



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

(21) PI0619708-6 A2



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

(51) Int.CI.:  
C07D 403/14  
A61K 31/4155  
C07D 239/02

**(54) Título:** COMPOSTO, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA INIBIR A ATIVIDADE DA PROTEÍNA AURORA QUINASE NUMA AMOSTRA BIOLÓGICA, MÉTODO PARA TRATAR DISTÚRBIO PROLIFERATIVO E MÉTODO PARA TRATAR CÂNCER

**(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):** Alistair Rutherford, Damien Fraysse, Hayley Binch, Michael Mortimore

**(74) Procurador(es):** Paulo Sergio Scatamburlo

**(86) Pedido Internacional:** PCT US2006042993 de  
03/11/2006

**(87) Publicação Internacional:** WO 2007/056163de  
18/05/2007

**(57) Resumo:** COMPOSTO, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA INIBIR A ATIVIDADE DA PROTEÍNA AURORA QUINASE NUMA AMOSTRA BIOLÓGICA, MÉTODO PARA TRATAR DISTÚRBIO PROLIFERATIVO E MÉTODO PARA TRATAR CÂNCER. A presente invenção refere-se a compostos úteis como inibidores de proteína Aurora 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 os compostos da invenção.

"COMPOSTO, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA INIBIR A ATIVIDADE DA PROTEÍNA AURORA QUINASE NUMA AMOSTRA BIOLÓGICA, MÉTODO PARA TRATAR DISTÚRBIO PROLIFERATIVO E MÉTODO PARA TRATAR CÂNCER"

5 Campo 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.

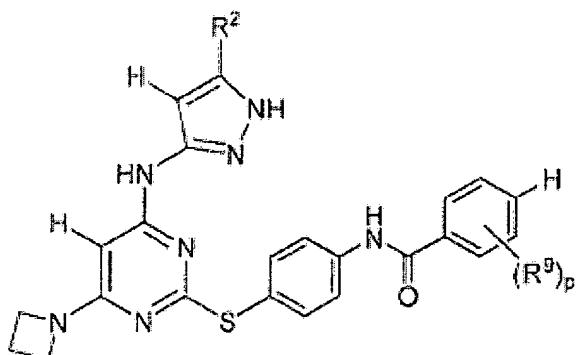
Diversos estudos demonstram agora que a depleção ou 30 inibição de Aurora-A ou -B nas linhagens de células cancerosas humanas pelo siRNA, anticorpos negativos dominantes ou anticorpos neutralizantes interrompe o progresso através de mitose com o acúmulo de células com 4N DNA, e, em alguns casos, isso 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, tais como estabilidade em microssomos hepáticos 5 humanos. 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 10 farmaceuticamente aceitáveis que são úteis como inibidores das proteínas Aurora quinase. Esses compostos são representados pela fórmula I:



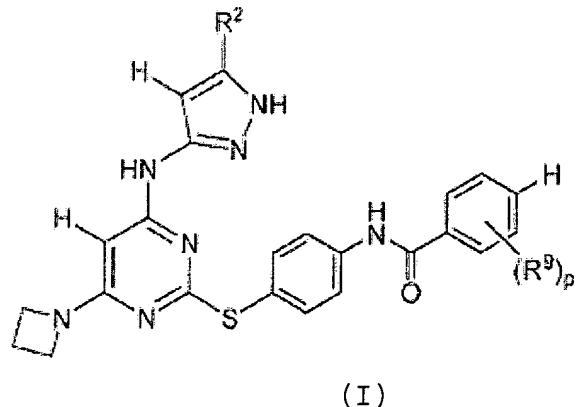
(I)

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, onde R<sup>2</sup>, 15 R<sup>9</sup>, e p são conforme aqui definido.

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 20 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 25 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;

$R^9$  é halo, alquila  $C_{1-3}$ ,  $-O-$ (alquila  $C_{1-3}$ ),  $-S-$ (alquila

5  $C_{1-3}$ ),  $-OCF_3$  ou  $CF_3$ ;

e  $p$  é 1-2.

Em algumas concretizações,  $R^2$  é metila.

Em outras concretizações,  $p$  é 1.

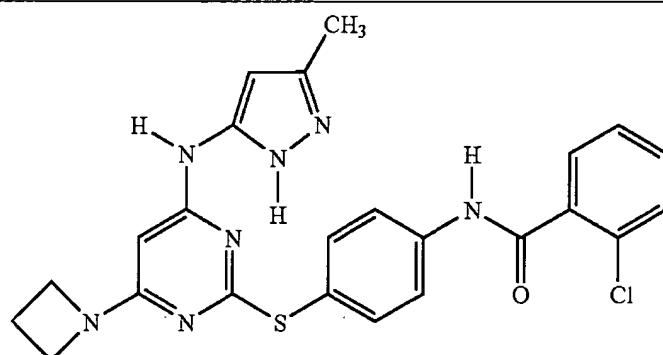
Em algumas concretizações,  $R^9$  é substituído na posição  
10 orto.

Em alguns aspectos,  $R^9$  é  $CF_3$ , halo, alquila  $C_{1-3}$ , ou  $-S-$ (alquila  $C_{1-3}$ ). Em algumas concretizações,  $R^9$  é F, Cl, ou  $CF_3$ .

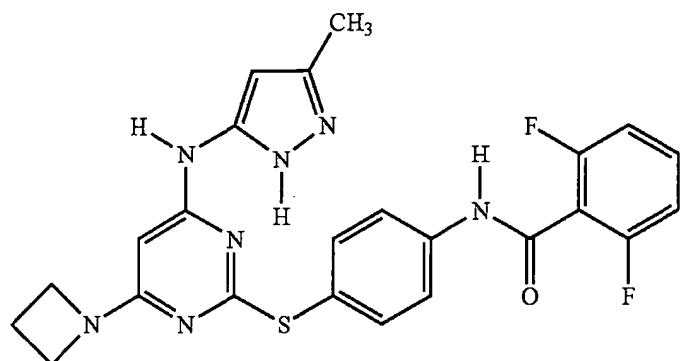
Um aspecto provê um composto selecionado da Tabela 1 (ou

15 um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo);

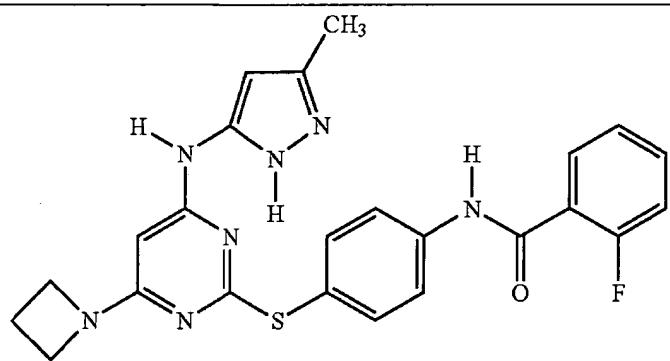
Tabela 1



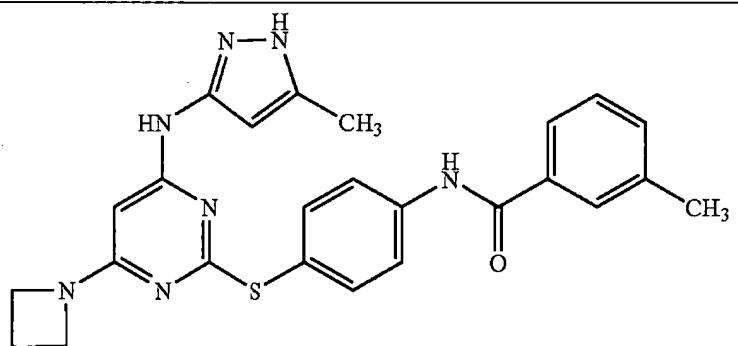
I-1



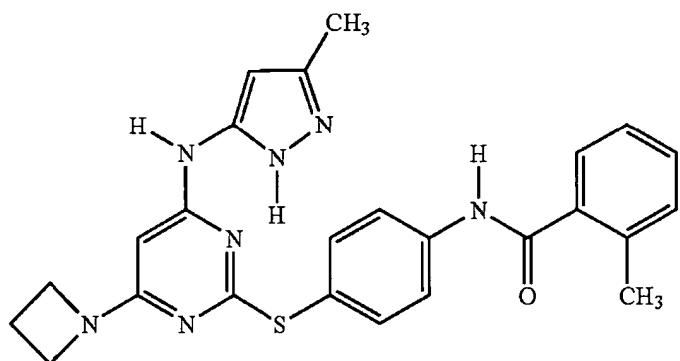
I - 2



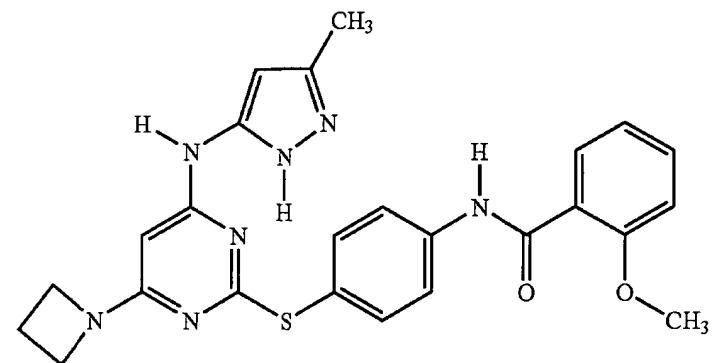
I - 3



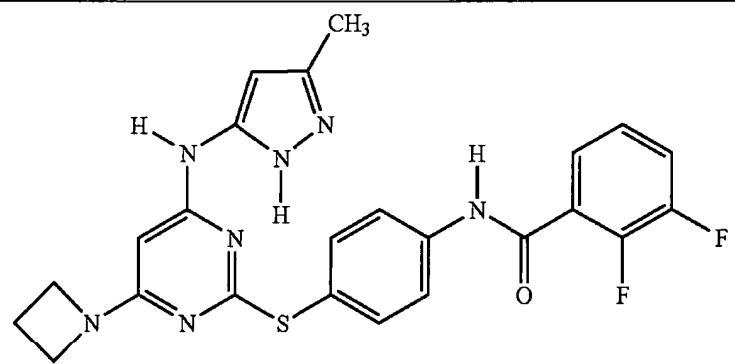
I - 4



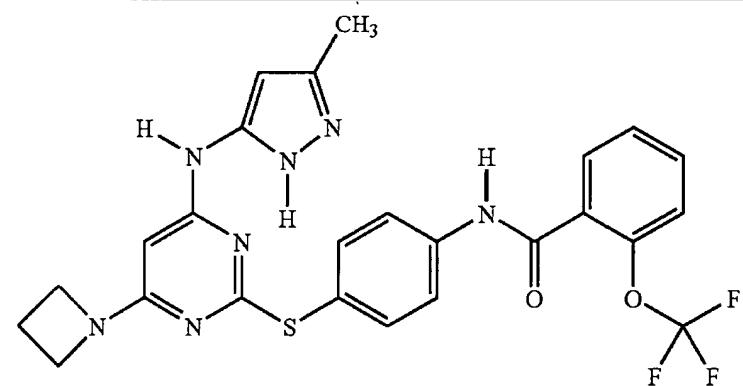
I-5



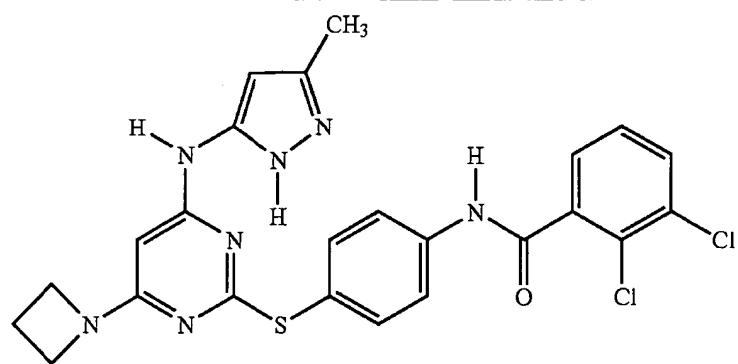
I - 6



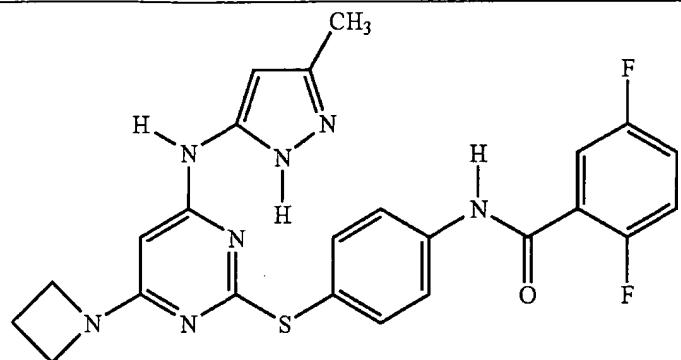
I - 7



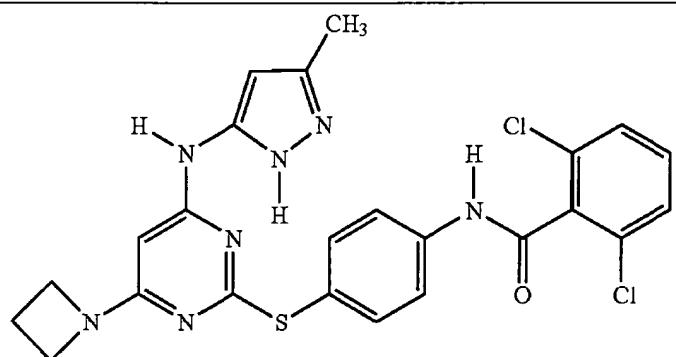
I - 8



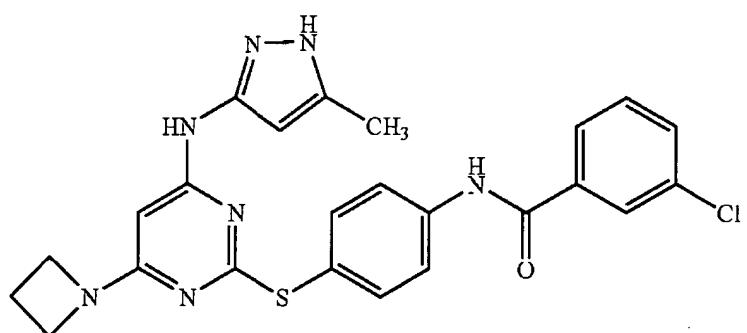
I - 9



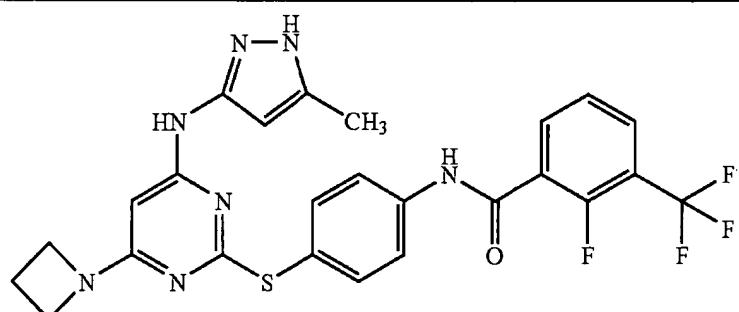
I-10



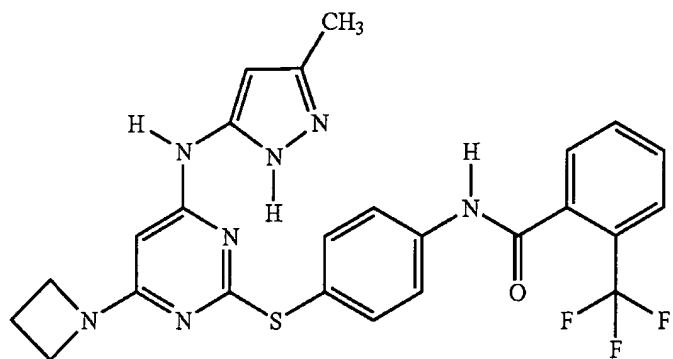
I-11



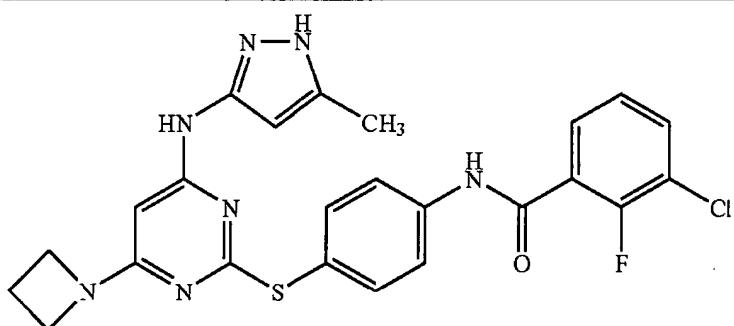
I-12



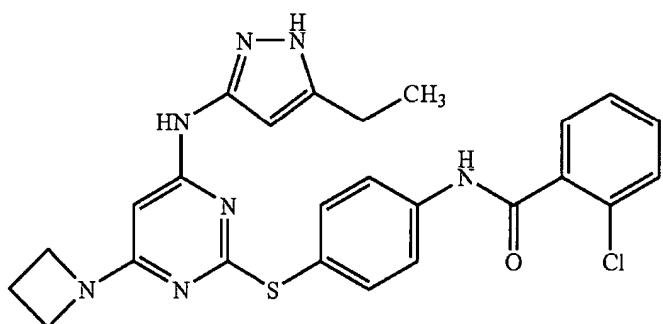
I-13



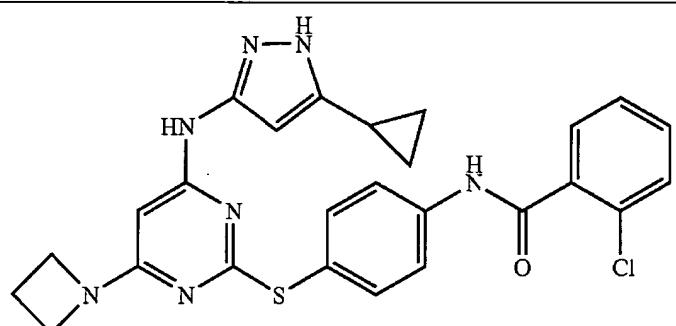
I - 14



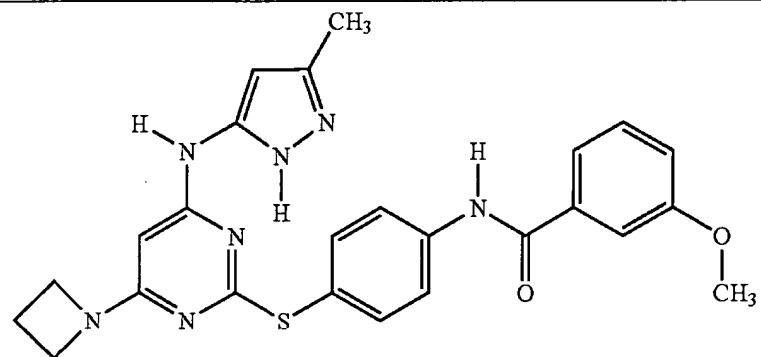
I - 15



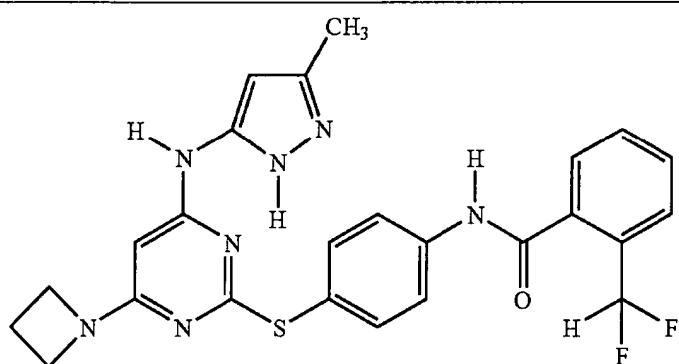
I - 16



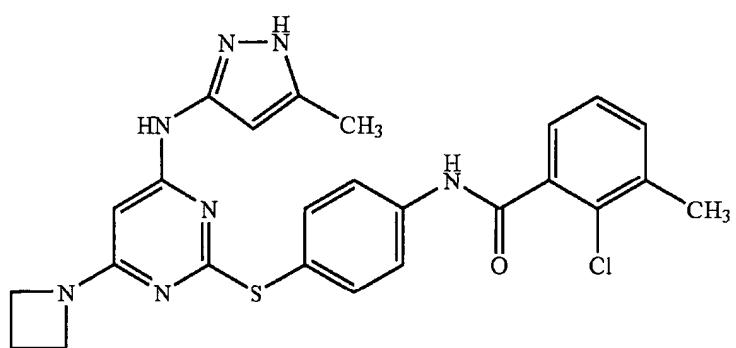
I - 17



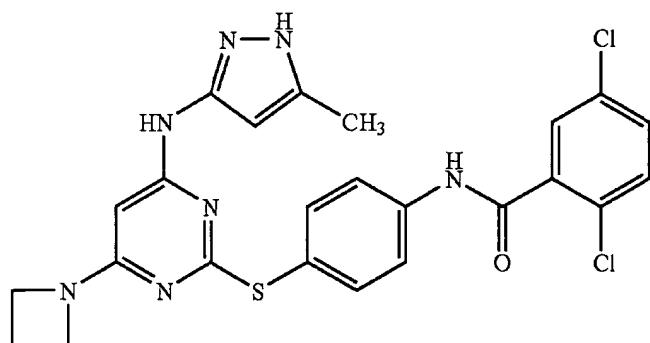
I-18



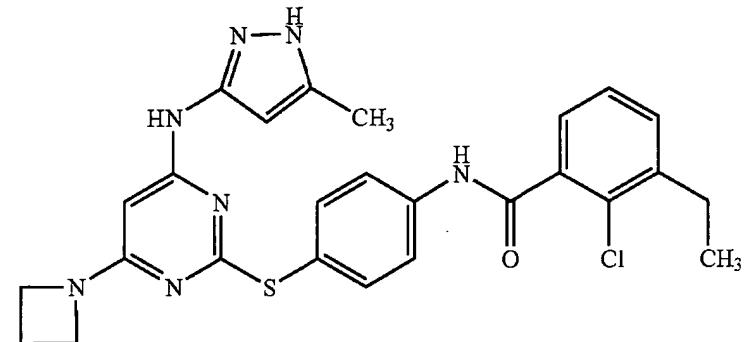
I-19



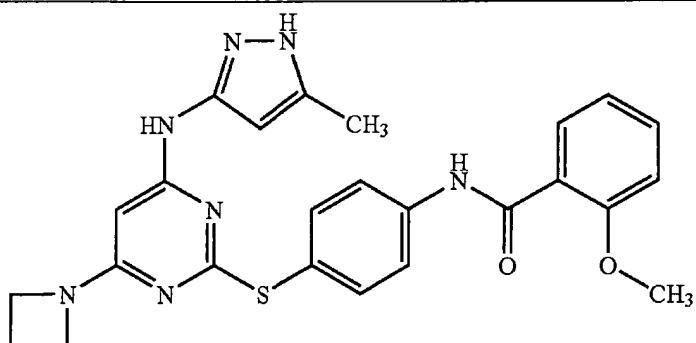
I-20



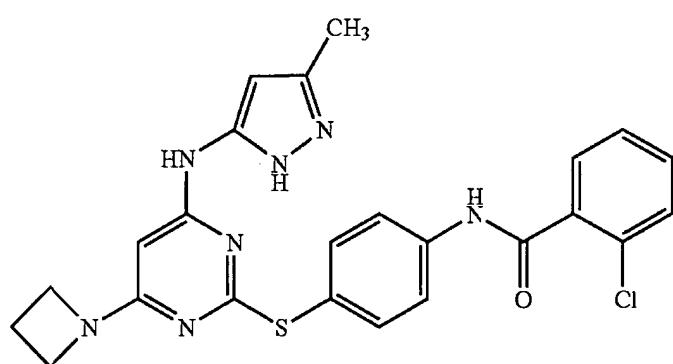
I-21



I-22



I-23



I-24

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*, 5 75<sup>th</sup> Ed. 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", 10 5<sup>th</sup> Ed., 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

5 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

10 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

15 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

20 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

25 estáveis ou quimicamente viáveis.

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

30 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

35 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  $\text{CF}_3$ .

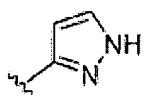
O termo "halogênio" significa F, Cl, Br, ou I.

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

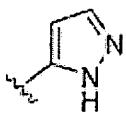
exemplificadas acima, e certos grupos nitrogênio protetores representativos são também detalhados no Capítulo 7 em Greene, Y.W., Wuts, P.G. em "Protective Groups in Organic Synthesis", Third Edition, John Wiley & Sons, New York: 1999, cujo conteúdo foi aqui incorporado por referência.

Salvo se indicado de outra forma, as estruturas aqui descritas também pretendem incluir todas as formas isoméricas (ex: enantioméricas, diastereoméricas, e 10 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 15 enantioméricas, diastereoméricas e geométricas (ou conformacionais) dos compostos da presente invenção estão incluídas no escopo da invenção.

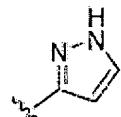
Salvo se indicado de outra forma, todas as formas tautoméricas dos compostos da invenção estão incluídas no escopo da presente invenção. Conforme é entendido pelo habilitado na técnica, um grupo pirazol pode ser representado em uma variedade de formas. Por exemplo, uma estrutura representada como



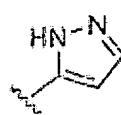
também representa outros tautômeros possíveis, tais como



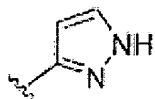
25 Da mesma forma, uma estrutura representada como



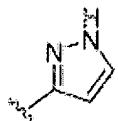
também representa outros tautômeros possíveis, tais como



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



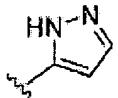
5 também representa



Da mesma forma, um substituinte representado como



também representa



Adicionalmente, salvo se indicado de outra forma, as estruturas aqui representadas, também pretendem incluir

10 compostos que diferem somente quanto à presença de um ou mais átomos isotopicamente enriquecidos. Por exemplo, os compostos que possuem as estruturas da presente invenção, exceto quanto à substituição de hidrogênio com deutério ou trítio, ou a substituição de um carbono com um carbono 15  $^{13}\text{C}$  ou  $^{14}\text{C}$  enriquecido também estão incluídos no escopo da presente invenção. Tais compostos são úteis, por exemplo, como ferramentas ou sondas analíticas em ensaios biológicos.

Os compostos da presente invenção podem ser preparados à 20 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 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.

São utilizadas as seguintes abreviações:

DIPEA é diisopropiletilamina

10 DMF é dimetilformamida

n-BuOH é n-butanol

t-BuOH é ter-butanol

MeOH é metanol

EtOAc é acetato de etila

15 TFA é ácido trifluoroacético

DMSO é dimetil sulfóxido

Rt é tempo de retenção

DCM é diclorometano

MeCN é acetonitrila

20 THF tetrahidrofurano

TBTU é tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio

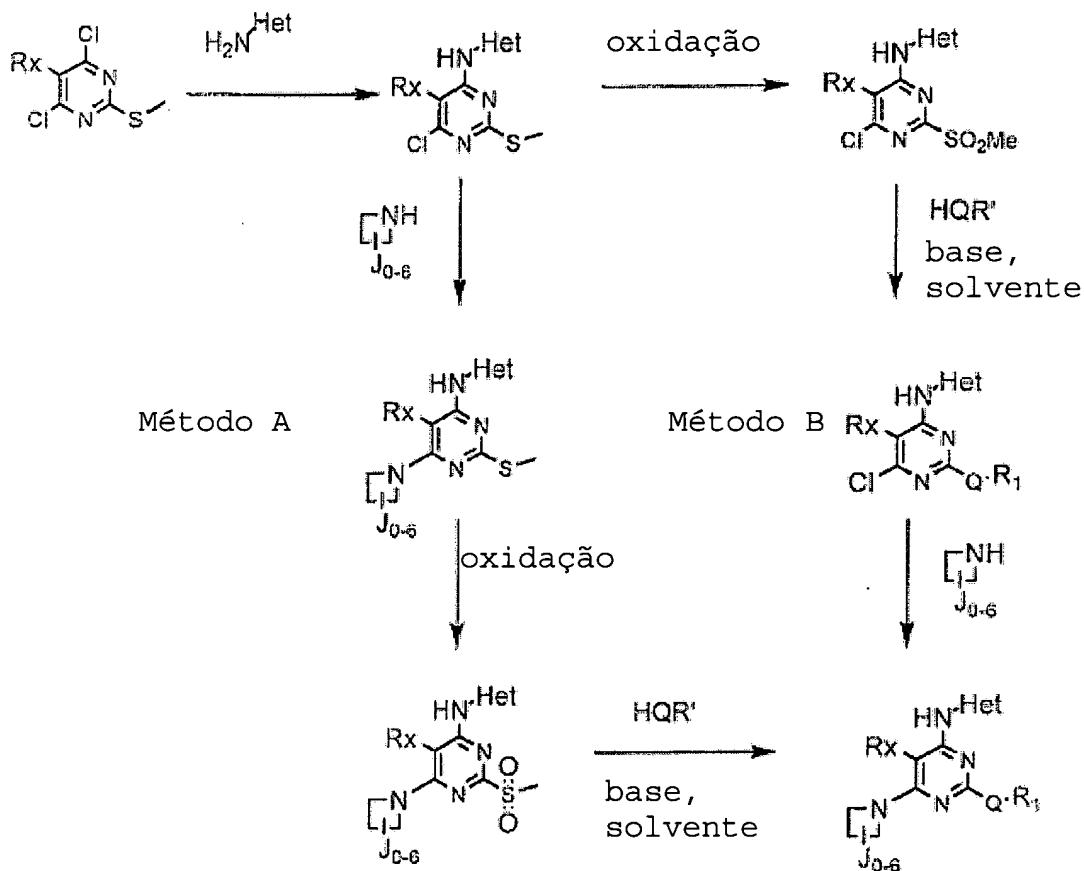
HPLC é cromatografia líquida de alto desempenho

LCMS espectrometria de massa acoplada à cromatografia

25 líquida

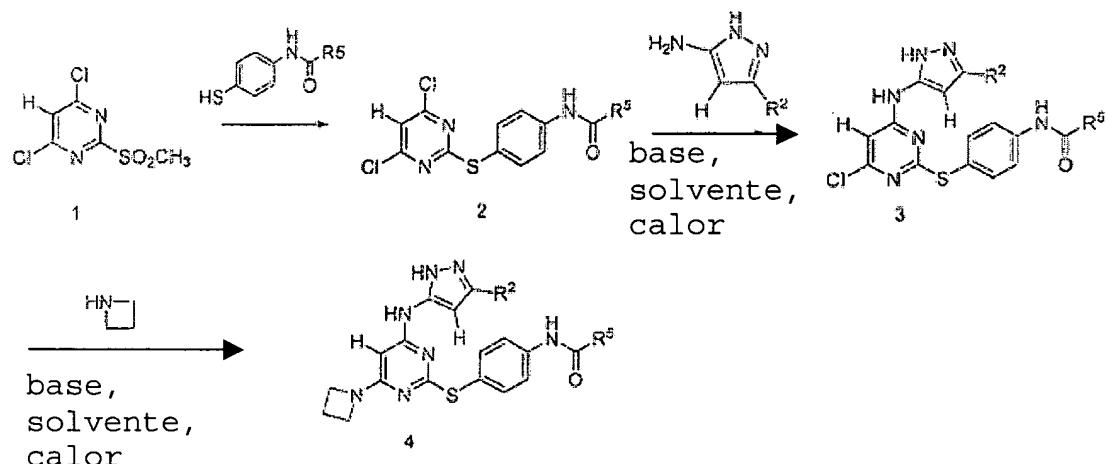
<sup>1</sup>H NMR é ressonância magnética nuclear

## Esquema Geral



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

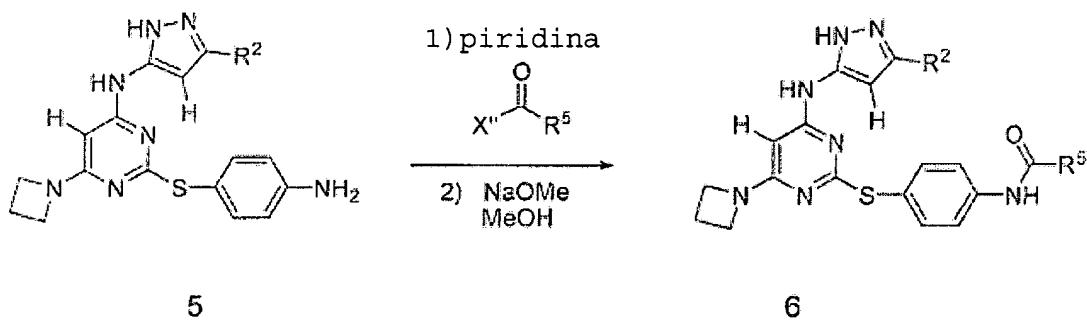
## Esquema I



- 5 O Esquema I acima mostra uma via geral para a preparação de compostos da fórmula 4 (no Esquema I), onde as variáveis são conforme aqui definidas. A pirimidina diclorada da fórmula 1 é combinada com HQ-R<sup>1</sup> 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 R<sup>2</sup> e R<sup>5</sup> são conforme aqui definidos. 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, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, e dioxano.

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

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.

5 A atividade dos compostos como inibidores de proteína 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  
10 alternados *in vitro* quantificam a capacidade de o 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  
15 experimento competitivo no qual novos inibidores são 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  
20 comprehende contatar dita amostra biológica com um 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  
25 extratos; material biopsiado obtido de um mamífero ou 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  
30 habilitado na técnica. Exemplos de tais objetivos 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. 5 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 10 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 15 desempenhar alguma função. Tais condições incluem, sem limitação, câncer, distúrbios proliferativos, e distúrbios mieloproliferativos.

Exemplos de distúrbios mieloproliferativos incluem, porém 20 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 25 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 30 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,

insulinoma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinóides, vipoma), intestino grosso e delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinóides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), 5 intestino grosso (adenocarcinoma, adenoma tubular, 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, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículo (seminoma, teratoma, carcinoma embrionário, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma celular intersticial, carcinoma, fibroma, fibroadenoma, 15 tumores adenomatóides, lipoma); Fígado: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangiona, vias biliares; Ósseo: sarcoma osteogênico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso 20 maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de célula reticular), mieloma múltiplo, tumor maligno de célula gigante, cordoma, osteocondroma, (exostoses osteocartilaginosas), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteóide e 25 tumores de célula gigante; Sistema Nervoso Central: Esqueleto (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteíte deformante), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatose), cérebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma, 30 [pinealoma], glioblastoma multiforme, oligodendrogioma, 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 35 classificado], tumores de células granulosas-tecais,

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 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 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: 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, 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. 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 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 5 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" 10 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 15 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 20 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 25 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 30 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 35 sem toxicidade, irritação, resposta alérgica indevidas e similares, e são proporcionais à razoável relação risco/benefício.

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 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, benzenossulfonato, bissulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanossulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, glicolato, hemissulfato, heptanoato, hexanoato, cloridrato, bromidrato, iodidrato, 2-hidroxietanossulfonato, lactato, maleato, malonato, metanossulfonato, 2-naftalenossulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, palmoáto, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, 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 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.

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, 5 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, 10 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 15 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, 20 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 25 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, 30 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, topicalmente, retalmente, 35 nasalmente, bucalmente, vaginalmente ou através de um reservatório implantado. O termo "parenteral", conforme aqui utilizado, inclui injeção subcutânea, intravenosa,

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

5 Formas injetáveis estéreis das composições da presente 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 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 10 estão a água, solução de Ringer e solução isotônica de 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 15 sintéticos. Ácidos graxos, tais como ácido oleico e seus 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 20 polioxietiladas. Essas soluções ou suspensões oleosas 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 25 farmaceuticamente aceitáveis incluindo emulsões e 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 30 sólidas, líquidas ou outras formas de dosagem farmaceuticamente aceitáveis podem também ser usados para fins da formulação.

- 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 5 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 10 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.
- 15 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 20 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 25 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 30 cada uma dessas áreas ou órgãos.
- 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 topicalmente podem também ser usados.
- 35 Para aplicações tópicas, as composições farmacêuticas podem ser formuladas numa pomada apropriada contendo o componente ativo suspenso ou dissolvido em um ou mais

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, 5 polioxietileno, polioxipropileno, cera emulsificante e 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. 10 Portadores apropriados podem incluir, porém não se 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 15 ser formuladas na forma de suspensões micronizadas em 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 20 composições farmacêuticas podem ser formuladas numa 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 25 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.

30 A quantidade de inibidor de quinase que pode ser 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 35 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.

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.

5 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, 10 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.

15 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.

20 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 25 aguda (APL), leucemia mielógena crônica (CML), ou leucemia linfocítica aguda (ALL).

30 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), leucemia mielomonocítica crônica, síndrome hipereosinofílica, leucemia mielomonocítica juvenil e doença mastocitária sistêmica.

35 Em outras concretizações ainda, dito método é utilizado para tratar ou prevenir câncer, tais como câncer de mama, colón, próstata, pele, pâncreas, cérebro, trato genito-urinário, sistema linfático, estômago, laringe e pulmão,

incluso adenocarcinoma pulmonar, câncer pulmonar de pequenas células, e câncer pulmonar não de pequenas células.

Outra concretização provê um método para tratar ou 5 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 10 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, Arg, FGFR1, MELK, MuSK, Ret, ou TrkA.

15 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.

20 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 25 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 30 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 20 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, 25 radioterapia (em alguns exemplos, radiação gama, 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 30 (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 35 alquilantes (mecloretamina, clorambucil, ciclofosfamida, Melfalan, Ifosfamida), antimetabólitos (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,  
 5 Bleomicina, Mitomicina), nitrosouréias (Carmustina,  
 Lomustina), íons inorgânicos (Cisplatina, Carboplatina),  
 enzimas (Asparaginase), e hormônios (Tamoxifeno,  
 Leuprolida, Flutamida, e Megestrol), Gleevec™,  
 dexametasona, e ciclofosfamida.

10 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®); Alemtuzumabb (Campath®); alitretinoína (Panretin®); alopurinol  
 15 (Zyloprim®); altretamina (Hexalen®); amifostina (Ethyol®); anastrozol (Arimidex®); trióxido arsênico (Trisenox®); asparaginase (Elspar®); azacitidina (Vidaza®); bevacuzimab (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  
 20 Implantante (Gliadel Wafer®); celecoxibe (Celebrex®); cetuximabe (Erbitux®); clorambucil (Leukeran®); cisplatina (Platinol®); cladribina (Leustatin®, 2-CdA®); clofarabina (Clolar®); ciclofosfamida (Cytoxan®, Neosar®); ciclofosfamida (Cytoxan Injection®); ciclofosfamida  
 25 (Cytoxan Tablet®); citarabina (Cytosar-U®); citarabina liposomal (DepoCyt®); dacarbazina (DTIC-Dome®); dactinomicina, actinomicina D (Cosmegen®); Darbepoetin alfa (Aranesp®); daunorubicina lipossômica (Danuoxome®); daunorubicina, daunomicina (Daunorubicin®);  
 30 daunorubicina, daunomicina (Cerubidine®); Denileukin diftitox (Ontak®); dextrazoxano (Zinecard®); docetaxel (Taxotere®); doxorubicina (Adriamycin PFS®); doxorubicina

(Adriamycin®, Rubex®); doxorubicina (Adriamycin PFS Injection®); doxorubicina lipossômica (Doxil®); propionato de dromostanolona (dromostanolone®); propionato de dromostanolona (Masterone injection®);

5 Solução de Elliott's B (Elliott's B Solution®); epirubicina (Ellence®); Epoetina alfa (epogen®); erlotinibe (Tarceva®); estramustina (Emcyt®); fosfato de etoposídeo (Etopophos®); etoposídeo, VP-16 (Vepesid®); exemestano (Aromasin®); Filgrastim (Neupogen®);

10 floxuridina (intraarterial) (FUDR®); fludarabina (Fludara®); fluorouracil, 5-FU (Adrucil®); fulvestrant (Faslodex®); gefitinibe (Iressa®); gemcitabina (Gemzar®); gemtuzumab ozogamicina (Mylotarg®); acetato de goserelina (Zoladex Implant®); acetato de goserelina (Zoladex®);

15 acetato de histrelina (Histrelin implant®); hidroxiuréia (Hydrea®); Ibrutumomab Tiuxetan (Zevalin®); idarubicina (Idamycin®); ifosfamida (IFEX®); mesilato de imatinibe (Gleevec®); interferon alfa 2a (Roferon A®); Interferon alfa-2b (Intron A®); irinotecan (Camptosar®);

20 lenalidomida (Revlimid®); letrozol (Femara®); leucovorin (Wellcovorin®, Leucovorin®); Acetato de Leuprolide (Eligard®); levamisol (Ergamisol®); lomustina, CCNU (CeeBU®); mecloretamina, mostarda de nitrogênio (Mustargen®); acetato de megestrol (Megace®); melfalan,

25 L-PAM (Alkeran®); mercaptopurina, 6-MP (Purinethol®); 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®);

30 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®); pemetrexed dissódico (Alimta®); pentostatina (Nipent®); pipobroman (Vercyte®);

plicamicina, mitramicina (Mithracin®); porfimer sódico (Photofrin®); procarbazina (Matulane®); quinacrina (Atabrine®); Rasburicase (Elitek®); Rituximab (Rituxan®); sargramostim (Leukine®); Sargramostim (Prokine®); 5 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 10 (Hycamtin®); toremifeno (Fareston®); Tositumomab (Bexxar®); Tositumomab/I-131 tositumomab (Bexxar®); Trastuzumab (Herceptin®); tretinoína, ATRA (Vesanoid®); Uracil Mustard (Uracil Mustard Capsules®); valrubicina (Valstar®); vinblastina (Velban®); vincristina 15 (Oncovin®); vinorelbina (Navelbine®); zoledronato (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 20 <http://www.fda.gov/cder/cancer/druglistframe.htm>, and The 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.

25 Os agentes adicionais podem ser administrados 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 30 inibidor de quinase numa composição única.

Para que a presente invenção seja melhor compreendida, os 35 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

Conforme aqui utilizado, o termo "Rt(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

5 o seguinte:

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

10 Detecção: 225 nm.

Amostras de espectrometria de massa foram analisadas num espectrômetro de massa MicroMass Quattro Micro operado num modo MS simples com ionização por eletropulverização.

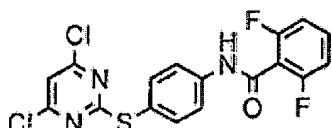
As amostras foram introduzidas no espectrômetro de massa utilizando cromatografia. A fase móvel para todas as análises de espectrometria de massa consistia de 10 mM acetato de amônio pH 7 e uma mistura 1:1 de acetonitrila-

15 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 C8 3,0 x 75 mm. Taxa de escoamento foi de 1,2 ml/min.

Os espectros <sup>1</sup>H-NMR foram registrados a 400 MHz utilizando um instrumento Bruker DPX 400. Os compostos seguintes de fórmula I foram preparados e analisados como

25 segue.

Exemplo 1

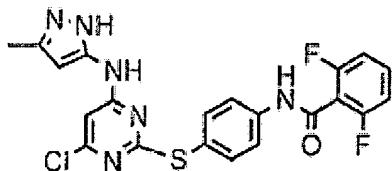


2,6-Difluoro-N- [4- (4,6-dicloro-pirimidin-2-ilsulfanil)-fenil]-benzamida:

Um frasco de fundo redondo de 250ml equipado com um condensador foi carregado com 4,6-dicloro-2-metanossulfonil pirimidina (4.2g, 18.8mmol), 2,6-difluoro-N- (4-mercaptop-fenil)benzamida (4.98g, 18.8mmol) e ter-butanol (75ml) sob nitrogênio. A mistura de reação foi totalmente degasificada e então aquecida a 90°C

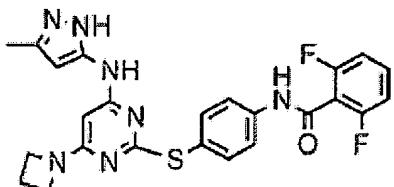
durante 2h. A mistura de reação foi deixada esfriar até atingir temperatura ambiente e concentrada em vácuo. O resíduo sólido foi recolhido em acetato de etila (50 ml) e lavado com solução saturada de bicarbonato de sódio e salmoura. A camada orgânica foi secada sobre sulfato de magnésio, filtrada e concentrada até que o produto começasse a precipitar. A mistura foi então resfriada e envelhecida durante 12 horas. O produto foi coletado por filtração, lavado com acetato de etila frio e secado o que deu o composto título na forma de um sólido esbranquiçado (2.7g, 35%).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO) 7.32 (2H, m), 7.61 (3H, m), 7.79 (1H, s), 7.82 (2H, d), 10.9 (1H, s). MS (ES+): 412.19

Exemplo 2



15 2,6-Difluoro-N- {4- [4- cloro-6- (5-metil-2H-pirazol-3-ilamino)-pirimidin-2-ilsulfanil]-fenil}-benzamida:  
Um frasco de fundo redondo de 50 ml foi carregado com 2,6-difluoro-N- [4- (4,6-dicloro-pirimidin-2-ilsulfanil)-fenil]-benzamida (1.0g, 2.3mmol), 5-metil-2H-pirazol-3-ilamina (250mg, 2.58mmol), iodeto de sódio (351mg, 2.34mmol), diisopropiletil amina (333mg, 2.58mmol) e dimetilformamida (5ml) sob nitrogênio. A mistura de reação foi agitada a 90°C durante 18 h, então deixada resfriar até atingir temperatura ambiente. A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (25 ml), lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio e salmoura. A camada orgânica foi secada sobre sulfato de magnésio, filtrada e concentrada em vácuo. O composto foi purificado através de cromatografia de flasheamento ((75 a 80% acetato de etila/petrol) para dar o composto título (1.08g, 98%).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO) 2.00 (3H, s), 5.25 (1H, brs), 6.48 (1H, brs), 7.30-7.97 (7H, m), 10.28 (1H, s), 10.89 (1H, s), 11.90 (1H, s); MS (ES+): 473.4.

## Exemplo 3



*N*-{4-[4-Azetidin-1-il-6-(5-metil-2H-pirazol-3-ilamino)-pirimidin-2-ilsulfanil]-fenil}-2,6-Difluoro-benzamida:  
(Composto I-2)

5 Um frasco de fundo redondo de 10 ml foi carregado com 2,6-difluoro-*N*-{4-[4-cloro-6-(5-metil-2H-pirazol-3-ilamino)-pirimidin-2-ilsulfanil]-fenil}-benzamida (150mg, 0.31mmol), azetidina (35mg, 0.62mmol), diisopropil etilamina (80mg, 0.62mmol) e n-butanol (1.5ml). A mistura 10 de reação foi agitada a 80°C durante 4h, então resfriada e concentrada em vácuo. O composto foi purificado através de HPLC preparatória (MeCN/água + 0.05% TFA 10/90 para 100/0 durante 10 min) para dar o composto título como o sal de ácido trifluoroacético (54 mg, 29%).

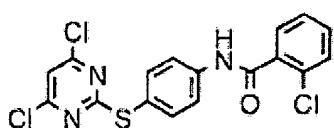
15 1H NMR (DMSO) 2.05 (3H, s), 2.25-2.36 (2H, m), 3.70-3.98 (4H, m, mascarado), 5.31 (1H, s), 5.52 (1H, brs), 7.39 (2H, m), 7.46-7.67 (3H, m), 7.79 (2H, d), 9.35 (1H, brs), 11.04 (1H, s), 11.80 (1H, brs); MS (ES+): 494.5.

A Tabela 2 abaixo exibe os dados para compostos 20 preparados de acordo com o método descrito no Esquema I e nos Exemplos 1-3. Os números do composto correspondem aos compostos exibidos na Tabela 1.

Tabela 2

Composto No.	M+1 (obs)	1H NMR	Rt (mins)
I-3	476.5	(DMSO-d6): 2.01 (3H, s), 2.32 (2H, m), 3.77-3.94 (4H, m), 5.39 (1H, s), 5.55 (1H, brs), 7.30-7.41 (2H, m), 7.45-7.70 (4H, m), 7.79-7.90 (2H, m), 9.25 (1H, brs), 10.68 (1H, s), 11.68 (1H, brs)	8.99

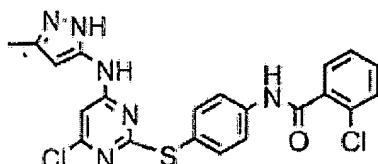
## Exemplo 4



2-Cloro-N-[4-(4,6-dicloro-pirimidin-2-ilssulfanil)-fenil]-benzamida:

Um frasco de fundo redondo de 250 ml foi carregado com 4,6-dicloro-2-metanossulfonilpirimidina (7.00 g, 26.6 mmol), 2-cloro-N-(4-mercaptop-fenil)-benzamida (6.33 g, 27.9 mmol) e acetonitrila (100 mL) sob nitrogênio. Uma vez dissolvido o sólido, a mistura de reação foi resfriada até 0°C e trietilamina (3,7 ml, 26,6 mmol) foi adicionada gota a gota. A solução foi agitada a 0° C durante 10 minutos e então deixada aquecer até temperatura ambiente e agitada durante 1 hora. Após esse tempo, água (50 ml) foi adicionada e um sólido branco precipitou e a mistura de reação foi agitada por mais 4 horas. Após esse período, a mistura de reação foi filtrada e o sólido lavado com acetonitrila (2 x 10 mL) para dar o composto título na forma de um sólido branco (8.03 g, 74%).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO) 7.4-7.6 (5H, m), 7.7 (1H, s), 7.80-7.85 (2H, d), 10.9 (1H, s). MS (ES+): 412

Exemplo 5

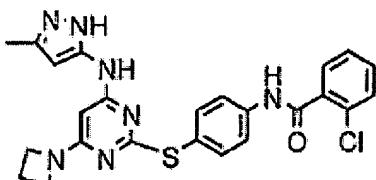


20 2-Cloro-N-[4-(4-chloro-6-(5-metil-2H-pirazol-3-ilamino)-pirimidin-2-ilssulfanil)-fenil]-benzamida:

Um frasco de fundo redondo de 250 ml foi carregado com 2-cloro-N-[4-(4,6-dicloro-pirimidin-2-ilssulfanil)-fenil]-benzamida (12.5 g, 30.4 mmol), 5-metil-2H-pirazol-3-ilamina (3.55 g, 36.5 mmol), iodeto de sódio (4.56 g, 30.4 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (6.9 mL, 40.0 mmol) e *N,N*-dimetilformamida (125 mL) sob nitrogênio. A mistura de reação foi agitada a 90°C durante 5h, e então deixada resfriar até temperatura ambiente. Água (600 ml) foi adicionada e a suspensão resultante agitada à temperatura ambiente durante 2 horas e o sólido coletado por filtração e secado. O sólido branco resultante foi triturado com acetato de etila quente (50 ml), filtrado e

lavado com acetato de etila (1 x 20 ml) para dar o composto título na forma de um sólido branco (11,76g, 82%).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO): 2.16 (3H, s), 5.30 (1H, s), 6.48 (1H, s), 7.49-7.62 (6H, m), 7.89 (2H, m), 10.28 (1H, s), 10.84 (1H, s), 11.93 (1H, s); MS (ES+): 471.

Exemplo 6



*N*-(4-[4-Azetidin-1-il-6-(5-metil-2H-pirazol-3-ilamino)-pirimidin-2-ilssulfanil]-fenil)-2-cloro-benzamida:

10 (Composto I-1)

Um frasco de fundo redondo de 500 ml foi carregado com 2-cloro-*N*-(4-[4-cloro-6-(5-metil-2H-pirazol-3-ilamino)-pirimidin-2-ilssulfanil]-fenil)-benzamida (16.0 g, 34.0 mmol), azetidina (3.87 g, 68.0 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (13.0 mL, 74.7 mmol) e *n*-butanol (250 mL). A mistura de reação foi agitada a 90°C durante 5 h. A mistura de reação foi resfriada e concentrada em vácuo. Dietil éter (200 ml) foi adicionado e houve precipitação de um sólido marrom claro. A solução foi filtrada e o sólido recristalizado de etanol para dar o produto puro na forma de um sólido branco (9.42 g, 52%)  $^1\text{H}$  NMR (DMSO): 2.04 (3H, s), 2.32 (2H, m), 3.87 (4H, m), 5.39 (1H, s), 5.66 (1H, br s), 7.48-7.59 (6H, m), 7.82 (2H, m), 9.87 (1H, s), 10.74 (1H, s), 11.68 (1H, s); MS (ES+): 492.

Outro método utilizado para preparar o Exemplo 6 é descrito abaixo.

A uma suspensão de 2-cloro-*N*-(4-[4-cloro-6-(5-metil-2H-pirazol-3-ilamino)-pirimidin-2-ilssulfanil]-fenil)-benzamida (169 g, 0.36 mol) em 2-propanol (1.3 L) azetidina (100 g, 1.76 mol) foi adicionado em porções. A mistura de reação foi aquecida a 80-82°C. Após 24 horas, di-isopropiletilamina (73.4 g, 0.57 mol) foi adicionado. O progresso da reação foi monitorado por HPLC. A mistura

de reação foi concentrada sob pressão reduzida até secagem, submetida à azeotropia com metanol três vezes (3 x 650 ml), agitada durante 2 horas em metanol (1L) a 40°C, e resfriada até 10°C. O sólido esbranquiçado 5 resultante foi filtrado. O material isolado foi transformado em pasta refluxando-se acetonitrila durante 3 horas, resfriado a 20-25°C, filtrado e secado em forno a vácuo da noite para o dia. O material foi transformado em pasta novamente refluxando-se acetonitrila durante 3 10 horas, resfriado a 20-25°C, e filtrado. O material foi deixado secar até que apresentasse peso constante. O produto desejado foi isolado na forma de um sólido esbranquiçado (154 g, 86%).

A Tabela 3 abaixo mostra dados para certos compostos 15 representativos preparados de acordo com o método descrito no Esquema I e nos Exemplos 4-6. Os números dos compostos correspondem aos compostos descritos na Tabela 1.

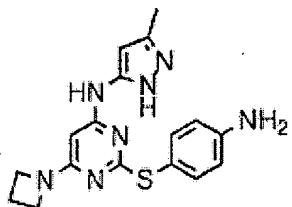
Tabela 3

Composto No.	M+1 (obs)	1H NMR	Rt (mins)
I-5	473	(DMSO-d6) : 2.07 (3H, s), 2.30 (2H, m), 2.39 (3H, s), 3.91 (4H, m), 5.40 (1H, s), 5.58 (1H, brs), 7.35 (2H, m), 7.40 (2H, m), 7.55 (2H, d), 7.89 (2H, d), 9.21 (1H, brs), 10.55 (1H, brs), 11.68 (1H, s)	9.20
I-6	488.5	(DMSO-d6) : 2.07 (3H, s), 2.31 (2H, m), 3.82-3.94 (7H, m), 5.40 (1H, s), 5.56 (1H, brs), 7.08 (1H, m), 7.19 (1H, d), 7.42-7.61 (4H, m), 7.87 (2H, d), 9.21 (1H, brs), 10.34 (1H, brs), 11.68 (1H, brs)	9.24
I-7	495	(DMSO-d6) : 2.05 (3H, s), 2.35 (2H, m), 3.98 (4H, m), 5.40 (1H, s), 5.54 (1H, brs), 7.38 (1H, m), 7.49 (1H, m), 7.59 (2H, d), 7.64 (1H, m), 7.83 (2H, d), 9.50 (1H, brs), 10.80 (1H, brs), 11.6 (1H, brs)	9.22

I-8	543	(DMSO-d6): 2.09 (3H, s), 2.38 (2H, m), 3.95 (4H, m), 5.46 (1H, s), 5.60 (1H, brs), 7.49-7.63 (4H, m), 7.70 (2H, m), 7.88 (2H, d), 9.49 (1H, brs), 10.75 (1H, brs), 11.6 (1H, brs)	9.46
I-9	526	(DMSO-d6): 2.05 (3 H, s), 2.34-2.27 (2 H, m), 3.91 (4 H, t), 5.41 (1 H, s), 5.60 (1 H, br s), 7.58-7.50 (4 H, m), 7.83-7.79 (3 H, m), 9.37 (1 H, br s), 10.83 (1 H, s)	9.55
I-10	494	(DMSO-d6): 2.02 (3 H, s), 2.34-2.27 (2 H, m), 3.92-3.88 (4 H, m), 5.38 (1 H, s), 5.58 (1 H, br s), 7.49-7.43 (2 H, m), 7.58-7.53 (3 H, m), 7.82 (2 H, d), 9.36 (1 H, br s), 10.75 (1 H, s)	9.26
I-11	526	(DMSO-d6): 2.05 (3 H, s), 2.34-2.27 (2 H, m), 3.91 (4 H, t), 5.46 (1 H, s), 5.59 (1 H, br s), 7.62-7.51 (5 H, m), 7.79 (2 H, d), 9.38 (1 H, br s), 10.98 (1 H, s)	9.52
I-12	492.52	(DMSO-d6): 1.99 (3H, s), 2.33 (2H, m), 3.89 (4H, m), 5.39 (1H, s), 5.60 (1H, br s), 7.58 (3H, m), 7.69 (1H, d), 7.91 (3H, m), 8.00 (1H, d), 9.24 (1H, s), 10.56 (1H, s), 11.77 (1H, s)	9.598
I-13	544.59	(DMSO-d6): 2.03 (3H, s), 2.34 (2H, m), 3.89 (4H, m), 5.37 (1H, s), 5.56 (1H, br s), 7.57 (3H, m), 7.82 (2H, s), 7.99 (2H, m), 9.42 (1H, s), 10.90 (1H, s), 11.90 (1H, s)	9.636
I-14	526.61	(DMSO) 2.05 (3H, s), 2.33 (2H, m), 3.96 (4H, m), 5.48 (1H, s), 5.60 (1H, brs), 7.58 (2H, d), 7.62-7.92 (6H, m), 9.54 (1H, brs), 10.84 (1H, brs).	9.16

I-15	-	(DMSO-d6): 2.02 (3H, s), 2.33 (2H, m), 3.90 (4H, m), 5.36 (1H, s), 5.55 (1H, br s), 7.41 (1H, t), 7.58 (2H, d), 7.62 (1H, m), 7.78 (3H, m), 9.35 (1H, s), 10.67 (1H, s), 11.83 (1H, s)	9.451
I-16	506.55	(DMSO-d6): 107 (3H, t), 2.29 (2H, m), 2.42 (2H, m), 3.17 (3H, s), 3.88 (4H, m), 4.11 (1H, m), 5.47 (1H, s), 5.66 (1H, br s), 7.56 (6H, m), 7.81 (2H, d), 9.23 (1H, s), 10.71 (1H, s), 11.74 (1H, s)	9.232
I-17	518.64	(DMSO-d6): 0.54 (2H, m), 0.84 (2H, m), 1.71 (1H, m), 2.31 (2H, m), 3.17 (3H, d), 3.87 (4H, m), 4.12 (1H, m), 5.49 (1H, s), 5.72 (1H, br s), 7.54 (6H, m), 7.83 (2H, d), 9.20 (1H, s), 10.70 (1H, s), 11.74 (1H, s)	9.316

## Exemplo 7

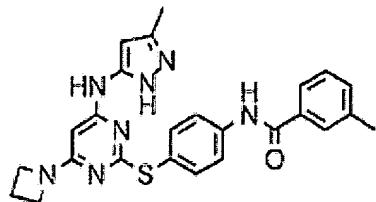


2-(4-aminofeniltio)-6-(azetidin-1-il)-N-(3-metil-1H-pirazol-5-il)pirimidin-4-amina.

4-(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)-6-(azetidin-1-

5 il)pirimidin-2-iltio)fenilcarbamato de ter-butila  
 (preparado utilizando método similar ao descrito para o exemplo 6) (2,53g, 5,6 mmol) foi dissolvido em TFA-DCM 1:1 (20 ml) e a solução resultante deixada repousar da noite para o dia à temperatura ambiente. A solução foi concentrada em vácuo. O resíduo foi recolhido em EtOAc e lavado com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (x2) e então salmoura e secado sobre sulfato de sódio. O sólido marrom-claro resultante (1,8g, 91%) [MS (ES+) 354] foi usado sem purificação ou caracterização adicional na etapa seguinte.

## Exemplo 8



*N*-(4-(4-(3-metil-1*H*-pirazol-5-ylamino)-6-(azetidin-1-yl)pirimidin-2-iltio)fenil)-3-metilbenzamida (I-4)

2-(4-Aminofeniltio)-6-(azetidin-1-yl)-N-(3-metil-1*H*-

5 pirazol-5-yl)pirimidin-4-amina (200mg, 0.57 mmol) foi  
recolhida em piridina (2 ml) e cloreto de m-toluoíla  
(0.187 mL, 1.42 mmol) foi adicionado gota a gota à  
temperatura ambiente. Após 15 minutos, a mistura de  
reação foi concentrada em vácuo e o resíduo recolhido em  
10 metanol (3 ml). Metóxido de sódio (solução 25% em peso em  
MeOH, 1 ml) foi adicionado e a solução turva resultante  
agitada à temperatura ambiente durante 15 minutos. A  
mistura de reação foi purificada diretamente através de  
cromatografia (sílica, eluição de gradiente EtOAc-petrol  
15 5-100%) para dar o composto título (89mg, 33%) na forma  
de um sólido branco. <sup>1</sup>H NMR: (400 MHz, DMSO) 1.99 (3H,  
brs), 2.31 (2H, qn), 2.42 (3H, s), 3.88 (4H, t), 5.39  
(1H, brs), 5.67 (1H, vbrs), 7.43-7.46 (2H, m), 7.54 (2H,  
d), 7.73-7.76 (2H, m), 7.91 (2H, d), 9.23 (1H, brs),  
20 10.42 (1H, s), 11.67 (1H, brs). ES+ 472.

A Tabela 4 abaixo mostra os dados para certos compostos  
representativos preparados de acordo com o método  
descrito no Esquema II e nos Exemplos 7-8. Os números do  
composto correspondem aos compostos mostrados na Tabela

25 1.

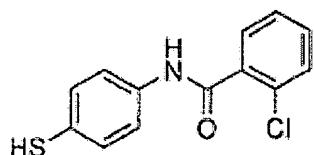
Tabela 4

Composto No.	M+1 (obs)	1H NMR	Rt (mins)
I-4	472	(DMSO-d6): 1.99 (3H, brs), 2.31 (2H, qn), 2.42 (3H, s), 3.88 (4H, t), 5.39 (1H, brs), 5.67 (1H, vbrs), 7.43-7.46 (2H, m), 7.54 (2H, d), 7.73-7.76 (2H, m), 7.91 (2H, d), 9.23 (1H, brs), 10.42 (1H, s), 11.67 (1H, brs)	9.42
I-18	488.24	(DMSO) 2.0 (3H, s, Me), 2.27-2.32 (2H, m, alk), 3.85-3.90 (6H, m, alk and Me), 5.41 (H, s, ar), 5.65 (H, brs, ar), 7.18 (1H, m, ar), 7.45-7.56 (5H, m, ar), 7.90-7.91 (2H, d, ar), 9.17 (H, s, NH), 10.40 (H, s, NH) and 11.65 (H, s, NH).	9.24
I-19	508.21	(DMSO) 2.04 (3H, s, CH3), 2.28-2.32 (2H, m, alk), 3.17 (3H, s, CH3), 3.87-3.91 (4H, t, alk), 4.08 (H, m, alk), 5.4 (H, brs, ar), 5.6 (H, brs, ar), 7.19-7.49 (H, t, CHF2), 7.55-7.57 (2H, d, ar), 7.70-7.80 (4H, m, ar), 7.84-7.86 (2H, d, ar), 9.2 (H, s, NH), 10.75 (H, s, NH) and 11.65 (H, brs, NH)	9.214
I-20	506.00	(400 MHz, DMSO) 2.04 (3H, brs), 2.30 (2H, qn), 2.41 (3H, s), 3.88 (4H, t), 5.40 (1H, brs), 5.59 (1H, vbrs), 7.36-7.40 (2H, m), 7.49-7.55 (3H, m), 7.82 (2H, d), 9.22 (1H, brs), 10.71 (1H, s), 11.68 (1H, brs).	9.31
I-21	526.00	(400 MHz, DMSO) 2.04 (3H, brs), 2.30 (2H, qn), 3.88 (4H, t), 5.41 (1H, brs), 5.58 (1H, vbrs), 7.56 (2H, d), 7.60-7.66 (2H, m), 7.71 (1H, s), 7.81 (2H, d), 9.22 (1H, brs), 10.81 (1H, s), 11.68 (1H, brs).	9.51

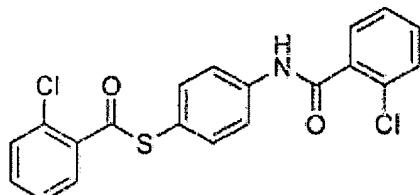
I-22	520.00	(400 MHz, DMSO) 1.22 (3H, t), 2.05 (3H, brs), 2.28 (2H, qn), 2.79 (2H, q), 3.88 (4H, t), 5.40 (1H, brs), 5.50 (1H, vbrs), 7.36-7.43 (2H, m), 7.48-7.51 (1H, m), 7.54 (2H, d), 7.83 (2H, d), 9.22 (1H, brs), 10.72 (1H, s), 11.68 (1H, brs).	9.64
I-23	504.00	(400 MHz, DMSO) 2.05 (3H, brs), 2.30 (2H, qn), 2.46 (3H, s), 3.88 (4H, t), 5.40 (1H, brs), 5.60 (1H, vbrs), 7.29 (1H, t), 7.44 (1H, d), 7.48-7.54 (4H, m), 8.84 (2H, d), 9.21 (1H, brs), 10.56 (1H, s), 11.68 (1H, brs).	9.01
I-24	493.00	(CDCl <sub>3</sub> ): 2.15-2.20 (3H, s), 2.30-2.40 (2H, m), 4.00-4.10 (4H, t), 5.57 (1H, s), 5.85 (1H, s), 7.35-7.45 (3H, m), 7.65-7.70 (1H, d), 8.10-8.15 (1H, d), 8.35-8.40 (1H, s), 8.49 (1H, s), 9.60-9.70 (1H, br s).	9.021

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

Composto a

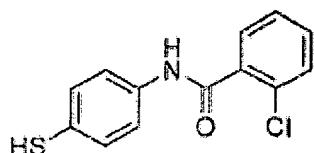


2-chloro-N-(4-mercaptophenyl)benzamida



- 5 2-chlorobenzotioato de S-4-(2-chlorobenzamido)fenila  
 EtOAc degasificado (3,2 L) foi carregado num frasco. O solvente foi resfriado a 0°C sob nitrogênio. 4-aminobzenotiol (435 g, 3,48 mol) foi fundido e adicionado diretamente ao frasco. Trietilamina (773 g, 7,65 mol) foi adicionada durante 30 minutos formando um precipitado. Então, cloreto de 2-chlorobenzoíla (1340g,

7,65 mol) foi adicionado puro mantendo-se a temperatura abaixo de 5°C. Após adição completa, a mistura foi aquecida até 20°C por uma hora. A pasta foi filtrada e a torta lavada com EtOAc (780 ml). O material foi secado a 5 50°C sob vácuo com varredura de nitrogênio até que um peso constante fosse obtido. O composto foi transferido para a reação seguinte sem purificação adicional.



2-cloro-N- (4-mercaptopfenil)benzamida

2-clorobenzotioato de S-4-(2-clorobenzamido)fenila (305 10 g, 0,76 mol), EtOAc (325 ml) e água (65 ml) foram carregados para um frasco equipado com um condensador de refluxo. Uma solução de NaOH (3 eq., 50% aq.) foi adicionada e a mistura aquecida até 70°C durante 30-40 minutos. EtOAc foi removido por destilação a 100 mm Hg e 15 a mistura resfriada até 5°C. A mistura foi acidificada com HCl 6N até pH 2. O sólido foi então coletado por filtração a vácuo e lavado com água (390 ml). O sólido foi recolhido em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (520 ml) e lavado com NaHCO<sub>3</sub> aquoso saturado. A camada orgânica foi secada sobre 20 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada para dar o material desejado (174 g, 87%).

Exemplo 10 : 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 25 enzima acoplada (Fox et al., Protein Sci., (1998) 7, 2249). Os ensaios foram conduzidos numa mistura de 100mM Hepes (pH 7,5), 10mM MgCl<sub>2</sub>, 1mM DTT, 25mM NaCl, 2.5mM fosfoenolpiruvato, 300 μM NADH, 30 μg/ml piruvato quinase e 10 μg/ml lactato dehidrogenase. As concentrações finais 30 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  $\mu$ l da solução concentrada foram colocados numa placa de 96 cavidades seguido de adição de 2  $\mu$ l de diluições seriais contendo DMSO concentrado do composto de teste (tipicamente iniciando a partir de uma concentração final de 7,5  $\mu$ M). A placa foi pré-incubada por 10 minutos a 30°C e a reação iniciada mediante adição de 10  $\mu$ l de 10 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 calculados a partir de uma análise de regressão não-linear utilizando o pacote de software Prism (GrafPad 15 Prism versão 3.0cx para Macintosh, GrafPad Software, San Diego California, USA).

Exemplo 11 : Ensaio de Inibição de Aurora-1 (Aurora B) (radiométrico)

Uma solução tampão de ensaio foi preparada, consistindo 20 de 25 mM HEPES (pH 7,5), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 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  $\mu$ L de solução de Aurora-B, numa placa de 96 cavidades, adicionou-se 2 $\mu$ l de uma solução 25 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  $\mu$ l solução concentrada [ $\gamma$ -<sup>33</sup>P]-ATP (~20 nCi/ $\mu$ l) preparada em tampão de ensaio, até uma concentração final de ensaio de 800  $\mu$ M. A reação 30 foi interrompida após 3 horas mediante adição de 16  $\mu$ L 500 mM ácido fosfórico e os níveis de incorporação de <sup>33</sup>P no substrato peptídico foram determinados através do método a seguir descrito.

Uma placa de fosfocelulose de 96 cavidades (Millipore, 35 Cat. No.MAPHNOB50) foi pré-tratada com 100  $\mu$ L de 100 mM ácido fosfórico antes da adição da mistura de reação enzimática (40  $\mu$ l). A solução foi deixada impregnar na

membrana de fosfocelulose durante 30 minutos e a placa posteriormente lavada quatro vezes com 200  $\mu$ L de 100 mM ácido fosfórico. A cada cavidade da placa seca adicionou-se 30  $\mu$ L de coquetel de cintilação líquida Optiphase 5 "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  $\mu$ l de 10 500 mM ácido fosfórico às cavidades de controle, contendo todos os componentes de ensaio (que atuam para 15 desnaturação da enzima), antes da adição da solução [ $\gamma$ - $^{33}$ P]-ATP. Os níveis de incorporação de  $^{33}$ P catalisada com 20 enzima foram calculados subtraindo-se as contagens médias 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  $\mu$ M do composto, foram obtidos em duplicata (concentrados DMSO foram preparados a partir de um 25 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).

Exemplo 12: Ensaio de Inibição de Itk: Ensaio baseado em 25 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 30 (pH 7,0), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,1% BSA e 1mM DPT. As concentrações finais de substrato no ensaio foram de 7,5  $\mu$ M [ $\gamma$ - $^{33}$ P]ATP (400  $\mu$ Ci  $^{33}$ P ATP/ $\mu$ mol ATP, Amersham Pharmacia Biotech/Sigma Chemicals) e 3mM peptídeo (proteína SAM68  $\Delta$ 332-443). Os ensaios foram conduzidos a 35 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  $\mu$ l da solução concentrada foram colocados numa placa de 96 cavidades seguido da adição de 2 $\mu$ l de concentrado de DMSO contendo diluições seriais do composto de teste (tipicamente iniciando a partir de uma concentração final de 50  $\mu$ M 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  $\mu$ l [ $\gamma$ - $^{33}$ P]ATP (concentração final 7,5  $\mu$ M).

10 A reação foi interrompida após 10 minutos mediante adição de 100  $\mu$ L 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  $\mu$ L 0,2M ácido fosfórico + 0,01% TWEEN

15 20 antes da adição de 170  $\mu$ L da mistura de interrupção do ensaio. A placa foi lavada com 4 x 200  $\mu$ L 0,2M ácido fosfórico + 0,01% TWEEN 20. Após secagem, 30  $\mu$ L de coquetel de cintilação líquida Optiphase "Supermix" (Perkin Elmer) foi adicionado à placa antes da contagem

20 de cintilação (Contador de Cintilação Líquida 1450 Microbeta, Wallac).

Os dados  $K_i$ (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 13 : 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 100 mM HEPES (pH 7,4), 1 mM DTT, 10 mg MgCl<sub>2</sub>, 25 mM NaCl, e 0,01% BSA. As concentrações de substrato no ensaio foram de 5  $\mu$ M ATP (200 uCi/ $\mu$ mol ATP) e 1  $\mu$ M poli(Flu)<sub>4</sub>Tyr. As reações foram executadas a 25°C e 1 nM JAK 3.

A cada cavidade de uma placa de policarbonato contendo 96 cavidades, adicionou-se 1,5  $\mu$ L de um inibidor JAK3

candidato juntamente com 50  $\mu$ l de tampão quinase contendo 2  $\mu$ M poli(Glu)<sub>4</sub>Tyr e 10  $\mu$ M ATP que foi então misturado e 50 $\mu$ l de tampão quinase contendo 2 nM enzima JAK 3 adicionados para dar início à reação. Após 20 minutos à 5 temperatura ambiente (25°C), a reação foi interrompida com 50  $\mu$ L 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 fibra de vidro de 96 cavidades utilizando um Coletor de 10 Células TomTek. Após lavagem, 60  $\mu$ l de fluido de cintilação foram adicionados e a incorporação de <sup>33</sup>P detectada num contador Perkin Elmer TopCount.

Exemplo 14 : Ensaio de Inibição de JAK2

Os ensaios são conduzidos conforme descrito acima no 15 Exemplo 33, com exceção de que a enzima JAK-2 foi utilizada, a concentração final de poli(Glu)<sub>4</sub>Tyr foi de 15  $\mu$ M e a concentração final de ATP foi de 12  $\mu$ M.

Exemplo 15 : Ensaio de Inibição de FLT-3

Os compostos foram identificados quanto à sua capacidade 20 de inibir a atividade de FLT-3 utilizando um ensaio de ligação a filtro radiométrico. Este ensaio monitora a incorporação de <sup>33</sup>P por um substrato poli(Glu,Tyr) 4:1 (pE4Y). As reações foram executadas numa solução contendo 100 mM HEPES (pH 7,5), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 25 mM NaCl, 1 mM DTT, 25 0,01% BSA e 2,5% DMSO. As concentrações finais de substrato no ensaio foram de 90  $\mu$ M 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  $\mu$ M. Tipicamente, uma titulação de 12 30 pontos foi conduzida preparando-se diluições seriais de concentrado de DMSO 10 mM do composto de teste. As reações foram conduzidas à temperatura ambiente.

Duas soluções de ensaio foram preparadas. A solução 1 contém 100 mM HEPES (pH 7,5), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 25 mM NaCl, 1 35 mg/ml pE4Y e 180 mM ATP (contendo 0,3 mCi de [ $\gamma$ -<sup>33</sup>P]ATP para cada reação). A solução 2 contém 100 mM HEPES (pH 7,5), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 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  $\mu$ l cada da Solução 1 e 2,5 ml dos compostos da presente invenção. A reação foi iniciada com a Solução 2. Após incubação durante 20 minutos à temperatura ambiente, a reação foi interrompida com 50  $\mu$ 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 (Hamden, CT). A quantidade de incorporação de  $^{33}$ P 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.

Exemplo 16 : 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 5  $\mu$ M) foi incubado com uma mistura final de reação (1000  $\mu$ l) consistindo de proteína de microssomo hepático (1 mg/ml) e um  $\beta$ -nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, sistema regenerador (NADPH) na forma reduzida (RGS) [consistindo de 2mM  $\beta$ -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  $\mu$ 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 5 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  $\mu$ l) para um bloco interruptor (bloco de 96 cavidades) contendo 10 100  $\mu$ 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  $\mu$ L de 50:50 metanol:água).

Antes da análise o bloco de interrupção foi colocado 15 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  $\mu$ l) foi então transferida para um bloco de análise e o bloco centrifugado novamente 20 (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  $\mu$ l; sistema 25 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 30 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 35 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.

Exemplo 17 : 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% CO<sub>2</sub>/95% umidade.

Para medir a proliferação, 3 horas antes do final do experimento, 0,5 µCi de <sup>3</sup>H 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 18: 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 (Fox et al., Protein Sci., 7, p.2249 (1998)). As reações foram conduzidas numa solução contendo 100 mM HEPES (pH 7,5), 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 25 mM NaCl, 300 µM NADH, 1 mM DTT e 3% DMSO. As concentrações finais de substrato no ensaio foram de 110 µM ATP (Sigma Chemicals, St Louis, MO) e 70 µM 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  $\mu$ M NADH, 60  $\mu$ g/ml piruvato quinase e 20  $\mu$ g/ml lactato dehidrogenase.

- 5 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  $\mu$ l) foi incubada numa placa de 96 cavidades com 2 $\mu$ l do composto de teste de 10 interesse a concentrações finais tipicamente estendendo-se de 0,002  $\mu$ M a 30  $\mu$ M a 30°C durante 10 minutos. Tipicamente, uma titulação de 12 pontos foi preparada através de diluições seriais (de concentrados de composto de 1mM) com DMSO dos compostos de teste em placas filhas. 15 A reação foi iniciada mediante adição de 5  $\mu$ l de ATP (concentração final de 110  $\mu$ 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  $K_i$  foram determinados com base nos dados 20 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.

- Exemplo 19: Ensaio de Inibição da Atividade da Abl 25 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 30 final de reação de 25  $\mu$ l, a mutante T315I de Abl humana (5-10 mU) foi incubada com 8 mM MOPS pH 7,0, 0,2 mM EDTA, 50  $\mu$ M EAIYAAPFAKKK, 10 mM Acetato Mg, [ $\gamma$ -<sup>33</sup>P-ATP] (atividade específica aprox. 500 cpm/pmol, 10 mM concentração final do ensaio) e o composto de teste de 35 interesse em concentrações finais acima da faixa de 0-4 $\mu$ 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  $\mu$ l de uma solução de ácido fosfórico a 3%. 10  $\mu$ 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 20: Ensaio de Inibição de Arg(Abl-2), FGFR1, MELK, MLK1, MuSK, Ret e TrkA

O Composto I-1 foi identificado quanto à sua capacidade de inibir Arg (Abl-2), FGFR1, MELK, MLK1, MuSK, Ret, e TrkA utilizando métodos de identificação conhecidos pelos habilitados na técnica.

Todas as enzimas acima citadas foram identificadas com concentrações de ATP próximas ou ao nível de  $K_m$  para ATP. A Tabela 5 abaixo mostra os valores  $K_i$  obtidos do Exemplo 20:

Tabela 5

Composto No.	Arg (uM)	FGFR1 (uM)	MELK (uM)	MLK1 (uM)	MuSK (uM)	Ret (uM)	TrkA (uM)
I-1	0.012	0.005	0.017	< .018	.070	0.008	< 0.006

A Tabela 6 abaixo mostra os dados dos Exemplos 10-11 e 16 acima descrito.

Tabela 6

Composto No.	Aurora A $K_i$ (uM)	Aurora B $K_i$ (uM)	Estabilidade Microssomal (% restante após 30 min.)	Estabilidade Microssomal (% restante após 60 min.)
I-1	0.001	0.007	96	79
I-2	0.0019	0.0065	107	77
I-3	0.0022	0.01	51	66
I-4	0.0025	0.024	76	-
I-5	0.00087	0.014	98	65
I-6	0.003	0.026	80	-
I-7	0.0010	0.0051	102	69
I-8	0.00067	0.011	100	-
I-9	0.00085	0.0065	-	69

I-10	0.0018	< 0.025	-	-
I-11	0.00071	0.007	-	69
I-12	0.0014	0.019	94	-
I-13	0.00035	0.006	85	74
I-14	0.00038	0.0045	103	78
I-15	0.00076	0.0075	73	84
I-16	0.00056	0.0075	91	63
I-17	0.00065	0.006	93	-
I-18	0.00060	0.008	89	58
I-19	0.0012	0.019	109	91
I-20	0.00077	0.006	53	-
I-21	0.00078	0.0065	86	-
I-22	< 0.00035	< 0.006	1	46
I-23	0.0014	0.006	-	-
I-24	0.0010	0.018	-	-

A Tabela 7 abaixo mostra os dados dos Exemplos 13-15 e 18-19.

Tabela 7

No. Composto	FLT-3 Ki (uM)	JAK-2 Ki (uM)	JAK-3 Ki (uM)	Ab1 (T3151) Ki (uM)	Ab1 (selvagem) Ki (uM)
I-1	0,1	0,38	0,18	0,66	0,036
I-2	0,18	0,067	0,16	0,26	0,007
I-3	0,22	0,061	0,13	-	-
I-4	0,33	0,081	0,41	-	-
I-5	0,07	0,19	0,46	-	0,068
I-6	0,12	1,1	0,82	-	-
I-7	0,25	0,041	0,15	-	0,035
I-8	0,17	1,7	0,81	-	-
I-9	-	-	-	-	0,024
I-10	-	-	-	-	-
I-11	0,11	0,33	0,27	0,43	0,021
I-12	0,54	0,046	0,18	-	-
I-13	0,35	0,13	0,22	-	-
I-14	0,17	0,72	0,18	-	0,038
I-15	0,16	0,046	0,12	0,17	0,031
I-16	0,15	0,44	0,13	-	-
I-17	0,1	0,41	0,079	-	-
I-18	-	0,063	0,2	-	-
I-19	0,16	0,41	0,27	-	-
I-20	0,24	0,29	0,061	-	-
I-21	0,55	0,6	0,26	-	-
I-22	0,19	0,5	0,062	-	-
I-23	-	-	-	-	-
I-24	0,7	0,66	0,5	-	-

Embora diversas concretizações da presente invenção 5 tenham sido descritas, é evidente que os exemplos básicos

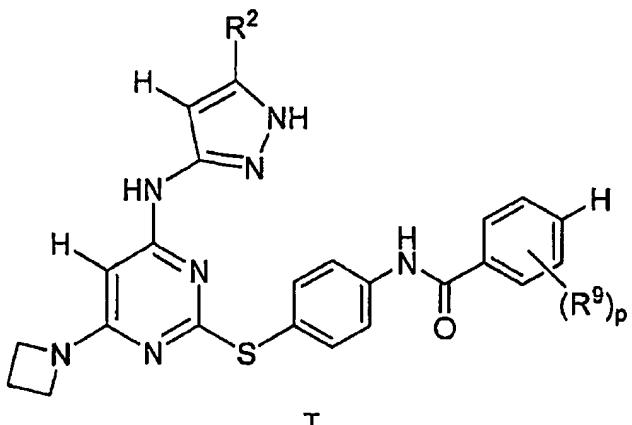
podem ser alterados para prover outras concretizações que utilizem ou abranjam os compostos, métodos, e processos da presente invenção. Portanto, será apreciado que o escopo da presente invenção seja definido pelas 5 reivindicações em anexo.

PI0619708-6

1

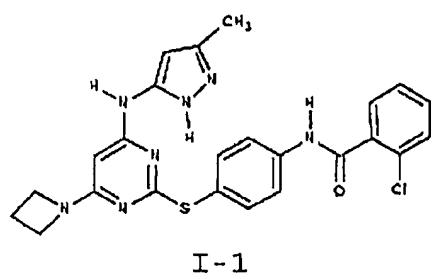
REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de apresentar a seguinte fórmula I:

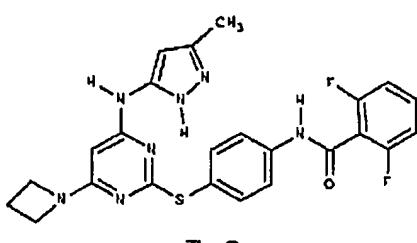


ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, onde:

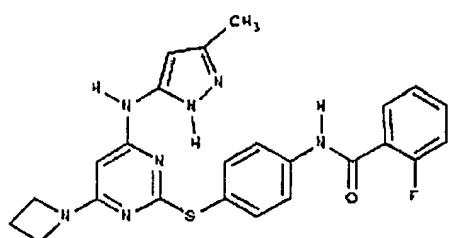
- 5 R<sup>2</sup> é alquila C<sub>1-3</sub> ou ciclopropila;  
R<sup>9</sup> é halo, alquila C<sub>1-3</sub>, -O-(alquila C<sub>1-3</sub>), -S-(alquila C<sub>1-3</sub>), ou CF<sub>3</sub>; e p é 1-2.
2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de R<sup>2</sup> ser metila.
- 10 3. Composto, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de p ser 1.
4. Composto, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de R<sup>9</sup> ser substituído na posição orto.
- 15 5. Composto, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de R<sup>9</sup> ser substituído na posição orto.
6. Composto, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de R<sup>9</sup> ser F, Cl ou CF<sub>3</sub>.
- 20 7. Composto, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de ser selecionado das seguintes fórmulas:



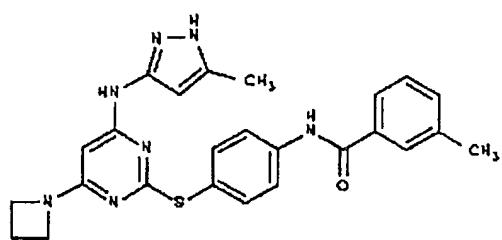
I-1



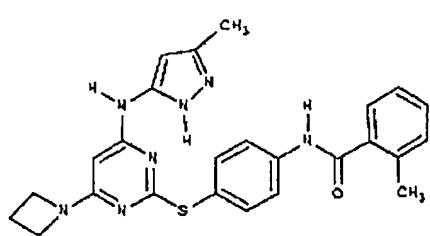
I - 2



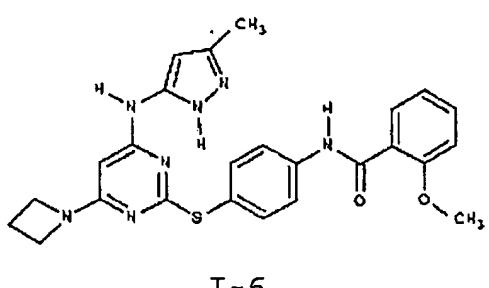
I-3



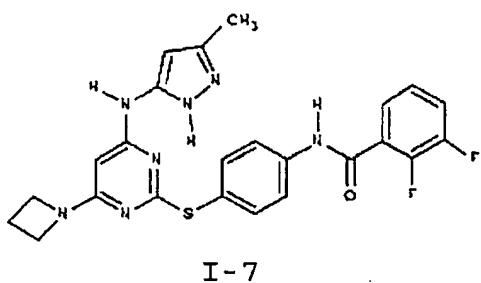
I-4



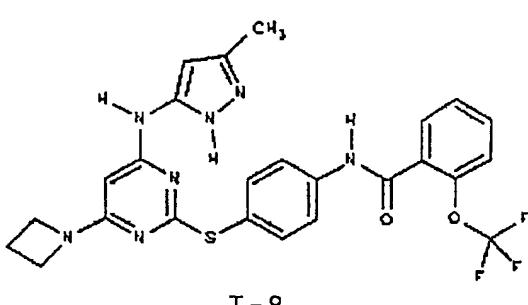
I-5



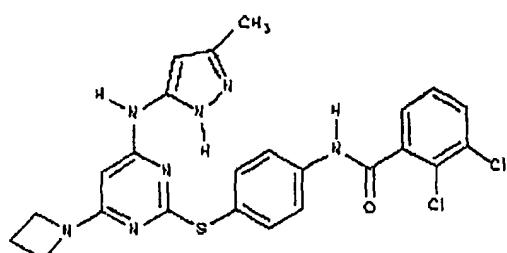
I-6



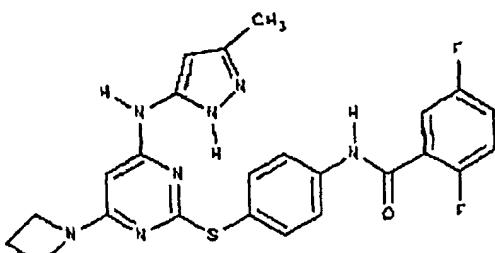
I-7



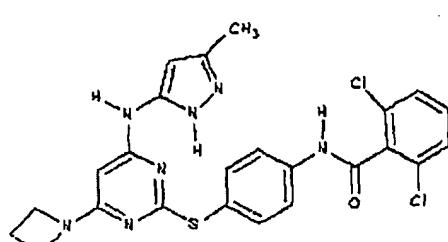
I-8



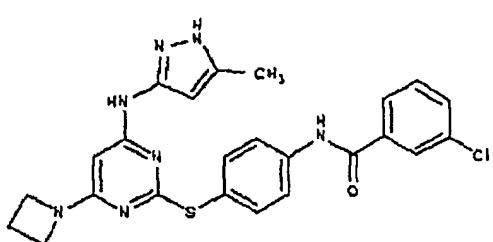
I-9



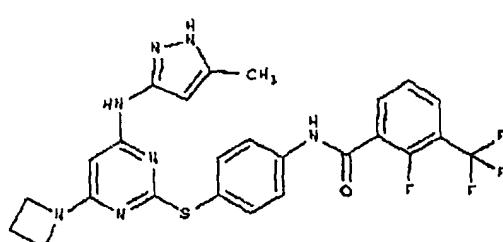
I-10



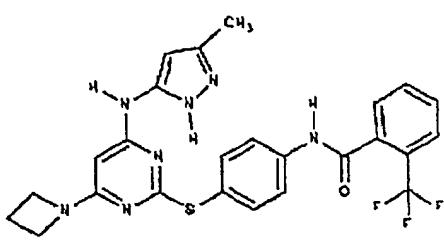
I-11



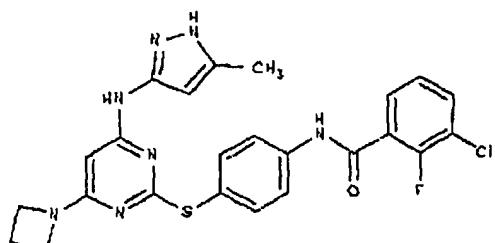
I-12



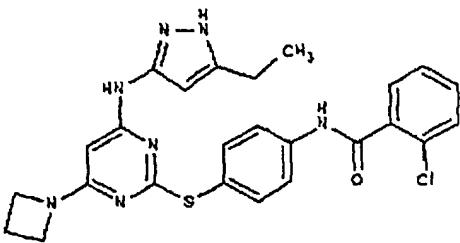
I-13



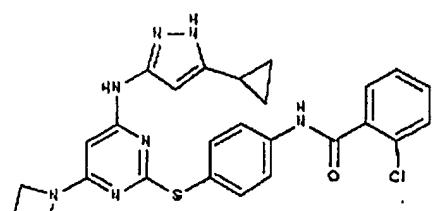
I-14



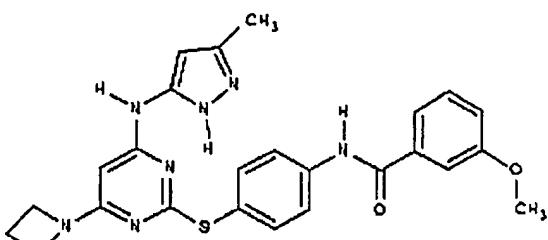
I-15



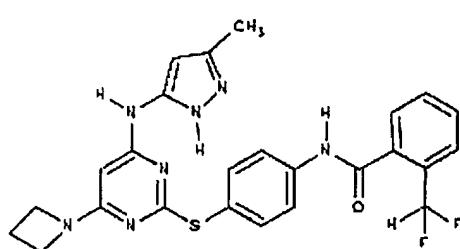
I-16



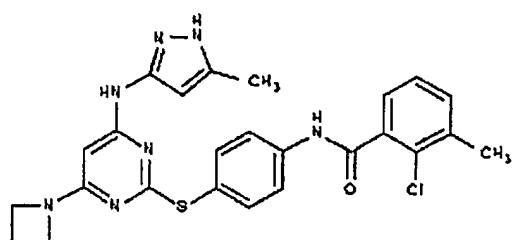
I-17



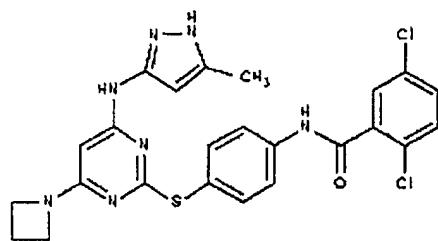
I-18



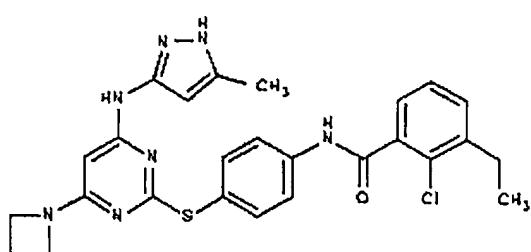
I-19



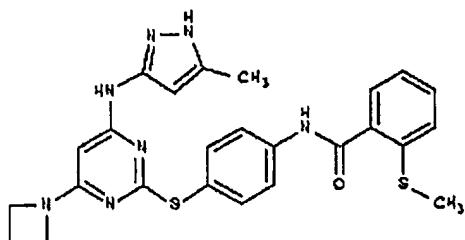
I-20



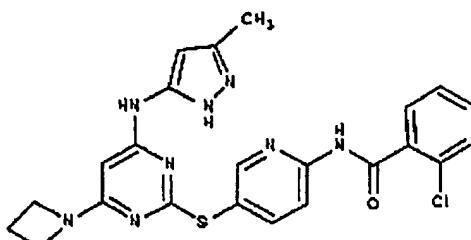
I-21



I-22



I-23



I-24

8. Composição, caracterizada pelo fato de compreender um composto, conforme definido em qualquer uma das

reivindicações 1-7, e um portador, adjuvante ou veículo farmaceuticamente aceitável.

9. 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 1-7.

10. 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 1-7.

11. Método, de acordo com a reivindicação 10, 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), 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 1-7.

12. 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 1-7, ou de um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e de outro agente terapêutico.

13. Método, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de dito agente terapêutico ser selecionado de taxanos, inibidores de ber-abl, inibidores de EGFR, agentes danificadores do DNA, e antimetabólitos.

14. Método, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de dito agente terapêutico ser selecionado de Paclitaxel, Gleevec, dasatinibe, nilotinibe, Tarceva, Iressa, cisplatina, oxaliplatina, carboplatina, antraciclinas, Arac e 5-FU.

15. Método, de acordo com a reivindicação 12,  
caracterizado pelo fato de dito agente terapêutico ser  
selecionado de camptotecina, doxorrubicina, idarubicina,  
cisplatina, taxol, taxotere, vincristina, tarceva, o  
5 inibidor de MEK, U0126, um inibidor de KSP, vorinostat,  
Gleevec, dasatinibe e nilotinibe.

RESUMO

"COMPOSTO, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA INIBIR A ATIVIDADE DA PROTEÍNA AURORA QUINASE NUMA AMOSTRA BIOLÓGICA, MÉTODO PARA TRATAR DISTÚRBIO PROLIFERATIVO E MÉTODO PARA TRATAR  
5 CÂNCER"

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