



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

(21) PI 0721045-0 A2



* B R P I 0 7 2 1 0 4 5 A 2 *

(22) Data de Depósito: 11/12/2007

(43) Data da Publicação: 29/07/2014
(RPI 2273)

(51) Int.Cl.:

C07D 409/14

A61K 31/381

A61K 31/4436

A61K 31/4439

A61K 31/444

A61K 31/496

A61P 35/00

(54) Título: COMPOSTOS DE AMINOPIRIMIDINA DE
IMIDAZOLIDINONILA PARA O TRATAMENTO DO
CÂNCER

(57) Resumo:

(30) Prioridade Unionista: 21/12/2006 US 60/871,302

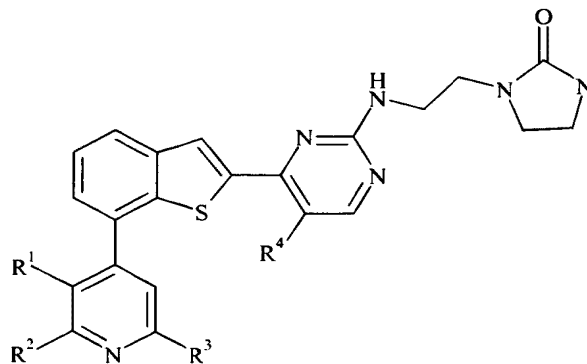
(73) Titular(es): Eli Lilly And Company

(72) Inventor(es): Harold Burns Brooks, Hong-Yu Li, James
Robert Henry, Joyce Z. Crich, Melissa Kate Slater, Yan Wang

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler &
Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2007087044 de
11/12/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/076704de
26/06/2008



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSTOS DE AMINOPIRIMIDINA DE IMIDAZOLIDINONILA PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER**".

Antecedentes da Invenção

5 A presente invenção refere-se a Plk1 pertence a uma pequena família de proteína cinase caracterizada por um domínio de ligação de fosfo-serina/treonina conhecido como domínio de caixa polo. Plk1 desempenha um papel central na regulação do ciclo celular. Entre outras funções, a Plk1 é suposta regular a iniciação, progressão, e saída de mitose, o estágio
10 quando as células de câncer dividem-se. Consequentemente, o bloqueio de Plk1 em células de câncer previne sua divisão ou mitose.

Foram identificados potentes agentes anticâncer que interferem com mitose tais como os alcalóides vinca (NAVELBINE®), taxoides (TAXOTERE®) e inibidores de topoisomerase II (ADRIAMYCIN®). VELCADE® é
15 um agente antineoplásico que inibe a proteossoma 26S. Entretanto, estes fármacos causam consideráveis efeitos colaterais em células que não se dividem, normais. Os inibidores de Plk especificamente alvejam células em divisão e podem ser capazes de evitar as toxicidades indesejáveis.

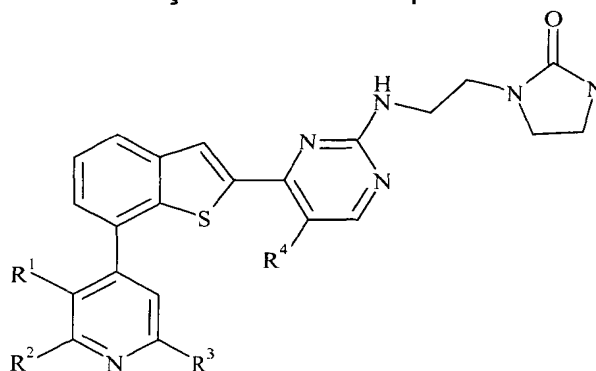
Inibidores de Plk1 são conhecidos na técnica. Vejam por exemplo, WO 06/066172. Adicionalmente, o WO 06/021548 descreve certos análogos de di-hidropteridinona (por exemplo, BI-2536) como inibidores de Plk1. Atualmente, BI-2536 está em experiências clínicas de fase II porém tem alta depuração (CL >1000 mL/min) e é limitado pela dose por mielosupressão no homem. Existe ainda uma necessidade de outros compostos que inibam a
20 Plk1 que possui potência ou propriedades farmacocinéticas melhoradas. Seria também vantajoso ter um inibidor de Plk1 que pudesse ser oralmente dosado.

A presente invenção fornece novos compostos de aminopirimidina de imidazolidinonila acreditados terem uso clínico para o tratamento de
30 câncer através da inibição de Plk1. Certos dos mesmos compostos são acreditados ter potência melhorada sobre os compostos descritos no WO 06/066172. Adicionalmente, certos dos mesmos compostos são acreditados

ter propriedades farmacocinéticas melhoradas sobre BI-2536. Além disso, devido à biodisponibilidade oral dos compostos da presente invenção que foram testados, acredita-se que certos dos mesmos compostos poderiam ser oralmente dosados.

5 Breve Sumário da Invenção

A presente invenção fornece compostos de Fórmula I:



Fórmula I

em que:

R^1 hidrogênio, hidróxi, hidroximetila, halo, metila, fluorometila, C_1 - C_2 alcóxi, amino, ou metilamino;

10 R^2 é hidrogênio, halo, ou ciano;

R^3 é hidrogênio ou halo;

contanto que pelo menos um de R^1 , R^2 , e R^3 seja hidrogênio; e

R^4 é hidrogênio, halo, ou metila; ou

um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

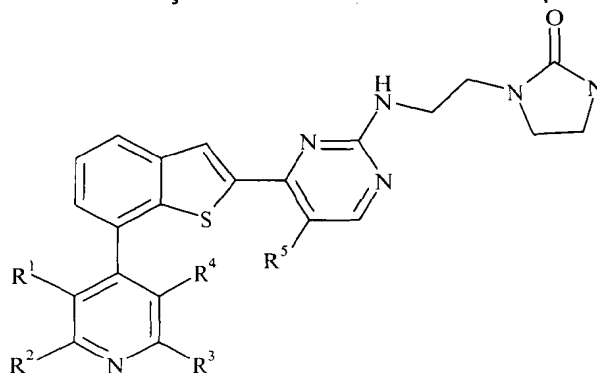
15 A presente invenção fornece um método de tratar câncer selecionado do grupo que consiste em cânceres de pulmão de célula não-pequena, orofaríngeos, esofagianos, gástricos, melanomas, carcinomas epidermóides da pele, mamários, ovarianos, endometriais, colorretais, neurogliomas, glioblastomas, carcinomas de tireoide, cervicais, pancreáticos, da
20 próstata, hepatoblastomas e linfomas de não-hodgkin em um mamífero compreendendo administrar um mamífero em necessidade de tal tratamento, uma quantidade eficaz de um composto de Fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

A presente invenção também fornece uma composição farma-

cêutica compreendendo um composto da Fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em combinação com um excipiente, veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

Esta invenção também fornece um composto de Fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo para uso da preparação do medicamento. Adicionalmente, esta invenção fornece um composto de Fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo para uso da preparação do medicamento para o tratamento de câncer em mamíferos, selecionado do grupo que consiste em cânceres de pulmão de célula não-pequena, orofaríngeos, esofagianos, gástricos, melanomas, carcinomas epidermóides da pele, mamários, ovarianos, endometriais, colorretais, neurogliomas, glioblastomas, carcinoma de tireoide, cervical, pancreáticos, da próstata, hepatoblastoma e linfoma de cânceres não-hodgkin. Além disso, esta invenção fornece uma composição farmacêutica adaptada para o tratamento de câncer selecionado do grupo consiste em cânceres de pulmão de célula não-pequena, orofaríngeos, esofágicos, gástricos, melanomas, carcinomas epidermóides da pele, mamários, ovarianos, endometriais, colorretais, neurogliomas, glioblastomas, carcinomas de tireoide, cervicais, pancreáticos, de próstata, hepatoblastomas e linfomas não-hodgkin compreendendo um composto de Fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo em combinação que um ou mais excipientes, veículos ou diluentes farmaceuticamente aceitáveis.

A presente invenção também fornece compostos da Fórmula:



em que:

R^1 hidrogênio, hidróxi, halo, metila, C_1 - C_2 alcóxi, amino, ou meti-

lamino;

R^2 é hidrogênio, halo, ou ciano;

R^3 é hidrogênio ou halo;

R^4 é hidrogênio, halo, ou metila;

5 contanto que pelo menos dois de R^1 , R^2 , R^3 , e R^4 sejam hidrogênio;

R^5 é hidrogênio, halo, ou metila; ou

um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

Descrição Detalhada da Invenção

10 Os termos químicos gerais usados nas fórmulas acima têm seus significados usuais. Por exemplo, o termo "(C_1 - C_2)alcóxi" significa metóxi e etóxi. O termo "halo" significa flúor, cloro, bromo, e iodo.

15 Será entendido pelo leitor experiente que a maioria ou todos os compostos da presente invenção são capazes de formar sais. Os compostos da presente invenção são aminas, e conseqüentemente reagem com qualquer dos diversos ácidos inorgânicos e orgânicos para formar sais de adição de ácido farmaceuticamente aceitáveis. Tais sais de adição de ácido farmaceuticamente aceitáveis e metodologia comum para preparar os mesmos são bem-conhecidos na técnica. Veja, por exemplo, P. Stahl, e outros, HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION E
20 USE, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, e outro, "Pharmaceutical Salts, " *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol 66, nº 1, Janeiro de 1977.

São preferidos os compostos de Fórmula I em que:

a) R^1 é hidrogênio ou metila;

b) R^2 é hidrogênio ou halo;

25 c) R^3 é hidrogênio ou halo;

d) R^4 é halo;

e) R^4 é metila;

f) R^4 é hidrogênio;

g) R^1 é hidrogênio, R^2 é cloro, R^3 é hidrogênio, e R^4 é hidrogênio;

30 h) R^1 é metila, R^2 é hidrogênio, R^3 é flúor, e R^4 é flúor; e

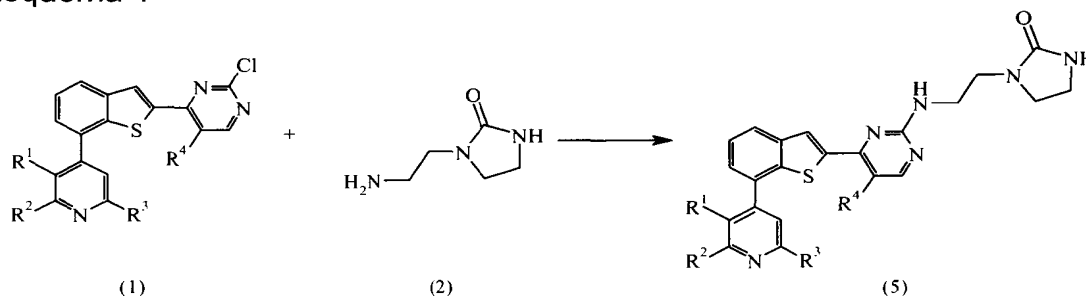
i) R^1 é metila, R^2 é hidrogênio, R^3 é flúor, e R^4 é metila;

Esquemas

O versado na técnica apreciará que nem todos os substituintes nos compostos da presente invenção tolerem certas condições de reação empregadas para sintetizar os compostos. Estas porções podem ser introduzidas em um ponto conveniente na síntese, ou podem ser protegidas, e em seguida desprotegidas, quando necessário ou desejado. O versado na técnica apreciará que os grupos de proteção possam ser removidos em qualquer ponto conveniente na síntese dos compostos da presente invenção. São bem-conhecidos na técnica métodos para introduzir e remover grupos de proteção de nitrogênio e oxigênio; veja, por exemplo, Greene e Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª Ed., John Wiley e Sons, Nova Iorque, Capítulo 7 (1999). Além disso, o versado na técnica apreciará que em muitas circunstâncias, as ordens em que as porções são introduzidas não é crítica. A ordem particular de etapas requerida para produzir os compostos da presente invenção pode depender do composto particular que está sendo sintetizado, o composto de partida, e a labilidade relativa das porções substituídas.

Os compostos da presente invenção podem ser preparados realizando-se pelo menos duas variantes descritas abaixo. Nos esquemas abaixo todos os substituintes, a menos que de outro modo indicado, são como previamente definidos e reagentes adequados são bem-conhecidos e apreciados na técnica. No esquema 2, Y é halo e Z é ácido borônico.

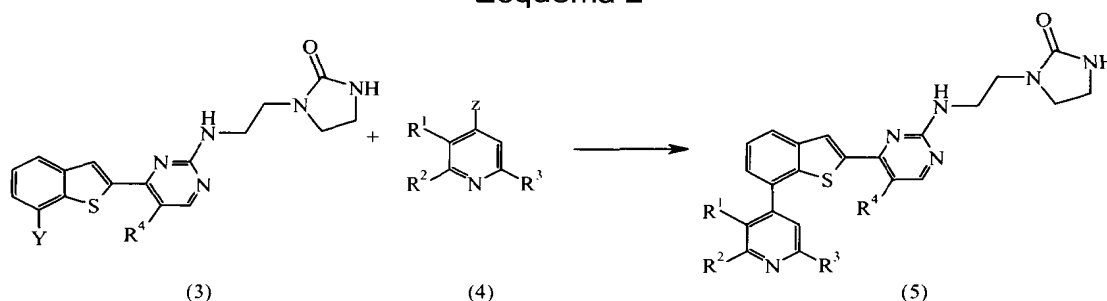
Esquema 1



Um composto da fórmula (1) é reagido com 2-(amino-etil)-1,3-dihidro-imidazol-ona (2) para fornecer um composto de Fórmula (5) por meio de uma reação de deslocamento nucleofílico. Tais reações são realizadas em solvente adequado, tais como *n*-butanol, dioxano, *N*-metilpirolidin-2-ona (NMP), e similares. Geralmente, as reações são realizadas em temperaturas

a cerca de 120 °C a 150 °C usando um banho de óleo ou um reator de micro-ondas. Estequiometria típica para esta reação é baseada no composto de Fórmula (3) e cerca de 2 equivalentes de 2-(amino-etil)-1,3-di-hidroimidazol-ona são usados. Bases de amina, tais como trietil amina, diisopropil-
 5 letil amina, e similares, podem ser empregadas.

Esquema 2



Um composto da fórmula (3) é reagido com um composto de Fórmula (4) em uma reação Suzuki usando um catalisador de paládio adequado, tal como tetrakis(trifenilfosfina)paládio(0), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaládio(II), e similares na presença de uma
 10 base, tal como carbonato de sódio, carbonato de potássio, e similares. Tais reações são realizadas em solvente adequado, tal como THF, dioxano, água, e similares. Geralmente, as reações são realizadas em temperatura de cerca de 100 °C a 150 °C usando um banho óleo ou um reator de micro-
 15 ondas.

Em uma etapa opcional, um sal farmaceuticamente aceitável de um composto da presente invenção é formado. A formação de tais sais é bem-conhecida e apreciada na técnica.

Como será facilmente apreciado, compostos de Fórmulas (1) e
 20 (3) podem facilmente ser preparado por métodos similares àqueles descritos aqui por procedimentos que são bem-conhecidos e estabelecidos na técnica. Por exemplo, compostos de Fórmula (1) são preparados acoplando-se a um composto de piridinila opcionalmente substituída com um composto de ben-
 zotiofenila opcionalmente substituída por método de acoplamento Suzuki,
 25 como descrito acima. O produto Suzuki resultante é boronilado por métodos bem-conhecidos na técnica e e também acoplado a um haleto de pirimidina

opcionalmente substituída por meio de métodos de acoplamento Suzuki, como descrito acima. Compostos de Fórmula (3) são preparados por boronilação de um composto de benzotiofenila opcionalmente substituída por métodos bem-conhecidos na técnica seguido pela adição de 2-(amino-etil)-1,3-di-hidro-imidazol-ona (2) ao éster/ácido borônico resultante por meio de substituição aromática nucleofílica. Além disso, é reconhecido que as etapas requeridas para preparar um composto de Fórmula (1) ou (3) podem ser realizadas em qualquer ordem incluindo a reação de um composto parcial de Fórmula (1) ou (3) com um composto de Fórmula (2) e/ou Fórmula (4), tal que a última formação de ligação carbono-carbono realizada, reação de acoplamento, etc, forneça um composto da presente invenção.

A presente invenção é também ilustrada pelos seguintes exemplos e preparações. Estes exemplos e preparações são ilustrativos apenas, e não se destinam a limitar a invenção de modo algum. Os termos usados nos exemplos e preparações têm seus significados normais a menos que de outro modo designado. Os compostos exemplo abaixo foram denominados usando ChemDraw®, Versão 10.

Preparação 1

2-Benzo[*b*]tiofen-7-il-4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolano.

20 Combinar 7-bromo-benzo[*b*]tiofeno (426 mg, 2 mmols), bis(pinacolato)diboro (756 mg, 3 mmols), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaládio(II), complexar com diclorometano (1:1) (81 mg, 0,1 mmol), acetato de potássio (294 mg, 3 mmols) em sulfóxido de dimetila (DMSO) (10 mL) em um frasco. Borbulhar nitrogênio através da
25 mistura durante 5 minutos. Sellar o frasco e aquecer em um banho de óleo a 100 °C, durante 4 horas. Diluir a mistura com clorofórmio/isopropanol (3/1). Lavar a solução com cloreto de sódio aquoso saturado. Secar a solução sobre sulfato de sódio. Concentrar a solução a vácuo para um resíduo escuro. Purificar por cromatografia de coluna (hexano para 20 % de acetato de etila
30 em hexano) para fornecer o composto do título (342 mg, 66 %) como um sólido incolor. MS (ES) *m/z* 261 [M+1]⁺.

Preparação 2

Ácido benzo[*b*]tiofeno-7-borônico.

- Combinar 7-bromobenzo[*b*]tiofeno (300 g, 1,41 mmol) e tri-isopropilborato (403,6 g, 2,15 mmols) em tetra-hidrofurano anidroso (THF) (4000 mL) em um frasco Morton de 12 L equipado com um agitador mecânico e resfriado sob
- 5 nitrogênio em um banho de gelo seco/acetona para -70 °C. Adicionar *n*-butil lítio (1,6 M em hexano, 714 g, 1,68 mmol) gota a gota em uma tal taxa como para manter a temperatura interna menor do que -67,5 °C. Após a adição ser completada, deixar a mistura reacional agitar nesta temperatura durante 1 hora. Remover o banho de resfriamento e lentamente adicionar 4 L de água.
- 10 Adicionar HCl concentrado (75 mL) até o pH da solução ficar em torno de pH=2. Deixar a suspensão agitar durante 1 hora. Adicionar NaOH aquoso a 5 N suficiente para ajustar o pH da mistura para cerca de pH=12. Separar as camadas e proteger a camada aquosa. Diluir a camada orgânica com 4 L de éter de metil-*terc*-butila e extrair com 1 L de NaOH aquoso a 5 N. Separar as
- 15 camadas. Combinar a camada aquosa com extrato aquoso anterior. Lavar a camada aquosa com adicional éter de metil-*terc*-butila (4 L). Separar as camadas e transferir as camada aquosas para um frasco de base redonda de 3 gargalos de 12 L equipado com um agitador mecânico. Resfriar a solução para +5 °C com um banho de água gelada. Adicionar HCl concentrado len-
- 20 tamente até o pH da solução ficar em torno de pH=2. Agitar a mistura durante 30 minutos e filtrar o sólido resultante. Enxaguar o sólido no funil duas vezes com 2 L de água e deixar secar ao ar durante 30 minutos. Colocar o sólido em um forno a vácuo a 50 °C e secar sob vácuo durante a noite. Remover a cor amarela suspendendo-se o sólido secado com 2 L de *n*-heptano
- 25 durante 30 minutos. Novamente filtrar o sólido, secar ao ar durante 30 minutos, e secar a vácuo a 40 °C durante a noite para fornecer o composto do título (188,8 g, 75 %) como um sólido branco. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,86 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,49-7,57 (m, 2H), 7,30 - 7,39 (m, 2H).

Preparação 3

- 30 Éster *terc*-butílico de ácido (6-flúor-piridin-3-il)-carbânico

Equipar um frasco de base redonda de 3 gargalos de 100 mL com: um agitador magnético, uma manta de aquecimento controlado por

termoelemento, um condensador, e uma atmosfera de nitrogênio. Carregar 5-amino-2-flúor-piridina (5 g, 44,6 mmols), THF (50 mL), 4-dimetilaminopiridina (549 mg, 4,5 mmols, 10 mol %), e *di*terc-butil-dicarbonato (10,7 g, 49 mmols). Aquecer a mistura para 50 °C durante 4 horas. Resfriar e concentrar a vácuo. Dissolver o resíduo em diclorometano/água e filtrar. Transferir o filtrado para um funil separador e separar a camada de diclorometano. Secar o diclorometano sobre sulfato de sódio, filtrar e concentrar em vácuo. Cromatografar em sílica eluindo com uma mistura isocrática de 10% de isopropanol/90 % de diclorometano para fornecer o composto do título (1,64 g, 17 %) como um óleo transparente castanho, que se solidifica em secagem a vácuo. MS (EI) m/z 261 M^+ .

Preparação 4

Éster *terc*-butílico de ácido (2-flúor-piridin-3-il)-carbônico

Preparar o composto do título essencialmente de acordo com a preparação de éster *terc*-butílico de ácido (6-flúor-piridin-3-il)-carbônico usando o material de partida apropriado. GCMS (EI) m/z 212 M^+ .

Preparação 5

N-(4-Iodo-piridin-3-il)-2,2-dimetil-propionamida.

Equipar um frasco de base redonda de 3 gargalos de 250 mL com um agitador magnético, um termoelemento, um banho de gelo seco/acetona, uma atmosfera de nitrogênio, e um funil de adição. Carregar 2,2-dimetil-*N*-piridin-3-il-propionamida (3,0 g, 16,8 mmols), éter dietílico (67 mL), tetrametileno de diamina (4,68 g, 6,08 mL, 40,3 mmols). Resfriar a reação a -78°C. Adicionar lentamente por meio de uma seringa de vidro *n*-butil lítio (2,5 M de solução em hexano, 16,2 mL, 40,3 mmols) durante 10 minutos. Deixar a reação aquecer para -13 °C durante 2 horas. Resfriar a reação para -78°C. Adicionar uma solução de iodo (8,5 g, 33,6 mmols em 20 mL THF) à reação por meio de um funil de adição e misturar 2,5 horas a -68°C. Finalizar a reação pela adição de solução aquosa saturada de NH₄Cl (40 mL). Extrair com acetato de etila (100 mL) e descartar a fase aquosa. Lavar a camada orgânica com uma solução de tiosulfato de sódio aquosa saturada (100 mL) e cloreto de sódio aquoso saturado. Secar a fase orgânica sobre sulfato de

sódio e filtrar. Concentrar a vácuo para fornecer óleo marrom. Cromatografar em sílica (80 g) eluindo com um gradiente de 100 % de diclorometano para 70 % de acetato de etila /30 % de diclorometano para fornecer o composto do título (1,19 g, 23 %). MS (ES) m/z 305 $[M+1]^+$.

- 5 Preparar os seguintes compostos essencialmente de acordo com a preparação de *N*-(4-iodo-piridin-3-il)-2,2-dimetil-propionamida usando o material de partida apropriado.

Prep.	Nome do Composto	Dados Físicos
6	Éster terc-butílico de ácido (6-flúor-4-iodo-piridin-3-il)-carbônico	MS (ES) m/z 339 $[M+1]^+$
7	Éster terc-butílico de ácido (2-flúor-4-iodo-piridin-3-il)-carbônico	GC-MS (EI) m/z 338 M^+

Preparação 8

3-metoximetóxi-piridina

- 10 Dissolver 3-hidroxipiridina (7 g, 74 mmols) em THF (20,6 mL) e dimetilformamida (34,4 mL) e resfriar para -15 °C. Adicionar *terc*-butóxido de potássio (8,3 g, 74 mmols) e agitar a -15 °C durante 30 minutos. Tratar a mistura com éter clorometilmetílico (5,81 mL, 77 mmols) gota a gota durante 40 minutos. Após a adição ser completada, agitar a mistura a -15°C durante
- 15 mais uma hora. Remover o banho de gelo e deixar a mistura aquecer lentamente para 15°C. Verter a mistura em cloreto de sódio aquoso saturado e agitar vigorosamente durante 10 minutos. Extrair a solução resultante com três porções de acetato de etila. Combinar os extratos orgânicos e lavar com cloreto de sódio aquoso saturado, secar sob sulfato de sódio, filtrar, e con-
- 20 centrar em vácuo. Usar o produto resultante sem outra purificação. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,42 (d, J = 3 Hz, 1H), 8,28 (d, J = 5 Hz, 1H), 7,37 - 7,42 (m, 1H), 7,21 - 7,27 (m, 1H), 5,20 (s, 2H), 3,49 (s, 3H).

Preparação 9

2-Cloro-5-metoximetóxi-piridina.

- 25 Suspender hidreto de sódio (3,7 g, 93 mmols) em DMF (50 mL) e adicionar uma solução de 2-cloro-5-hidroxipiridina (10 g, 77 mmols) em DMF (20 mL) gota a gota durante 45 minutos. Agitar a solução resultante

em temperatura ambiente durante 1,5 horas. Adicionar éter clorometilmetílico (6,6 mL, 86 mmols) gota a gota durante 45 minutos. Agitar a mistura resultante em temperatura ambiente durante 12 horas. Diluir a mistura com acetato de etila, água, e cloreto de sódio aquoso saturado. Isolar a solução orgânica e lavar com três porções de água, uma porção de cloreto de sódio aquoso saturado, secar sobre sulfato de sódio, filtrar, e concentrar em vácuo. Purificar o produto bruto por cromatografia de coluna sobre 330 g de sílica-gel eluindo com um gradiente de hexano para 30 % de acetato de etila em hexano durante 20 minutos e em seguida manter a 30 % de acetato de etila em hexano durante 30 minutos para fornecer o composto do título (10,8 g, 81 %) como um óleo claro. MS (ES) m/z 174,0 $[M+1]^+$.

Preparar os seguintes intermediários com métodos similares àqueles usados para 2-cloro-5-metoximetóxi-piridina.

Prep	Nome do Composto	RMN
10	2-flúor-5-metoximetóxi-piridina	^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 3,48 (s, 3H), 5,15 (s, 2H), 6,85 (dd, $J = 3,6$ Hz, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,47 (m, 1 H), 7,96 (m, 1H)

Preparação 11

15 2-Cloro-4-iodo-5-metoximetóxi-piridina.

Adicionar *tert*-butil lítio (1,7 M em pentano, 72 mL, 123 mmols) a uma solução de 2-cloro-5-metoximetóxi-piridina (10,8 g, 62 mmols) em THF (300 mL) a -70°C gota a gota durante 10 minutos. Agitar a solução resultante a -70°C durante 30 minutos. Adicionar uma solução de iodo (23 g, 92 mmols) em THF (150 mL) gota a gota durante 30 minutos. Agitar a solução resultante a -70°C durante 1 hora. Remover o banho de gelo e deixar a reação aquecer para a temperatura ambiente. Diluir a mistura com acetato de etila e água e isolar a fase. Extrair a fase aquosa com duas porções de acetato de etila. Combinar o extrato orgânico e lavar com duas porções de tiosulfato de sódio aquoso, uma porção de água, uma porção de cloreto de sódio aquoso saturado, secar sob sulfato de sódio, filtrar e concentrar em vá-

cuo. Triturar o sólido resultante com hexano. Coletar o sólido por filtração a vácuo e lavar o sólido com hexano. Secar o sólido sob vácuo para fornecer o composto do título (10,8 g, 58 %) como um sólido marrom. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,08 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 5,43 (s, 2H), 3,40 (s, 3H).

- 5 Preparar o seguinte intermediário usando essencialmente o procedimento para 2-cloro-4-iodo-5-metoximetóxi-piridina.

Prep	Nome do Composto	RMN
12	2-flúor-4-iodo-5-metoximetóxi-piridina	^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 3,53 (s, 3H), 5,23 (s, 2H), 7,39 (d, $J = 4,0$ Hz, 1 H), 7,96 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H)

Preparação 13

6-Cloro-4-iodo-piridin-3-ol.

- Tratar uma solução de 2-cloro-4-iodo-5-metoximetóxi-piridina (8,1 g, 27 mmols) em THF (40 mL) com 3 N HCl (61 mL). Aquecer a mistura resultante para 60 °C durante 3 horas. Resfriar a mistura para temperatura ambiente e ajustar o pH para 7 pela adição lenta de solução de bicarbonato de sódio aquosa saturada. Extrair a mistura com três porções de acetato de etila. Combinar o extrato orgânico e secar sob sulfato de sódio, filtrar, e concentrar em vácuo para fornecer o composto do título (6,8 g, 98 %) como um sólido marrom usado sem outra purificação. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11,04 (s, 1H), 7,81-7,87 (m, 2H).
- 15 Preparar o seguinte intermediário usando essencialmente o procedimento para 6-cloro-4-iodo-piridin-3-ol.

Prep.	Nome do Composto	MS (ES) [M+1] ⁺
14	6-flúor-4-iodo-piridin-3-ol	240

- 20 Preparação 15

2-Cloro-5-etóxi-4-iodo-piridina.

Tratar uma solução de 6-cloro-4-iodo-piridin-3-ol (4,9 g, 19 mmols) e carbonato de potássio (8,0 g, 58 mmols) em dimetilformamida (50 mL) com iodeto de etila (4,7 mL, 58 mmols). Aquecer a 60 °C durante 3 ho-

ras. Resfriar a mistura para a temperatura ambiente e filtrar. Diluir a mistura com acetato de etila e lavar com uma solução de ácido cítrico aquoso a 10%. Combinar as soluções aquosas e extrair com duas porções adicionais de acetato de etila. Combinar o extrato orgânico e lavar com três porções de água, uma porção de cloreto de sódio aquoso saturado, secar sobre sulfato de sódio, filtrar, e concentrar em vácuo para fornecer o composto do título (5,1 g, 93 %) como um sólido marrom usado sem outra purificação. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,00 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 4,18 (q, J = 7 Hz, 2H), 1,35 (t, J = 7 Hz, 3H).

10 Preparação 16

4-Benzo[*b*]tiofen-7-il-2-cloro-piridina.

Em um frasco, combinar 7-bromo-benzo[*b*]tiofeno (1,7 g, 12 mmols), 2-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-piridina (1,6 g, 7 mmols), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaládio(II), complexar com diclorometano (1:1) (285 mg, 0,3 mmol), 2-(*di*terc-butilfosfino)bifenila (63 mg, 0,2 mmol), carbonato de sódio (2 M, 8 mL, 16 mmols) e THF (20 mL). Aquecer a mistura a 100°C durante 3 horas. Diluir a mistura com clorofórmio/isopropanol (3/1). Lavar a solução com cloreto de sódio aquoso saturado. Secar sobre sulfato de sódio. Concentrar a solução em vácuo para um resíduo escuro. Purificar por cromatografia de coluna (diclorometano para 20 %de THF em diclorometano) para fornecer o composto do título (1,14 g, 66 %) como um sólido amarelo. MS (ES) m/z 246 $[\text{M}+1]^+$.

Preparar o seguinte composto por métodos similares àqueles usados para 4-benzo[*b*]tiofen-7-il-2-cloro-piridina usando DMSO.

Prep	Nome do Composto	MS (ES) $[\text{M}+1]^+$	Comentários
17	4-Benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-piridina	212	Aquecer a 100 °C catalisador $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$

25 Preparação 18

4-Benzo[*b*]tiofen-7-il-2-flúor-5-metil-piridina.

Em um frasco, combinar 2-flúor-4-iodo-5-metil-piridina (355 mg,

- 1,5 mmol), 2-benzo[*b*]tiofen-7-il-4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolano (282 mg, 1,8 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaládio(II), complexar com diclorometano (1:1) (61 mg, 0,07 mmol), 2-(diterc-butilfosfino)bifenila (13 mg, 0,04 mmol), carbonato de sódio (2 M, 1,5 mL, 3 mmols) e THF (10 mL). Aquecer a mistura a 100°C durante 3 horas em um banho de óleo. Diluir a mistura com clorofórmio/isopropanol (3/1). Lavar a solução com cloreto de sódio aquoso saturado. Secar sob sulfato de sódio. Concentrar em vácuo para um resíduo escuro. Purificar por cromatografia de coluna (20 % de acetato de etila em hexano) para fornecer o composto do título (300 mg, 82 %) como óleo amarelo. MS (ES) m/z 244 $[M+1]^+$.

Preparar os seguintes intermediários essencialmente de acordo com a preparação para 4-benzo[*b*]tiofen-7-il-2-flúor-5-metil-piridina usando o material de partida apropriado.

Prep	Nome do Composto	Dados Físicos MS (ES) m/z $[M+1]^+$	Comentários
19	Éster terc-butilico de ácido (4-Benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-6-flúor-piridin-3-il)-carbônico	345	N ₂ atmosfera
20	4-Benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-2-flúor-piridin-3-ilamina	345	N ₂ atmosfera
21	4-Benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-2-cloro-5-etóxi-piridina	290	N ₂ atmosfera
22	Éster terc-butilico de ácido (4-Benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-6-flúor-piridin-3-il)-carbônico	345	Desoxigenado (N ₂)
23	Éster terc-butilico de ácido (4-Benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-piridin-3-il)-metil-carbônico	325	Desoxigenado (N ₂)

Preparação 24

- 15 4-Benzo[*b*]tiofen-7-il-3-metoximetóxi-piridina.

Solução A: Tratar uma solução de 3-metoximetóxi-piridina (2,5 g, 18 mmols) em éter dietílico (90 mL) a -70 °C com *terc*-butil lítio (1,7 M em

pentano, 10 mL, 18 mmols) gota a gota durante 10 minutos. Agitar a mistura a -70 °C durante 40 minutos e adicionar uma solução de borato de triisopropila (5 mL, 22 mmols) em THF (10 mL) gota a gota durante 5 minutos. Agitar a mistura a -70 °C durante uma hora e em seguida remover o banho de gelo e deixar a mistura aquecer lentamente para a temperatura ambiente.

Solução B: Tratar uma solução de 7-bromo-benzo[*b*]tiofeno (3,8 g, 18 mmols), 2-(diterc-butilfosfino)bifenila (268 mg, 0,90 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaládio(II), complexar com diclorometano (1:1) (732 mg, 0,90 mmol) em 1,4-dioxano (30 mL) com 2 M de carbonato de sódio aquoso (72 mL, 36 mmols). Assim que a solução A atingir a temperatura ambiente, aquecer a solução para 80 °C.

Tratar a solução B com solução A, gota a gota durante 10 minutos. Aquecer a solução combinada para 85 °C durante 5 horas. Resfriar a mistura para a temperatura ambiente e diluir com acetato de etila e água. Lavar a fase orgânica com água e cloreto de sódio aquoso saturado, secar sob sulfato de sódio, filtrar, e concentrar em vácuo. Purificar o produto bruto por cromatografia de coluna em 120 g de sílica-gel eluindo com um gradiente de diclorometano para acetato de etila para fornecer o composto do título (3,8 g) contendo algum 3-metoximetóxi-piridina de partida. Usar o produto sem outra purificação. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,68 (s, 1H), 8,42 (d, *J* = 4 Hz, 1H), 7,88 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,33 - 7,50 (m, 5H), 5,12 (s, 2H), 3,36 (s, 3H).

Preparação 25

2-Cloro-4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidina.

Em um frasco de base redonda de 500 mL, resfriar uma solução de 4-benzo[*b*]tiofen-7-il-2-cloro-piridina (13 g, 53,1 mmols) e triisopropilborato (20 g, 106 mmols) em THF (150 mL) para -70 ° sob nitrogênio. À solução resfriada, adicionar diisopropilamida de lítio (2 M em THF, 53 mL, 106 mmols) gradualmente durante um período de 30 minutos. Agitar a mistura continuamente durante mais uma hora no banho de resfriamento. Gradualmente transferir a mistura para uma solução de refluxo de 2,4-dicloro-pirimidina (12 g, 106 mmols), [1,1'-bis(difenil-

- fosfino)ferroceno]dicloropaládio(II), complexar com diclorometano (1:1) (2,2 g, 53 mmols) e carbonato de sódio (35 mL, 3 M, 106 mmols) em THF (150 mL) durante um período de 30 minutos. Refluxar durante mais uma hora. Resfriar a mistura para temperatura ambiente e diluir com 500 mL de cloro-
- 5 fórmio/isopropanol (3/1) e 200 mL de água. Coletar o sólido resultante por filtração e reservar a mistura de clorofórmio/isopropanol/água. Lavar o sólido com diclorometano e secá-lo sob vácuo. Separar as camadas da mistura de clorofórmio/isopropanol/água. Lavar a fase orgânica com água e cloreto de sódio aquoso saturado, secar sobre sulfato de sódio e concentrar em vácuo
- 10 para fornecer um resíduo marrom. Purificar o resíduo por cromatografia de coluna *instantânea* (10 % de metanol em diclorometano) para fornecer o produto adicional. Combinar as duas porções para fornecer o composto do título (13 g, 68 %) MS (ES) m/z 358 $[M+1]^+$.
- Preparar os seguintes intermediários essencialmente de acordo com a pre-
- 15 paração para 2-cloro-4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidina usando o material de partida apropriado.

Prep.	Nome do Composto	Dados Físicos MS (ES) m/z $[M+1]^+$	Comentários
26	2-Cloro-5-flúor-4-(7-piridin-4-il-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-pirimidina	342	
27	2-Cloro-5-metil-4-(7-piridin-4-il-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-pirimidina	338	
28	2-Cloro-5-flúor-4-[7-(2-flúor-5-metil-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-pirimidina	374	
29	2-Cloro-4-[7-(2-flúor-5-metil-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-metil-pirimidina	370	
30	2-Cloro-4-[7-(2-flúor-5-metil-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-pirimidina	356	Aditivo: 2-(di- <i>terc</i> -butilfosfino)bifenila

Continuação...

Prep.	Nome do Composto	Dados Físicos MS (ES) m/z [M+1] ⁺	Comentários
31	2-Cloro-5-flúor-4-[7-(3-metoximetóxi-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-pirimidina	402	
32	2-Cloro-4-[7-(2-cloro-5-etóxi-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-flúor-pirimidina	420	
33	Éster terc-butílico de ácido {4-[2-(2-Cloro-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il]-6-flúor-piridin-3-il}-carbônico	457	
34	4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-cloro-5-flúor-pirimidina	343	
35	2,5-Dicloro-4-[7-(2-flúor-5-metil-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-pirimidina	390	Aditivo: 2-(di- <i>terc</i> -butilfosfino)bi-fenila
36	4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-cloro-5-cloro-pirimidina	361	
37	4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-cloro-5-metil-pirimidina	340	GCMS (EI) M ⁺
38	4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-cloro-pirimidina	327	

Preparação 394-[2-(2-Cloro-5-flúor-pirimidin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-7-il]-piridin-3-ol.

- Tratar uma solução de 2-cloro-5-flúor-4-[7-(3-metoximetóxi-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidina (4 g, 10 mmols) em THF (10 mL) com 5 N de HCl (3 mL). Agitar a mistura em temperatura ambiente durante 6 horas. Concentrar a reação em vácuo e diluir com bicarboneto de sódio aquoso saturado e diclorometano. Separar as camadas e filtrar cada camada. Lavar o sólido da fase orgânica com diclorometano para fornecer o compos-

to do título (300 mg) como um sólido castanho. Lavar o sólido da camada aquosa com água e secar para fornecer o composto do título (300 mg) como um sólido castanho. Combinar os sólidos para fornecer o composto do título (600 mg, 17 %) como um sólido castanho. MS (ES) m/z 358 $[M+1]^+$.

5 Preparação 40

2-Cloro-4-[7-(3-etóxi-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-flúor-pirimidina.

Tratar uma solução de 4-[2-(2-cloro-5-flúor-pirimidin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-7-il]-piridin-3-ol (100 mg, 0,28 mmol) e carbonato de cézio (100 mg, 0,28 mmol) em dimetilformamida (1 mL) com iodeto de etila (44 mg, 0,28 mmol). Agitar a mistura em temperatura ambiente durante 12 horas. Diluir a mistura com acetato de etila e lavar a solução com três porções de água, uma porção de cloreto de sódio aquoso saturado, secar sob sulfato de sódio, filtrar, e concentrar em vácuo. Purificar o produto bruto por cromatografia de coluna em 12 g de sílica-gel eluindo com um gradiente de diclorometano para acetato de etila para fornecer o composto do título (48 mg, 45 %) como um sólido marrom. MS (ES) m/z 386 $[M+1]^+$.

Preparação 41

2-Cloro-5-flúor-4-[7-(3-metóxi-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidina.

Preparar o composto do título essencialmente de acordo com a preparação de 2-cloro-4-[7-(3-etóxi-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-flúor-pirimidina usando o material de partida apropriado. MS (ES) m/z 372 $[M+1]^+$

Preparação 42

1-{2-[4-(7-Bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-5-flúor-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona.

Combinar 1-(2-aminoetil)-2-imidazolona (100 g, 774 mmols) com 4-(7-bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-2-cloro-5-flúor-pirimidina (90 g, 262 mmols) em 1,4-dioxano (650 mL) e aquecer para 90 °C com agitador sob nitrogênio durante 3 horas. Resfriar a reação para a temperatura ambiente. Filtrar e lavar o sólido com água (3 x 500 mL) e éter dietílico (500 mL). Secar em vácuo a 50°C para fornecer o composto do título (59,2 g, 52 %) como um sólido amarelo. MS (ES) m/z 436 $[M+1]^+$.

Preparar os seguintes intermediários essencialmente de acordo

com a preparação de 1-{2-[4-(7-bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-5-flúor-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona usando o material de partida apropriado.

Prep.	Nome do Composto	Dados Físicos MS (ES) <i>m/z</i> [M+1] ⁺
43	1-{2-[4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-5-cloro-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona	454
44	1-{2-[4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-5-metil-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona	432
45	1-{2-[4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona	420

Preparação 46

5-Bromometil-2-flúor-4-iodo-piridina.

- 5 Em um frasco, combinar 2-flúor-4-iodo-picolina (10,0 g, 42,19 mmols), *N*-bromosuccinimida (9,76 g, 54,85 mmols), 2, 2'-azobisisobutironitrila (3,46 g, 21,10 mmols) e secar CCl₄ (100 mL). Aquecer a 70°C sob nitrogênio durante 16 horas. Resfriar para temperatura ambiente.
- 10 Diluir com diclorometano e lavar com água e cloreto de sódio aquoso saturado. Separar as camadas e secar a camada orgânica sobre sulfato de magnésio. Concentrar em vácuo para fornecer produto bruto. Purificar por cromatografia de coluna (1 % a 15 % de acetato de etila em hexano) para fornecer o composto do título (8,27 g, 62 %). MS (EI) *m/z* 315 M⁺.

Preparação 47

- 15 1-(2-[5-flúor-4-[7-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino]-etil)-imidazolidin-2-ona.

- Combinar 1-{2-[4-(7-bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-5-flúor-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona (5,5 g, 12,6 mmols), bis(pinacolato)diboro (3,84 g, 15,3 mmols), (1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno)dicloropaládio(II) (1,0 g, 1,3 mmols), acetato de potássio (2,5 g, 25 mmols) em DMSO (80 mL) em
- 20 um frasco. Borbulhar nitrogênio através da mistura durante 10 minutos. Selar

o frasco e colocá-lo em um banho de óleo para aquecer a 85°C durante a noite. Diluir a mistura com clorofórmio/álcool isopropílico (3/1). Lavar a solução com cloreto de sódio aquoso saturado. Secá-lo sob sulfato de sódio. Concentrar a solução em vácuo para um resíduo escuro. Purificar o resíduo
 5 por cromatografia de coluna (hexano → 20 % de acetato de etila em hexano → 10 % de metanol em diclorometano) para fornecer o produto como um sólido marrom (5 g, 82 %). MS (ES) m/z 484 $[M+1]^+$.

Preparação 48

(6-flúor-4-iodo-piridin-3-il)-metanol

10 Combinar 5-bromometil-2-flúor-4-iodo-piridina (0,9 g, 2,85 mmols), nitrometano (15 mL, 278 mmols), tetrafluoroborato de prata (721 mg, 3,7 mmols), e dimetilformamida (5 mL) em um frasco de base redonda. Agitar a mistura durante a noite em temperatura ambiente. Adicionar carbonato de sódio (1,81 g, 17,1 mmols) e metanol (10 mL) na mistura. Agitar a
 15 temperatura ambiente durante mais 4 horas. Diluir a mistura reacional com clorofórmio, e lavar com água e cloreto de sódio aquoso saturado. Separar a camada orgânica da camada aquosa e secar sobre $MgSO_4$. Após filtração, evaporar o solvente orgânico em vácuo para fornecer o produto bruto. Purificar o bruto com cromatografia de coluna *instantânea* (eluído com 10 % de metanol em diclorometano) para fornecer o desejado produto (0,6 g, 83 %). MS (ES) m/z 254 $[M+1]^+$.
 20

Preparação 49

2-flúor-5-fluorometil-4-iodo-piridina.

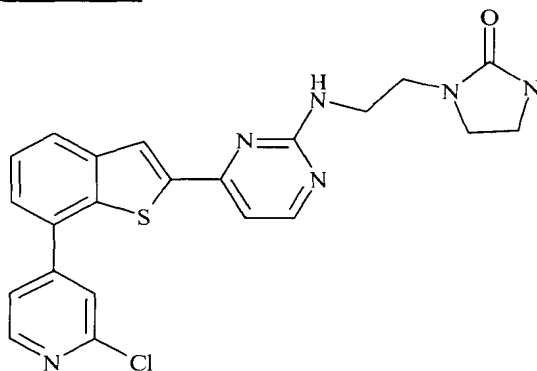
Adicionar trifluoreto de dietilaminossulfur (892 mg, 4 mmols) gota
 25 a gota para um solução de (6-flúor-4-iodo-piridin-3-il)-metanol em diclorometano (25 mL) em um frasco de base redonda sob nitrogênio, e em seguida etanol (0,3 mL) a 0 a 5°C. Agitar a mistura durante 3 horas. Verter a mistura reacional em solução de bicarbonato de sódio saturado. Abstrair o produto into clorofórmio, e lavar com água e cloreto de sódio aquoso saturado. Separar a camada orgânica da camada aquosa e secar sobre $MgSO_4$. Após filtração, evaporar o solvente orgânico em vácuo para fornecer a produto bruto. Purificar o bruto com cromatografia de coluna *instantânea* (10 % de metanol
 30

em diclorometano) para fornecer o composto do título (0,32 g, 53 %). MS (ES) m/z 256 $[M+1]^+$.

Exemplos

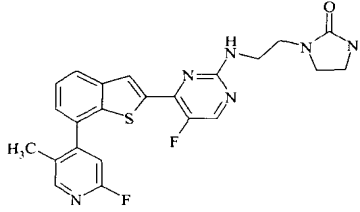
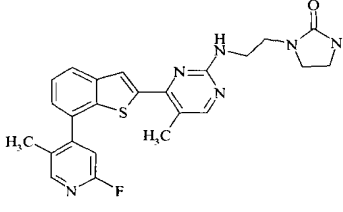
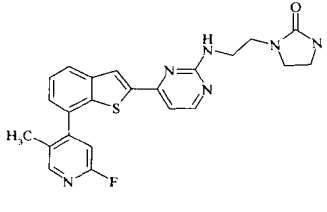
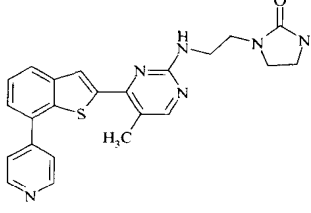
Exemplo 1

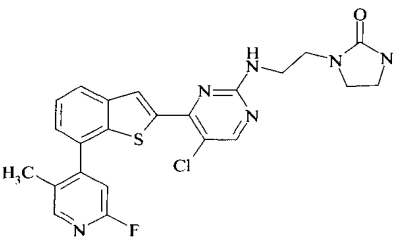
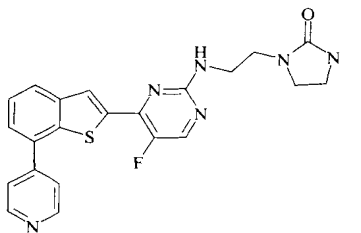
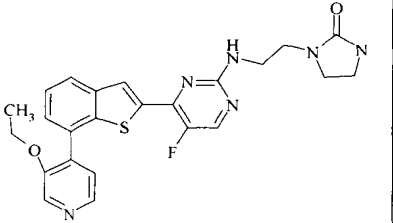
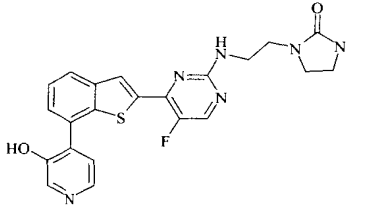
- 5 1-(2-{4-[7-(2-Cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona.

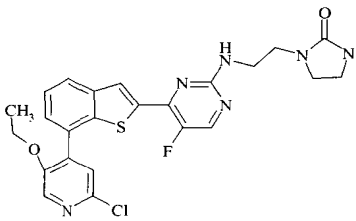
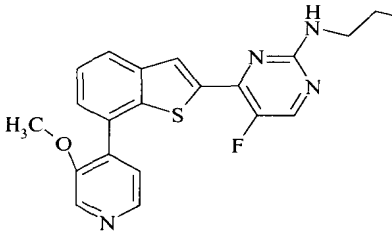


- Combinar 2-cloro-4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidina (9 g, 25,1 mmols) e 2-(amino-etil)-1,3-di-hidro-imidazol-ona (6,4 g, 50,2 mmols) em *n*-butanol (200 mL) em um vaso de pressão. Aquecer a mistura em um
 10 banho de óleo a 120°C durante 5 horas. Diluir a mistura com clorofórmio/isopropanol (3/1). Lavar a solução com cloreto de sódio aquoso saturado. Secá-lo sobre sulfato de sódio. Concentrar a solução em vácuo para um resíduo escuro. Purificar por cromatografia de coluna (diclorometano para 10 % de metanol em diclorometano) para fornecer o composto do título (9 g, 93
 15 %) como um sólido amarelo. MS (ES) m/z 451 $[M+1]^+$.

Preparar os seguintes exemplos essencialmente de acordo com a preparação de 1-(2-{4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil)-imidazolidin-2-ona usando o material de partida apropriado.

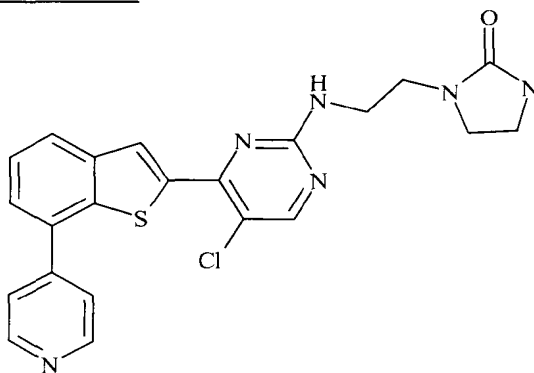
Ex	Nome do Composto	Estrutura	Dados Físicos MS (ES) m/z [M+1] ⁺	Comentários
2	1-(2-{5-flúor-4-[7-(2-flúor-5-metilpiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		467	Microonda, 1,4-dioxano- NMP 120 °C
3	1-(2-{4-[7-(2-flúor-5-metilpiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		463	Microonda, 1,4-dioxano- NMP 120 °C
4	1-(2-{4-[7-(2-flúor-5-metilpiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona		449	Aditivo: Trietil amina - 3 equivalentes
5	1-(2-[5-Metil-4-(7-piridin-4-il-benzo[b]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino]-etil)imidazolidin-2-ona		431	Microonda, NMP 120 °C

Ex	Nome do Composto	Estrutura	Dados Físicos MS (ES) <i>m/z</i> [M+1] ⁺	Comentários
6	1-(2-{5-Cloro-4-[7-(2-flúor-5-metilpiridin-4-il)benzo[b]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		483	Aditivo: Trietil amina - 3 equivalentes
7	1-{2-[5-flúor-4-(7-piridin-4-il-benzo[b]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino]-etil}imidazolidin-2-ona		435	Micro-ondas, NMP 120 °C
8	1-(2-{4-[7-(3-Etóxipiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		479	
9	1-(2-{5-flúor-4-(7-(3-hidroxipiridin-4-il)benzo[b]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		451	

Ex	Nome do Composto	Estrutura	Dados Físicos MS (ES) m/z [M+1] ⁺	Comentários
10	1-(2-{4-[7-(2-Cloro-5-etóxi-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona		513	
11	1-(2-{5-flúor-4-[7-(3-metóxi-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona		465	

Exemplo 12

1-(2-(5-Cloro-4-(7-(piridin-4-il)benzo[b]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino)etil)imidazolidin-2-ona.

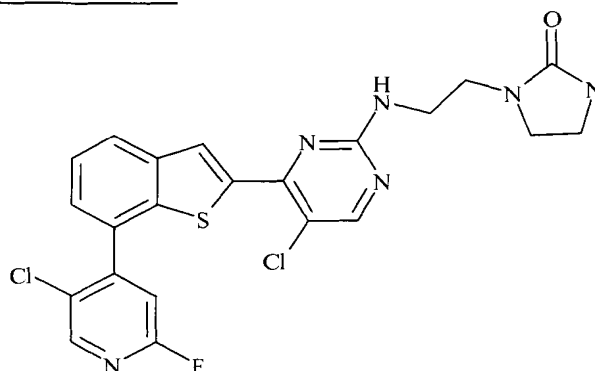


- 5 Combinar 1-{2-[4-(7-bromo-benzo[b]tiofen-2-il)-5-cloro-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona (81,6 mg, 0,18 mmol), ácido piridina-4-borônico (36,8 mg, 0,3 mmol), e bicarbonato de sódio (18,1 mg, 0,2 mmol) em um mistura de água (1 mL) e DMSO (1 mL). Adicionar tetra-cis(trifenilfosfina)paládio(0) (10,4 mg, 0,009 mmol). Irradiar a mistura a

150°C durante 15 minutos com agitação magnética. Verter uma mistura reacional crua sobre uma coluna de permuta de cátion forte (SCX) (10g). Eluir o produto desejado com 2 N de amônia em metanol (40 mL) e concentrar sob pressão reduzida. Purificar por cromatografia de fase reversa (30 a 90 % de gradiente a 80 mL/minutos durante 11 minutos em uma coluna de 30 x 100 mm, 5 mm, C₁₈ MS Xterra®, Solvente A: água com 0,01 M bicarbonato de amônio, Solvente B: acetonitrila) para fornecer o composto do título (20,4 mg, 25,1 %). MS (ES) *m/z* 451 [M+1]⁺.

Exemplo 13

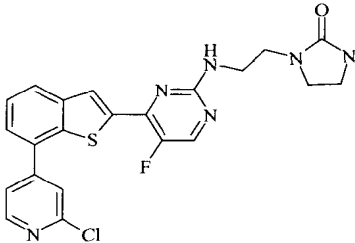
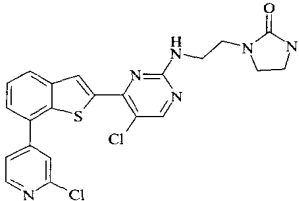
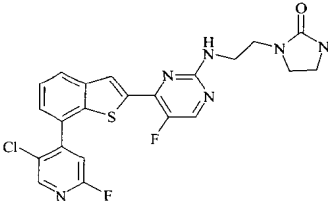
10 1-(2-{5-Cloro-4-[7-(5-cloro-2-fluoropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona.



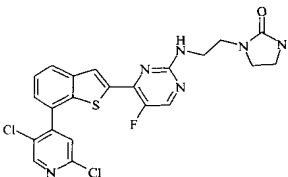
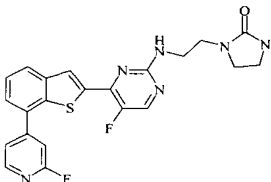
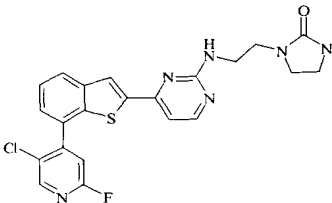
Em um frasconete de micro-ondas, combinar 1-{2-[4-(7-bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-5-cloro-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona (500 mg, 1,1 mmol), ácido 5-cloro-2-fluoropiridina-4-borônico (578 mg, 3,3 mmols), [1,1'-bis(difenilfosfino) ferroceno]dicloropaládio(II), complexar com diclorometano (1:1) (90 mg, 0,11 mmol), 2-(di-*terc*-butilfosfino)bifenila (20 mg, 0,066 mmol) e carbonato de sódio (350 mg, 3,3 mmols) em THF (3 mL) e água (1,5 mL). Borbulhar nitrogênio através da mistura durante 5 minutos. Aquecer a mistura para 100°C durante 10 min. Concentrar a camada orgânica até a secura em vácuo. Suspende o sólido resultante em diclorometano/metanol e purificar por cromatografia de coluna (1 % de 2 N de solução de amônia/metanol em diclorometano para 10 % de 2 N de solução de amônia/metanol em diclorometano) para fornecer o composto do título. Para outra purificação, dissolver o produto em DMSO e purificar por cromatografia de coluna de fase reversa (50 % de acetonitrila em água (com 0,03 % de

HCl) para 95 % de acetonitrila em água (com 0,03 % de HCl) para fornecer o composto do título (146 mg, 26 %). MS (ES) m/z 503 $[M+1]^+$.

Preparar os seguintes exemplos essencialmente de acordo com a preparação de 1-(2-{5-cloro-4-[7-(5-cloro-2-fluoropiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona usando o material de partida apropriado.

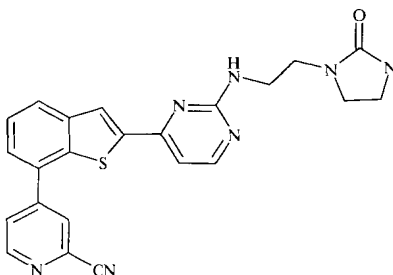
Ex	Nome do Composto	Estrutura	Dados Físicos MS (ES) m/z $[M+1]^+$	Comentários
14	1-(2-{4-[7-(2-Cloro-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		469	
15	1-(2-{5-Cloro-4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		486	
16	1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-fluor-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		487	Purificar por fase reversa, CH ₃ CN e água

Ex	Nome do Composto	Estrutura	Dados Físicos MS (ES) <i>m/z</i> [M+1] ⁺	Comentários
17	1-(2-{4-[7-(2-Cloro-5-fluoropiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona		487	Purificar por fase reversa, CH ₃ CN e água
18	1-(2-{4-[7-(3-Cloro-piridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona		469	Purificar por fase reversa, CH ₃ CN e água
19	1-(2-{5-flúor-4-[7-(3-metilpiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona		449	Purificar em fase reversa, CH ₃ CN e água
20	1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-fluoropiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona		483	Purificar em fase reversa, CH ₃ CN e água

Ex	Nome do Composto	Estrutura	Dados Físicos MS (ES) m/z [M+1] ⁺	Comentários
21	1-(2-{4-[7-(2,5-Dicloropiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		503	
22	1-(2-{5-flúor-4-[7-(2-fluoropiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		453	
23	1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-flúor-piridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		469	

Exemplo 24

4-(2-(2-(2-(2-Oxoimidazolidin-1-il)etilamino)pirimidin-4-il)benzo[b]tiofen-7-il)picolinonitrila.



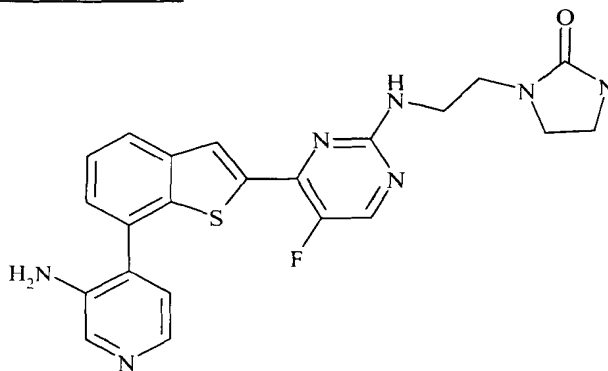
Combinar

1-(2-{4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-

pirimidin-2-ilamino}-etil)-imidazolidin-2-ona (100 mg, 0,22 mmol), cianeto de zinco (51 mg, 0,44 mmol), tris(dibenzilideneacetona)dipaládio(0) (10 mg, 0,01 mmol), 1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno (6 mg, 0,01 mmol) em DMSO (6 mL). Aquecer a mistura a 100 °C durante 4 horas. Resfriar a mistura para
 5 temperatura ambiente e carregar sobre a coluna de sílica. Eluir a coluna com 10 % de metanol em diclorometano para fornecer o composto do título (0,7 g, 72 %) como óleo amarelo. MS (ES) m/z 442 $[M+1]^+$.

Exemplo 25

1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona.

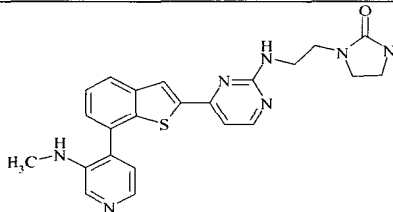
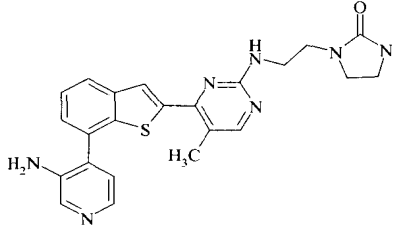


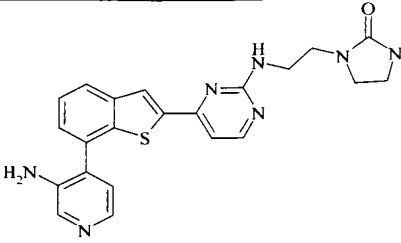
Combinar *N*-{4-[2-(2-cloro-5-flúor-pirimidin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-7-il]-piridin-3-il}-2,2-dimetil-propionamida (330 mg, 0,75 mmol), 2-(amino-etil)-1,3-di-hidro-imidazolona (386 mg, 3,0 mmols), e 1,4-dioxano (6 mL) em um frascote tampado e aquecer a 85 °C durante 4 horas. Concentrar em vácuo. Diluir a mistura com diclorometano e água. Lavar a solução orgânica com água. Secar a solução orgânica sob sulfato de sódio. Filtrar e concentrar a solução em vácuo para um resíduo escuro. Purificar por cromatografia de coluna (diclorometano para 7 % de metanol em diclorometano) para fornecer *N*-[4-(2-{5-flúor-2-[2-(2-oxo-imidazolidin-1-il)-etilamino]-pirimidin-4-il}-benzo[*b*]tiofen-7-il)-piridin-3-il]-2,2-dimetil-propionamida.

Transferir o intermediário de amida para um frascote de 40 mL, tampado por septo. Adicionar uma barra de agitação magnética e carregar água (20 mL) e H₂SO₄ concentrado (5 mL) ao frascote. Aquecer o frascote para 90°C em um banho de óleo durante 5 horas. Resfriar a reação para temperatura ambiente e passar através de uma coluna de SCX (10

- g). Eluir com água/metanol 1:1, em seguida 100 % de metanol, em seguida 1:1 diclorometano/metanol, e finalmente eluir o produto com 10 % de 2 M de amônia em metanol/90 % de diclorometano. Concentrar em vácuo. Cromatografar em sílica (80 g) eluindo com gradiente de 0% para 10% de 2 M de solução amônia/metanol em diclorometano. Secar em forno a vácuo a 42°C durante 2 horas para fornecer o composto do título (192,6 mg, 48 %) como um sólido ouro. MS (ES) m/z 450 $[M+1]^+$.

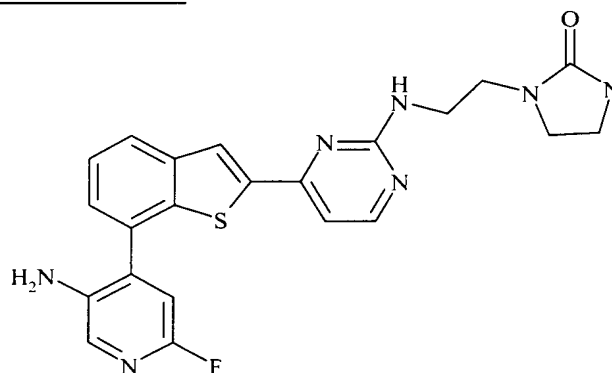
- Preparar os seguintes exemplos essencialmente de acordo com a preparação de 1-(2-{4-[7-(3-amino-piridin-4-il)benzo[b]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona usando o material de partida apropriado.

Ex	Nome do Composto	Estrutura	Dados Físicos MS (ES) m/z $[M+1]^+$
26	1-(2-{4-[7-(3-Metilamino-piridin-4-il)benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		446
27	1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[b]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		446

28	1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[b]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		432
----	---	--	-----

Exemplo 29

1-(2-{4-[7-(5-Amino-2-fluoropiridin-4-il)benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona.



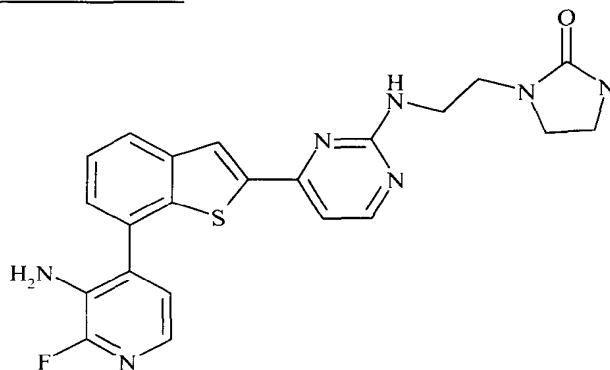
- Combinar éster terc-butílico de ácido {4-[2-(2-cloro-pirimidin-4-il)-benzo[b]tiofen-7-il]-6-flúor-piridin-3-il}-carbâmico (813 mg, 1,77 mmol), 2-(amino-etil)-1,3-di-hidro-imidazol-ona (919 mg, 7,11 mmols), e 1,4-dioxano (22 mL) em um frascote tampado e aquecer a 70°C durante 15 horas. Concentrar em vácuo. Diluir a mistura com diclorometano e água. Lavar a solução orgânica com água. Secar a solução orgânica sob sulfato de sódio.
- 10 Filtrar e concentrar a solução em vácuo para um resíduo escuro. Purificar por cromatografia de coluna (diclorometano para acetato etila) para fornecer éster terc-butílico de ácido [6-flúor-4-(2-{2-[2-(2-oxo-imidazolidin-1-il)-etilamino]-pirimidin-4-il}-benzo[b]tiofen-7-il)-piridin-3-il]-carbâmico.

- 15 Dissolver o éster terc-butílico de ácido [6-flúor-4-(2-{2-[2-(2-oxo-imidazolidin-1-il)-etilamino]-pirimidin-4-il}-benzo[b]tiofen-7-il)-piridin-3-il]-carbâmico em diclorometano e adsorver sobre sílica-gel (10 g) por meio de concentração em vácuo. Secar sob vácuo elevado durante 24 horas. Colocar sílica-gel em um frasco de base redonda e aquecer em um banho de óleo de

temperatura controlada para 98 a 99 °C, ao mesmo tempo que sob vácuo elevado durante 2 horas. Resfriar para temperatura ambiente. Extrair produto de sílica-gel com 10 % de 7 N de amônia em metanol/ 90 % diclorometano. Concentrar em vácuo. Cromatografar em sílica eluindo com um gradiente de 100 % de diclorometano para 7 % de 2 N de amônia em metanol/93 % de diclorometano para fornecer o composto do título (65,2 mg, 8,2 %). MS (ES) m/z 450 $[M+1]^+$.

Exemplo 30

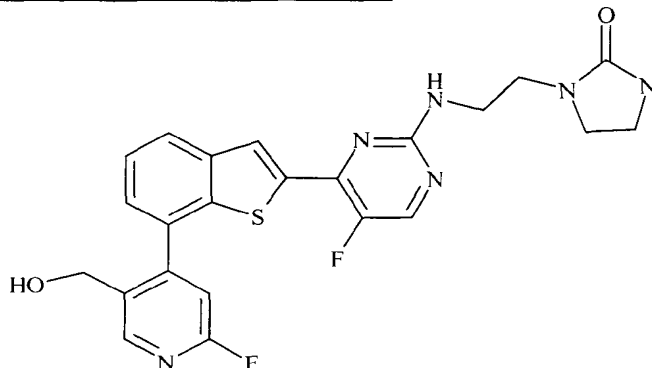
1-(2-{4-[7-(3-Amino-2-fluoropiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona.



Preparar o composto do título essencialmente de acordo com a preparação de 1-(2-{4-[7-(5-amino-2-flúor-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}-etil)-imidazolidin-2-ona usando o material de partida apropriado. MS (ES) m/z 450 $[M+1]^+$.

Exemplo 31

1-(2-{5-flúor-4-[7-(2-flúor-5-hidroximetil-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona.



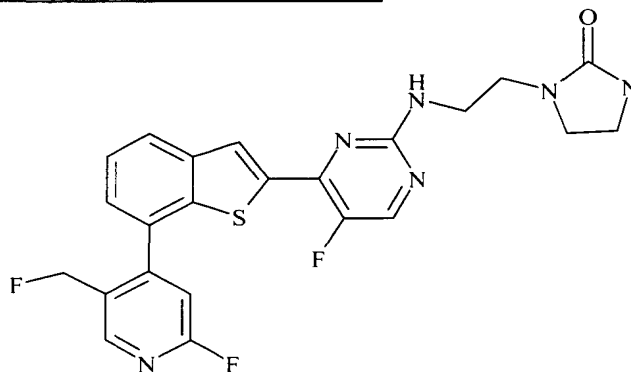
Combinar

1-(2-{5-flúor-4-[7-(4,4,5,5-tetrametil-

[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}-etil)-imidazolidin-2-ona (120 mg, 0,25 mmol), (6-flúor-4-iodo-piridin-3-il)-metanol (100 mg; 0,32 mmol), cloreto (1,1'-bis(di-fenilfosfino)ferroceno)paládio(II) (10,14 mg; 0,01 mmol), 2-(*di*terc-butilfosfino)bifenila (2 mg, 0,01 mmol) e carbonato de sódio (2 M, 0,2 mL, 0,4 mmol) em 5 mL de dioxano em um tubo de pressão. Aquecer a mistura a 100 °C durante a noite em banho de óleo. Resfriar a mistura até a temperatura ambiente, diluí-la com clorofórmio-álcool isopropílico (3/1). Lavar a fase orgânica com cloreto de sódio aquoso saturado, secá-la sob sulfato de sódio e concentrá-la para um resíduo oleoso. Purificar o bruto por cromatografia de coluna *instantânea* (10 % de metanol em diclorometano) para fornecer o composto do título (25 mg, 21 %). MS (ES) *m/z* 483 [M+1]⁺.

Exemplo 32

1-(2-{5-flúor-4-[7-(2-flúor-5-(fluorometil)piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona.



Combinar

1-(2-{5-flúor-4-[7-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}-etil)-imidazolidin-2-ona (120 mg, 248,26 µmol), 2-flúor-5-fluorometil-4-iodo-piridina (100 mg, 392,15 µmol) tris(dibenzil-deneacetona)dipaládio (0) (11,37 mg, 12,41 µmol) triciclo-hexilfosfina (2,09 mg, 7,45 µmol), fosfato de potássio (105,39 mg, 496,51 µmol) em 5 mL de dioxano em um tubo de pressão selado. Aquecer a mistura a 100°C durante 3 horas no banho de óleo. LC-MS mostra um pico a 485. Resfriar a mistura reacional até a temperatura ambiente e diluí-la com clorofórmio-álcool isopropílico (3/1). Lavar a solução orgânica com cloreto de sódio aquoso saturado, secar a mesma sob sulfato de

sódio e concentrá-la para bruto. Purificar o bruto por cromatografia *instantânea* (10 % de metanol em diclorometano) para fornecer o produto-alvo (70 mg, 58,2 %). MS (ES) m/z 485 $[M+1]^+$.

Ensaaios

- 5 Plk1 foi mostrada ser superexpressa em muitos tumores humanos, tais como cânceres de pulmão de célula não-pequena, orofaríngeos, esofágicos, gástricos, melanomas, mamários, ovarianos, endometriais, colorretais, glioblastomas, papilares, pancreáticos, da próstata, hepatoblastomas e linfomas de não-hodgkin. Além disso, a expressão de Plk1 tem signifi-
- 10 cação prognóstica em cânceres de pulmão de célula não-pequena, orofaríngeos, esofágicos, melanomas, colorretais, hepatoblastomas e linfomas de não-hodgkin (Strebhardt, K. e A. Ullrich (2006). Nature Reviews câncer **6**(4): 321-30). Os substratos fosforilados de Plk1 regulam a progressão de mitose coordenando a maturação da centrossoma, entrada em mitose, separação
- 15 de cromátide-irmã e citocinese (Eckerdt e Strebhardt 2006; Strebhardt e Ullrich 2006; van de Weerd, B. C. e R. H. Medema (2006). Cellular Cycle **5**(8): 853-64). A inibição da função de Plk1 usando injeção de anticorpo, expressão de uma Plk1 negativa dominante, e redução de mRNA de antissenso produz fusos de monopolo e interrupção de anáfase induzindo à morte celular mitótica em linhagens de célula de tumor porém interrupção de G2 reversível em linhagens de célula primária não-transformada normal. Adicionalmente, foi reportado que a Plk pode ser útil no tratamento de tumores rab-
- 20 doides, (Morozov A., e outros, Clinical câncer Research. **13**(16):4721-30, (Aug 15, 2007).
- 25 BI-2536 demonstrou atividade em modelos preclínicos usando xenoinxertos de murino HCT116, A549 e NCIH460 (Baum, A., P. Garin-Chesa, e outro. (2006). A atividade em vivo de n°C191 de BI 2536, um inibidor potente e seletivo da cinase mitótica PLK1, em uma faixa de xenoinxerto de câncer. AACR-NCI-EORTC International Conference em "Molecular
- 30 Targets e câncer Therapeutics", Filadélfia, PA).
- Os resultados dos seguintes ensaios demonstram evidência de que os compostos da presente invenção são úteis como agentes anticâncer.

Expressão e purificação de Plk1.

cDNA de Plk1 humana, que pode ser obtido de diversas fontes, tal como Incyte (número de acesso: NM_005030), pode ser diretamente ligado a uma de suas terminais com uma sequência de polinucleotídeo expressando um rótulo His₆, tal como o rótulo FLAG-His₆ de terminal-C, e inserido em um vetor de expressão apropriado, tal como um vetor pFastBac[®] (Invitrogen) e transfectado em um sistema apropriado, tais como baculovírus similar ao que foi reportado por Yue-Wei Qian, e outros, Science **282**, 1701 (1998) para xPlkk1. Se um sistema de expressão viral for usado, então o vírus (por exemplo, baculovírus transportando uma construção de polinucleotídeo de rótulo Plk1-Flag-His₆) será infectado em uma cultura de uma célula-hospedeira adequada, tal como células Sf9. Quando quantidades suficientes da proteína de fusão de rótulo Plk1-Flag-His₆ foram expressas, por exemplo, em torno de 46 horas após infecção, a cultura deve ser tratada como ácido ocadáico (0,1 µM) durante um período de tempo suficiente (por exemplo, 3 horas). A fusão do rótulo Plk1-Flag-His₆ é purificada de péletes celulares usando uma resina de afinidade de metal, tal como TALON[®] (Clontech, Catálogo nº 635503) usando métodos bem conhecidos na técnica. A fusão de rótulo Plk1-Flag-His₆ purificado é armazenada em um meio adequado, tal como 10 mM de HEPES, 150 mM de NaCl, 0,01% de TRITON[®] X-100, 1 mM de ditioneitol (DTT), 10 % de glicerol, pH 7,5, a -80 °C em pequenas alíquotas até o uso. A identidade da proteína de fusão de rótulo Plk1-Flag-His₆ purificada é confirmada por MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization).

Expressão e purificação de GST-Cdc25C(1-206).

cDNA de Cdc25C humano, que pode ser obtido de qualquer fonte apropriada, tal como Incyte (número de acesso: AY497474), pode ser expresso em qualquer sistema de expressão conveniente, após o que a purificação é realizada por métodos bem-conhecidos similares aquele descrito por Bin Ouyang e outro, Oncogene, **18**, 6029 - 6036 (1999). Um sistema conveniente envolve cultura durante a noite a 18 °C de E.coli BL21 transformado com o vetor pGEX-2T (Amersham) no qual o cDNA para Cds25C hu-

mano foi instruído para expressão induzida usando 1 mM de isopropil-beta-D-tiogalactopiranosida. O GST-Cdc25C(1-206) expresso, o substrato para Plk1, pode ser purificado por GLUTATIONE SEPHAROSE® 4B e armazenado em uma solução apropriada, tal como 10 mM de HEPES, 100 mM de NaCl, pH 7,5 em pequenas alíquotas a -80°C.

Ensaio de Inibição de Plk1

As reações de Plk1 cinase contêm enzima de fusão de rótulo Plk1-Flag-His₆ (0,2 ng/μL) em um tampão contendo 50 mM de HEPES, pH 7,3, 1,0 mM de ditioneitol, 5,0 μM de ATP, 10 mM de MgCl₂, 0,01% de TRITON® X-100, 0,4 μCi ³³P-ATP, e 0,06 μg/μL de peptídeo GST-Cdc25c (1-206). Os compostos são fornecidos como 10 mM de matérias-primas em DMSO. Os compostos são serialmente diluídos 1:3 em 20 % de DMSO para criar uma curva de resposta de concentração de 10 pontos e subsequentemente são diluídos 1:5 (20 μM para 0,001 μM final em 4 % concentração de DMSO final) na mistura reacional para determinar atividade do composto. A reação é realizada em temperatura ambiente durante 60 minutos e em seguida saciada pela adição de 60 μL de 10,0 % de H₃PO₄. A mistura reacional (85 μL) é transferida para uma placa filtrante de fosfocelulose de 96 cavidades pré-umidecida com 30 μL de 10,0 % de H₃PO₄, incubada em temperatura ambiente durante 20 a 30 minutos e em seguida lavada 3X com 0,5 % de H₃PO₄. As cavidades são secadas antes da adição de 40 μL de MicroScint™20 (Packard) e em seguida contadas em uma Wallac MICROBETA® Jet. Os valores de inibição percentual dos dados de resposta de concentração de 10 pontos são subsequentemente analisados, por exemplo, usando *software* ACTIVITY BASE® (IDBS), usando uma equação logística de parâmetro 4. Os valores de IC₅₀ absoluto são calculados a partir do ajuste de curva resultante. Todos os compostos exemplificados têm uma IC₅₀ menor do que 100 nM com uma relação mínima significativa (MSR) de 3,6. Por exemplo, o exemplo 13 tem uma IC₅₀ de cerca de 23 nM.

Ensaio de teor de pHH3(S10), células mitóticas, e DNA

Células HeLa da American Type Culture Collection (ATCC) são semeadas a 200 células/cavidade em placas de 96 cavidades Beckman Dic-

kinson BIOCOAT[®], e são incubadas em MEM (Meio Essencial Mínimo, por exemplo, GIBCO, catálogo N° 11095) com 10% de FBS (Soro Bovino Fetal) em 37°C, 5 % de CO₂ durante 24 horas. As células são tratadas adicionando-se o composto (em 0,25 % de DMSO) ao meio, dosando em 10 pontos na faixa de 0,5 µM a 0,0098 µM. Após 23 horas de exposição aos compostos, as células são fixadas, por exemplo, com o fixador PREFER[®] [Anatech LTD., Catálogo N°414] durante 30 minutos, em seguida são permeabilizadas com 0,1% de TRITON[®] X100 em solução de salina tamponado por fosfato (PBS) durante 15 minutos. As células são lavadas 3 vezes com PBS, em seguida digeridas com 50 µg/mL de RNase. O anticorpo primário, fosforristona H3 (Upstate Cat N°06-570), é adicionado a 1:500 em PBS com 1 % de albumina de soro bovino (BSA) às células durante a noite a 4°C. Após 3 lavagens com PBS, as células são incubadas com anticorpo secundário rotulado por Alexa488 (Invitrogen cat N° A11008) durante 1 hora em temperatura ambiente. Novamente elas são lavadas 3 vezes com PBS, e em seguida 15 µM de iodeto de propídio (Molecular Probes cat N° P3566) são adicionados durante 30 minutos para manchar os núcleos. As placas de fluorescência são escaneadas com ACUMEN EXPLORER[®] [Citômetro de microplaca de fluorescência de varredura a laser (compreendendo de 488 nm de excitação a laser de íon de argônio e detecção de tubo fotomultiplicador múltiplo), fabricado por TTP LABTECH LTD] para medir fosforristona H3, teor de DNA e células mitóticas como medido por condensação de DNA. Análises de imagem são baseadas nos sinais fluorescentes celulares para identificar as células em diferentes subpopulações. As células positivas de pHH3(S10) são identificadas por intensidade média a 500 a 530 nm acima do limite. A intensidade total a 655-705 nm de iodeto de propídeo/DNA é usada para identificar células individuais (células com teor de DNA de 2N a 4N) e subpopulação em ciclo celular (células de 2N, células de 4N). A intensidade máxima a 575 a 640 nm é usada para identificar a condensação de DNA que é usada como o marcador para identificar células mitóticas entre células de 4N. As produções de ensaio são percentagem de cada identificação de subpopulação, %pHH3, % 2N, % 4N, % de mitótica e número celular total. A EC₅₀ é

determinada por ajuste de curva para um logístico de parâmetro quatro para cada produção usando ACTIVITY BASE®. As EC₅₀s resultantes para P-HH3(s10), teor de DNA, e mitótica tem um MSR de 2,6, 2,4 e 2,5, respectivamente. Por exemplo, o exemplo 13 tem um pHH3(s10) EC₅₀ = 42 nM (n=2), teor de DNA EC₅₀ = 40 nM (n=2) e mitótica EC₅₀ = 45 nM (n=1).

Ensaio Antiproliferativo

Os efeitos de compostos sobre a proliferação celular podem ser determinados usando células e os métodos de proliferação celular bem-conhecidos na técnica (Robert C. Squatrito e outros, *Gynecological Oncology*, **58**, 101-105, (1995)). Por exemplo, as células HCT116, que podem ser obtidas da American Type Culture Collection, podem ser semeadas a ~2000 células/cavidade em placas de 96 cavidades e deixadas fixar durante a noite em uma incubadora de CO₂ umidificada a 37 °C. Seguindo a incubação de 20 a 24 horas, compostos serialmente diluídos meio log são adicionados e as placas são retornadas para a incubadora. Após um período apropriado de exposição (por exemplo, 72 horas), a proliferação celular é estimada usando métodos bem conhecidos. Em um método, 10 µL de um sal de tetrazólio, tal como Alamar Blue® são adicionados às placas celulares. Após uma exposição apropriada ao corante, a fluorescência (530 nm de excitação, 580 nm emissão) é determinada. A IC₅₀ resultante tem uma MSR de 3,1. Por exemplo, o exemplo 13 tem uma IC₅₀ de 11 nM (n=3).

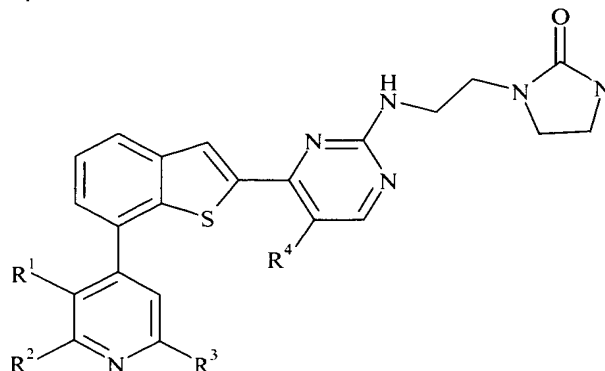
Os compostos da presente invenção são preferivelmente formulados como composições farmacêuticas administradas por variedade de rotinas. Mais preferivelmente, tais composições são de administração oral. Tais composições farmacêuticas e processos para a preparação das mesmas são bem conhecidos na técnica. Veja, por exemplo, REMINGTON: THE SCIENCE E PRACTICE OF PHARMACY (A. Gennaro, e outros, eds., 19ª ed., Mack Publishing Co., 1995).

Os compostos de fórmula I são geralmente eficazes durante uma ampla faixa de dosagem. Por exemplo, as dosagens por dia normalmente incluem-se na faixa de cerca de 0,01 a cerca de 20 mg/kg de peso corporal, mais preferivelmente 0,1 a 20 mg/kg de peso corporal. Em alguns

casos os níveis de dosagem abaixo do limite inferior da faixa acima mencionada podem ser mais do que adequados, enquanto em outros casos, doses ainda maiores podem ser empregadas sem causar qualquer efeito colateral nocivo e, portanto, a faixa de dosagem acima não se destina a limitar o escopo da invenção de modo algum. Será entendido que a quantidade do composto, realmente administrada, será determinada por um médico, incluindo as circunstâncias relevantes, incluindo a condição a ser tratada, a rotina de administração escolhida, o composto ou compostos reais administrados, a idade, peso, e resposta do paciente individual, e a severidade dos sintomas dos pacientes.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto da Fórmula:



em que:

- 5 R^1 hidrogênio, hidróxi, hidroximetila, halo, metila, fluorometila, C_1 - C_2 alcóxi, amino, ou metilamino;
 R^2 é hidrogênio, halo, ou ciano;
 R^3 é hidrogênio ou halo;
 contanto que pelo menos um de R^1 , R^2 , e R^3 seja hidrogênio; e
 R^4 é hidrogênio, halo, ou metila; ou
10 um sal farmaceuticamente aceitável dos mesmos.

2. Composto de reivindicação 1, em que:

- R^1 hidrogênio, hidróxi, hidroximetila, cloro, flúor, metila, fluoro-
metila, C_1 - C_2 alcóxi, amino, ou metilamino;
 R^2 é hidrogênio, flúor, ou ciano;
15 R^3 é hidrogênio, cloro, ou flúor,
 contanto que pelo menos um de R^1 , R^2 , e R^3 seja hidrogênio; e
 R^4 é hidrogênio, cloro, flúor, ou metila; ou
 um sal farmaceuticamente aceitável dos mesmos.

3. Composto de reivindicação 1, em que:

- 20 R^1 hidrogênio ou metila, fluorometila;
 R^2 é hidrogênio ou flúor,
 R^3 é hidrogênio, cloro, ou flúor,
 contanto que pelo menos um de R^1 , R^2 , e R^3 seja hidrogênio; e
 R^4 é hidrogênio, cloro, flúor, ou metila; ou
25 um sal farmaceuticamente aceitável dos mesmos.

4. Composto de reivindicação 1, em que R¹ é halo, R² é hidrogênio, R³ é halo, e R⁴ é halo ou um sal farmaceuticamente aceitável dos mesmos.

5. Composto selecionado do grupo que consiste em:

- 5 1-(2-{4-[7-(2-Cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{5-flúor-4-[7-(2-flúor-5-metilpiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(2-flúor-5-metilpiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-
- 10 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(2-flúor-5-metilpiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-{2-[5-Metil-4-(7-piridin-4-il-benzo[*b*]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino]-etil}imidazolidin-2-ona,
- 15 1-(2-{5-Cloro-4-[7-(2-flúor-5-metilpiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-{2-[5-flúor-4-(7-piridin-4-il-benzo[*b*]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino]-etil}imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(3-Etoxipiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-
- 20 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-(5-flúor-4-(7-(3-hidroxipiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino)etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(2-Cloro-5-etoxipiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona,
- 25 1-(2-{5-flúor-4-[7-(3-metoxipiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-(5-Cloro-4-(7-(piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino)etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{5-Cloro-4-[7-(5-cloro-2-fluoropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-
- 30 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(2-Cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,

- 1-(2-{5-Cloro-4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-flúor-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 5 1-(2-{4-[7-(2-Cloro-5-fluoropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(3-Cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{5-flúor-4-[7-(3-metilpiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 10 1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-fluoropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(2,5-Dicloropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 15 1-(2-{5-flúor-4-[7-(2-fluoropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-flúor-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 4-(2-(2-(2-(2-Oxoimidazolidin-1-il)etilamino)pirimidin-4-il)benzo[*b*]tiofen-7-il)picolinonitrila,
- 20 1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(3-Metilamino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 25 1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 1-(2-{4-[7-(5-Amino-2-fluoropiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
- 30 1-(2-{4-[7-(3-Amino-2-fluoropiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,

1-(2-{5-flúor-4-[7-(2-flúor-5-hidroximetil-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona, e

1-(2-{5-flúor-4-[7-(2-flúor-5-(fluorometil)piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona; ou

5 um sal farmaceuticamente aceitável.

6. Composição farmacêutica compreendendo um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 5, ou um sal farmaceuticamente aceitável dos mesmos, em combinação com um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

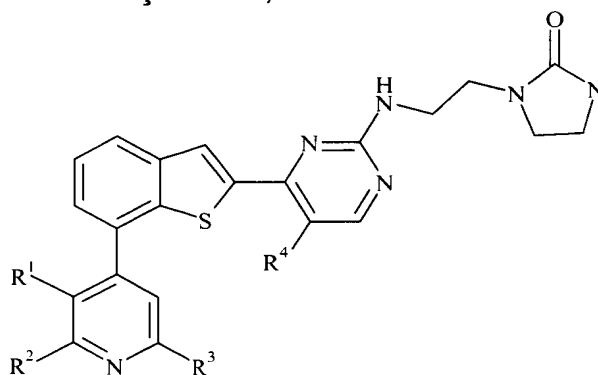
10 7. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo para uso na preparação de um medicamento.

8. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 5, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo para
15 a preparação de um medicamento para o tratamento de um câncer selecionado do grupo consistindo em cânceres de pulmão de célula não-pequena, orofaríngeos, esofágicos, gástricos, melanomas, carcinomas epidermóides da pele, mamários, ovarianos, endometriais, colorretais, neurogliomas, glioblastomas, carcinomas de tireoide, cervicais, pancreáticos, da próstata, he-
20 patoblastoma e linfoma de não-hodgkin em um mamífero.

RESUMO

Patente de Invenção: "**COMPOSTOS DE AMINOPIRIMIDINA DE IMIDAZOLIDINONILA PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER**".

5 A presente invenção refere-se a novos compostos de aminopirimidina de imidazolidinonila acreditados terem uso clínico para o tratamento de câncer por meio da inibição Plk1,



Fórmula I

em que:

- R¹ hidrogênio, hidróxi, halo, metila, C₁-C₂ alcóxi, amino, ou metilamino;
- 10 R² é hidrogênio, halo, ou ciano;
- R³ é hidrogênio ou halo;
- R⁴ é hidrogênio, halo, ou metila;
- contanto que pelo menos um de R¹, R², e R³ seja hidrogênio;
- R⁵ é hidrogênio, halo, ou metila, ou
- 15 um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.