



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

(21) **PI0614472-1 A2**



* B R P I 0 6 1 4 4 7 2 A 2 *

(22) Data de Depósito: 25/07/2006
(43) Data da Publicação: 29/03/2011
(RPI 2099)

(51) *Int.Cl.:*
C07D 277/42
C07D 277/46
C07D 417/12
A61K 31/427

(54) Título: **COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DE PROTEÍNA QUINASE**

(30) Prioridade Unionista: 02/08/2005 US 60/704,976

(73) Titular(es): IRM LLC

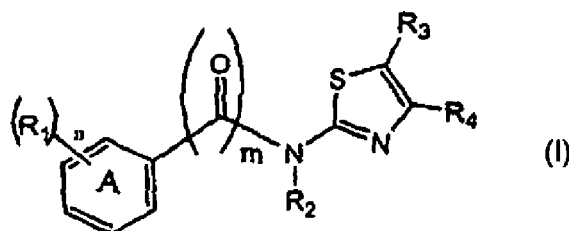
(72) Inventor(es): Nathanael S. Gray, Yongqin Wan

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

(86) Pedido Internacional: PCT US2006029162 de 25/07/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/016228 de 08/02/2007

(57) **Resumo:** COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DE PROTEÍNA QUINASE. A presente invenção refere-se a uma classe de compostos, composições farmacêuticas compreendendo esses compostos e métodos de uso desses compostos para tratar ou prevenir doenças ou distúrbios associados a atividade de quinase anormal ou desregulada, particularmente doenças ou distúrbios que envolvam ativação anormal das quinases Abl, Aurora- A, Bcr-Abl, Bmx, CDK1/ciclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3I3, JNK1a1, Lck, MKK4 e TrkB quinases.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DE PROTEÍNA QUINASE**".
REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

Campo da Invenção

5 Este pedido reivindica o benefício de prioridade do pedido provisório norte-americano nº 60/704.976, depositado em 2 de agosto de 2005. A descrição completa desse pedido é aqui incorporada por referência em sua inteireza e para todas as finalidades.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

10 Campo da Invenção

A presente invenção refere-se a uma nova classe de compostos, composições farmacêuticas compreendendo esses compostos e métodos de uso desses compostos para tratar ou prevenir doenças ou distúrbios associados à atividade de quinase anormal ou desregulada, particularmente doenças ou distúrbios que envolvam ativação anormal das Abl, Aurora-A, Bcr-Abl, Bmx, CDK1/ciclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3 β , JNK1 α 1, Lck, MKK4 e TrkB quinases.

Antecedentes

20 As proteína quinases representam uma grande família de proteínas que desempenham um papel central na regulação de uma ampla variedade de processos celulares e na manutenção do controle sobre a função celular. Uma lista parcial, não limitativa, dessas quinases inclui: tirosina quinases receptoras, como quinase do receptor de fator do crescimento derivado de plaquetas (PDGF-R), o receptor do fator de crescimento nervoso, trkB, Met e receptor do fator de crescimento de fibroblastos, FGFR3; tirosina quinases não receptoras, como Abl e a quinase de fusão BCR-Abl, Lck, Csk, Fes, Bmx e c-src; e serina/treonina quinases, como b-RAF, c-RAF, sgk, MAP quinases (por exemplo, MKK4, MKK6 etc.) e SAPK2 α , SAPK2 β e SAPK3.

25 Observou-se atividade de quinase aberrante em muitos estados patológicos, incluindo distúrbios proliferativos benignos e malignos, assim como doenças

30 resultantes de ativação inapropriada dos sistemas imune e nervoso.

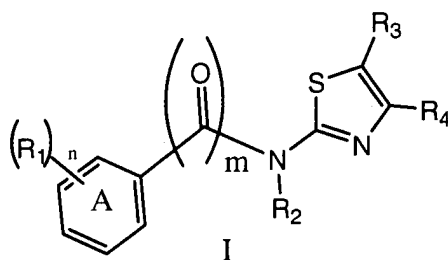
Os novos compostos desta invenção inibem a atividade de uma

ou mais proteína quinases e se espera, conseqüentemente, que sejam úteis no tratamento de doenças associadas a quinases.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Em um aspecto, a presente invenção apresenta compostos de

5 Fórmula I:



em que:

n é selecionado de 0, 1, 2 e 3;

m é selecionado de 0 e 1;

10 R₁ é selecionado de halo, ciano, hidróxi, nitro, C₁₋₆ alquila, C₁₋₆ alcóxi, C₁₋₆ alquila halossustituída, C₁₋₆ alcóxi halossustituído, -S(O)₀₋₂ R₅, -NR₅R₅, -C(O)NR₅R₆, -C(O)NR₅R₆, -C(O)NR₅XOR₅, -C(O)NR₅XNR₅R₅, -OR₆, -C(O)OR₅, -NR₅C(O)R₆; em que cada R₅ é independentemente selecionado de hidrogênio e C₁₋₆ alquila; e R₆ é selecionado de C₆₋₁₀ aril-C₀₋₄ alquila, C₁₋₁₀ heteroaril-C₀₋₄ alquila, C₃₋₁₂ cicloalquil-C₀₋₄alquila e C₃₋₈ heterocicloalquil-C₀₋₄alquila; ou, quando n é 2, dois radicais R₁ adjacentes, juntamente com os átomos aos quais estão ambos ligados, formam fenila, de modo que o anel A se torna naftila opcionalmente substituída (por exemplo, composto 59 da tabela 1, abaixo);

R₂ é hidrogênio e metila;

20 R₃ é halo;

R₄ é selecionado de hidrogênio, halogênio e C₁₋₆ alquila; ou R₃ e R₄ juntamente com os átomos aos quais R₃ e R₄ estão ligados formam fenila; e o anel fenila A pode opcionalmente ter até três grupos =C- substituídos por =N-; e os seus derivados de N-óxido, derivados de pró-fármaco, derivados protegidos, isômeros individuais e misturas de isômeros; e os sais farmacologicamente aceitáveis e solvatos (por exemplo, hidratos) desses compostos.

Em um segundo aspecto, a presente invenção apresenta uma

composição farmacêutica que contém um composto de Fórmula I ou seu derivado de N-óxido, isômeros individuais e misturas de isômeros; ou seu sal farmaceuticamente aceitável, em mistura com um ou mais excipientes adequados.

5 Em um terceiro aspecto, a presente invenção apresenta um método de tratamento de uma doença em um animal em que a inibição da atividade de quinase, particularmente atividade Abl, Aurora-A, Bcr-Abl, Bmx, CDK1/ciclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3 β , JNK1 α 1, Lck, MKK4 e/ou TrkB, possa prevenir, inibir ou melhorar a patologia e/ou sintomatologia das
10 doenças, esse método compreendendo a administração ao animal de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de Fórmula I ou seu derivado de N-óxido, isômeros individuais e misturas de isômeros, ou seu sal farmaceuticamente aceitável.

 Em um quarto aspecto, a presente invenção apresenta o uso de
15 um composto de Fórmula I na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma doença em um animal em que a atividade de quinase, particularmente a atividade de Abl, Aurora-A, Bcr-Abl, Bmx, CDK1/ciclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3 β , JNK1 α 1, Lck, MKK4 e/ou TrkB, contribua para a patologia e/ou sintomatologia da doença.

20 Em um quinto aspecto, a presente invenção apresenta um processo para a preparação de compostos de Fórmula I e seus derivados de N-óxido, derivados de pró-fármaco, derivados protegidos, isômeros individuais e misturas de isômeros e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

25 Definições

 "Alquila", como um grupo ou como um elemento estrutural de outros grupos, por exemplo, alquila e alcóxi halossustituído, pode ser de cadeia linear ou ramificada. C₁₋₄ alcóxi inclui, metóxi, etóxi e outros. Alquila halossustituída inclui trifluorometila, pentafluoroetila e similares.

30 "Arila" significa uma montagem de anel aromático monocíclico ou bicíclico fusionado contendo de seis a dez átomos de carbono no anel. Por exemplo, arila pode ser fenila ou naftila, de preferência fenila. "Arileno"

significa um radical divalente derivado de um grupo arila.

"Heteroarila" é conforme definida para arila acima, quando um ou mais dos elementos de anel é um heteroátomo. Por exemplo, C₁₋₁₀ heteroarila, conforme usado neste pedido, inclui piridila, indolila, indazolila, quinoxalinila, quinolinila, benzofuranila, benzopiranila, benzotiopiranila, benzo[1,3]dioxol, imidazolila, benzo-imidazolila, pirimidinila, furanila, oxazolila, isoxazolila, triazolila, tetrazolila, pirazolila, tienila etc.

"Cicloalquila" significa uma montagem de anel monocíclico, bicíclico fusionado ou policíclico em ponte, saturado ou parcialmente insaturado, contendo o número de átomos de anel indicado. Por exemplo, C₃₋₁₀ cicloalquila inclui ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, cicloexila etc..

"Heterocicloalquila" significa cicloalquila, conforme definida neste pedido, contanto que um ou mais dos carbonos de anel indicados estejam substituídos por uma fração selecionada de -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- ou -S(O)₂-, em que R é hidrogênio, C₁₋₄ alquila ou um grupo protetor de nitrogênio. Por exemplo, C₃₋₈ heterocicloalquila, conforme usado neste pedido para descrever compostos da invenção, inclui morfolino, pirrolidinila, pirrolidinil-2-ona, piperazinila, piperidinila, piperidinilona, 1,4-dioxa-8-aza-spiro [4.5]dec-8-ila etc..

"Halogênio" (ou halo) representa, de preferência, cloro ou flúor, mas também pode ser bromo ou iodo.

"Painel de quinases" é uma lista de quinases compreendendo Abl(humana), Abl(T315I), JAK2, JAK3, ALK, JNK1 α 1, ALK4, KDR, Aurora-A, Lck, Blk, MAPK1, Bmx, MAPKAP-K2, BRK, MEK1, CaMKII(rato), Met, CDK1/ciclinB, p70S6K, CHK2, PAK2, CK1, PDGFR α , CK2, PDK1, c-kit, Pim-2, c-RAF, PKA(h), CSK, PKB α , cSrc, PKC α , DYRK2, PIK3, EGFR, ROCK-I, Fes, Ron, FGFR3, Ros, Flt3, SAPK2 α , Fms, SGK, Fyn, SIK, GSK3 β , Syk, IGF-1R, Tie-2, IKK β , TrKB, IR, WNK3, IRAK4, ZAP-70, ITK, AMPK(rato), LIMK1, Rsk2, Axl, LKB1, SAPK2 β , BrSK2, Lyn (h), SAPK3, BTK, MAPKAP-K3, SAPK4, CaMKIV, MARK1, Snk, CDK2/ciclinA, MINK, SRPK1, CDK3/ciclinE, MKK4(m), TAK1, CDK5/p25, MKK6(h), TBK1, CDK6/ciclinD3, MLCK, TrkA, CDK7/ciclinH/MAT1, MRCK β , TSSK1, CHK1, MSK1, Yes, CK1d,

MST2, ZIPK, c-Kit (D816V), MuSK, DAPK2, NEK2, DDR2, NEK6, DMPK, PAK4, DRAK1, PAR-1B α , EphA1, PDGFR β , EphA2, Pim-1, EphA5, PKB β , EphB2, PKC β I, EphB4, PKC δ , FGFR1, PKC η , FGFR2, PKC θ , FGFR4, PKD2, Fgr, PKG1 β , Flt1, PRK2, Hck, PYK2, HIPK2, Ret, IKK α , RIPK2, IRR, ROCK-II(humana), JNK2 α 2, Rse, JNK3, Rsk1(h), PI3 K γ , PI3 K δ e PI3-K β . Os compostos da invenção são triados contra o painel de quinases (do tipo selvagem e/ou sua mutação) e inibem a atividade de pelo menos um dos ditos elementos do painel.

"Formas mutantes de BCR-Abl" significa alterações de aminoácidos únicas ou múltiplas da seqüência do tipo selvagem. Mutações em BCR-ABL agem rompendo os pontos de contato críticos entre a proteína e o inibidor (por exemplo, Gleevec e similares), mais freqüentemente por indução de uma transição do estado inativo para o ativo, isto é, para uma conformação à qual BCR-ABL e Gleevec sejam incapazes de se ligar. Para análises de amostras clínicas, o repertório de mutações encontradas em associação com o fenótipo resistente foi lenta, mas inexoravelmente, aumentado com o tempo. As mutações parecem se aglomerar em quatro regiões principais. Um grupo de mutações (G250E, Q252R, Y253F/H, E255K/V) inclui aminoácidos que formam a alça de ligação de fosfato para ATP (também conhecida como alça P). Um segundo grupo (V289A, F311L, T315I, F317L) pode ser encontrado no sítio de ligação a Gleevec e interage diretamente com o inibidor mediante ligações de hidrogênio ou interações de Van der Waals. O terceiro grupo de mutações (M351T, E355G) se aglomera em íntima proximidade do domínio catalítico. O quarto grupo de mutações (H396R/P) está localizado na alça de ativação, cuja conformação é o comutador molecular que controla a ativação/inativação da quinase. Mutações pontuais de BCR-ABL associadas à resistência a Gleevec detectadas em pacientes CML e ALL incluem: M224V, L248V, G250E, G250R, Q252R, Q252H, Y253H, Y253F, E255K, E255V, D276G, T277A, V289A, F311L, T315I, T315N, F317L, M343T, M315T, E355G, F359V, F359A, V379I, F382L, L387M, L387F, H396P, H396R, A397P, S417Y, E459K e F486S (as posições de aminoácidos, indicadas pelo código de letra única, são aquelas

para a seqüência de GenBank, número de acesso AAB60394 e correspondem a ABL tipo 1a; Martinelli et al., Haematologica/The Hematology Journal, abril de 2005; 90-4). A menos que indicado de outra forma nesta invenção, Bcr-Abl se refere às formas de tipo selvagem e mutantes da enzima.

5 "Tratar", "tratando" e "tratamento" se referem a um método de alívio ou moderação de uma doença e/ou seus sintomas concomitantes.

Descrição das Modalidades Preferidas

A proteína de fusão BCR-Abl é um resultado de uma translocação recíproca que funde o proto-oncogene Abl ao gene Bcr. BCR-Abl é, então, capaz de transformar células B mediante aumento da atividade mitogênica. Esse aumento resulta em uma redução da sensibilidade a apoptose, assim como na alteração da adesão e direcionamento de células progenitoras CML. A presente invenção apresenta compostos, composições e métodos para o tratamento de doenças relacionadas a quinases, particularmente doenças relacionadas às quinases Abl, Aurora-A, Bcr-Abl, Bmx, CDK1/ cyclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3 β , JNK1 α 1, Lck, MKK4 and TrkB. Por exemplo, leucemia e outros distúrbios de proliferação relacionados a BCR-Abl podem ser tratados mediante inibição das formas de tipo selvagem e mutantes de Bcr-Abl.

20 Em uma modalidade, com referência a compostos de fórmula I, o anel A é selecionado de fenila, piridinila e naftila (em que 2 radicais de R₁ se combinam para formar um anel fenila fucionado ao anel A, criando, dessa forma, naftila); m é zero; R₃ é halo, e R₄ é hidrogênio.

Em outra modalidade, R₁ é selecionado de metila, hidróxi, metóxi, cloro, flúor, bromo, carbóxi, amino, ciano, nitro, metil-sulfanila, trifluorometóxi, trifluorometila, metil-carbonila, etóxi-carbonila, -C(O)NHR₆, -C(O)NH(CH₂)₂OCH₃, -C(O)NHCH(CH₃)CH₂OCH₃, -C(O)N(CH₃)(CH₂)₂OCH₃, -C(O)NH(CH₂)₂OH, -C(O)NH(CH₂)₂N(CH₃)₂, -C(O)NH(CH₂)₂N(C₂H₅)₂, -C(O)NHCH₃, -NHC(O)R₆, -NHC(O)CH₃ and -OR₆; em que R₆ é selecionado de fenila, morfolino-etila, piridinila e pirrolidinil-etila.

30 Compostos preferidos da invenção são selecionados de: (5-bromo-tiazol-2-il)-p-tolil-amina; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-fenol; (5-bromo-tia-

zol-2-il)-(4-metóxi-fenil)-amina; ácido 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-benzóico; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-metóxi-etil)-benzamida; (5-bromo-tiazol-2-il)-[4-(1-metilamino-vinil)-fenil]-amina; ácido 3-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-benzóico; N-[4-
 5 (5-bromo-tiazol-2-ilamino)-fenil]-benzamida; N-[4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-fenil]-acetamida; 3-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-metóxi-etil)-benzamida; 3-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-metil-benzamida; (5-bromo-tiazol-2-il)-[4-(piridin-4-ilóxi)-fenil]-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(4-cloro-fenil)-amina; benzotiazol-2-il-(4-flúor-fenil)-amina; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-hidróxi-etil)-benza-
 10 mida; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-dimetilamino-etil)-benzamida; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-dietilamino-etil)-benzamida; N-(5-bromo-tiazol-2-il)-benzamida; (5-bromo-tiazol-2-il)-(3-flúor-fenil)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(3-trifluorometil-fenil)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(3-metóxi-fenil)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-m-tolil-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-piridin-2-il-amina; N-
 15 (5-bromo-tiazol-2-il)-benzeno-1,4-diamina; 1-[4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-fenil]-etanona; éster etílico de ácido 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-benzóico; (5-bromo-tiazol-2-il)-piridin-4-il-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-piridin-3-il-amina; N-(5-bromo-tiazol-2-il)-benzamida; (5-bromo-tiazol-2-il)-(4-trifluorometil-fenil)-amina; éster etílico de ácido 3-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-benzóico; (5-bromo-tiazol-2-il)-fenil-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(2-metóxi-fenil)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(4-flúor-fenil)-amina; (5-cloro-tiazol-2-il)-(4-flúor-fenil)-amina; (4-flúor-fenil)-(5-iodo-tiazol-2-il)-amina; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-benzoni-
 20 trila; (5-bromo-tiazol-2-il)-o-tolil-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-naftalen-1-il-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(2-flúor-fenil)-amina; 3-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-benzonitrila; (5-bromo-tiazol-2-il)-(3-metilsulfanil-fenil)-amina; (4-bromo-fenil)-(5-bromo-tiazol-2-il)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(4-fenóxi-fenil)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(4-nitro-fenil)-amina; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-metóxi-1-metil-etil)-benzamida; e 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-metóxi-etil)-N-metil-benza-
 30 mida.

Compostos preferidos adicionais da invenção são detalhados nos Exemplos e na Tabela I, *infra*.

Farmacologia e Utilidade

Compostos da invenção modulam a atividade de quinases e, como tais, são utilizáveis para o tratamento de doenças ou distúrbios em que quinases contribuam para a patologia e/ou sintomatologia da doença. Exemplos de quinases que são inibidas pelos compostos e composições aqui descritas e contra as quais os métodos aqui descritos são utilizáveis incluem, mas não se limitam a, Abl, Aurora-A, Bcr-Abl (formas de tipo selvagem e mutantes), Bmx, CDK1/ciclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3 β , JNK1 α 1, Lck, MKK4 e TrkB.

A tirosina quinase Abelson (isto é, Abl, c-Abl) está envolvida na regulação do ciclo celular, na resposta celular a estresse genotóxico e na transmissão de informações acerca do ambiente celular mediante sinalização de integrina. No total, parece que a proteína Abl desempenha um papel complexo como um módulo celular que integra sinais de várias fontes extracelulares e intracelulares e que influencia decisões com relação ao ciclo celular e apoptose. A tirosina quinase Abelson inclui derivados de subtipos, como a BCR-Abl de fusão quimérica (oncoproteína) com atividade de tirosina quinase desregulada ou a v-Abl. A BCR-Abl é crítica na patogênese de 95% das leucemias mielogênicas crônicas (CML) e 10% das leucemias linfocíticas agudas. STI-571 (Gleevec) é um inibidor da tirosina quinase BCR-Abl oncogênica e é usado para o tratamento de leucemia mielóide crônica (CML). Entretanto, alguns pacientes no estágio de crise de blastos da CML são resistentes a STI-571 devido a mutações na quinase BCR-Abl. Mais de 22 mutações foram relatadas até agora, as mais comuns sendo G250E, E255V, T315I, F317L e M351T.

Compostos da presente invenção inibem quinase abl, particularmente quinase v-abl. Os compostos da presente invenção também inibem a quinase BCR-Abl do tipo selvagem e mutações da quinase BCR-Abl e são, portanto, adequados para o tratamento de câncer e doenças tumorais Bcr-abl positivas, como leucemias (particularmente leucemia mielóide crônica e leucemia linfoblástica aguda, em que se encontram particularmente mecanismos de ação apoptóticas), e também mostram efeitos sobre o subgrupo

de células-tronco leucêmicas, assim como potencial para a purificação dessas células *in vitro* após remoção das ditas células (por exemplo, remoção de medula óssea) e reimplantação das células uma vez que tenham sido limpas das células cancerosas (por exemplo, reimplantação de células de medula óssea purificadas).

Certas famílias de proteína quinases estão envolvidas na regulação da função do centróssomo e fuso, como a quinase relacionada a Nima (Nek) 2, quinase do tipo Polo (Plk) 1 e quinases Aurora. Quinases Aurora foram primeiro descobertas em uma triagem em levedura de mutantes que apresentassem ploidia imprópria (*ipl*) após a divisão celular. Em *Drosophila*, descobriu-se que mutações na quinase Aurora impediam a separação do centróssomo, resultando, dessa forma, em fusos monopolares. Há três isoformas conhecidas de quinase Aurora descritas em mamíferos, Aurora A, B e C. Embora Aurora A e B sejam expressadas de maneira ubíqua, a Aurora C mostra expressão predominante no testículo, sugerindo um possível papel na meiose. A Aurora A se localiza no centróssomo e pólos de fuso da fase S tardia e G2 inicial até a M. Aurora A se liga a e é ativada por TPX2 na transição G2/M, que direciona Aurora A para os fusos mitóticos. Aurora A pode fosforilar histona H3 na serina 10 durante a maturação do centróssomo e montagem do fuso. Aurora B é uma proteína passageira de cromossomo que se desloca dos centrômeros para a zona média do fuso durante a mitose. A Aurora B se localiza nos fusos centrais durante a anáfase tardia e no corpo médio durante a telófase e citocinese. Propôs-se que a Aurora B regula a condensação e coesão de cromossomo, fixação de cromossomo bipolar, o ponto de verificação de fuso e a segregação de cromossomo. Embora se saiba menos acerca da importância de Aurora C, ela pode complementar algumas das funções de Aurora B.

A Aurora A se localiza no cromossomo 20q13, em uma região que comumente se mostra amplificada em câncer de mama e cólon (também se detecta superexpressão de proteína) e está associada a um prognóstico ruim. Tanto Aurora A, quanto B têm a capacidade de transformar linhagens celulares (NIH3T3 ou CHO) que são, então, capazes de formar tu-

mores em camundongos. O papel das quinases Aurora no ciclo celular e na gênese tumoral tornou-as alvos em potencial para o desenvolvimento de terapêuticas de molécula pequena. Por exemplo, a atividade de Aurora A está elevada em cânceres de bexiga, mama, cervical, colorretal, gástrico, neuroblastoma, ovariano e pancreático.

A família *trk* de receptores de neurotrofina (*trkA*, *trkB*, *trkC*) promove a sobrevivência, crescimento e diferenciação de tecidos neuronais e não neuronais. A proteína *TrkB* é expressada em células do tipo neuroendócrinas no intestino delgado e no cólon, nas células alfa do pâncreas, nos monócitos e macrófagos dos linfonodos e do baço e nas camadas granulares da epiderme (Shibayama e Koizumi, 1996). A expressão da proteína *TrkB* foi associada a uma progressão desfavorável de tumores de Wilms e de neuroblastomas. *TrkB*, além disso, é expressada em células cancerosas de próstata, mas não em células normais. A via de sinalização a jusante dos receptores de *trk* envolve a cascada de ativação de MAPK mediante os genes de *Shc*, *Ras* ativada, *ERK-1* e *ERK-2* e a via de transdução *PLC-gammal* (Sugimoto et al., 2001).

A família de quinases *Tec*, *Bmx*, uma tirosina quinase de proteína não receptora, controla a proliferação de células cancerosas epiteliais mamárias.

Demonstrou-se que o receptor de fator de crescimento de fibroblastos 3 exerce um efeito regulador negativo sobre o crescimento ósseo e uma inibição da proliferação de condrócitos. A displasia tanatofórica é causada por diferentes mutações no receptor de fator de crescimento de fibroblastos 3, e uma mutação, *TDII FGFR3*, tem uma atividade de tirosina quinase constitutiva que ativa o fator de transcrição *Stat1*, levando à expressão de um inibidor do ciclo celular, interrupção do crescimento e desenvolvimento ósseo anormal (Su et al., *Nature*, 1997, 386, 288-292). *FGFR3* também é freqüentemente expressada em cânceres do tipo mieloma múltiplo. Inibidores da atividade de *FGFR3* são úteis no tratamento de doenças inflamatórias ou auto-imunes mediadas por células T, incluindo, mas não limitadas a, artrite reumatóide (RA), artrite de colágeno II, esclerose múltipla (MS), lúpus eri-

tematoso sistêmico (SLE), psoríase, diabetes de início juvenil, doença de Sjogren, doença da tireóide, sarcoidose, uveíte auto-imune, doença inflamatória do intestino (de Crohn e colite ulcerativa), doença celíaca e miastenia gravis.

5 Lck desempenha um papel na sinalização de células T. Camundongos desprovidos do gene Lck têm uma capacidade ruim de desenvolver timócitos. A função de Lck como um ativador positivo da sinalização de células T sugere que inibidores de Lck possam ser úteis para o tratamento de doença auto-imune, como artrite reumatóide.

10 JNKs, juntamente com outras MAPKs, foram implicadas em um papel na mediação da resposta celular a câncer, agregação de plaquetas induzida por trombina, distúrbios de imunodeficiência, doenças auto-imunes, morte celular, alergias, osteoporose e doença cardíaca. Os alvos terapêuticos relacionados à ativação da via de JNK incluem leucemia mielogênica

15 crônica (CML), artrite reumatóide, asma, osteoartrite, isquemia, câncer e doenças neurodegenerativas. Como resultado da importância da ativação de JNK associada a doença hepática ou episódios de isquemia hepática, compostos da invenção também podem ser úteis para tratar vários distúrbios hepáticos. Um papel para JNK em doença cardiovascular, como infarto do

20 miocárdio ou insuficiência cardíaca congestiva, também foi relatado, pois se demonstrou que JNK medeia respostas hipertróficas a várias formas de estresse cardíaco. Demonstrou-se que a cascata de JNK também desempenha um papel na ativação de células T, incluindo a ativação do promotor IL-2. Assim, inibidores de JNK podem ter um valor terapêutico na alteração de

25 respostas imunes patológicas. Um papel para a ativação de JNK em vários cânceres também foi estabelecido, sugerindo o uso em potencial de inibidores de JNK no câncer. Por exemplo, JNK constitutivamente ativada está associada à gênese tumoral mediada por HTLV-1 [Oncogene 13:135-42 (1996)]. JNK pode desempenhar um papel no sarcoma de Kaposi (KS). Outros efeitos proliferativos de outras citocinas implicadas na proliferação de

30 KS, como fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), IL-6 e TNF α , também podem ser mediados por JNK. Além disso, a regulação do gene c-

jun em células transformadas com p210 BCR-ABL corresponde à atividade de JNK, sugerindo um papel para inibidores de JNK no tratamento de leucemia mielogênica crônica (CML) [Blood 92:2450-60 (1998)].

5 Proteína quinases ativadas por mitógeno (MAPKs) são membros das vias de transdução de sinais conservadas que ativam fatores de transcrição, fatores de tradução e outras moléculas alvo em resposta a vários sinais extracelulares. MAPKs são ativadas por fosforilação em um motivo de fosforilação duplo com a seqüência Thr-X-Tyr por quinase quinases ativadas por mitógeno (MKKs). Em eucariotos superiores, o papel fisiológico da sinalização com MAPK foi correlacionado a eventos celulares, como proliferação, oncogênese, desenvolvimento e diferenciação. Portanto, a capacidade de regular a transdução de sinal mediante essas vias (particularmente mediante MKK4 e MKK6) poderia levar ao desenvolvimento de tratamentos e terapias preventivas para doenças humanas associadas à sinalização com MAPK, 10 como doenças inflamatórias, doenças auto-imunes e câncer.

As SAPK's (também chamadas de "quinases jun N-terminais" ou "JNK's") são uma família de proteína quinases que representam a penúltima etapa nas vias de transdução de sinal que resultam na ativação do fator de transcrição c-jun e expressão de genes regulados por c-jun. Em particular, c-jun está envolvido na transcrição de genes que codificam proteínas envolvidas no reparo de DNA que seja danificado devido a insultos genotóxicos. Agentes que inibem a atividade de SAPK em uma célula impedem o reparo de DNA e sensibilizam a célula às modalidades terapêuticas de câncer que agem por indução de danos ao DNA. 20

25 CHK2 é um membro da família de quinases de ponto de verificação de serina/treonina proteína quinases e está envolvida em um mecanismo usado para verificação de dano ao DNA, como dano causado por agentes mutagênicos ambientais e espécies de oxigênio reativo endógenas. Como resultado, está implicada como um supressor de tumor e alvo para terapia de câncer. 30

Fes é uma proteína tirosina quinase não receptora que foi implicada em várias vias de transdução de sinais de citocinas, assim como na

diferenciação de células mielóides. Fes também é um componente chave da maquinaria de diferenciação de granulócitos.

A atividade da tirosina quinase receptora Flt3 está implicada em leucemias e síndrome mielodisplásica. Em aproximadamente 25% de AML, as células de leucemia expressam uma forma constitutivamente ativa de tirosina quinase FLT3 autofosforilada (p) na superfície celular. A atividade de p-FLT3 confere vantagens de crescimento e sobrevivência a células leucêmicas. Pacientes com leucemia aguda, cujas células de leucemia expressam atividade de quinase p-FLT3, têm um resultado clínico global pior. A inibição da atividade de quinase p-FLT3 induz apoptose (morte celular programada) de células leucêmicas.

De acordo com o precedente, a presente invenção também apresenta um método para prevenir ou tratar qualquer uma das doenças ou distúrbios acima descritos, em um sujeito necessitado desse tratamento, esse método compreendendo a administração ao dito sujeito de uma quantidade terapêuticamente eficaz (vide "*Administration and Pharmaceutical Compositions*", *infra*) de um composto de Fórmula I or seu sal farmacêuticamente aceitável. Para qualquer dos usos acima, a dosagem requerida variará dependendo do modo de administração, da condição particular a ser tratada e do efeito desejado.

Administração e Composições Farmacêuticas

Em geral, compostos da invenção serão administrados em quantidades terapêuticamente eficazes mediante qualquer um dos modos usuais e aceitáveis conhecidos na técnica, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos. Uma quantidade terapêuticamente eficaz pode variar amplamente, dependendo da gravidade da doença, da idade e da saúde relativa do sujeito, da potência do composto usado e de outros fatores. Em geral, indica-se que resultados satisfatórios são obtidos a dosagens diárias de cerca de 0,03 a 2,5 mg/kg de peso corporal. Uma dosagem diária indicada em mamíferos superiores maiores, por exemplo, seres humanos, está na faixa de cerca de 0,5 mg a cerca de 100 mg, convenientemente administrada, por exemplo, em doses divididas até quatro vezes ao

dia ou em forma retardada. Formas de dosagem unitária adequadas para administração oral compreendem de cerca de 1 a 50 mg de ingrediente ativo.

Os compostos da invenção podem ser administrados como composições farmacêuticas por qualquer via convencional, em particular enteral, por exemplo, oral, por exemplo, na forma de comprimidos ou cápsulas, ou parenteral, por exemplo, na forma de soluções ou suspensões injetáveis, tópica, por exemplo, na forma de loções, géis, unguentos ou cremes, ou em forma nasal ou de supositório. Composições farmacêuticas compreendendo um composto da presente invenção em forma livre ou em uma forma de sal farmacêuticamente aceitável em associação com pelo menos um veículo ou diluente farmacêuticamente aceitável podem ser fabricadas de maneira convencional por métodos de misturação, granulação ou revestimento. Por exemplo, composições orais podem ser comprimidos ou cápsulas de gelatina compreendendo o ingrediente ativo juntamente com a) diluentes, por exemplo, lactose, dextrose, sacarose, manitol, sorbitol, celulose e/ou glicina; b) lubrificantes, por exemplo, sílica, talco, ácido esteárico, seu sal de magnésio ou cálcio e/ou polietilenoglicol; para comprimidos também c) aglutinantes, por exemplo, silicato de magnésio alumínio, pasta de amido, gelatina, tragacanto, metilcelulose, carboximetilcelulose sódica e/ou polivinilpirrolidona; caso desejado d) desintegrantes, por exemplo, amidos, ágar, ácido algínico ou seu sal sódico, ou misturas efervescentes; e/ou e) absorventes, corantes, flavorizantes e adoçantes. Composições injetáveis podem ser soluções ou suspensões isotônicas aquosas, e supositórios podem ser preparados a partir de emulsões ou suspensões graxas. As composições podem ser esterilizadas e/ou conter adjuvantes, como agentes conservantes, estabilizadores, umectantes ou emulsificadores, promotores de solução, sais para regular a pressão osmótica e/ou tampões. Além disso, também podem conter outras substâncias terapêuticamente valiosas. Formulações adequadas para aplicações transdérmicas incluem uma quantidade eficaz de um composto da presente invenção com um veículo. Um veículo pode incluir solventes farmacologicamente aceitáveis absorvíveis para auxiliar a passagem através da

pele do hospedeiro. Por exemplo, dispositivos transdérmicos são na forma de uma bandagem compreendendo um elemento de suporte, um reservatório contendo o composto opcionalmente com veículos, opcionalmente uma barreira controladora de taxa para distribuir o composto à pele do hospedeiro a uma taxa controlada e predeterminada durante um período de tempo prolongado, e meios para prender o dispositivo à pele. Também se podem usar formulações transdérmicas de matriz. Formulações adequadas para aplicação tópica, por exemplo, à pele e olhos, são, de preferência, soluções aquosas, unguentos, cremes ou géis bem-conhecidos na técnica. Essas podem conter solubilizadores, estabilizadores, agentes de aumento de tonicidade, tampões e conservantes.

Os compostos da invenção podem ser administrados em quantidades terapêuticamente eficazes em combinação com um ou mais agentes terapêuticos (combinações farmacêuticas). Por exemplo, podem ocorrer efeitos sinérgicos com outras substâncias imunomoduladoras ou antiinflamatórias, por exemplo, quando usadas em combinação com ciclosporina, rapamicina ou ascomicina, ou seus análogos imunossuppressores, por exemplo, ciclosporina A (CsA), ciclosporina G, FK-506, rapamicina, ou compostos comparáveis, corticosteróides, ciclofosfamida, azatioprina, metotrexato, brequinar, leflunomida, mizoribina, ácido micofenólico, micofenolato mofetil, 15-desoxiespergualina, anticorpos imunossuppressores, particularmente anticorpos monoclonais para receptores de leucócitos, por exemplo, MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD25, CD28, B7, CD45, CD58 ou seus ligantes, ou outros compostos imunomoduladores, como CTLA41g. Quando os compostos da invenção são administrados em conjunto com outras terapias, as dosagens dos compostos co-administrados variarão, evidentemente, do tipo de cofármaco empregado, do fármaco específico empregado, da condição que está sendo tratada e assim por diante.

A invenção também apresenta combinações farmacêuticas, por exemplo, um kit, compreendendo a) um primeiro agente que seja um composto da invenção conforme aqui exposto, em forma livre ou em forma de sal farmaceuticamente aceitável, e b) pelo menos um co-agente. O kit pode

compreender instruções para sua administração.

Os termos "co-administração" ou "administração combinada" ou similares, conforme aqui utilizados, pretendem englobar a administração dos agentes terapêuticos selecionados a um único paciente, e pretendem incluir regimes de tratamento em que os agentes não sejam necessariamente ad-
5 ministrados pela mesma via de administração ou ao mesmo tempo.

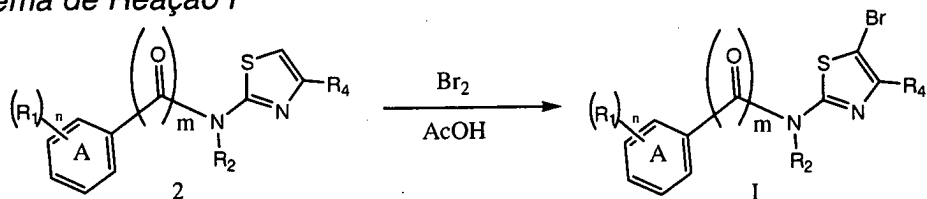
O termo "combinação farmacêutica", conforme aqui usado, significa um produto que resulta da mistura ou combinação de mais de um ingrediente ativo e inclui tanto combinações fixas, quanto não fixas dos in-
10 gredientes ativos. O termo "combinação fixa" significa que os ingredientes ativos, por exemplo, um composto de Fórmula I e um co-agente, são ambos administrados a um paciente simultaneamente na forma de uma única entidade ou dosagem. O termo "combinação não fixa" significa que os ingredien-
15 tes ativos, por exemplo, um composto de Fórmula I e um co-agente, são ambos administrados a um paciente como entidades separadas, simultânea, concomitante ou seqüencialmente, sem nenhum limite de tempo específico, em que essa administração fornece níveis terapeuticamente eficazes dos 2 compostos no corpo do paciente. Esta última também se aplica a terapia de coquetel, por exemplo, a administração de 3 ou mais ingredientes ativos.

20 Processos Para a Fabricação de Compostos da Invenção

A presente invenção também inclui processos para a preparação de compostos da invenção. Nas reações descritas, pode ser necessário proteger grupos funcionais reativos, por exemplo, grupos hidróxi, amino, imino, tio ou carbóxi, ondeo esses são desejados no produto final, para evitar sua
25 participação indesejável nas reações. Grupos protetores convencionais podem ser usados de acordo com a prática padronizada, por exemplo, vide T.W. Greene e P. G. M. Wuts em "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

Os compostos de Fórmula I podem ser preparados processan-
30 do-se como no Esquema de Reação I a seguir:

Esquema de Reação I



em que n , m , R_1 , R_2 e R_4 são conforme definidos no Sumário da Invenção. R_3 , neste caso, é Br, mas pode ser Cl ou I, dependendo dos reagentes usados. Um composto de Fórmula I pode ser sintetizado por reação de um
 5 composto de Fórmula 2 na presença de um solvente adequado (por exemplo, AcOH e outrosilares) e bromo. A reação se processa em uma faixa de temperaturas de cerca de 0°C a cerca de 40°C e pode levar até 10 horas para completar.

Exemplos detalhados da síntese de um composto de Fórmula I
 10 podem ser encontrados nos Exemplos *infra*.

Processos Adicionais Para a Fabricação de Compostos da Invenção

Um composto da invenção pode ser preparado como um sal de
 adição de ácido farmacologicamente aceitável por reação da forma de base
 livre do composto com um ácido inorgânico ou orgânico farmacologicamente
 15 aceitável. Alternativamente, um sal de adição de base farmacologicamente
 aceitável de um composto da invenção pode ser preparado por reação da
 forma de ácido livre do composto com uma base inorgânica ou orgânica far-
 maceuticamente aceitável.

Alternativamente, as formas de sal dos compostos da invenção
 20 podem ser preparadas usando-se sais dos materiais de partida ou interme-
 diários.

As formas de ácido livre ou base livre dos compostos da inven-
 ção podem ser preparadas a partir da forma de sal de adição de base ou sal
 de adição de ácido correspondente, respectivamente. Por exemplo, um
 25 composto da invenção em uma forma de sal de adição de ácido pode ser
 convertido na base livre correspondente por tratamento com uma base ade-
 quada (por exemplo, solução de hidróxido de amônio, hidróxido de sódio e
 similares). Um composto da invenção em uma forma de sal de adição de
 base pode ser convertido no ácido livre correspondente por tratamento com

um ácido adequado (por exemplo, ácido clorídrico etc.).

Compostos da invenção em forma não oxidada podem ser preparados a partir de N-óxidos de compostos da invenção por tratamento com um agente redutor (por exemplo, enxofre, dióxido de enxofre, trifenil fosfina, boroidreto de lítio, boroidreto de sódio, tricloreto de fósforo, tribrometo ou similares), em um solvente orgânico inerte adequado (por exemplo, acetonitrila, etanol, dioxano aquoso ou e similares) de 0 a 80°C.

Derivados de pró-fármaco dos compostos da invenção podem ser preparados por métodos conhecidos por aqueles versados na técnica (por exemplo, para detalhes adicionais, vide Saulnier et al., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, p. 1985). Por exemplo, pró-fármacos apropriados podem ser preparados por reação de um composto não derivatizado da invenção com um agente de carbamilação adequado (por exemplo, 1,1-aciloxialquilcarbanocloridato, carbonato de para-nitrofenila ou similares).

Derivados protegidos dos compostos da invenção podem ser preparados por meios conhecidos por aqueles versados na técnica. Uma descrição detalhada de técnicas aplicáveis à criação de grupos protetores e sua remoção pode ser encontrada em T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3ª edição, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

Compostos da presente invenção podem ser convenientemente preparados, ou formados durante o processo da invenção, como solvatos (por exemplo, hidratos). Hidratos de compostos da presente invenção podem ser convenientemente preparados por recristalização de uma mistura de solvente aquoso/orgânico, usando solventes orgânicos como dioxina, tetraidrofurano ou metanol.

Compostos da invenção podem ser preparados como seus estereoisômeros individuais por reação de uma mistura racêmica do composto com um agente de resolução opticamente ativo, para formar um par de compostos diastereoisoméricos, separação dos diastereômeros e recuperação dos enantiômeros opticamente puros. Embora a resolução de enantiômeros possa ser realizada usando-se derivados diastereoméricos covalentes dos

compostos da invenção, preferem-se complexos dissociáveis (por exemplo, sais diastereoméricos cristalinos). Diastereômeros têm propriedades físicas distintas (por exemplo, pontos de fusão, pontos de ebulição, solubilidades, reatividade, etc.) e podem ser prontamente separados tirando-se vantagem dessas dissimilaridades. Os diastereômeros podem ser separados separados tirando-se vantagem dessas dissimilaridades. Os diastereômeros podem ser separados por cromatografia ou, de preferência, por técnicas de separação/resolução baseadas em diferenças de solubilidade. O enantiômero opticamente puro é, então, recuperado, juntamente com o agente de resolução, por qualquer meio prático que não resulte em racemização. Uma descrição mais detalhada das técnicas aplicáveis à resolução de estereoisômeros de compostos a partir de sua mistura racêmica pode ser encontrada em Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.

Em resumo, os compostos de Fórmula I podem ser preparados por um processo que envolve:

- (a) o do esquema de reação I; e
- (b) opcionalmente, a conversão de um composto da invenção em um sal farmaceuticamente aceitável;
- (c) opcionalmente, a conversão de uma forma de sal de um composto da invenção em uma forma não sal;
- (d) opcionalmente, a conversão de uma forma não oxidada de um composto da invenção em um N-óxido farmaceuticamente aceitável;
- (e) opcionalmente, a conversão de uma forma de N-óxido de um composto da invenção em sua forma não oxidada;
- (f) opcionalmente, a resolução de um isômero individual de um composto da invenção a partir de uma mistura de isômeros;
- (g) opcionalmente, a conversão de um composto não derivatizado da invenção em um derivado de pró-fármaco farmaceuticamente aceitável; e

- (h) opcionalmente, a conversão de um derivado de pró-fármaco de um composto da invenção em sua forma não derivatizada.

Na medida em que a produção dos materiais de partida não seja particularmente descrita, os compostos são conhecidos ou podem ser preparados de maneira análoga a métodos conhecidos na técnica ou conforme exposto nos Exemplos a seguir.

Aqueles versados na técnica perceberão que as transformações acima são apenas representativas de métodos para a preparação dos compostos da presente invenção, e que outros métodos bem-conhecidos também podem ser usados.

Exemplos

A presente invenção é adicionalmente exemplificada, mas não limitada, pelos exemplos a seguir, que ilustram a preparação de compostos de Fórmula I de acordo com a invenção.

A menos que indicado de outra forma, os materiais são obtidos em fornecedores comerciais e são usados sem purificação. A remoção do solvente sob pressão reduzida se refere à destilação usando um evaporador rotativo Büchi ligado a uma bomba de vácuo (~3 mmHg). Produtos obtidos como sólidos ou óleos de alto ponto de ebulição são secados sob vácuo (~1 mmHg).

Realiza-se a cromatografia líquida de alta pressão em fase reversa (HPLC) usando-se um Sistema de Cromatografia Varian (ProStar Model 210) com coluna C₁₈ (Fenomenex) usando-se água-acetonitrila (0,035% de TFA) como eluente. Os espectros de ¹H RMN são registrados em um Bruker XWIN-RMN (400 MHz ou 600 MHz). As ressonâncias de próton são relatadas em partes por milhão (ppm) no campo a jusante de tetrametilsilano (TMS). Os dados de ¹H RMN são relatados como multiplicidade (s singleto, d dupletos, t tripleto, q quarteto, quint quinteto, sept septeto, dd dupletos de dupletos, dt, dupletos de tripletos, bs singleto largo), número de prótons e constante de acoplamento em Hertz. Para espectros obtidos em DMSO-*d*₆, CD₃OD, os prótons residuais (2,50 e 3,31 ppm, respectivamente) são usa-

dos como referência.

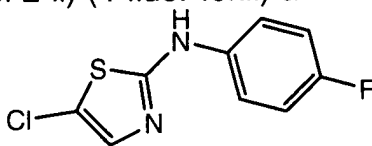
A cromatografia de camada fina analítica (TLC) é realizada em placas de sílica comerciais (Merck 60-F 254, 0,25 mm de espessura); os compostos são visualizados por luz UV (254 nm). Realiza-se a cromatografia instantânea usando-se sílica-gel (Merck Kieselgel 60, malha 230 - 400).

Usa-se um detector seletivo de cromatografia líquida/massa Agilent série 1100 (LC/MSD) para monitorizar o progresso das reações e verificar a pureza dos produtos usando-se os comprimentos de onda 254 nm, 220 nm, e modo positivo de ionização por eletropulverização (ESI). Os espectros de massa são obtidos em modo positivo de ESI.

(5-Bromo-tiazol-2-il)-aril-aminas são sintetizadas em duas etapas a partir de aril tiouréias, a menos que especificamente indicado. Um procedimento típico é exemplificado abaixo. Uma solução de ariltiouréia (1,67 mmol) e 1,2-dicloro-1-etóxi-etano (0,286 g, 2,00 mmols) em etanol (3 mL) é aquecida a 75°C durante 12 horas em um frasco vedado com agitação. É, então, concentrada a vácuo para fornecer a ariltiazol-2-il-amina bruta como um óleo ou sólido. Ariltiazol-2-il-aminas brutas são usadas sem purificação adicional na etapa seguinte. Ariltiazol-2-ila aminas puras poderiam ser obtidas por recristalização a partir de etanol. A uma solução sob agitação de ariltiazol-2-il-amina bruta (0,42 mmol) em ácido acético, adiciona-se bromo em ácido acético (0,42 mmol). A reação é agitada durante mais 1 hora à temperatura ambiente, após a qual o solvente é, então, removido a vácuo. O resíduo resultante é purificado por HPLC (coluna C₁₈, eluído com CH₃CN/H₂O com 0,035% de TFA) para fornecer (5-bromo-tiazol-2-il)-aril-amina como um sólido.

Exemplo 1

(5-Cloro-tiazol-2-il)-(4-flúor-fenil)-amina

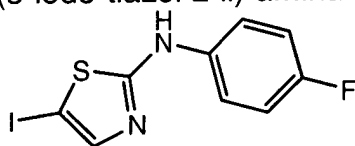


A uma solução de (4-flúor-fenil)-tiazol-2-il-amina (60 mg, 0,31 mmol) em THF (5 mL), adiciona-se N-clorossuccinimida (42 mg, 0,31 mmol). A reação é agitada à temperatura ambiente durante 2 horas, após as quais o

solvente é removido a vácuo. O resíduo resultante é purificado por HPLC (coluna C₁₈, eluído com CH₃CN/H₂O com 0,035% de TFA) para fornecer o composto do título como um sólido esbranquiçado: ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 7,15 (t, 2H, J = 8,8 Hz), 7,23 (s, 1H), 7,58 (dd, 2H, J₁ = 4,8 Hz, J₂ = 8,8 Hz), 10,31 (s, 1H); m/z [M⁺+1] 228,9.

Exemplo 2

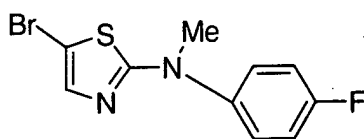
(4-flúor-fenil)-(5-iodo-tiazol-2-il)-amina



A uma solução de (4-flúor-fenil)-tiazol-2-il-amina (60 mg, 0,31 mmol) em THF (5 mL), adiciona-se N-iodo succinimida (70 mg, 0,31 mmol). A reação é agitada à temperatura ambiente durante 2 horas, após as quais o solvente é removido a vácuo. O resíduo resultante é purificado por HPLC (coluna C₁₈, eluído com CH₃CN/H₂O com 0,035% de TFA) para fornecer o composto do título como um sólido esbranquiçado: ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 7,14 (t, 2H, J = 8,8 Hz), 7,32(s, 1H), 7,58 (dd, 2H, J₁ = 4,8 Hz, J₂ = 8,8 Hz), 10,34 (s, 1H); m/z [M⁺+1] 320,9.

Exemplo 3

(5-Bromo-tiazol-2-il)-(4-flúor-fenil)-metil-amina

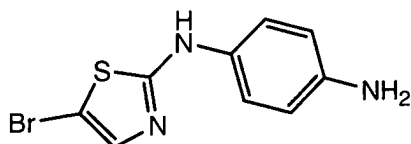


Uma solução de (4-flúor-fenil)-tiazol-2-il-amina (97 mg, 0,5 mmol) em DMF (1 mL) é resfriada a 0°C, e se adiciona NaH (dispersão a 60% em óleo mineral, 40 mg, 1,0 mmol). A mistura resultante é agitada a 0°C durante 10 minutos antes da adição de iodometano (142 mg, 1,0 mmol). Depois de agitar à temperatura ambiente durante 12 horas, a mistura de reação é finalizada com NH₄Cl aquoso saturado (10 mL) e extraída com acetato de etila (10 mL × 2). As camadas orgânicas são combinadas, lavadas com água (10 mL), salmoura saturada (10 mL) e secadas com Na₂SO₄ anidro. Depois da remoção do solvente a vácuo, a (4-flúor-fenil)-metil-tiazol-2-il-amina resultante é, então, submetida ao procedimento de bromação padrão

para fornecer o composto do título como um sólido esbranquiçado após purificação com HPLC: ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 3,39 (s, 3H), 7,26 (s, 1H), 7,31 (t, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,52 (dd, 2H, $J_1 = 5,2$ Hz, $J_2 = 8,8$ Hz); m/z [$M^+ + 1$] 286,9.

Exemplo 4

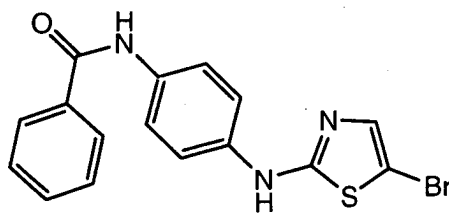
5 N-(5-Bromo-tiazol-2-il)-benzeno-1,4-diamina



Uma solução de (4-nitro-fenil)-tiazol-2-il-amina (60 mg, 0,2 mmol) e $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (185 mg, 0,8 mmol) em etanol (5 mL) é aquecida a 75°C durante 4 horas. O solvente é removido a vácuo, e se adicionam Na_2CO_3 aquoso saturado (5 mL) e acetato de etila (5 mL). A mistura resultante é filtrada através de celite, e a camada de acetato de etila é separada, secada e concentrada a vácuo. O resíduo é purificado por HPLC (coluna C_{18} , eluído com $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ com 0,035% de TFA) para fornecer o composto do título como um sólido: ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 7,18 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,31 (s, 1H), 7,59 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 9,20 (bs, 2H), 10,41 (s, 1H); m/z [$M^+ + 1$] 269,9.

15 Exemplo 5

N-[4-(5-Bromo-tiazol-2-ilamino)-fenil]-benzamida

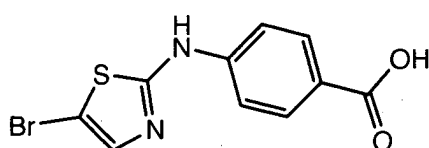


(4-Nitro-fenil)-tiazol-2-il-amina (200 mg) é dissolvida em MeOH (30 mL) e hidrogenada a $3,5 \text{ kg}/\text{cm}^2$ (50 psi) na presença de Pd/C (10%, 250 mg) durante 12 horas. O catalisador é filtrado, e o solvente é removido para fornecer N-tiazol-2-il-benzeno-1,4-diamina (0,16 g, 92%). N-tiazol-2-il-benzeno-1,4-diamina (30 mg, 0,16 mmol) é tratada com cloreto de benzoíla (24 mg, 0,17 mmol) na presença de trietilamina (32 mg, 0,31 mmol) em CH_2Cl_2 (2 mL) durante 2 horas. A reação é finalizada com Na_2CO_3 aquoso saturado (10 mL) e extraída com acetato de etila (10 mL \times 2). As camadas de acetato de etila são combinadas e secadas com Na_2SO_4 anidro. N-[4-

(Tiazol-2-ilamino)-fenil]-benzamida é obtida após a remoção do solvente a vácuo. O tiazol bruto é, então, submetido ao procedimento de bromação padrão para fornecer o composto do título como um sólido branco após purificação com HPLC: $^1\text{H RMN}$ (DMSO- d_6) δ 7,29 (s, 1H), 7,48-7,60 (m, 5H), 7,71 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz), 7,95 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz), 10,18 (s, 1H), 10,29 (s, 1H); m/z $[M^+ + 1]$ 373,9.

Exemplo 6

Ácido 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-benzóico

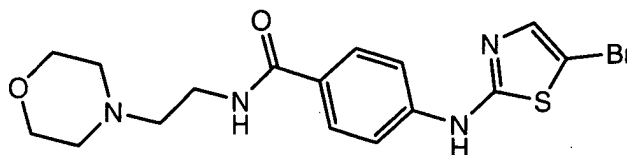


Uma solução de éster etílico de ácido 4-(tiazol-2-ilamino)-benzóico (0,15 g, 0,60 mmol) e KOH (0,14 g, 2,4 mmols) em dioxano- H_2O (1:1, 20 mL) é agitada à temperatura ambiente durante 24 horas. A mistura de reação é, então, acidificada com ácido clorídrico até $\text{pH} = 4 - 5$ (monitorizado com papel de pH). O precipitado resultante é coletado por filtração para fornecer ácido 4-(tiazol-2-ilamino)-benzóico como um sólido esbranquiçado.

O ácido 4-(tiazol-2-ilamino)-benzóico é submetido ao procedimento de bromação padrão para fornecer o composto do título: $^1\text{H RMN}$ (DMSO- d_6) δ 7,39 (s, 1H), 7,65 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,88 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 10,71 (s, 1H), 12,56 (bs, 1H); m/z $[M^+ + 1]$ 298,9.

Exemplo 7

4-(5-Bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida, sal de TFA

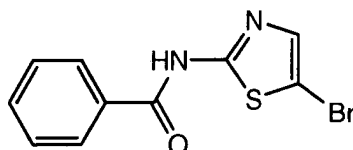


A uma solução de ácido 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-benzóico (24, 60 mg, 0,20 mmol), 2-morfolin-4-il-etilamina (78 mg, 0,6 mmol) e N,N-diisopropiletil-amina (77 mg, 0,6 mmol) em DMF (2 mL), adiciona-se HATU (91 mg, 0,24 mmol). A solução resultante é agitada durante 1 hora à temperatura ambiente, e o solvente é removido a vácuo. O resíduo é purificado por

HPLC (coluna C₁₈, eluído com CH₃CN/H₂O com 0,035% de TFA) para fornecer o composto do título como um sal de TFA: ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 3,08-3,18 (m, 2H), 3,24-3,28 (m, 2H), 3,50-3,70 (m, 4H), 3,96-4,04 (m, 4H), 7,38 (s, 1H), 7,65 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,83 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 8,57 (t, 1H, J = 6,0 Hz), 9,54 (bs, 1H), 10,64 (s, 1H); m/z [M⁺+1] 411,0.

Exemplo 8

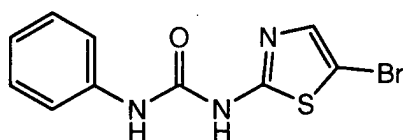
N-(5-Bromo-tiazol-2-il)-benzamida



A uma solução de 2-aminotiazol (0,10 g, 1,0 mmol), ácido benzoico (0,15 g, 1,2 mmol), N,N-diisopropiletilamina (0,39 g, 3,0 mmols) em DMF (5 mL), adiciona-se HATU (0,46 g, 1,2 mmol). A mistura de reação é agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, após a qual o solvente é removido a vácuo. Adiciona-se NH₄Cl aquoso saturado (10 mL), e a mistura é extraída com CH₂Cl₂ (10 mL). A camada de CH₂Cl₂ é lavada com NaHCO₃ aquoso saturado e secada com Na₂SO₄ anidro. O solvente é removido a vácuo, e o material bruto resultante é purificado por cromatografia de coluna (sílica-gel, hexano-acetato de etila) para fornecer N-tiazol-2-il-benzamida como um sólido branco. N-tiazol-2-il-benzamida é submetida ao procedimento de bromação padrão para fornecer o composto do título após purificação com HPLC: ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 7,55 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 7,65 (t, 1H, J = 7,2 Hz), 7,66 (s, 1H), 8,08 (d, 2H, J = 6,4 Hz), 12,82 (bs, 1H); m/z [M⁺+1] 282,9.

Exemplo 9

1-(5-Bromo-tiazol-2-il)-3-fenil-uréia

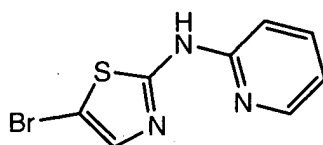


A uma solução de 2-aminotiazol (0,1 g, 1,0 mmol) e N,N-diisopropiletilamina (0,39 g, 3,0 mmols) em THF (10 mL), adiciona-se isocianato de fenila (0,12 g, 1,0 mmol). A mistura de reação é agitada à temperatura ambiente durante 2 horas, e, então, se adiciona NH₄Cl aquoso saturado (10 mL). A mistura é extraída com acetato de etila (10 mL × 2). As camadas

de acetato de etila são combinadas e secadas com Na₂SO₄ anidro. O solvente é evaporado a vácuo para fornecer 1-fenil-3-tiazol-2-il-uréia como um sólido branco. 1-fenil-3-tiazol-2-il-uréia é submetida ao procedimento de bromação padrão para fornecer o composto do título após purificação com HPLC. ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 7,05 (t, 1H, J = 8,0 Hz), 7,21 (t, 2H, J = 8,0 Hz), 7,43-7,48 (m, 3H), 8,92 (s, 1H), 10,71 (s, 1H); m/z [M⁺+1] 297,9.

Exemplo 10

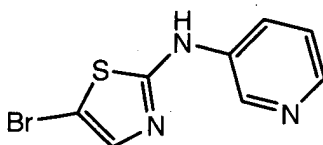
(5-Bromo-tiazol-2-il)-piridin-2-il-amina



Uma solução de 2-cloropiridina (0,34 g, 3,0 mmols), 2-amino-tiazol (0,314 g, 3,1 mmols), Na₂CO₃ (0,76 g, 7,2 mmols), Pd₂(dba)₃ (0,275 g, 0,3 mmol) e XantPhos (0,52 g, 0,9 mmol), H₂O (54 mg, 3,0 mmols) em tolueno (25 mL) é aquecida a 100°C durante 12 horas. A mistura de reação é filtrada e, então, concentrada a vácuo. O resíduo é purificado por cromatografia de coluna (sílica-gel, eluído com CH₂Cl₂:MeOH:NH₃ (7N, em MeOH) = 20:1:1) para fornecer piridin-2-il-tiazol-2-il-amina, que é, então, submetida ao procedimento de bromação padrão para fornecer o composto do título como um sólido esbranquiçado após purificação com HPLC: ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 6,95 (t, 1H, J = 6,4 Hz), 7,03 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,44 (s, 1H), 7,73 (t, 1H, J = 6,4 Hz), 8,30 (d, 1H, J = 3,6 Hz), 11,51 (s, 1H); m/z [M⁺+1] 255,9.

Exemplo 11

(5-Bromo-tiazol-2-il)-piridin-3-il-amina



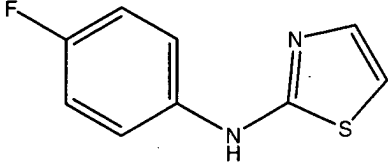
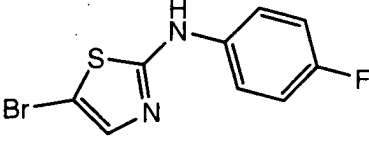
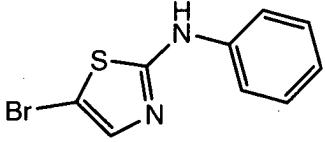
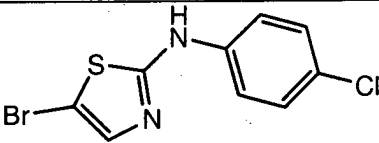
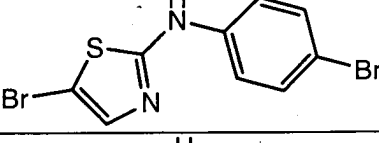
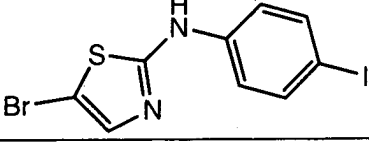
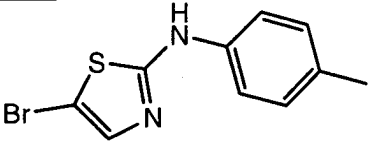
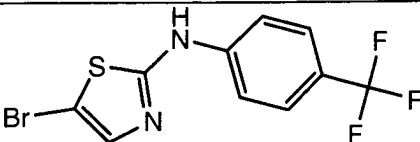
Uma solução de 3-piridiltiouréia (0,153 g, 1,0 mmol) e cloroacetaldéido em água (50%, 0,127 mL) é dissolvida em etanol (30 mL) e agitada durante 16 horas a 60 °C. O solvente é removido a vácuo, e o resíduo resultante é submetido ao procedimento de bromação padrão. O composto do título é obtido após purificação com HPLC como um sólido esbranquiçado: ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 7,93 (s, 1H), 7,67 (dd, 1H, J₁ = 5,2 Hz, J₂ = 9,0

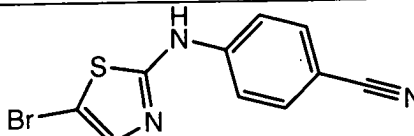
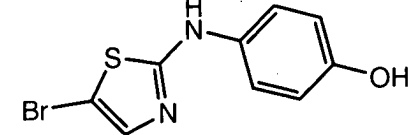
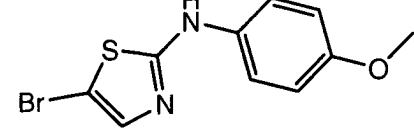
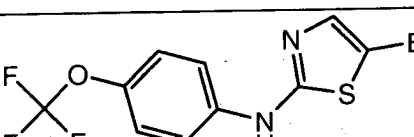
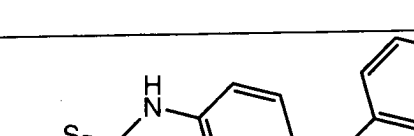

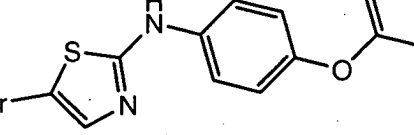
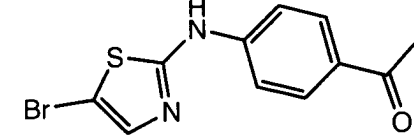
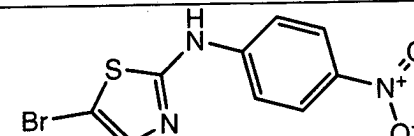
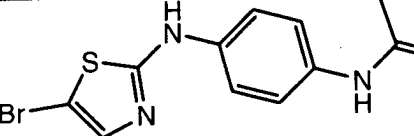
H_z), 8,28 (dd, 1H, J₁ = 2,4 Hz, J₂ = 9,0 Hz), 8,35 (d, 1H, J = 5,2 Hz), 8,99 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 11,00 (s, 1H); m/z [M⁺+1] 255,9.

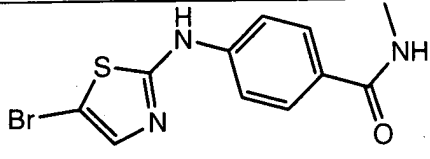
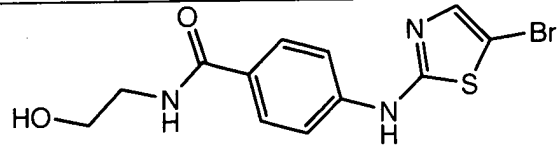
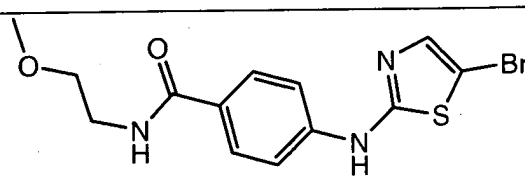
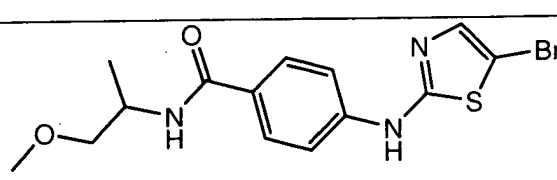
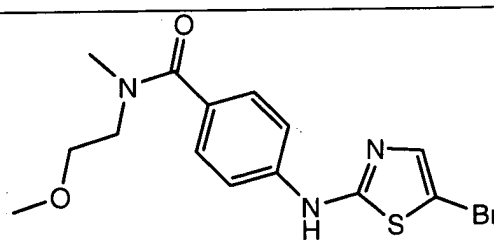
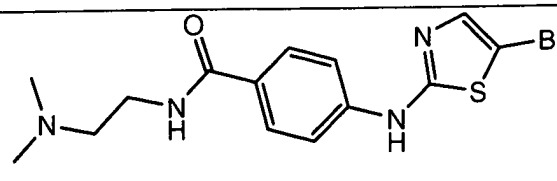
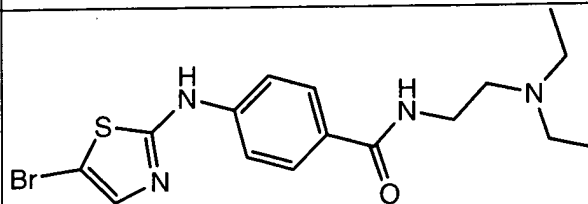
Repetindo-se os procedimentos descritos nos exemplos, com materiais de partida apropriados, obtêm-se os seguintes compostos de Fórmula I, conforme identificados na Tabela 1.

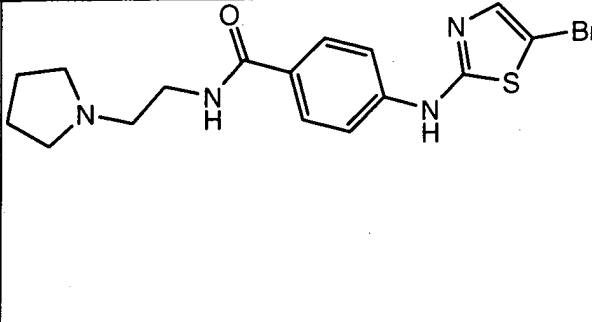
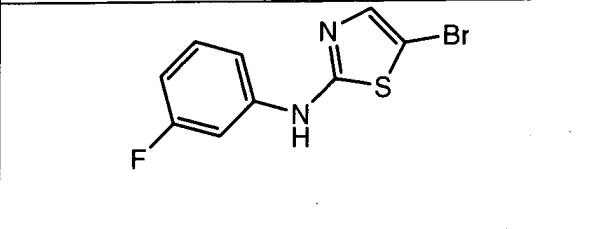
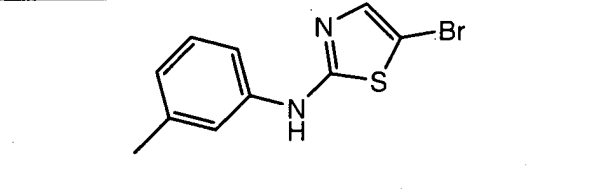
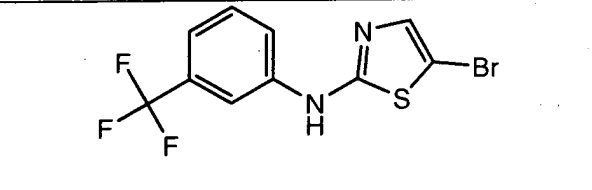
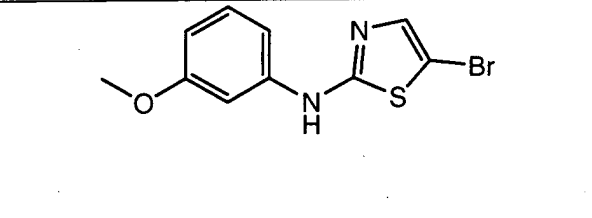
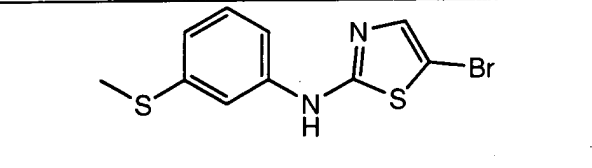
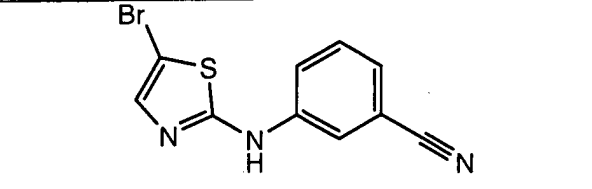
5

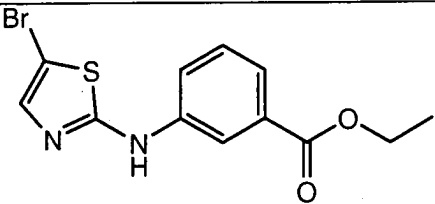
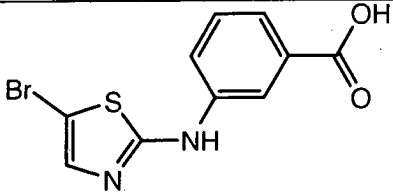
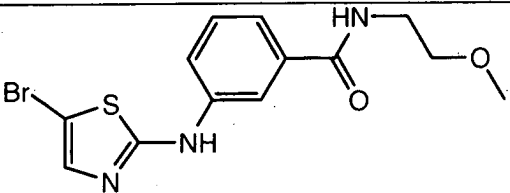
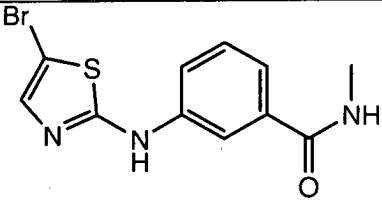
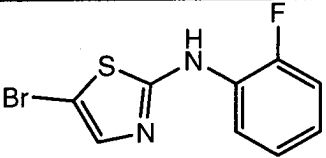
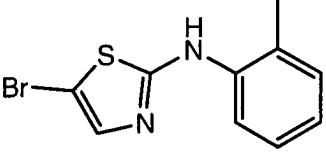
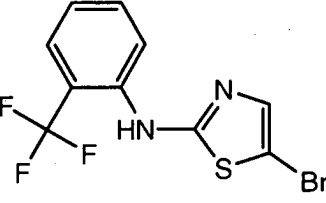
Tabela 1

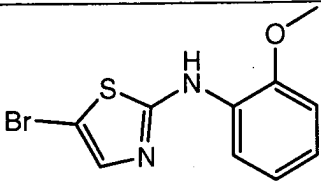
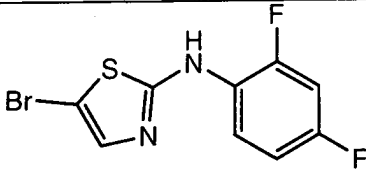
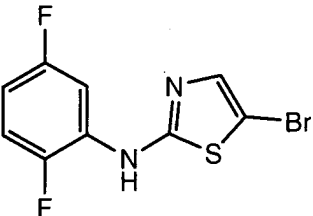
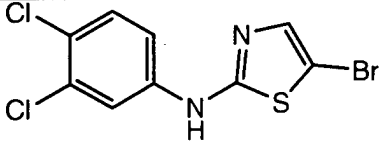
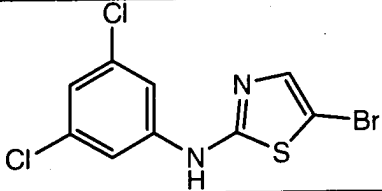
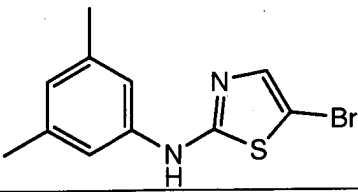
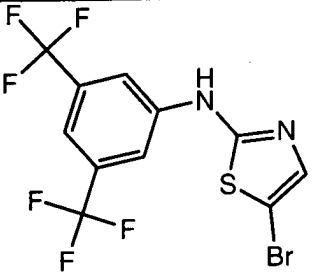
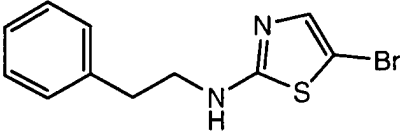
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO-d ₆) e/ou MS (m/z)
12		¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 6,96 (d, 1H, J = 4,0 Hz), 7,21 (t, 2H, J = 8,8 Hz), 7,29 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,60 (dd, 2H, J ₁ = 4,0 Hz, J ₂ = 8,0 Hz), 11,10 (bs, 1H); m/z [M ⁺ +1] 195,0.
13		¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 7,14 (t, 2H, J = 8,8 Hz), 7,28 (s, 1H), 7,58 (dd, 2H, J ₁ = 4,4 Hz, J ₂ = 8,8 Hz), 10,38 (s, 1H); m/z [M ⁺ +1] 272,9.
14		¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 6,95 (t, 1H, J = 7,2 Hz), 7,28 (s, 1H), 7,29 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 7,57 (d, 2H, J = 7,6 Hz), 10,47 (bs, 1H); m/z [M ⁺ +1] 254,9.
15		¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 7,32 (s, 1H), 7,34 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,60 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 10,48 (s, 1H); m/z [M ⁺ +1] 290,9.
16		¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 7,31 (s, 1H), 7,46 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,56 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 10,54 (s, 1H); m/z [M ⁺ +1] 334,8.
17		¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 7,32 (s, 1H), 7,41 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,61 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 10,44 (s, 1H); m/z [M ⁺ +1] 380,8.
18		¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 2,24 (s, 3H), 7,11 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,27 (s, 1H), 7,44 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 10,26 (s, 1H); m/z [M ⁺ +1] 268,9.
19		¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 7,38 (s, 1H), 7,64 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 7,77 (d, 2H, J = 8,0 Hz), 11,83 (bs, 1H); m/z [M ⁺ +1] 322,9.

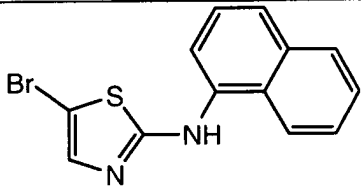
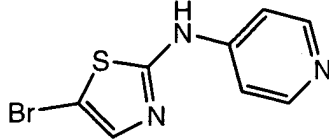
20		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,41 (s, 1H), 7,74 (s, 4H), 10,94 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 279,9.
21		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 6,71 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,20 (s, 1H), 7,31 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 9,96 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 270,9.
22		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 3,71 (s, 3H), 6,89 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,24 (s, 1H), 7,46 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 10,19 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 284,9.
23		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,31 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,33 (s, 1H), 7,67 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 10,57 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 338,9.
24		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 6,94 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,01 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,08 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,27 (s, 1H), 7,35 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz), 7,59 (t, 2H, $J = 8,8$ Hz), 10,41 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 346,9.
25		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,26 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz), 7,33 (s, 1H), 7,36 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz), 7,74 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz), 8,71 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz), 10,58 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 347,9.
26		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 2,49 (s, 3H), 7,40 (s, 1H), 7,37 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,92 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 10,75 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 296,9.
27		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,46 (s, 1H), 7,79 (d, 2H, $J = 9,6$ Hz), 8,21 (d, 2H, $J = 9,6$ Hz), 11,19 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 299,9.
28		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 2,01 (s, 3H), 7,26 (s, 1H), 7,45 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,50 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 9,83 (s, 1H), 10,21 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 311,9.
29		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 1,30 (t, 3H, $J = 7,6$ Hz), 4,27 (q, 2H, $J = 7,6$ Hz), 7,39 (s, 1H), 7,69 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,90 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 10,80 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 326,9.

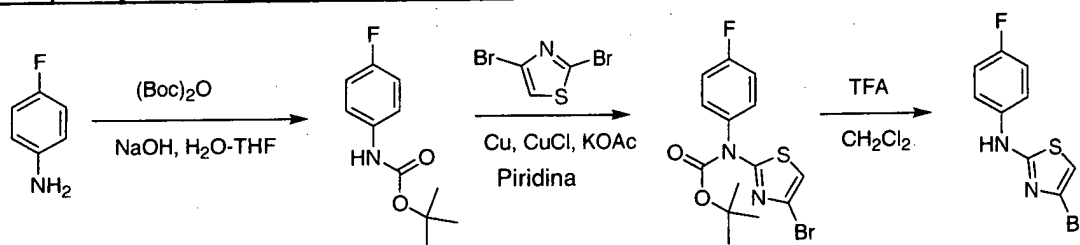
30		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 2,76 (d, 3H, $J = 4,4$ Hz), 7,36 (s, 1H), 7,60 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,79 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 8,25 (q, 1H, $J = 4,4$ Hz), 10,57 (s, 1H); m/z [$M^+ + 1$] 311,9.
31		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 3,30 (q, 2H, $J = 6,0$ Hz), 3,49 (t, 2H, $J = 6,0$ Hz), 7,36 (s, 1H), 7,60 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz), 7,82 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz), 8,27 (t, 1H, $J = 6,0$ Hz), 10,60 (s, 1H); m/z [$M^+ + 1$] 342,0.
32		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 3,26 (s, 3H), 3,36-3,48 (m, 4H), 7,36 (s, 1H), 7,61 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,81 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 8,34 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz), 10,59 (s, 1H); m/z [$M^+ + 1$] 355,9.
33		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 1,12 (d, 3H), 3,24-3,28 (dd, 1H, $J_1 = 6,6$ Hz, $J_2 = 9,6$ Hz), 3,26 (s, 3H), 3,39 (dd, 1H, $J_1 = 7,8$ Hz, $J_2 = 9,6$ Hz), 4,18 (sept, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,36 (s, 1H), 7,61 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz), 7,81 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz), 8,03 (d, 1H, $J = 6,6$ Hz), 10,60 (s, 1H); m/z [$M^+ + 1$] 370,0.
34		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 2,96 (s, 3H), 3,16-3,32 (m, 3H), 3,40-3,60 (m, 4H), 7,34 (s, 1H), 7,36 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 7,60 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 10,54 (s, 1H); m/z [$M^+ + 1$] 370,0.
35		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 2,84 (d, 6H, $J = 4,2$ Hz), 3,24 (q, 2H, $J = 6,0$ Hz), 3,57 (q, 2H, $J = 6,0$ Hz), 7,38 (s, 1H), 7,65 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,83 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 8,53 (t, 1H, $J = 4,2$ Hz), 9,23 (s, 1H), 10,65 (s, 1H); m/z [$M^+ + 1$] 369,0.
36		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 1,21 (t, 6H, $J = 7,2$ Hz), 3,18-3,26 (m, 6H), 3,58 (q, 2H, $J = 6,0$ Hz), 7,38 (s, 1H), 7,65 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz), 7,82 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz), 8,56 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz), 9,08 (s, 1H), 10,66 (s, 1H); m/z [$M^+ + 1$] 397,0.

37		$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6) \delta$ 1,82-1,88 (m, 2H), 1,99-2,05 (m, 2H), 3,02-3,09 (m, 2H), 3,32 (q, 2H, $J = 6,0$ Hz), 3,57 (q, 2H, $J = 6,0$ Hz), 3,60-3,67 (m, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,65 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 7,83 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 8,55 (t, 1H, $J = 6,0$ Hz), 9,34 (s, 1H), 10,65 (s, 1H); m/z $[M^+ + 1]$ 395,0.
38		$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6) \delta$ 6,77 (td, 1H, $J_1 = 2,8$ Hz, $J_2 = 8,4$ Hz), 7,22 (dd, 1H, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 8,4$ Hz), 7,32 (q, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,35 (s, 1H), 6,63 (td, 1H, $J_1 = 2,8$ Hz, $J_2 = 12$ Hz), 10,60 (s, 1H); m/z $[M^+ + 1]$ 272,9.
39		$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6) \delta$ 2,28 (s, 3H), 6,78 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,18 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,29 (s, 1H), 7,32 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,39 (s, 1H), 10,24 (s, 1H); m/z $[M^+ + 1]$ 268,9.
40		$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6) \delta$ 7,29 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,39 (s, 1H), 7,53 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,69 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 8,14 (s, 1H), 10,73 (s, 1H); m/z $[M^+ + 1]$ 322,9.
41		$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6) \delta$ 3,73 (s, 3H), 6,55 (dd, 1H, $J_1 = 2,4$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz), 7,05 (dd, 1H, $J_1 = 2,4$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz), 7,20 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,26 (t, 1H, $J = 2,0$ Hz), 7,30 (s, 1H), 10,32 (s, 1H); m/z $[M^+ + 1]$ 384,9.
42		$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6) \delta$ 2,45 (s, 3H), 6,85 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,20-7,28 (m, 2H), 7,32 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 10,36 (s, 1H); m/z $[M^+ + 1]$ 300,9.
43		$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6) \delta$ 7,40 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,51 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,73 (dd, 1H, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz), 8,15 (s, 1H), 10,71 (s, 1H); m/z $[M^+ + 1]$ 279,9.

44		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 1,31 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz), 4,31 (q, 2H, $J = 7,2$ Hz), 7,35 (s, 1H), 7,44 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,54 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,84 (dd, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz), 8,20-8,24 (m, 1H), 10,60 (bs, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 326,9.
45		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,35 (s, 1H), 7,42 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,53 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,76 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 8,25 (s, 1H), 10,57 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 298,9.
46		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 3,27 (s, 3H), 3,38-3,48 (m, 4H), 7,33 (s, 1H), 7,35-7,42 (m, 2H), 7,73 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,98 (s, 1H), 8,44 (t, 1H, $J = 5,2$ Hz), 10,45 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 355,9.
47		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 2,77 (d, 3H, $J = 3,6$ Hz), 7,33 (s, 1H), 7,36-7,40 (m, 2H), 7,68-7,72 (m, 1H), 7,99 (s, 1H), 8,36 (d, 1H, $J = 3,6$ Hz), 10,44 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 311,9.
48		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,01 (dd, 1H, $J_1 = 7,2$ Hz, $J_2 = 14,8$ Hz), 7,15 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,24 (dd, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 11,6$ Hz), 7,31 (s, 1H), 8,31 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz), 10,14 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 272,9.
49		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 2,24 (s, 3H), 7,01 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,17 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,20 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,21 (s, 1H), 7,78 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 9,42 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 268,9.
50		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,21 (s, 1H), 7,33 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,65 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,71 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,86-7,88 (m, 1H), 9,61 (s, 1H); m/z $[\text{M}^+ + 1]$ 322,9.

51		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 3,85 (s, 3H), 6,90 (dt, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz), 6,97 (dt, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz), 7,01 (dd, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz), 7,25 (s, 1H), 8,23 (dd, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz), 9,70 (s, 1H); m/z $[\text{M}^++1]$ 284,9.
52		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,06 (t, 1H, $J = 8$ Hz), 7,28 (s, 1H), 7,29-7,35 (m, 1H), 8,24-8,31 (m, 1H), 10,11 (s, 1H); m/z $[\text{M}^++1]$ 290,9.
53		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 6,76-6,83 (m, 1H), 7,25-7,32 (m, 1H), 7,39 (s, 1H), 8,28-8,34 (m, 1H), 10,42 (s, 1H); m/z $[\text{M}^++1]$ 290,9.
54		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,37 (s, 1H), 7,42 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz, $J_2 = 3,0$ Hz), 7,53 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 8,06 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 10,74 (bs, 1H); m/z $[\text{M}^++1]$ 324,8.
55		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,13 (t, 1H, $J = 1,2$ Hz), 7,40 (s, 1H), 7,66 (d, 2H, $J = 1,2$ Hz), 10,86 (s, 1H); m/z $[\text{M}^++1]$ 324,8.
56		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 2,23 (s, 6H), 6,61 (s, 1H), 7,16 (s, 2H), 7,29 (s, 1H), 10,16 (s, 1H); m/z $[\text{M}^++1]$ 282,9.
57		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 7,48 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 8,24 (s, 2H), 11,16 (s, 1H); m/z $[\text{M}^++1]$ 390,9.
58		$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$ δ 1,06 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz), 2,84 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz), 7,09 (s, 1H), 7,18-7,33 (m, 5H), 8,01 (s, 1H); m/z $[\text{M}^++1]$ 282,9.

59		^1H RMN (DMSO- d_6) δ 7,29 (s, 1H), 7,49 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,52-7,60 (m, 2H), 7,67 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,92-7,96 (m, 1H), 8,10 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 8,21 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 10,42 (s, 1H); m/z [$M^+ + 1$] 306,9.
60		^1H RMN (DMSO- d_6) δ 7,66 (s, 1H), 7,94 (d, 2H, $J = 5,6$ Hz), 8,59 (d, 2H, $J = 7,6$ Hz), 12,16 (bs, 1H); m/z [$M^+ + 1$] 255,9.

Exemplo 61Preparação de 4-bromo-aminotiazol

Éster terc-butílico de ácido (4-flúor-fenil)-carbâmico

A uma solução de 4-flúor-fenilamina (1,11 g, 10 mmols) em THF (30 mL), adiciona-se solução aquosa de NaOH a 1 N (30 mL). Resfria-se a 0°C usando-se um banho de gelo e, então, se adiciona (Boc)₂O (2,8 g, 12,8 mmols) em porções. A solução é agitada à temperatura ambiente durante 16 horas e extraída com EtOAc (30 mL X 2). As camadas orgânicas são combinadas, lavadas com HCl a 1N e, então, NaHCO₃ saturado. O solvente é removido a vácuo, e o resíduo é purificado por cromatografia de coluna (sílica-gel, hexanos-EtOAc). O produto desejado é obtido como um sólido esbranquiçado: ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 1,46 (s, 9H), 7,08 (t, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,42-7,48 (m, 2H), 9,37 (sb, 1H); m/z [$M^+ + 2\text{-t-Bu}$] 156,0.

Éster terc-butílico de ácido (4-bromo-tiazol-2-il)-(4-flúor-fenil)-carbâmico

Uma mistura de éster terc-butílico de ácido (4-flúor-fenil)-carbâmico (260 mg, 1,23 mmol), 2,4-dibromotiazol (100 mg, 0,41 mmol), cobre em pó (26 mg, 0,41 mmol), CuCl (41 mg, 0,41 mmol) e KOAc (40 mg, 0,41 mmol) em piridina (4 mL) é aquecida a 100°C durante 2 horas. A mistura resfriada é diluída com EtOAc (30 mL) e lavada com H₂O (30 mL). A ca-

mada orgânica é secada sobre Na₂SO₄, filtrada e concentrada a vácuo. O resíduo é purificado por HPLC (coluna C₁₈, eluído com CH₃CN/H₂O com 0,035% de TFA) para fornecer o composto do título como um sólido: ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 1,36 (s, 9H), 7,29 (t, 2H, J = 8,8 Hz), 7,37-7,43 (m, 3H); m/z [M⁺+2-t-Bu] 316,9.

(4-Bromo-tiazol-2-il)-(4-flúor-fenil)-amina

A uma solução de éster terc-butílico de ácido (4-bromo-tiazol-2-il)-(4-flúor-fenil)-carbâmico (10 mg, 0,027 mmol) em cloreto de metileno (5 mL), adiciona-se TFA (1 mL). A reação é agitada à temperatura ambiente durante 2 horas e concentrada. O resíduo é purificado por HPLC (coluna C₁₈, eluído com CH₃CN/H₂O com 0,035% de TFA) para fornecer o composto do título como um sólido: ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 6,96 (s, 1H), 7,18 (t, 2H, J = 8,8 Hz), 7,55-7,59 (m, 2H), 10,50 (s, 1H); m/z [M⁺+1] 273,0.

Ensaaios

Compostos da presente invenção são ensaiados para medir sua capacidade de inibir seletivamente quinases Aurora. Além disso, os compostos são ensaiados para medir sua capacidade de inibir as quinases Abl, Bcr-Abl, Bmx, CDK1/ciclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3β, JNK1α1, Lck, MKK4 e TrkB.

Quinase Aurora

A atividade de quinase é efetuada em ProxiPlates de 384 cavidades usando-se 0,1 µg de quinase por cavidades em tampão de quinase (50mM de OPS, pH 7,0, 10mM de MgCl₂, 1mM de DTT). Os compostos são transferidos para cada cavidade a uma concentração final de 10 µM e tampão de quinase contendo 1 µM de ATP, ³³Pγ-ATP. Para a determinação de IC₅₀, usa-se a concentração final de 10 µM de ATP. As placas são incubadas durante 1 hora à temperatura ambiente, antes de se terminar a reação com 1M de ATP, 1mM de EDTA e 50mg/mL de glóbulos de SPA (Amersham/Pharmacia/GE health), e contadas em um TopCount. Compostos com mais de 50% de inibição de atividade de quinase são testados novamente para se determinar a IC₅₀.

Ensaio celular: Fosforilação de histona H3 ser 10: cinqüenta mil

células HeLa plaqueadas em placas de 12 cavidades foram tratadas com 100 ng/mL de nocodazol durante 20 horas antes de 1 hora de incubação como composto. As células foram lisadas em 2x tampão de amostra. Amostras de extratos celulares totais, iguais a um terço das células por cavidades, são submetidas a SDS-PAGE e Western Blotting com antifosfo serina 10 histona H3 (Cell Signaling) para determinar o estado de fosforilação.

Análise FACS: HeLa são tratadas com composto durante vários períodos de tempo. As células são tripsinizadas, lavadas uma vez em PBS e fixadas durante 20 minutos a -20°C . As células são ressuspendidas em PBS, 1 mM de EDTA, 100 $\mu\text{g/mL}$ de RNase e incubadas durante 30 minutos a 37°C , antes da adição de 10 $\mu\text{g/mL}$ de concentração final de iodeto de propídio (PI). A distribuição de ciclo celular é determinada em um Beckman FACScalibur[®] (BD Biosciences) e analisada em um FlowJo[®] (Treestar).

Microscopia de alta produção (HTM): Alternativamente, a distribuição de ciclo celular é quantificada usando-se um sistema de microscopia confocal com uma capacidade de formar imagens de uma placa de 384 cavidades, da seguinte maneira; Quatro mil células HeLa são plaqueadas em cada cavidade de uma placa de 384 cavidades, 24 horas depois, concentrações variáveis de compostos são adicionadas, e as placas são fixadas em paraformaldeído a 4% e tingidas com DAPI. Realiza-se a aquisição automatizada de imagem de cada cavidade, que é analisada em um Microscópio de Alta Produção EIDAQ 100 (HTM) (Q3DM/Beckman Coulter).

Ensaio de proliferação celular: as células são plaqueadas em placas de 96 cavidades e submetidas a diluições seriadas do composto. Quarenta e oito horas depois, a viabilidade celular é medida usando-se um CellTiter96[®] (Promega), de acordo com o protocolo do fabricante.

Microscopia: células Hela são plaqueadas sobre lamínulas e submetidas a vários tratamentos com composto 20 horas depois. Os tratamentos com composto são terminados por lavagem das lamínulas duas vezes com PBS e fixação em paraformaldeído a 4% a 37°C durante 10 minutos. As lamínulas são lavadas em PBS e subseqüentemente incubadas em solução de bloqueio (PBS 0,1% de Triton X-100 e 5% de BSA) durante um

mínimo de 1 hora. As lamínulas são tingidas durante 1 hora com antifosfo serina 10 histona H3 a 1:300 em solução de bloqueio, 5% de BSA, seguido por incubação durante 1 hora de Cy3 anticoelho a 1:1000 em solução de bloqueio. Em alguns casos, as lamínulas também são tingidas com anti-B-tubulina marcada com FITC em solução de bloqueio.

Inibição da proliferação celular dependente de BCR-Abl (Método de Alta Produção)

A linhagem celular murídea usada é a linhagem de células progenitoras hemopoiéticas 32D transformada com cDNA de BCR-Abl (32D-p210). Essas células são mantidas em RPMI/10% de soro de novilho fetal (RPMI/FCS) suplementado com penicilina a 50 µg/mL, estreptomicina a 50 µg/mL e L-glutamina a 200 mM. Células 32D não transformadas são igualmente mantidas com a adição de 15% de meio condicionado WEHI como uma fonte de IL3.

50 µL de uma suspensão de células 32D ou 32D-p210 são plaqueados em microplacas de 384 cavidades Greiner (pretas) a uma densidade de 5.000 células por cavidade. 50 nL do composto de teste (1 mM em solução de estoque em DMSO) são adicionados a cada cavidade (STI571 é incluído como um controle positivo). As células são incubadas durante 72 horas a 37°C, 5% de CO₂. 10 µL de uma solução de Azul Alamar a 60% (Tek diagnostics), são adicionados a cada cavidade, e as células são incubadas durante mais 24 horas. A intensidade de fluorescência (excitação a 530 nm, emissão a 580 nm) é quantificada usando-se o sistema Acquest® (Molecular Devices).

Inibição da proliferação celular dependente de BCR-Abl

Células 32D-p210 são plaqueadas em placas TC de 96 cavidades a uma densidade de 15.000 células por cavidade. 50 µL de diluições seriadas duas vezes do composto de teste (C_{max} é 40 µM) são adicionados a cada cavidade (STI571 é incluído como um controle positivo). Depois de incubar as células durante 48 horas a 37°C, 5% CO₂, 15 µL de MTT (Promega) são adicionados a cada cavidade, e as células são incubadas durante mais 5 horas. A densidade óptica a 570 nm é quantificada espectrofotometri-

camente, e os valores de IC_{50} , a concentração de composto requerida para 50% de inibição, são determinados a partir de uma curva de resposta a dose.

Efeito sobre a distribuição de ciclo celular

5 Células 32D e 32D-p210 são plaqueadas em placas TC de 6 cavidades a $2,5 \times 10^6$ células por cavidade em 5 mL de meio, e composto de teste a 1 ou 10 μ M é adicionado (STI571 é incluído como um controle). As células são, então, incubadas durante 24 ou 48 horas a 37°C, 5% de CO_2 . 2 mL de suspensão de células são lavados com PBS, fixados em EtOH a 70%
10 durante 1 hora e tratados com PBS/EDTA/RNase A durante 30 minutos. Adiciona-se iodeto de propídio ($C_f = 10 \mu$ g/mL), e a intensidade de fluorescência é quantificada por citometria de fluxo no sistema FACScalibur® (BD Biosciences). Os compostos de teste da presente invenção demonstram um efeito apoptótico nas células 32D-p210, mas não induzem apoptose nas células de
15 origem 32D.

Efeito sobre a autofosforilação celular de BCR-Abl

A autofosforilação de BCR-Abl é quantificada com Elisa de captura usando-se um anticorpo de captura específico c-abl e um anticorpo antifosfotirosina. As células 32D-p210 são plaqueadas em placas TC de 96
20 cavidades a 2×10^5 células por cavidade em 50 μ L de meio. 50 μ L de diluições seriadas de duas vezes dos compostos de teste (C_{max} é 10 μ M) são adicionados a cada cavidade (STI571 é incluído como um controle positivo). As células são incubadas durante 90 minutos a 37°C, 5% de CO_2 . As células são, então, tratadas durante 1 hora em gelo com 150 μ L de tampão de lise
25 (50 mM de Tris-HCl, pH 7,4, 150 mM de NaCl, 5 mM de EDTA, 1 mM de EGTA e 1% de NP-40) contendo inibidores de protease e fosfatase. 50 μ L de lisado celular são adicionados a optiplacas de 96 cavidades previamente revestidas com anticorpo específico anti-abl e bloqueadas. As placas são incubadas durante 4 horas a 4°C. Depois de lavar com tampão TBS-Tween
30 20, 50 μ L de anticorpo antifosfotirosina conjugado a fosfatase alcalina são adicionados, e a placa é adicionalmente incubada durante uma noite a 4°C. Depois de lavar com tampão TBS-Tween 20, 90 μ L de um substrato lumi-

nescente são adicionados, e a luminescência é quantificada usando-se o sistema Acquest™ (Molecular Devices). Os compostos de teste da invenção que inibem a proliferação de células que expressem BCR-Abl, inibem a autofosforilação celular de BCR-Abl de maneira dependente da dose.

5 Efeito sobre a proliferação de células que expressam formas mutantes de Bcr-abl

Os compostos da invenção são testados quanto a seu efeito antiproliferativo em células Ba/F3 que expressam o tipo selvagem ou formas mutantes de BCR-Abl (G250E, E255V, T315I, F317L, M351T) que confere
10 resistência ou sensibilidade diminuída a STI571. O efeito antiproliferativo desses compostos sobre células que expressam BCR-Abl mutante e sobre células não transformadas foi testado a 10, 3,3, 1,1 e 0,37 μM conforme acima descrito (em meios desprovidos de IL3). Os valores de IC_{50} dos compostos desprovidos de toxicidade sobre as células não transformadas foram
15 determinados a partir das curvas de resposta a dose obtidas conforme acima descrito.

FGFR3 (Ensaio Enzimático)

O ensaio de atividade de quinase com FGFR3 purificada (Upstate) é realizado em um volume final de 10 μL contendo 0,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de enzima
20 em tampão de quinase (30 mM de Tris-HCl pH 7,5, 15 mM de MgCl_2 , 4,5 mM de MnCl_2 , 15 μM de Na_3VO_4 e 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de BSA) e substratos (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de biotin-poli-EY(Glu, Tyr) (CIS-US, Inc.) e 3 μM de ATP). Duas soluções são preparadas: a primeira solução de 5 μL contendo a enzima FGFR3 em
25 tampão de quinase foi primeiro distribuída em ProxiPlate® no formato 384 (Perkin-Elmer), seguido pela adição de 50 nL de compostos dissolvidos em DMSO, então, 5 μL da segunda solução, contendo o substrato (poli-EY) e ATP em tampão de quinase, foram adicionados a cada cavidade. As reações são incubadas à temperatura ambiente durante uma hora, interrompidas pela
30 adição de 10 μL de mistura de detecção HTRF, que contém 30 mM de Tris-HCl pH 7,5, 0,5 M de KF, 50 mM de ETDA, 0,2 mg/mL de BSA, 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de estreptavidina-XL665 (CIS-US, Inc.) e 150 ng/mL de anticorpo anti-fosfotirosina conjugado a criptato (CIS-US, Inc.). Após uma hora de incuba-

ção à temperatura ambiente para permitir a interação estreptavidina-biotina, os sinais fluorescentes resolvidos no tempo são lidos em um Analyst GT (Molecular Devices Corp.). Os valores de IC₅₀ são calculados por análise de regressão linear da porcentagem de inibição de cada composto a 12 concentrações (diluições a 1:3 de 50 µM a 0,28 nM). Nesse ensaio, os compostos da invenção têm uma IC₅₀ na faixa de 10 nM a 2 µM.

FGFR3 (Ensaio Celular)

Os compostos da invenção são testados quanto a sua capacidade de inibir a proliferação de células Ba/F3-TEL-FGFR3 transformadas, que é dependente da atividade de quinase celular FGFR3. Ba/F3-TEL-FGFR3 são cultivadas a até 800.000 células/mL em suspensão com RPMI 1640 suplementado com 10% de soro bovino fetal como o meio de cultura. As células são distribuídas na placa de formato 384 cavidades a 5.000 células/cavidade em 50 µL de meio de cultura. Os compostos da invenção são dissolvidos e diluídos em sulfóxido de dimetila (DMSO). Preparam-se diluições seriadas a 1:3 de doze pontos em DMSO para criar um gradiente de concentração variando tipicamente de 10 mM a 0,05 µM. As células são adicionadas com 50 nL de compostos diluídos e incubadas durante 48 horas em um incubador de cultura celular. AlamarBlue® (TREK Diagnostic Systems), que pode ser usado para monitorizar o ambiente redutor criado pelas células em proliferação, é adicionado às células à concentração final de 10%. Depois de mais quatro horas de incubação em um incubador de cultura celular a 37°C, os sinais de fluorescência do AlamarBlue® reduzido (excitação a 530 nm, emissão a 580 nm) são quantificados em um Analyst GT (Molecular Devices Corp.). Os valores de IC₅₀ são calculados por análise de regressão linear a porcentagem de inibição de cada composto a 12 concentrações.

FLT3 e PDGFRβ (Ensaio Celular)

Os efeitos de compostos da invenção sobre a atividade celular de FLT3 são conduzidos usando-se métodos idênticos aos descritos acima para atividade celular de FGFR3, exceto que, em vez de usar Ba/F3-TEL-FGFR3, usa-se Ba/F3-FLT3-ITD.

Upstate KinaseProfiler® – Ensaio de ligação a filtro radioenzimático

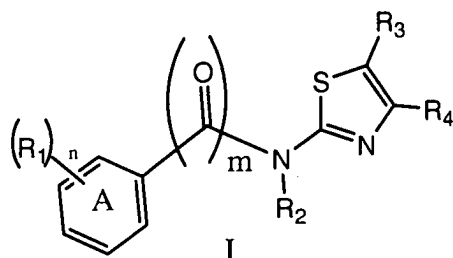
Os compostos da invenção são avaliados quanto a sua capacidade de inibir membros individuais do painel de quinases. Os compostos são testados em duplicata a uma concentração final de 10 μM segundo esse protocolo genérico. Deve-se notar que a composição do tampão de quinase e os substratos variam para as diferentes quinases incluídas no painel "Upstate KinaseProfiler®". Tampão de quinase (2,5 μL , 10x – contendo MnCl_2 quando requerido), quinase ativa (0,001 – 0,01 Unidade; 2,5 μL), peptídeo específico ou Poli(Glu4-Tyr) (5 – 500 μM ou 0,01 mg/mL) em tampão de quinase e tampão de quinase (50 μM ; 5 μL) são misturados em um Eppendorf em gelo. Uma mistura de Mg/ATP (10 μL ; 67,5 (ou 33,75) mM de MgCl_2 , 450 (ou 225) μM de ATP e 1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ de $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{-ATP}$ (3,000 Ci/mmol)) é adicionada, e a mistura de reação é incubada a cerca de 30°C durante cerca de 10 minutos. A mistura de reação aplicada (20 μL) sobre um quadrado de papel de 2cm x 2cm P81 (fosfocelulose, para substratos peptídicos positivamente carregados) ou Whatman No. 1 (para substrato peptídico Poli (Glu4-Tyr)). Os quadrados de ensaio são lavados 4 vezes, durante 5 minutos cada, com ácido fosfórico a 0,75%, e lavados uma vez com acetona durante 5 minutos. Os quadrados de ensaio são transferidos para um frasco de cintilação, 5 mL de coquetel de cintilação são adicionados, e a incorporação de ^{32}P (cpm) ao substrato peptídico é quantificada com um contador de cintilação Beckman. A porcentagem de inibição é calculada para cada reação.

Os compostos de Fórmula I, em forma livre ou em forma de sal farmaceuticamente aceitável, exibem propriedades farmacológicas valiosas, por exemplo, conforme indicado pelos testes *in vitro* descritos neste pedido. Por exemplo, os compostos de Fórmula I mostram, de preferência, uma IC_{50} na faixa de 1×10^{-10} a 1×10^{-5} M, de preferência menor que 1 μM , mais preferivelmente menor que 250 nM, mais preferivelmente menor que 100 nM. Os compostos de Fórmula I, a uma concentração de 10 μM , mostram, de preferência, uma porcentagem de inibição maior que 50%, de preferência maior que 80%, contra as quinases Abl, Aurora-A, Bcr-Abl, Bmx, CDK1/ciclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3 β , JNK1 α 1, Lck, MKK4 e TrkB.

Deve-se entender que os exemplos e modalidades aqui descritos são apenas para fins ilustrativos, e que várias modificações ou alterações a sua luz serão sugeridas àqueles versados na técnica e devem ser incluídos dentro do espírito e alcance deste pedido e âmbito das reivindicações anexas. Todas as publicações, patentes e pedidos de patentes aqui citados são aqui incorporados por referência para todas as finalidades.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de Fórmula I:



em que:

n é selecionado de 0, 1, 2 e 3;

5 m é selecionado de 0 e 1;

R₁ é selecionado de halo, ciano, hidróxi, nitro, C₁₋₆ alquila, C₁₋₆ alcóxi, C₁₋₆ alquil halossustituído, C₁₋₆ alcóxi halossustituído, -S(O)₀₋₂R₅, -NR₅R₅, -C(O)NR₅R₆, -C(O)NR₅R₆, -C(O)NR₅XOR₅, -C(O)NR₅XNR₅R₅, -OR₆, -C(O)OR₅, -NR₅C(O)R₆; em que cada R₅ é independentemente selecionado de hidrogênio e C₁₋₆ alquila; e R₆ é selecionado de C₆₋₁₀ aril-C₀₋₄ alquila, C₁₋₁₀ heteroaril-C₀₋₄ alquila, C₃₋₁₂ cicloalquil-C₀₋₄ alquila e C₃₋₈ heterocicloalquil-C₀₋₄ alquila; ou, quando n. é 2, dois radicais R₁ adjacentes, juntamente com os átomos aos quais estão ambos ligados, formam fenila;

R₂ é hidrogênio e metila;

15 R₃ é halo;

R₄ é selecionado de hidrogênio, halogênio e C₁₋₆ alquila; ou R₃ e R₄ juntamente com os átomos aos quais R₃ e R₄ estão ligados formam fenila; e o anel A pode opcionalmente ter até três grupos =C- substituídos por =N-; e seus sais, hidratos, solvatos e isômeros farmacologicamente aceitáveis.

20 2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, em que o anel A é selecionado de fenila, piridinila e naftila; m é zero; R₃ é halo e R₄ é hidrogênio.

25 3. Composto, de acordo com a reivindicação 2, em que R₁ é selecionado de metila, hidróxi, metóxi, cloro, flúor, bromo, carbóxi, amino, ciano, nitro, metil-sulfanila, trifluorometóxi, trifluorometila, metil-carbonila, etóxi-carbonila, -C(O)NHR₆, -C(O)NH(CH₂)₂OCH₃, -C(O)NHCH(CH₃)CH₂OCH₃,

-C(O)N(CH₃)(CH₂)₂OCH₃, -C(O)NH(CH₂)₂OH, -C(O)NH(CH₂)₂N(CH₃)₂,
 -C(O)NH(CH₂)₂N(C₂H₅)₂, -C(O)NHCH₃, -NHC(O)R₆, -NHC(O)CH₃ e -OR₆; em
 que R₆ é selecionado de fenila, morfolino-etila, piridinila e pirrolidinil-etila.

4. Composto, de acordo com a reivindicação 1, selecionado de
 5 (5-bromo-tiazol-2-il)-p-tolil-amina; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-fenol; (5-bro-
 mo-tiazol-2-il)-(4-metóxi-fenil)-amina; ácido 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-
 benzóico; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida; 4-
 (5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-metóxi-etil)-benzamida; (5-bromo-tiazol-2-il)-
 [4-(1-metilamino-vinil)-fenil]-amina; ácido 3-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-ben-
 10 zóico; N-[4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-fenil]-benzamida; N-[4-(5-bromo-tiazol-
 2-ilamino)-fenil]-acetamida; 3-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-metóxi-etil)-ben-
 zamida; 3-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-metil-benzamida; (5-bromo-tiazol-2-
 il)-[4-(piridin-4-ilóxi)-fenil]-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(4-cloro-fenil)-amina;
 benzotiazol-2-il-(4-flúor-fenil)-amina; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-hidró-
 15 xi-etil)-benzamida; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-dimetilamino-etil)-ben-
 zamida; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-dietilamino-etil)-benzamida; N-(5-
 bromo-tiazol-2-il)-benzamida; (5-bromo-tiazol-2-il)-(3-flúor-fenil)-amina; (5-
 bromo-tiazol-2-il)-(3-trifluorometil-fenil)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(3-metóxi-
 fenil)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-m-tolil-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-piridin-2-
 20 il-amina; N-(5-bromo-tiazol-2-il)-benzeno-1,4-diamina; 1-[4-(5-bromo-tiazol-2-
 ilamino)-fenil]-etanona; éster etílico de ácido 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-
 benzóico; (5-bromo-tiazol-2-il)-piridin-4-il-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-piridin-
 3-il-amina; N-(5-bromo-tiazol-2-il)-benzamida; (5-bromo-tiazol-2-il)-(4-trifluo-
 rometil-fenil)-amina; éster etílico de ácido 3-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-
 25 benzóico; (5-bromo-tiazol-2-il)-fenil-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(2-metóxi-
 fenil)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(4-flúor-fenil)-amina; (5-cloro-tiazol-2-il)-(4-
 flúor-fenil)-amina; (4-flúor-fenil)-(5-iodo-tiazol-2-il)-amina; 4-(5-bromo-tiazol-
 2-ilamino)-benzonitrila; (5-bromo-tiazol-2-il)-o-tolil-amina; (5-bromo-tiazol-2-
 il)-naftalen-1-il-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(2-flúor-fenil)-amina; 3-(5-bromo-
 30 tiazol-2-ilamino)-benzonitrila; (5-bromo-tiazol-2-il)-(3-metilsulfanil-fenil)-ami-
 na; (4-bromo-fenil)-(5-bromo-tiazol-2-il)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(4-fenóxi-
 fenil)-amina; (5-bromo-tiazol-2-il)-(4-nitro-fenil)-amina; 4-(5-bromo-tiazol-2-

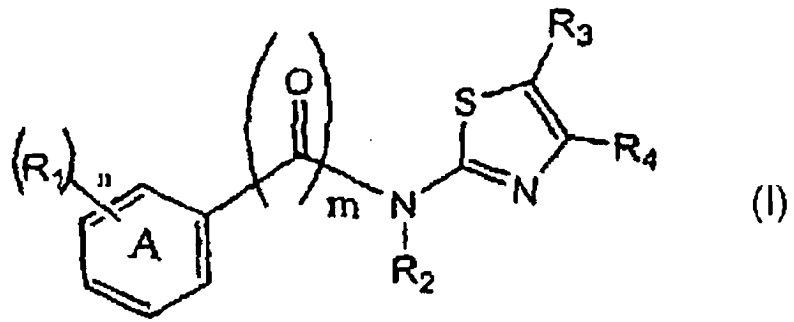
ilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida; 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-metóxi-1-metil-etil)-benzamida; e 4-(5-bromo-tiazol-2-ilamino)-N-(2-metóxi-etil)-N-metil-benzamida.

5 5. Composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto como definido na reivindicação 1 em combinação com um excipiente farmacêuticamente aceitável.

10 6. Método para o tratamento de uma doença em um animal, em que a inibição da atividade de quinase possa prevenir, inibir ou melhorar a patologia e/ou sintomatologia da doença, esse método compreendendo a administração ao animal de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto como definido na reivindicação 1.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, em que a quinase é selecionada de Abl, Aurora-A, Bcr-Abl, Bmx, CDK1/ciclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3 β , JNK1 α 1, Lck, MKK4 e TrkB.

15 8. Uso de um composto como definido na reivindicação 1 na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma doença em um animal em que a atividade de quinase de Abl, Aurora-A, Bcr-Abl, Bmx, CDK1/ciclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3 β , JNK1 α 1, Lck, MKK4 e TrkB contribua para a patologia e/ou sintomatologia da doença.



RESUMO

Patente de Invenção: **"COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DE PROTEÍNA QUINASE"**.

A presente invenção refere-se a uma classe de compostos,
5 composições farmacêuticas compreendendo esses compostos e métodos de
uso desses compostos para tratar ou prevenir doenças ou distúrbios associ-
ados a atividade de quinase anormal ou desregulada, particularmente doen-
ças ou distúrbios que envolvam ativação anormal das quinases Abl, Aurora-
A, Bcr-Abl, Bmx, CDK1/ciclinB, CHK2, Fes, FGFR3, Flt3, GSK3 β , JNK1 α 1,
10 Lck, MKK4 e TrkB quinases.