 30 a 80 %) para dar o composto título na forma de um sólido branco (55 mg, 29%). ¹H NMR (DMSO-d₆) 0.33-0.36 (2 H, m), 0.42-0.48 (2 H, m), 0.82-0.86 (4 H, m), 1.21-1.24 (2 H, m), 1.85-1.89 (1 H, m), 2.08 (3 H, s), 2.10-2.15 (1 H, m), 3.66-3.75 (4 H, m), 5.42 (1 H, br s), 5.67 (1 H, 1 H, s), 5.8 (1 H, br s), 7.42 (1 H, d), 7.52-7.58 (1 H, m), 7.75 (1 H, d), 9.27 (1 H, s), 10.65 (1 H, s), 11.9 (1 H, br s). ES+ 496.90.

A Tabela 3 abaixo mostra dados para certos compostos representativos preparados de acordo com o método descrito no Esquema Geral (Método B) e no Exemplo 6. Os números do composto correspondem aos compostos mostrados na Tabela 1.

Tabela 3

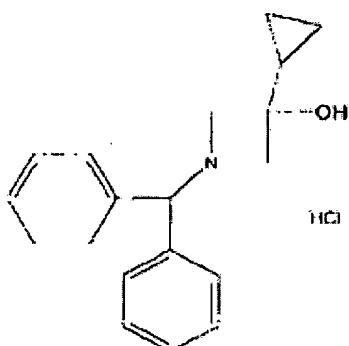
Composto No	M+1 (obs)	¹ H NMR	Rt (mins)
I-11	496.90	(DMSO-d ₆): 0.33-0.36 (2H,m), 0.42-0.48 (2H,m), 0.82-0.86 (4H,m), 1.21-1.24 (2H,m), 1.85-1.89 (1H,m), 2.08 (3H,s), 2.10-2.15 (1H,m), 3.66-3.75 (4H,m), 5.42 (1H,brs), 5.67 (1H,s), 5.8 (1H,brs), 7.42 (1H,d), 7.52-7.58 (1H,m), 7.75 (1H,d), 9.27 (1H,s), 10.65 (1H,s), 11.9 (1H,brs)	8.52
I-19	494.58	(DMSO-d ₆): 0.20 (2H, m), 0.42-0.51 (4H, m), 0.59 (2H,), 1.07 (1H, m), 1.40 (1H, m), 1.99 (3H, m), 2.24 (2H, m), 3.81-3.94 (4H, m), 5.36 (1H, s), 5.70 (1H, br s), 7.47 (2H, m), 7.72 (2H, m), 9.27 (1H, s), 9.99 (1H, s), 11.65 (1H, br s)	9.304

Exemplo 5



N-Benzidrilazetidin-3-ona

A uma pasta agitada de 1-(difenilmethyl)-3-hidroxiazetidina (30g, 0.126 mol) em trietilamina (63g, 5 0.628 mol) adicionou-se uma solução de complexo de trióxido de enxofre piridina (60g, 0.376 mol) em DMSO

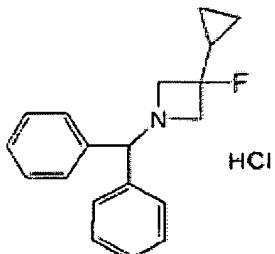


anidro (300 ml) gota a gota durante 30 minutos. A mistura resultante foi aquecida até 50°C durante 30 minutos. A mistura de reação foi então resfriada até temperatura 10 ambiente e despejada numa mistura de água (1L) e acetato de etila (800 ml). A camada orgânica foi separada e a camada aquosa extraída com acetato de etila (3 x 200 ml). As soluções orgânicas combinadas foram então lavadas com água (3 x 200 ml), e então saturadas com salmoura (200 ml), secadas (sulfato de magnésio), filtradas e concentradas. O resíduo foi purificado sobre sílica gel, eluindo com acetato de etila/petrol 5-10%; O produto foi obtido na forma de um sólido branco (26.2g, 86%); ¹H NMR CDCl₃ δ 4.07 (4H, s), 4.62 (1H, s), 7.20-7.39 (6H, m), 20 7.53 (4H, d).

Cloridrato de 1-Benzidril-3-ciclopropilazetidin-3-ol

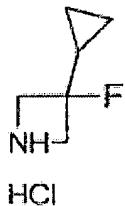
Uma solução de brometo de ciclopropilmagnésio em THF (0.5M, 600ml, 0.5 mol) foi esfriada até -78°C sob atmosfera de nitrogênio. A precipitação pareceu ocorrer

nesta temperatura. Uma solução de N-benzidrilazetidin-3-ona (24.2g, 0.102 mol) em THF anidro (130 ml) foi adicionada gota a gota durante 30 minutos. A mistura foi agitada por mais 90 minutos a -78°C após o que uma solução saturada de bicarbonato de sódio (400 ml) e água (100 ml) foram adicionadas lentamente. A mistura foi então diluída com acetato de etila (1L) e deixada aquecer até temperatura ambiente. A fase orgânica foi então separada (a camada aquosa era uma emulsão de sais de magnésio mas foi facilmente separada da camada orgânica) e a camada aquosa extraída com acetato de etila (3x300 ml). As soluções orgânicas combinadas foram então lavadas, saturadas com salmoura (300 ml), secadas (sulfato de magnésio), filtradas e concentradas para dar um óleo amarelo pálido. O produto bruto foi purificado sobre sílica gel, eluindo com acetato etila/petrol 20-30%. O álcool resultante (28,3g) foi dissolvido em éter (350 ml) e a solução resfriada até 0°C. Uma solução de HCl em éter (2M, 130 ml) foi então adicionada gota a gota durante 15 minutos. O sal de HCl precipitou da solução. A pasta resultante foi agitada a 0°C por mais 10 minutos e então filtrada. A torta de filtro foi lavada com éter (2x100 ml) e o sólido secado sob vácuo o que deu o produto na forma de um sólido branco (28.2g, 88%); ^1H NMR δ 0.31-0.50 (4H, m), 1.35 (0.3H, m), 0.51 (0.7H, m), 3.41-4.10 (5H, m), 5.88 (0.3H, d), 6.05 (0.7H, d), 6.35 (1H, brs), 7.30-7.50 (6H, m), 7.61-7.82 (4H, m); ES+ 280.71.



Cloridrato de 1-Benzidril-3-ciclopropil-3-fluoroazetidina
30 NaHCO₃ saturado (100 ml) foi adicionado a uma suspensão de cloridrato de 1-Benzidril-3-ciclopropilazetidin-3-ol

(7.78 g, 24.50 mmol) em acetato de etila (100 ml). A mistura foi transferida para um funil de separação e vigorosamente sacudida até que todo o sólido se dissolvesse. A camada orgânica foi separada e a camada aquosa extraída com acetato de etila (50 ml). Os extratos orgânicos combinados foram secados (Na_2SO_4) e concentrados em óleo. O óleo foi dissolvido em diclorometano (100 ml) e resfriado até -78°C. Trifluoreto de [bis(2-metoxietil)amino]enxofre (5.98 g, 27.05 mmol, 5.0 ml) foi adicionado gota a gota e a solução agitada durante 30 minutos a -78°C e então aquecido até 0°C e agitado por mais 1 hora. A reação foi rapidamente resfriada com NaHCO_3 sat. (50 ml) e salmoura (50 ml) e a camada aquosa extraída com diclorometano (50 ml). Os 10 extratos orgânicos combinados foram secados (Na_2SO_4) e concentrados para dar um óleo amarelo. O produto bruto foi purificado sobre sílica gel, eluindo com acetato de etila/petrol 5%. O álcool resultante foi dissolvido em éter (100 ml) e a solução resfriada até 0°C. Uma solução 15 de HCl em éter (2M, 25 ml) foi então adicionada gota a gota durante 5 minutos. O sal de HCl precipitou da solução. A pasta resultante foi agitada a 0°C por mais 10 minutos e então filtrada. A torta do filtro foi lavada com éter (20 ml) e o sólido secado sob vácuo o que deu o 20 produto na forma de um sólido branco (4.71 g, 61%). ^1H NMR $d_4\text{-MeOH}$ δ 0.30-0.52 (4H, m), 1.22 (1H, brs), 4.01-4.23 (4H, m), 5.50-5.60 (1H, brs), 7.13-7.46 (10H, m); 25 ES+ 282.

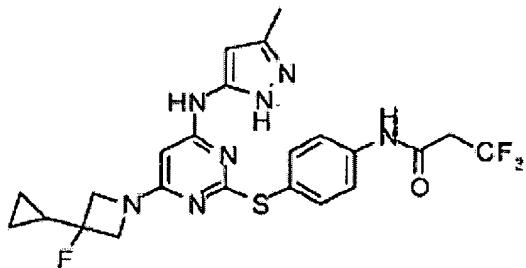


Cloridrato de 3-ciclopropil-3-fluoroazetidina

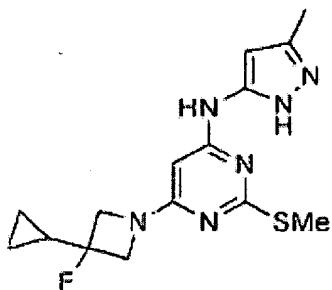
30 A paládio úmido a 10% sobre carbono (catalisador Degussa) sob nitrogênio adicionou-se etanol (100 ml). Uma solução de cloridrato de 1-Benzidril-3-ciclopropil-3-

fluoroazetidina (6.74 g, 21.23 mmol) em etanol (50 ml) foi adicionada ao catalisador e a mistura hidrogenada a 60 psi no aparelho de hidrogenação por agitação Parr durante 5 horas. A reação foi filtrada em placa de celite e 5 concentrada até se tornar um óleo. Éter (50 ml) foi adicionado e a mistura resfriada até 0°C e agitada até a formação de um precipitado. A suspensão foi filtrada e a torta do filtro lavada com éter (20 ml) e o sólido secado sob vácuo o que deu o produto na forma de um sólido 10 esbranquiçado (3.00 g, 93%). ^1H NMR $\text{d}_6\text{-DMSO}$ δ 0.52-0.56 (2H, m), 0.59-0.64 (2H, m), 1.35-1.40 (1H, m), 3.91-4.10 (4H, m), 4.01-4.23 (4H, m), 9.50 (1H, brs), 9.63 (1H, brs).

Exemplo 6



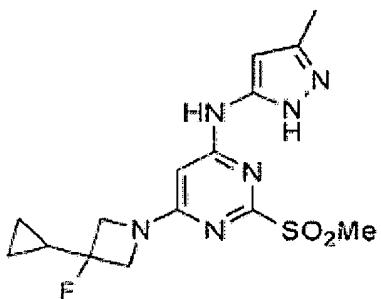
15 N -(4-(4-(3-metil-1H-pirazol-5-ilamino)-6-(3-ciclopropil-3-fluoroazetidin-1-il)pirimidin-2-iltio)fenil)-3,3,3-trifluoropropanamida (Composto I-14)



6-(3-ciclopropil-3-fluoroazetidin-1-il)-N-(3-metil-1H-pirazol-5-il)-2-(metiltio)pirimidin-4-amina

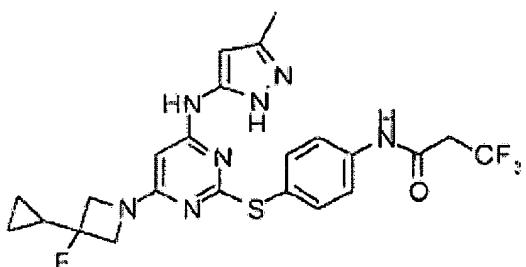
20 A uma mistura de 6-cloro-N-(3-metil-1H-pirazol-5-il)-2-(metiltio)pirimidin-4-amina (150 g, 0.58 mol), cloridrato de 3-ciclopropil-3-fluoroazetidina (132.2 g, 0.87 mol) adicionou-se diisopropiletilamina (208 g, 1.61 mol) e isopropanol (1.125 L) e então aqueceu-se até refluxo 25 durante 23 horas. A reação foi resfriada até obtenção de

uma solução levemente turva a 85°C e filtrada e a solução homogênea concentrada até um volume mínimo. EtOAc foi adicionado (1L) e concentrado até volume mínimo. EtOAc (1L) e H₂O (1L) foram adicionados e as camadas separadas (a camada orgânica começou a cristalizar o produto durante a extração). A camada aquosa foi também extraída com EtOAc (500 ml). Concentrado o primeiro extrato orgânico até secagem para dar um sólido branco. Hexano (750 ml) foi adicionado ao segundo extrato orgânico e a pasta agitada à temperatura ambiente, e então resfriada até 0°C durante 30 min. Filtrada e lavada com bastante heptano. A torta de filtro foi secada sob vácuo. A torta de filtro e o sólido branco da primeira extração foram combinados para dar 155,1 g do produto desejado. (155.1 g, 77 %). ¹H NMR (DMSO, 400 MHz) 0.44 (2H, m), 0.60 (2H, m), 1.38-1.43 (1H, m), 2.18 (3H, s), 2.42 (3H, s), 3.89-3.97 (4H, m), 5.92 (1H, br s), 6.04 (1H, br s), 9.23 (1H, s), 11.86 (1H, s). ES+ 335



6-(3-ciclopropil-3-fluoroazetidin-1-il)-N-(3-metil-1H-pirazol-5-il)-2-(metilsulfonil)pirimidin-4-amina
Uma solução de 6-(3-ciclopropil-3-fluoroazetidin-1-il)-N-(3-metil-1H-pirazol-5-il)-2-(metiltio)pirimidin-4-amina (130 g, 389 mmol) em MeOH (5.2 L) foi resfriada até 0 °C. Uma solução de Oxone (526g, 855 mmol) em H₂O (5.2 L) foi lentamente adicionada à pasta mantendo-se a temperatura abaixo de 5°C. Após adição a reação foi deixada aquecer até temperatura ambiente da noite para o dia. Uma solução de 10% de NaHSO₃ (325 ml) e uma solução a 10% de K₂CO₃ (2,6 L) foi então adicionada para neutralizar a mistura de reação, a solução filtrada e a torta de filtro lavada

com H₂O (3,3 L). O sólido foi transformado em pasta com H₂O (2,6 L), a solução filtrada e a torta de filtro lavada com H₂O (3,3L). O sólido foi secado sob vácuo (72.3 g, 51 %). ¹H NMR (DMSO): 0.47 (2H, m), 0.60 (2H, m), 1.43-1.46 (1H, m), 2.20 (3H, s), 3.25 (3H, s), 3.97-4.11 (4H, m), 5.93 (1H, br s), 6.47 (1H, br s). 9.88 (1H, s), 12.01 (1H, br s). ES+ 367



10 **N- (4- (4- (3-metil-1H-pirazol-5-ilamino)-6- (3-ciclopropil-3-fluoroazetidin-1-il)pirimidin-2-iltio)fenil)-3,3,3-trifluoropropanamida (Composto I-14)**

Uma pasta de 6-(3-ciclopropil-3-fluoroazetidin-1-il)-N-(3-metil-1H-pirazol-5-il)-2-(metilsulfonil)pirimidin-4-amina (61g, 170 mmol) e 3,3,3-trifluoro-N-(4-mercaptopfenil)propanamida (41 g, 175 mmol) em CH₃CN (1300 mL) foi aquecida até refluxo durante 1,5 horas. Durante esse período, a pasta transformou-se de fina e amarelada em espessa e de um branco brilhante. A mistura foi então resfriada até 0° C e agitada a esta temperatura durante 15 minutos. Filtrada e lavada com CH₃CN frio (650 ml). O sólido resultante foi secado durante 20 horas a 38°C sob vácuo doméstico. O sólido branco foi carregado para um reator apropriado com EtOAc (1300 ml) e NaHCO₃(sat) (1300 ml). A mistura foi agitada até que não houvesse mais nenhum sólido. Então, as camadas foram separadas e a camada aquosa lavada com EtOAc (390 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secadas sobre MgSO₄, filtradas, lavadas com EtOAc (130 ml) e concentradas até volume mínimo num evaporador rotativo. A mistura resultante foi recristalizada de EtOAc e hexano para dar o produto desejado na forma de um sólido branco ((56.2 g, 72%) ¹H NMR (MeOD, 400 MHz): 0.40-0.45 (2H, m), 0.60-0.65

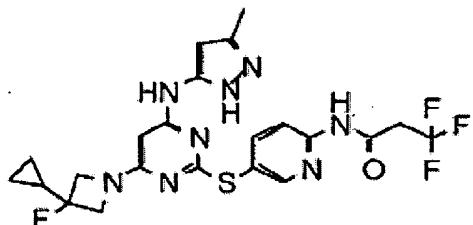
(2H, m), 1.3-1.4 (1H, m), 2.05 (2H, s), 3.25-3.40 (2H, m), 3.85-3.40 (4H, m), 5.40-5.50 (2H, m), 7.50-7.55 (2H, d), 7.65-7.70 (2H, d). ES+ 522.

A Tabela 4 abaixo mostra dados para certos compostos representativos de acordo com o método descrito no Esquema Geral (Método A) e no Exemplo 6. Os números do composto correspondem aos compostos mostrados na Tabela 1.

Tabela 4

Composto No.	M+1 (obs)	1H NMR	Rt (mins)
I-14	522.00	(MeOD): 0.40-0.45 (2H, m), 0.60-0.65 (2H, m), 1.3-1.4 (1H, m), 2.05 (2H, s), 3.25-3.40 (2H, m), 3.85-3.40 (4H, m), 5.40-5.50 (2H, m), 7.50-7.55 (2H, d), 7.65-7.70 (2H, d).	9.235
I-18	498.70	(DMSO-d6): 0.45-0.48 (2H, m), 0.6-0.63 (2H, m), 0.87-0.92 (4H, m), 1.45 (1H, brs), 1.82-1.85 (1H, m), 2.02 (3H, s), 3.8-3.95 (4H, m), 5.3 (1H, vbrs), 5.75 (1H, brs), 7.4 (1H, d), 7.52-7.55 (1H, m), 7.8 (1H, d), 9.4 (1H, brs), 10.7 (1H, brs), 11.7 (1H, brs)	9.2
I-20	516.60	(DMSO-d6): 0.22-0.25 (2H, m), 0.42-0.45 (2H, m), 1.20-1.26 (1H, m), 1.75-1.9 (5H, m), 2.6-2.7 (1H, m), 3.65-3.8 (4H, m), 5.1 (1H, brs), 5.4 (1H, vbrs), 7.3 (2H, d), 7.52 (2H, d), 9.1 (1H, brs), 10.4 (1H, s), 11.5 (1H, brs)	9.34

10 Exemplo 7

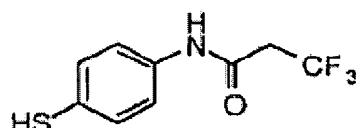


N-(5-(4-(3-metil-1*H*-pirazol-5-ilamino)-6-(3-ciclopropil-3-fluoroazetidin-1-il)pirimidin-2-iltio)piridin-2-il)-3,3,3-trifluoropropanamida (I-21)

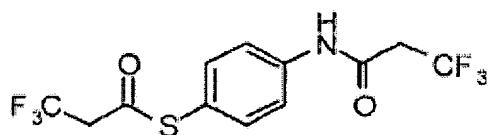
A uma solução de 2-(6-aminopiridin-3-iltio)-6-(3-ciclopropil-3-fluoroazetidin-1-il)-N-(3-metil-1H-pirazol-5-il)pirimidin-4-amina (300 mg, 0.7 mmol) e BOC₂O (220 mg, 1 mmol) em solução de hidróxido de sódio 4.5 M (0.470 ml) e DCM (10 ml) adicionou-se DMAP (5 mg). A solução resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 3 h e então lavada com solução de NaHCO₃ sat., salmoura, secada (MgSO₄), filtrada e evaporada em vácuo. O produto bruto foi purificado através de cromatografia de flasheamento ((12 g SiO₂, EtOAc/petrol) para dar o intermediário desejado (60 mg, 17%) ES+ 513. Esse intermediário (60 mg, 0.12 mmol) foi dissolvido em piridina (2 ml) e cloreto de 3,3,3-trifluoropropanoíla (34 mg, 0.23 mmol) foi adicionado gota a gota e então agitado à temperatura ambiente durante 30 minutos. Mais 3 gotas de cloreto de 3,3,3-trifluoropropanoíla foram adicionados para dar completa conversão em produto após agitação por mais 30 min. A mistura de reação foi então concentrada em vácuo, o resíduo redissolvido em DCM (2ml)/TFA (1ml) e agitada à temperatura ambiente durante 2h. A mistura foi concentrada em vácuo e o produto bruto purificado através de LCMS e liofilizado (MeCN/H₂O/TFA) para dar o composto título na forma de um sólido e sal de TFA (25 mg, 33%). ¹H NMR (DMSO-d6) 0.20-0.21 (2 H, m), 0.36-0.38 (2 H, m), 1.15-1.20 (1 H, m), 1.77 (3 H, s), 3.40-3.50 (2 H, m), 3.57-3.72 (4 H, m), 5.10-5.15 (12 H, s), 7.75-7.80 (1 H, d), 7.92-7.97 (1 H, d), 8.22 (1 H, s), 9.20 (1 H, s), 10.91 (1 H, s). ES+ 523.

Os experimentos mostrados abaixo descrevem a preparação de alguns dos compostos utilizados nos exemplos aqui descritos.

Composto A



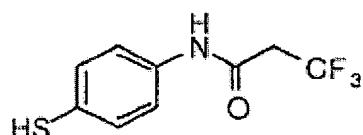
3,3,3-trifluoro-N-(4-mercaptopfenil)propanamida



S-4-(3,3,3-trifluoropropanamido)fenil trifluoropropanoato

3,3,3-

4-Aminotiofenol foi derretido e carregado num frasco. 5 EtOAc (1950 ml) degasificado foi adicionado. Uma solução de K₂CO₃ (92g, 670 mmol) em H₂O degasificado (1300 vol) foi adicionada. A solução foi resfriada até 0° C e o cloreto de 3,3,3-trifluoropropanoíla (55.2 g, 600 mmol) foi lentamente adicionado para manter a temperatura abaixo de 10°C). A reação foi aquecida até temperatura ambiente. A camada orgânica foi separada e lavada com salmoura (1300 ml) e então concentrada num evaporador rotativo. O sólido foi transformado em pasta em heptano/EtOAc (390 ml/390 ml) durante 30 minutos. Heptano (780 ml) foi adicionado e a pasta resfriada até 0°C durante 30 minutos. A pasta foi filtrada. A torta do filtro foi secada sob vácuo para dar o composto desejado (51.3 g, 87.2%).



3,3,3-trifluoro-N-(4-mercaptophenyl)propanamida

20 3,3,3-trifluoropropanoato de S-4-(3,3,3-trifluoropropanamido)fenila (44.8 g, 189 mmol) e EtOH (70 mL) foram carregados em um frasco. HCl concentrado (22,5 ml) foi lentamente adicionado para manter a temperatura abaixo de 30°C. A reação foi então aquecida até 50° C durante 17,5 horas. A mistura de reação foi reduzida para 41 ml através de destilação a vácuo a 50° C. A reação foi resfriada até temperatura ambiente e H₂O (51 ml) foi acrescentado. A pasta foi filtrada e a torta de filtro lavada com H₂O (3 x 35 ml). O sólido foi secado sob vácuo para produzir o composto desejado (19.9 g, 58%).

Exemplo 9 : Ensaio de Inibição de Aurora-2 (Aurora A)

Os compostos foram identificados quanto à sua capacidade de inibir a Aurora-2 utilizando um ensaio padrão de enzima acoplada (Fox et al., Protein Sci., (1998) 7, 2249). Os ensaios foram conduzidos numa mistura de 100mM Hepes (pH 7,5), 10mM MgCl₂, 1mM DTT, 25mM NaCl, 2.5mM fosfoenolpiruvato, 300 μM NADH, 30 μg/ml piruvato quinase e 10 μg/ml lactato dehidrogenase. As concentrações finais de substrato no ensaio foram de 400μM ATP (Sigma Chemicals) e 570μM peptídeo (Kemptide, American Peptide, Sunnivale, CA). Os ensaios foram conduzidos a 30°C e na presença de 40nM Aurora-2.

Uma solução tampão de ensaio concentrada foi preparada contendo todos os reagentes relacionados acima, com exceção da Aurora-2 e do composto de teste de interesse. 5 55 μl da solução concentrada foram colocados numa placa de 96 cavidades seguido de adição de 2 μl de diluições seriais contendo DMSO concentrado do composto de teste (tipicamente iniciando a partir de uma concentração final de 7,5 μM). A placa foi pré-incubada por 10 minutos a 10 30°C e a reação iniciada mediante adição de 10 μl de Aurora-2. As taxas iniciais de reação foram determinadas com um leitor de placas Molecular Devices SpectraMax Plus por um período de 10 minutos. Os dados de IC50 e Ki foram 15 calculados a partir de uma análise de regressão não-linear utilizando o pacote de software Prism (GrafPad Prism versão 3.0cx para Macintosh, GrafPad Software, San Diego California, USA).

Exemplo 10 : Ensaio de Inibição de Aurora-1 (Aurora B) (radiométrico)

30 Uma solução tampão de ensaio foi preparada, consistindo de 25 mM HEPES (pH 7,5), 10 mM MgCl₂, 0,1% BSA e 10% glicerol. Uma solução 22 nM de Aurora-B, também contendo 1,7 mM DTT e 1,5 mM Kemptide (LRRASLG) foi preparada em tampão de ensaio. A 22 μL de solução de Aurora-B, numa 35 placa de 96 cavidades, adicionou-se 2μl de uma solução concentrada de composto em DMSO e a mistura deixada equilibrar durante 10 minutos a 25°C. A reação enzimática

foi iniciada mediante adição de 16 μl solução concentrada [γ - ^{33}P] -ATP (~20 nCi/ μl) preparada em tampão de ensaio, até uma concentração final de ensaio de 800 μM . A reação foi interrompida após 3 horas mediante adição de 16 μL 5 500 mM ácido fosfórico e os níveis de incorporação de ^{33}P no substrato peptídico foram determinados através do método a seguir descrito.

Uma placa de fosfocelulose de 96 cavidades (Millipore, Cat. No.MAPHNOB50) foi pré-tratada com 100 μL de 100 mM 10 ácido fosfórico antes da adição da mistura de reação enzimática (40 μl). A solução foi deixada impregnar na membrana de fosfocelulose durante 30 minutos e a placa posteriormente lavada quatro vezes com 200 μL de 100 mM ácido fosfórico. A cada cavidade da placa seca adicionou- 15 se 30 μL de coquetel de cintilação líquida Optiphase "Supermix" (Perkin Elmer) antes da contagem de cintilação (Contador de Cintilação Líquida 1450 Microbeta, Wallac). Os níveis de radioatividade de referência não catalisada com enzima foram determinados mediante adição de 16 μl de 20 500 mM ácido fosfórico às cavidades de controle, contendo todos os componentes de ensaio (que atuam para desnaturação da enzima), antes da adição da solução [γ - ^{33}P] -ATP. Os níveis de incorporação de ^{33}P catalisada com enzima foram calculados subtraindo-se as contagens médias 25 de referência daquelas medidas em cada concentração de inibidor. Para cada determinação de K_i , 8 pontos de dados, tipicamente abrangendo a faixa de concentração 0 - 10 μM do composto, foram obtidos em duplicata (concentrados DMSO foram preparados a partir de um 30 concentrado de composto de 10 mM com diluições seriais posteriores de 1:2,5). Valores K_i foram calculados a partir de dados de taxa inicial através de regressão não linear utilizando o pacote de software Prism (Prism 3,0, Graphpad Software, San Diego, CA).

35 Exemplo 11: Ensaio de Inibição de Itk: Ensaio baseado em Radioatividade

Os compostos da presente invenção foram avaliados como

inibidores de Itk quinase humana utilizando um ensaio baseado em radioatividade.

Os ensaios foram conduzidos numa mistura de 20 mM MOPS (pH 7,0), 10 mM MgCl₂, 0,1% BSA e 1mM DPT. As concentrações finais de substrato no ensaio foram de 7,5 μM [γ -³³P]ATP (400 μCi ³³P ATP/μmol ATP, Amersham Pharmacia Biotech/Sigma Chemicals) e 3mM peptídeo (proteína SAM68 Δ332-443). Os ensaios foram conduzidos a 25°C na presença de 509 nm Itk. Uma solução tampão de ensaio concentrada foi preparada contendo todos os reagentes relacionados acima, com exceção de ATP e do composto de teste de interesse. 50 μl da solução concentrada foram colocados numa placa de 96 cavidades seguido da adição de 2μl de concentrado de DMSO contendo diluições seriais do composto de teste (tipicamente iniciando a partir de uma concentração final de 50 μM com diluições seriais duplas) em duplicata (concentração final de DMSO 2%). A placa foi pré-incubada durante 10 minutos a 25°C e a reação iniciada mediante adição de 50 μl [γ -³³P]ATP (concentração final 7,5 μM).

A reação foi interrompida após 10 minutos mediante adição de 100 μL 0,2M ácido fosfórico + 0,01% TWEEN 20. Uma placa de 96 cavidades com filtro de fosfocelulose "multiscreen" (Millipore, Cat. No. MAPHNOB50) foi pré-tratada com 100 μL 0,2M ácido fosfórico + 0,01% TWEEN 20 antes da adição de 170 μL da mistura de interrupção do ensaio. A placa foi lavada com 4 x 200 μL 0,2M ácido fosfórico + 0,01% TWEEN 20. Após secagem, 30 μL de coquetel de cintilação líquida Optiphase "Supermix" (Perkin Elmer) foi adicionado à placa antes da contagem de cintilação (Contador de Cintilação Líquida 1450 Microbeta, Wallac).

Os dados Ki(app) foram calculados a partir da análise de regressão não-linear dos dados da taxa inicial utilizando o pacote de software Prism (GraphPad Prism versão 3,0cx para Macintosh, GraphPad Software, San Diego, California, USA).

Exemplo 12 : Ensaio de Inibição de JAK3

Os compostos foram identificados quanto à sua capacidade de inibir JAK utilizando o ensaio mostrado abaixo. As reações foram conduzidas num tampão de quinase contendo

5 100 mM HEPES (pH 7,4), 1 mM DTT, 10 mg MgCl₂, 25 mM NaCl, e 0,01% BSA. As concentrações de substrato no ensaio foram de 5 μM ATP (200 uCi/μmol ATP) e 1 μM poli(Flu)₄Tyr. As reações foram executadas a 25°C e 1 nM JAK 3.

10 A cada cavidade de uma placa de policarbonato contendo 96 cavidades, adicionou-se 1,5 μL de um inibidor JAK3 candidato juntamente com 50 μl de tampão quinase contendo 2 μM poli(Glu)₄Tyr e 10 μM ATP que foi então misturado e 50μl de tampão quinase contendo 2 nM enzima JAK 3 adicionados para dar início à reação. Após 20 minutos à temperatura ambiente (25°C), a reação foi interrompida com 50 μL de ácido tricloroacético a 20% (TCA) que também continha 0,4 mM ATP. Todos os conteúdos de cada cavidade foram então transferidos para uma placa de filtro em 15 fibra de vidro de 96 cavidades utilizando um Coletor de Células TomTek. Após lavagem, 60 μl de fluido de cintilação foram adicionados e a incorporação de ³³P detectada num contador Perkin Elmer TopCount.

Exemplo 13 : Ensaio de Inibição de JAK2

25 Os ensaios são conduzidos conforme descrito acima no Exemplo 13, com exceção de que a enzima JAK-2 foi utilizada, a concentração final de poli(Glu)₄Tyr foi de 15 μM e a concentração final de ATP foi de 12 μM.

Exemplo 14 : Ensaio de Inibição de FLT-3

30 Os compostos foram identificados quanto à sua capacidade de inibir a atividade de FLT-3 utilizando um ensaio de ligação a filtro radiométrico. Este ensaio monitora a incorporação de 33P por um substrato poli(Glu,Tyr) 4:1 (pE4Y). As reações foram executadas numa solução contendo 35 100 mM HEPES (pH 7,5), 10 mM MgCl₂, 25 mM NaCl, 1 mM DTT, 0,01% BSA e 2,5% DMSO. As concentrações finais de substrato no ensaio foram de 90 μM ATP e 0,5 mg/ml pE4Y

(ambos da Sigma Chemicals, St. Louis, MO). A concentração final de um composto da presente invenção era geralmente entre 0,01 e 5 μ M. Tipicamente, uma titulação de 12 pontos foi conduzida preparando-se diluições seriais de concentrado de DMSO 10 mM do composto de teste. As reações foram conduzidas à temperatura ambiente.

5 Duas soluções de ensaio foram preparadas. A solução 1 contém 100 mM HEPES (pH 7,5), 10 mM MgCl₂, 25 mM NaCl, 1 mg/ml pE4Y e 180 mM ATP (contendo 0,3 mCi de [γ -33^P]ATP para cada reação). A solução 2 contém 100 mM HEPES (pH 10 7,5), 10 mM MgCl₂, 25 mM NaCl, 2 mM DTT, 0,02% BSA e 3 nM FLT-3. O ensaio foi conduzido numa placa de 96 cavidades misturando-se 50 μ l cada da Solução 1 e 2,5 ml dos compostos da presente invenção. A reação foi iniciada com 15 a Solução 2. Após incubação durante 20 minutos à temperatura ambiente, a reação foi interrompida com 50 μ l de TCA 20% contendo 0,4 mM de ATP. Todo o volume de reação foi então transferido para uma placa de filtro e lavado com TCA 5% através de um Coletor 9600 da TOMTEC 20 (Hamden, CT). A quantidade de incorporação de ³³P pelo pE4Y foi analisada através de um Contador de Cintilação em Microplaca Packard Top Count (Meriden, CT). Os dados foram ajustados utilizando o software Prism para obter um IC50 ou Ki.

25 Exemplo 15 : Ensaio de Estabilidade Microssomal

A estabilidade microssomal foi monitorada através da geração de perfis de depleção-tempo em microssomos de uma categoria de espécies (camundongo CD-1 macho, rato Sprague-Dawley, cão Beagle, macaco cinomolgo, e humano de sexo misto dividido em grupos).

As soluções de composto reforçadas foram preparadas diluindo-se a solução concentrada de composto em DMSO (tipicamente 10 mM) para dar uma solução em acetonitrila (0,5 mM). O composto (para dar uma concentração final de 35 5 μ M) foi incubado com uma mistura final de reação (1000 μ l) consistindo de proteína de microssomo hepático (1 mg/ml) e um β -nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato,

sistema regenerador (NADPH) na forma reduzida (RGS) [consistindo de 2mM β -nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP), 20,5 mM ácido isocítrico, 0,5 U de isocitrato dehidrogenase/ml, 30 mM cloreto de magnésio, e 0,1 M tampão fosfato (PB) pH 7,4] na presença de 0,1 M PB (pH 7,4).

A reação foi iniciada mediante adição (250 μ l) do RGS pré-incubado à mistura pré-incubada de microssomo /VRT/PB (a pré-incubação em ambos os casos foi realizada por 10 minutos a 37°C). As amostras foram incubadas em frascos Eppendorf (1,5 ml) num agitador aquecedor (DPC Micromix 5 (ajustes; forma 20, amplitude 4) modificado para ser aquecido, até 37°C, com aquecedores de dupla placa fixados à plataforma e controlados por um aquecedor manual Packard) ligado a um manipulador de líquidos automatizado Multiprobe II HT Ex. O manipulador de líquidos foi programado (software WinPREP) para amostrar a mistura de incubação microssomal após 0, 2, 10, 30 e 60 minutos de incubação e transferir uma alíquota (100 μ l) para um bloco interruptor (bloco de 96 cavidades) contendo 100 μ l de metanol resfriado. A % orgânicos na mistura de interrupção foi otimizada para a análise mediante adição de volumes apropriados de aquoso/orgânico (tipicamente 100 μ L de 50:50 metanol:água).

Antes da análise o bloco de interrupção foi colocado sobre um agitador (DPC Micromix 5; 10 min, forma 20, amplitude 5) para precipitar as proteínas. O bloco foi então centrifugado (Jouan GR412; 2000 rpm, 15 min, 4°C). Uma alíquota de amostra (200 μ l) foi então transferida para um bloco de análise e o bloco centrifugado novamente (Jouan GR412; 2000 rpm, 5 min, 4°C) antes de ser enviado para análise. Os perfis de depleção foram determinados monitorando-se o desaparecimento de VRT através de cromatografia líquida-espectrometria de massa seqüencial (LC-MS/MS). As amostras foram injetadas (20 μ l; sistema cromatográfico líquido Agilent 1100 equipado com autoamostrador) sobre uma coluna analítica. A fase móvel

consistiu de água + 0,05% (v/v) ácido fórmico (A) e metanol + 0,05% (v/v) ácido fórmico (B).

A execução de um método de gradiente otimizado para o composto de interesse realizou a eluição do composto da coluna analítica: o tempo total de operação foi de 6 minutos com uma taxa de escoamento de 0,35 ml/min. Todo o efluente da coluna ingressou na fonte de ionização de eletropulverização (modo positivo) de um espectrômetro de massa seqüencial Micromass Quattro LC entre 0,5 e 5,9 min da operação. A espectrometria de massa foi otimizada para o composto de interesse. Todas as incubações foram conduzidas em duplicata e os resultados expressados como % remanescente original a 30 minutos ou 60 minutos em relação à amostra a 0 minuto.

15 Exemplo 16 : Análise de proliferação e viabilidade celular

Os compostos foram identificados quanto à sua capacidade de inibir a proliferação celular e seus efeitos sobre a viabilidade celular utilizando células de Colo205 obtidas de ECACC e utilizando o ensaio mostrado abaixo.

As células Colo205 foram inoculadas em placas de 96 cavidades e o composto serialmente diluído adicionado às cavidades em duplicata. Os grupos de controle incluíram células não tratadas, o diluente do composto (0,1% DMSO isoladamente) e o meio de cultura sem células. As células foram então incubadas durante 72 ou 96 horas a 37°C numa atmosfera de 5% CO₂/95% umidade.

Para medir a proliferação, 3 horas antes do final do experimento, 0,5 µCi de ³H timidina foi adicionado a cada cavidade. As células foram então coletadas e a radioatividade incorporada contada num beta-contador de microplaca Wallac. A viabilidade celular foi avaliada utilizando Promega CellTiter 96AQ para medir a conversão de MTS. As curvas de resposta à dose foram calculadas utilizando software Prism 3,0 (GraphPad) ou SoftMax Pro 4.3.1 LS (Molecular Devices).

Exemplo 17: Ensaio de Inibição de Atividade de Abl

Quinase e Determinação da Constante de Inibição Ki

Os compostos foram identificados quanto à sua capacidade de inibir a atividade de Abl quinase truncada no terminal N (Δ 27) utilizando um sistema padrão de enzima acoplada

5 (Fox et al., Protein Sci., 7, p.2249 (1998)). As reações foram conduzidas numa solução contendo 100 mM HEPES (pH 7,5), 10 mg MgCl₂, 25 mM NaCl, 300 μ M NADH, 1 mM DTT e 3% DMSO. As concentrações finais de substrato no ensaio foram de 110 μ M ATP (Sigma Chemicals, St Louis, MO) e 70 μ M peptídeo (EAIYAAPFAKKK, American Peptide, Sunnyvale, CA). As reações foram executadas a 30°C e 21 nM Ab quinase. As concentrações finais dos componentes do sistema de enzima acoplada foram de 2,5 mM fosfoenolpiruvato, 200 μ M NADH, 60 μ g/ml piruvato quinase 10 e 20 μ g/ml lactato dehidrogenase.

15

Uma solução tampão de ensaio concentrada foi preparada contendo todos os reagentes listados acima com exceção de ATP e do composto de teste de interesse. A solução tampão de ensaio concentrada (60 μ l) foi incubada numa 20 placa de 96 cavidades com 2 μ l do composto de teste de interesse a concentrações finais tipicamente estendendo-se de 0,002 μ M a 30 μ M a 30°C durante 10 minutos. Tipicamente, uma titulação de 12 pontos foi preparada através de diluições seriais (de concentrados de composto 25 de 1mM) com DMSO dos compostos de teste em placas filhas.

A reação foi iniciada mediante adição de 5 μ l de ATP (concentração final de 110 μ M). As taxas de reação foram obtidas utilizando um leitor de placa Spectramax da Molecular Devices (Sunnyvale, CA) durante 10 minutos a 30°C. Os valores Ki foram determinados com base nos dados da taxa residual como uma função de concentração de inibidor utilizando regressão não linear (Prism 3.0, Software Graphpad, San Diego, CA).

O composto 14 demonstrou inibir a Abl quinase.

35 Exemplo 18: Ensaio de Inibição da Atividade da Abl Quinase Mutante (T315I) e Determinação da Constante de Inibição IC50

Os compostos foram identificados quanto à sua capacidade de inibir a forma mutante T315I de Abl humana em Soluções de Sinalização Celular Upstate (Dundee, UK). Num volume final de reação de 25 μ l, a mutante T315I de Abl humana (5-10 mU) foi incubada com 8 mM MOPS pH 7,0, 0,2 mM EDTA, 50 μ M EAIYAAPFAKKK, 10 mM Acetato Mg, [γ -³³P-ATP] (atividade específica aprox. 500 cpm/pmol, 10 mM concentração final do ensaio) e o composto de teste de interesse em concentrações finais acima da faixa de 0-10 μ nM. A reação foi iniciada mediante adição da mistura de MgTAP. Após incubação durante 40 minutos à temperatura ambiente, a reação foi interrompida mediante adição de 5 μ l de uma solução de ácido fosfórico a 3%. 10 μ l da reação foi então borrada sobre uma placa de filtro e lavada três vezes durante 5 minutos em 75 mM ácido fosfórico e uma vez em metanol antes da secagem e contagem de cintilação. Os valores de inibição IC₅₀ foram determinados com análise de regressão não-linear das atividades enzimáticas residuais como uma função da concentração do inibidor (Prism 3.0, GraphPad Software, San Diego, CA).

Exemplo 19: Ensaio de Inibição de Plk4

Os Compostos foram identificados quanto à sua capacidade de inibir Plk4 utilizando um ensaio de incorporação radioativo-fosfato. Os ensaios foram conduzidos numa mistura de 8mM MOPS (pH 7,5), 10 mM MgCl₂, BSA 1% e 2 mM DTT. As concentrações do substrato final foram de 15 μ M [γ -³³P]ATP (227mCi 33P ATP/ mmol ATP, Amersham Farmacia Biotech/Sigma Chemicals) e 300 μ M peptídeo (KKKMDATFADQ). Os ensaios foram conduzidos a 25°C na presença de 25 nM Plk4. Uma solução tampão de ensaio concentrada foi preparada contendo todos os reagentes listados acima. 30 μ l da solução concentrada foram colocados numa placa de 96 cavidades seguido de adição de 2 μ l de DMSO concentrado contendo diluições seriais do composto de teste (tipicamente iniciando a partir de uma concentração final de 10 μ M com diluições seriais duplas) em duplicada

(concentração final DMSO 5%). A placa foi pré-incubada durante 10 minutos a 25°C e a reação iniciada mediante adição de 8 µL [γ -33P]ATP (concentração final 15µM).

A reação foi interrompida após 180 minutos mediante adição de 100 µL 0,15 M ácido fosfórico. Uma placa de 96 cavidades com filtro de fosfocelulose (Millipore, cat. No. MAPHNOB50) foi pré-tratada com 100 µL 0,2M ácido fosfórico antes da adição de 125 µL da mistura de ensaio interrompida. A placa foi lavada com 4 x 200 µL 0,2M ácido fosfórico. Após secagem, 100µl de coquetel de cintilação líquida Optiphase "Supermix" (Perkin Elmer) foram adicionados à cavidade antes da contagem de cintilação (Contador de Cintilação Líquida 1450 Microbeta, Wallac). Após remover os valores médios prévios para todos os pontos de dados, os dados Ki(app) foram calculados a partir da análise de regressão não-linear dos dados da taxa inicial utilizando o pacote de software Prism (GrafPad Prism versão 3.0cx para Macintosh, GrafPad Software, San Diego California, USA).

Exemplo 20 - Ensaio de Inibição de FGFR1, MLK1, Tie2, e TrkA

O(s) composto(s) foram identificados quanto à sua capacidade de inibir Arg (Abl-2), FGFR1, MLK1, Tie2 e TrkA utilizando métodos de identificação conhecidos pelo habilitado na técnica. Todas as enzimas acima citadas foram identificadas com concentrações ATP em ou próximas do K_m para ATP.

A Tabela 5 abaixo mostra os valores IC50 obtidos no Exemplo 20.

Tabela 5

Composto No.	Arg IC50 (uM)	FGFR1 IC50 (uM)	MLK1 IC50 (uM)	Tie2 IC50 (uM)	TrkA IC50 (uM)
I-14	0.014	0.121	0.027	0.089	0.018
I-17	0.21	0.088	-	-	-
I-18	0.053	0.022	-	-	-
I-19	0.13	0.035	-	-	-

A Tabela 6 abaixo mostra os valores Ki obtidos no Exemplo 20:

Tabela 6

Composto No.	Arg IC50 (uM)	FGFR1 IC50 (uM)	MLK1 IC50 (uM)	Tie2 IC50 (uM)	TrkA IC50 (uM)
I-14	0.0033	0.065	0.014	0.047	0.005

A Tabela 7 abaixo mostra os dados dos Exemplos 9, 10 e 16 descritos acima.

Tabela 7

Composto No.	Aurora A Ki (uM)	Aurora B Ki (uM)	Incorporação Colo205 inib.3H-Timidina após 72 horas IC50 (uM)	Incorporação Colo205 inib.3H-Timidina após 96 horas IC50 (uM)
I-1	0.00040	0.007	-	0.047
I-2	0.00039	0.0076	0.026	0.026
I-3	0.00067	0.0065	0.002	0.004
I-4	0.0017	0.015	-	0.092
I-5	0.0012	0.014	-	0.033
I-6	0.00077	0.0062	-	0.024
I-7	0.00036	<0.006	-	0.022
I-8	0.00087	0.0071	0.04	0.033
I-9	0.00043	<0.006	-	0.016
I-10	0.00042	0.007	-	0.042
I-11	0.00041	0.009	-	0.028
I-12	0.00035	0.003	0.019	-
I-13	0.0011	0.022	0.072	0.039
I-14	0.00035	0.0068	0.006	0.006
I-15	0.00040	0.0096	0.026	-
I-16	0.0010	0.024	0.051	-
I-17	0.00062	0.012	0.026	0.019
I-18	0.00035	0.018	0.027	-
I-19	0.00044	0.021	0.05	-
I-20	0.00077	0.018	0.012	-
I-21	0.00044	0.0095	0.02	-

A Tabela 8 abaixo mostra dados dos Exemplos 12-14 e 17-

5 18.

Composto No.	FLT-3 Ki (uM)	JAK-2 Ki (uM)	JAK-3 Ki (uM)	Abl (T315I) Ki (uM)	Abl (selvagem) Ki (uM)
I-1	-	-	-	0.43	-
I-2	0.036	0.026	0.16	-	0.064
I-3	0.026	0.034	0.15	-	0.030
I-4	-	-	-	-	-
I-5	0.021	0.026	0.1	-	-
I-6	0.048	0.044	0.19	-	-
I-7	0.023	0.023	0.037	-	-
I-8	0.028	0.041	0.14	-	0.030
I-9	0.11	0.022	0.15	-	-
I-10	0.0025	0.054	0.051	-	-
I-11	0.02	0.015	0.056	-	-

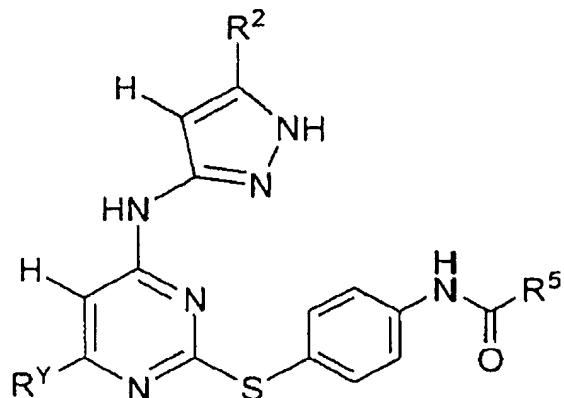


I-12	0.015	0.0029	0.028	-	-
I-13	0.043	0.11	0.29	0.21	0.088
I-14	0.065	0.011	0.077	0.033	0.023
I-15	-	-	-	0.2	0.057
I-16	-	-	-	0.18	0.17
I-17	-	-	-	0.053	0.022
I-18	0.16	0.36	0.22	-	-
I-19	0.14	0.13	0.62	-	-
I-20	0.072	0.051	0.11	-	-
I-21	0.12	0.028	0.1	-	-

Embora diversas concretizações da presente invenção tenham sido descritas, é evidente que os exemplos básicos podem ser alterados para prover outras concretizações que utilizem ou abranjam os compostos, métodos, e processos 5 da presente invenção. Portanto, será apreciado que o escopo da presente invenção seja definido pelas reivindicações em anexo.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de apresentar a seguinte fórmula ii-d:

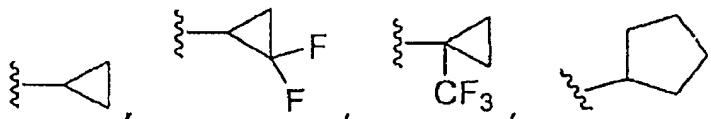


ii-d

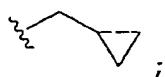
5 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, onde:

R^2 é alquila C_{1-3} ou ciclopropila;

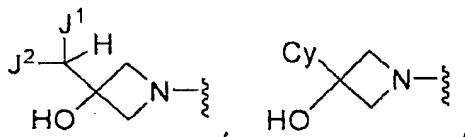
R^5 é CH_2CH_3 , CH_2CF_3 , $CH_2CH_2CF_3$,



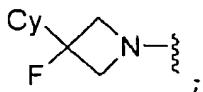
ou



R^Y é



10 ou

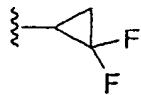


J^1 é H ou CH_3 ;

J^2 é alquila C_{1-4} ; e

Cy é cicloalquila C_{3-5} .

2. Composto, de acordo com a reivindicação 1,
15 caracterizado pelo fato de R^5 ser selecionado de CH_2CF_3 ,
 $CH_2CH_2CF_3$,



ou



3. Composto, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de R^5 ser selecionado de CH_2CF_3 ou



4. Composto, de acordo com a reivindicação 3,
5 caracterizado pelo fato de R^5 ser CH_2CF_3 .

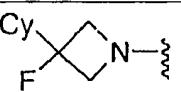
5. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1-4, caracterizado pelo fato de R^Y ser



ou



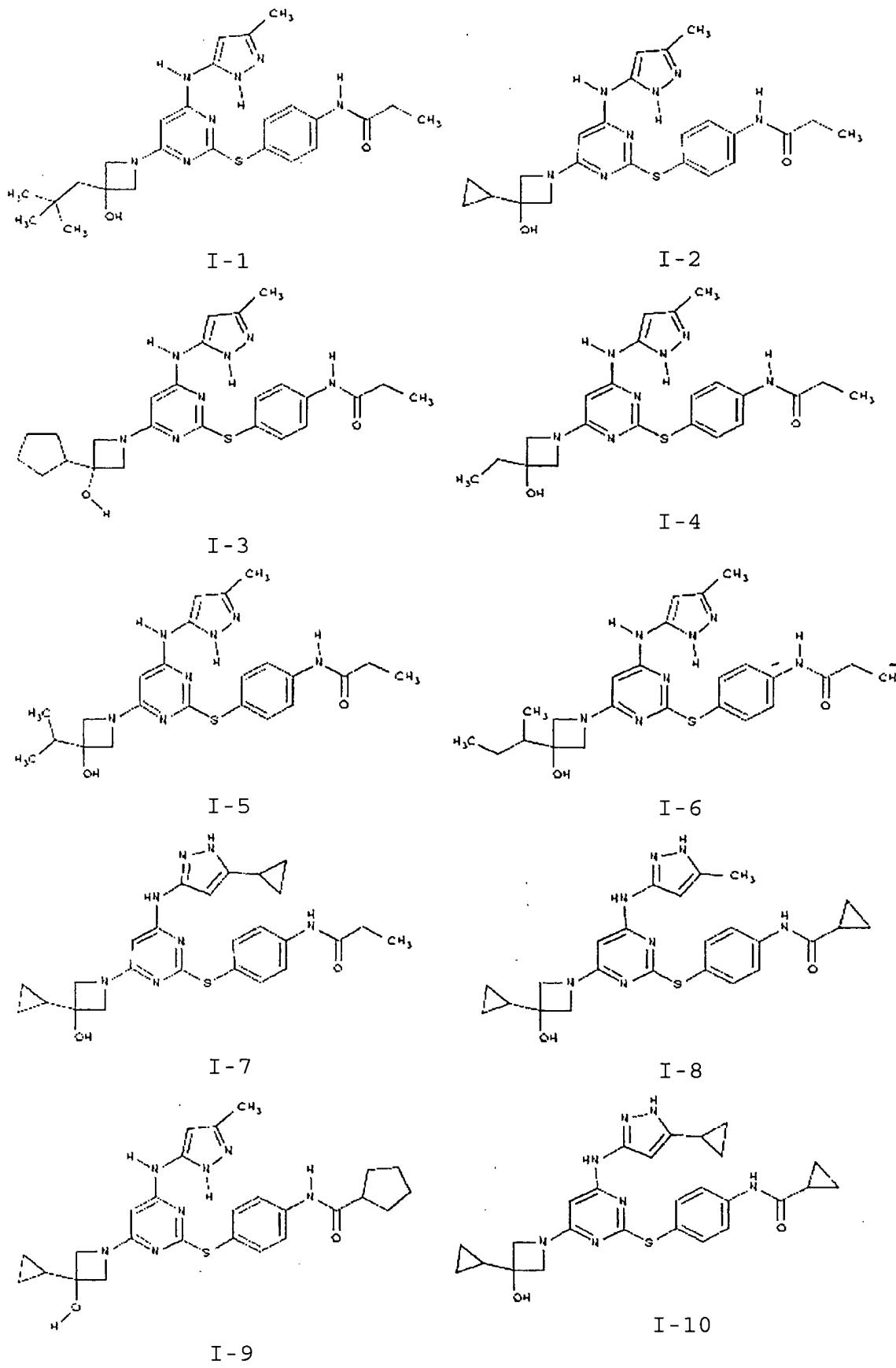
6. Composto, de acordo com a reivindicação 5,
10 caracterizado pelo fato de R^Y ser

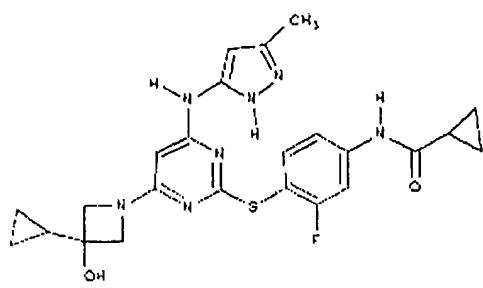


7. Composto, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de Cy ser ciclopropila.

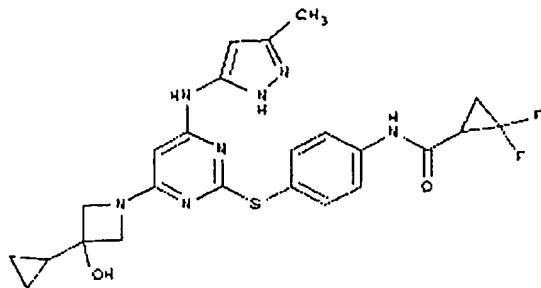
8. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-7, caracterizado pelo fato de R^2 ser
15 metila.

9. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser selecionado das seguintes fórmulas:

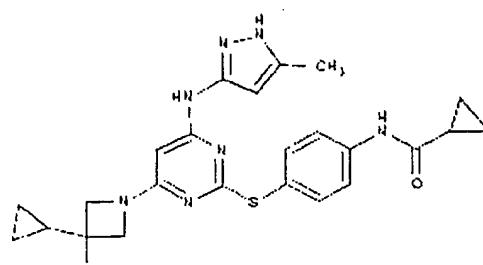




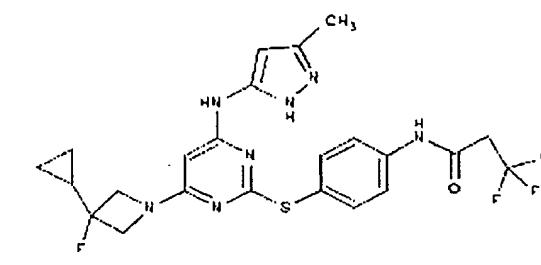
I-11



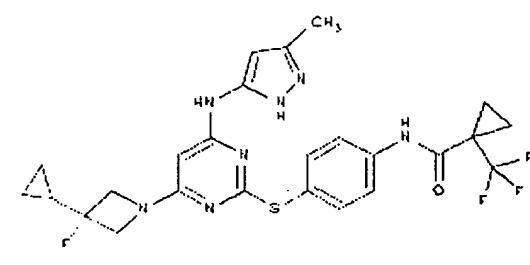
I-12



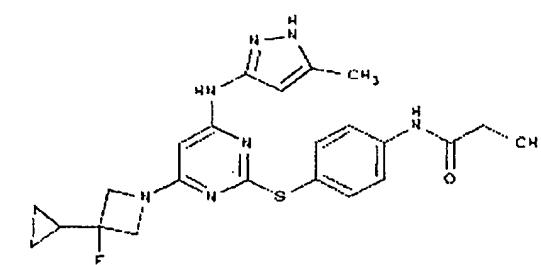
I-13



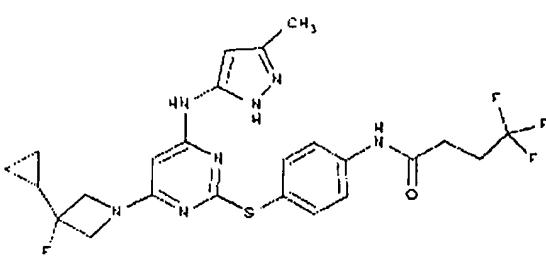
I-14



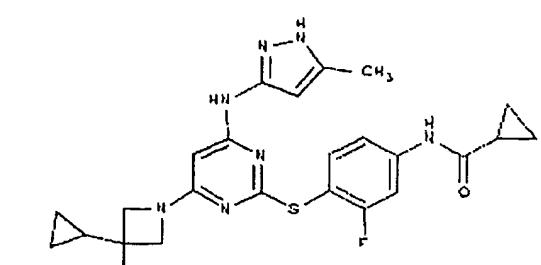
I-15



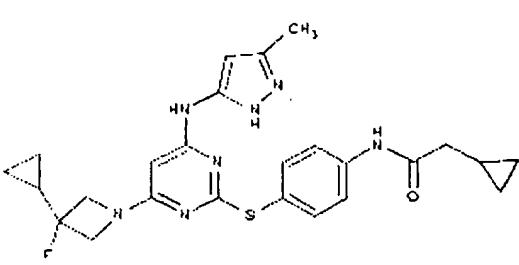
I-16



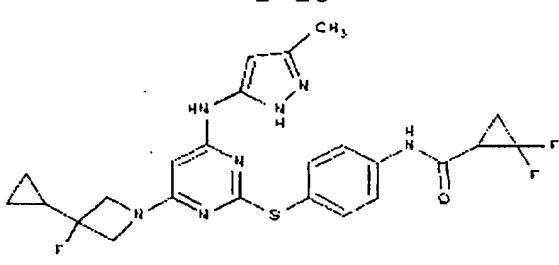
I-17



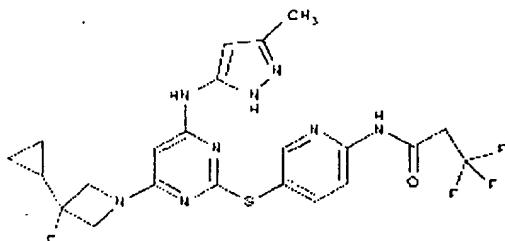
I-18



I-19



I-20



I-21

10. Composição, caracterizada pelo fato de compreender um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1-9, e um portador, adjuvante ou veículo farmaceuticamente aceitável.
- 5 11. Método para inibir a atividade da proteína Aurora quinase numa amostra biológica, caracterizado pelo fato de compreender contatar dita amostra biológica com um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1-9.
- 10 12. Método para tratar um distúrbio proliferativo num paciente, caracterizado pelo fato de compreender a etapa de administrar a dito paciente um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1-9.
- 15 13. Método, de acordo com a reivindicação 12, no qual dito distúrbio proliferativo é selecionado de melanoma, mieloma, leucemia, linfoma, neuroblastoma, ou câncer selecionado de cólon, mama, gástrico, ovariano, cervical, pulmonar, do sistema nervoso central (SNC), renal, prostático, de bexiga, pancreático, cerebral (gliomas), 20 de cabeça e pescoço, renal, hepático, melanoma, sarcoma ou câncer de tireóide, num paciente necessitado de tal método, caracterizado pelo fato de compreender administrar a dito paciente um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1-9.
- 25 14. Método para tratar câncer num indivíduo, necessitado do mesmo, caracterizado pelo fato de compreender a administração seqüencial ou a co-administração de um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações de 1-9, ou de um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e de outro agente terapêutico.
- 30 15. Método, de acordo com a reivindicação 14,

caracterizado pelo fato de dito agente terapêutico ser selecionado de taxanos, inibidores de bcr-abl, inibidores de EGFR, agentes danificadores do DNA, e antimetabólitos.

16. Método, de acordo com a reivindicação 14,
5 caracterizado pelo fato de dito agente terapêutico ser selecionado de Paclitaxel, Gleevec, dasatinibe, nilotinibe, Tarceva, Iressa, cisplatina, oxaliplatina, carboplatina, antraciclinas, Arac e 5-FU.

17. Método, de acordo com a reivindicação 14,
10 caracterizado pelo fato de dito agente terapêutico ser selecionado de camptotecina, doxorrubicina, idarubicina, cisplatina, taxol, taxotere, vincristina, tarceva, o inibidor de MEK, U0126, um inibidor de KSP, vorinostat, Gleevec, dasatinibe e nilotinibe.

PI 0619706-0

RESUMO

"COMPOSTO, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA INIBIR A ATIVIDADE DA PROTEÍNA AURORA QUINASE NUMA AMOSTRA BIOLÓGICA, MÉTODO PARA TRATAR UM DISTÚRBIO PROLIFERATIVO NUM PACIENTE,
5 MÉTODO PARA TRATAR CÂNCER NUM INDIVÍDUO".

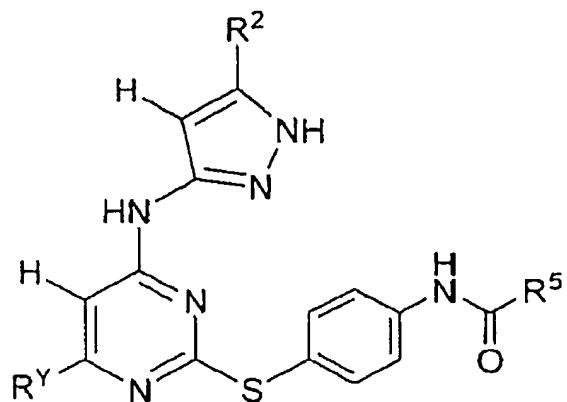
A presente invenção refere-se a compostos úteis como inibidores de proteínas quinase. A invenção também provê composições farmaceuticamente aceitáveis compreendendo esses compostos e métodos para utilizar os compostos e
10 composições no tratamento de diversas doenças, condições e distúrbios. A invenção também provê processos para preparar compostos da invenção.



P10619706-0

REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de apresentar a seguinte fórmula ii-d:

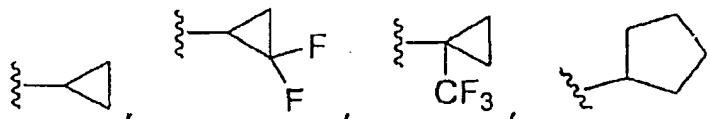


ii-d

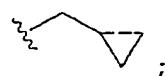
- 5 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, onde:

R² é alquila C₁₋₃ ou ciclopropila;

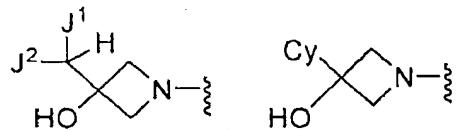
R⁵ é CH₂CH₃, CH₂CF₃, CH₂CH₂CF₃,



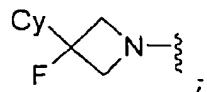
ou



R^Y é



- 10 ou

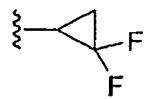


J¹ é H ou CH₃;

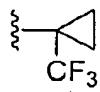
J² é alquila C₁₋₄; e

Cy é cicloalquila C₃₋₅.

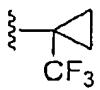
2. Composto, de acordo com a reivindicação 1,
15 caracterizado pelo fato de R⁵ ser selecionado de CH₂CF₃,
CH₂CH₂CF₃,



ou



3. Composto, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de R⁵ ser selecionado de CH₂CF₃ ou



4. Composto, de acordo com a reivindicação 3, 5 caracterizado pelo fato de R⁵ ser CH₂CF₃.

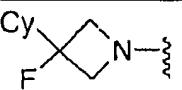
5. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1-4, caracterizado pelo fato de R^y ser



ou



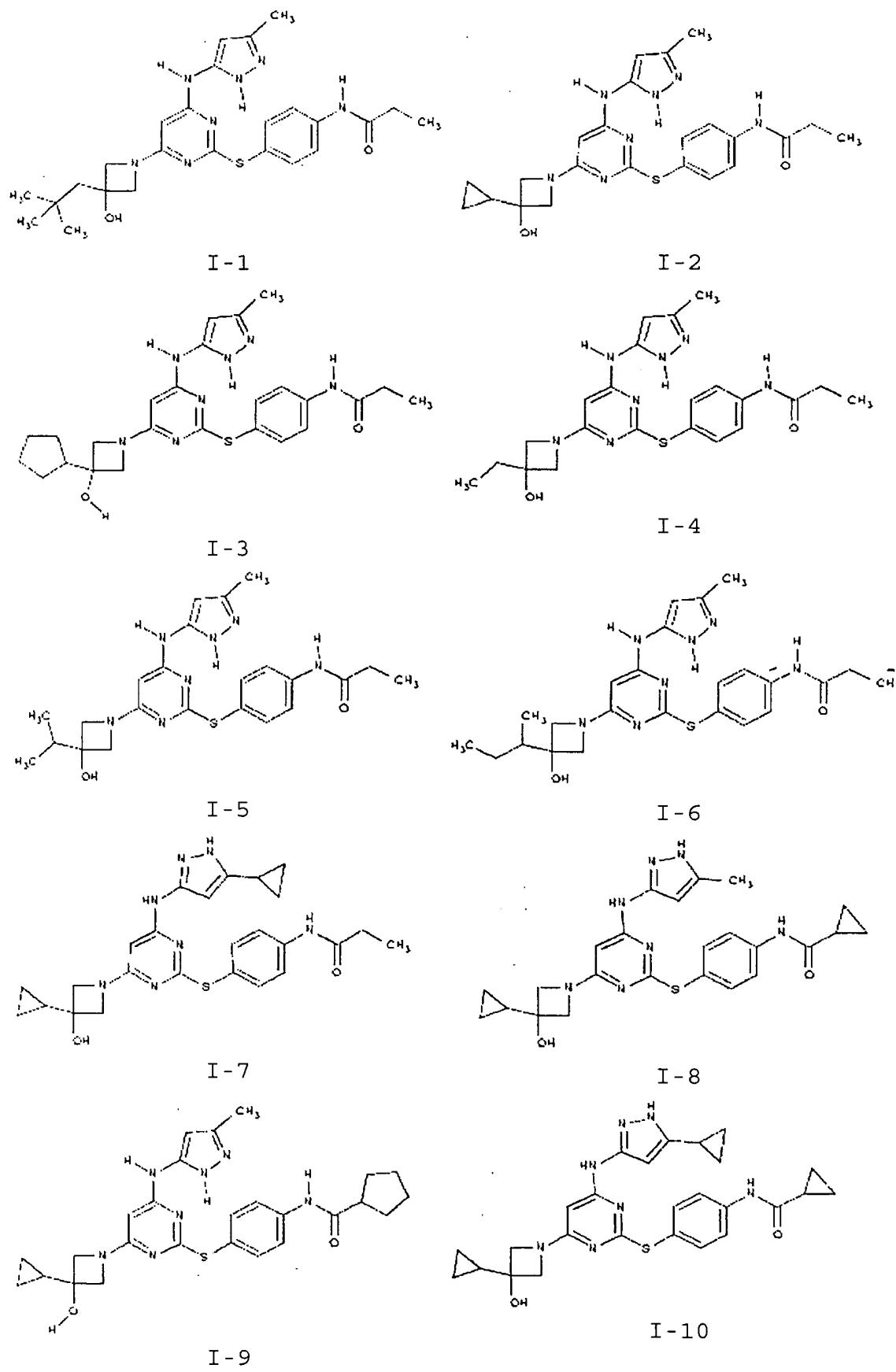
6. Composto, de acordo com a reivindicação 5, 10 caracterizado pelo fato de R^y ser

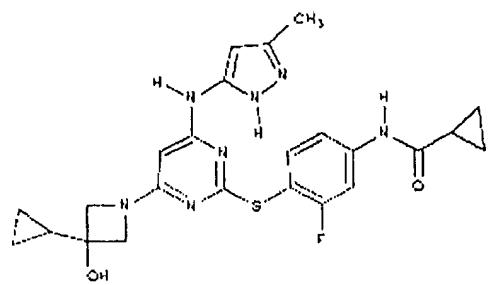


7. Composto, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de Cy ser ciclopropila.

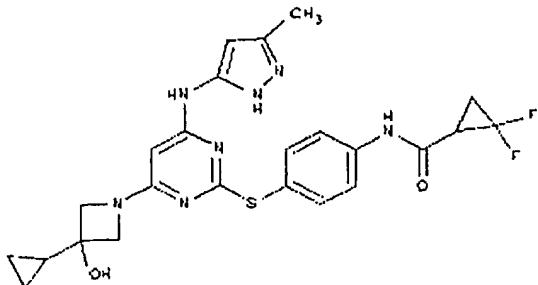
8. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-7, caracterizado pelo fato de R² ser 15 metila.

9. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser selecionado das seguintes fórmulas:

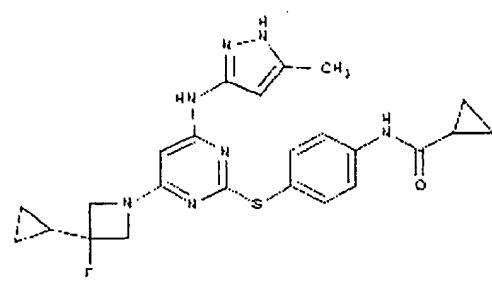




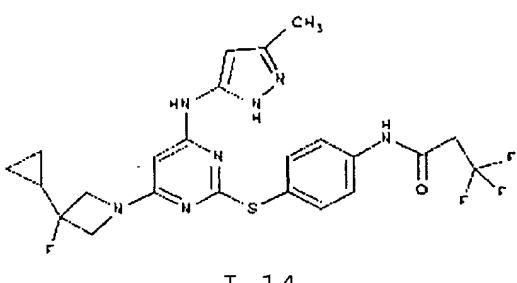
I-11



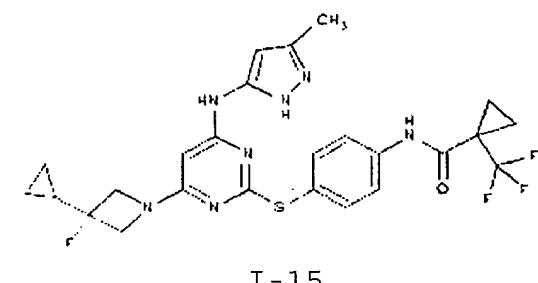
I-12



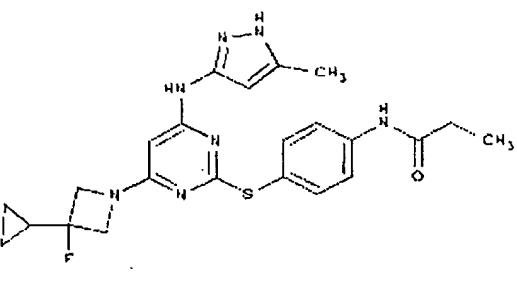
I-13



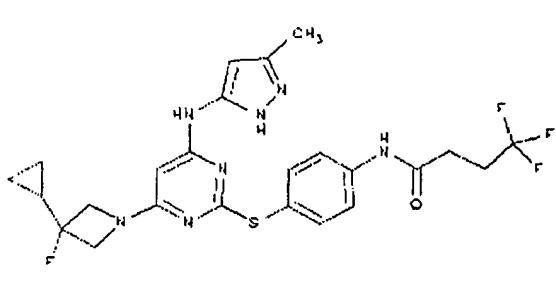
I-14



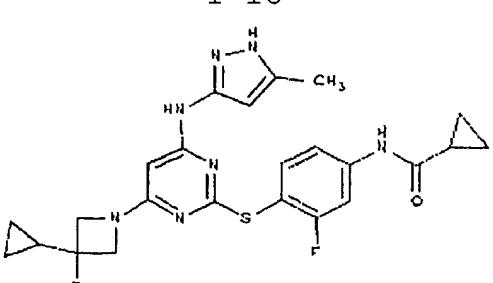
I-15



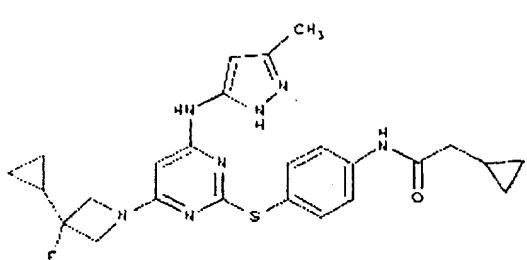
I-16



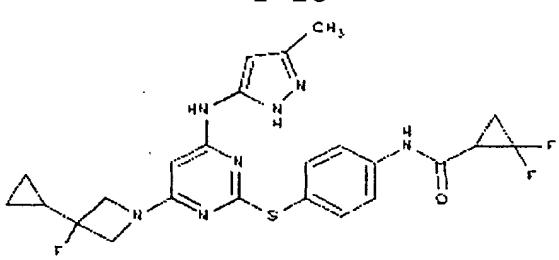
I-17



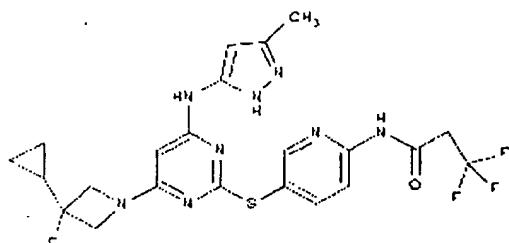
I-18



I-19



I-20



I-21

10. Composição, caracterizada pelo fato de compreender um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1-9, e um portador, adjuvante ou veículo farmaceuticamente aceitável.
- 5 11. Método para inibir a atividade da proteína Aurora quinase numa amostra biológica, caracterizado pelo fato de compreender contatar dita amostra biológica com um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1-9.
- 10 12. Método para tratar um distúrbio proliferativo num paciente, caracterizado pelo fato de compreender a etapa de administrar a dito paciente um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1-9.
- 15 13. Método, de acordo com a reivindicação 12, no qual dito distúrbio proliferativo é selecionado de melanoma, mieloma, leucemia, linfoma, neuroblastoma, ou câncer selecionado de cólon, mama, gástrico, ovariano, cervical, pulmonar, do sistema nervoso central (SNC), renal, prostático, de bexiga, pancreático, cerebral (gliomas),
20 de cabeça e pescoço, renal, hepático, melanoma, sarcoma ou câncer de tireóide, num paciente necessitado de tal método, caracterizado pelo fato de compreender administrar a dito paciente um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1-9.
- 25 14. Método para tratar câncer num indivíduo, necessitado do mesmo, caracterizado pelo fato de compreender a administração seqüencial ou a co-administração de um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações de 1-9, ou de um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e de outro agente terapêutico.
- 30 15. Método, de acordo com a reivindicação 14,

caracterizado pelo fato de dito agente terapêutico ser selecionado de taxanos, inibidores de bcr-abl, inibidores de EGFR, agentes danificadores do DNA, e antimetabólitos.

16. Método, de acordo com a reivindicação 14,
5 caracterizado pelo fato de dito agente terapêutico ser selecionado de Paclitaxel, Gleevec, dasatinibe, nilotinibe, Tarceva, Iressa, cisplatina, oxaliplatina, carboplatina, antraciclinas, Arac e 5-FU.

17. Método, de acordo com a reivindicação 14,
10 caracterizado pelo fato de dito agente terapêutico ser selecionado de camptotecina, doxorrubicina, idarubicina, cisplatina, taxol, taxotere, vincristina, tarceva, o inibidor de MEK, U0126, um inibidor de KSP, vorinostat, Gleevec, dasatinibe e nilotinibe.