



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0707401-8 B1



(22) Data do Depósito: 26/01/2007

(45) Data de Concessão: 15/09/2020

(54) Título: COMPOSTOS INIBIDORES DE CINASE, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO E USOS DOS REFERIDOS COMPOSTOS OU DE UM PRÓ-FÁRMACO DE UM COMPOSTO

(51) Int.Cl.: C07D 231/40; C07D 231/56; A61K 31/416; A61P 29/00.

(30) Prioridade Unionista: 31/01/2006 US 60/763,712.

(73) Titular(es): ARRAY BIOPHARMA INC..

(72) Inventor(es): ROBERT D. GRONEBERG; LAURENCE E. BURGESS; DARREN HARVEY; ELLEN LAIRD; MARK MUNSON; JAMES RIZZI; MARTHA RODRIGUEZ; CHARLES TODD EARY; DANIEL J. WATSON.

(86) Pedido PCT: PCT US2007002272 de 26/01/2007

(87) Publicação PCT: WO 2007/089646 de 09/08/2007

(85) Data do Início da Fase Nacional: 31/07/2008

(57) Resumo: INIBIDORES DE CINASE E MÉTODOS DE USO DOS MESMOS. Composto de Fórmula I e sais farmacêuticamente aceitáveis e pró-fármacos dos mesmos são úteis no tratamento e prevenção de vários distúrbios mediados por cinases.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSTOS INIBIDORES DE CINASE, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO E USOS DOS REFERIDOS COMPOSTOS OU DE UM PRÓ-FÁRMACO DE UM COMPOSTO**".

[0001] Este pedido reivindica o benefício do pedido de patente provisório dos Estados Unidos número 60/763.712 depositado no dia 31 de janeiro de 2006, o qual está aqui incorporado em sua totalidade.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

1. Campo da Invenção

[0002] A presente invenção refere-se a inibidores de cinase, composições farmacêuticas que contêm os inibidores, e métodos para preparar estes inibidores. Os inibidores de cinase desta invenção são úteis para o tratamento de inflamação, osteoartrite, artrite reumatóide, câncer, doenças auto-imunes, e outras doenças mediadas por citocina.

2. Descrição do estado da técnica

[0003] Várias condições inflamatórias crônicas e agudas foram associadas com a superprodução de citocinas pró-inflamatórias. Tais citocinas incluem porém, não estão limitadas a fator de necrose de tumor alfa (TNF- α), interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 8 (IL-8) e interleucina 6 (IL-6). Artrite reumatóide (RA) é uma doença crônica onde TNF- α e IL-1 β são influenciados pelo início das doenças e pela progressão da destruição do osso e articulação observada com esta condição de debilitação. Os tratamentos terapêuticos recentemente aprovados para RA incluíram receptor de TNF- α solúvel (ENBREL®) e antagonista de receptor de IL-1 (ANAKINRA®). Estes tratamentos funcionam bloqueando-se a capacidade de suas respectivas citocinas de ligarem-se aos seus receptores naturais. Métodos alternativos para tratar doenças mediadas por citocina estão atualmente sob investiga-

ção. Um tal método envolve a inibição da série de reação de sinalização que regula a síntese e produção de citocinas pró-inflamatórias, tal como p38.

[0004] P38 (também conhecida como CSBP ou RK) é uma proteína cinase ativada por mitógeno de serina/treonina (MAPK) que mostrou regular citocinas pró-inflamatórias. P38 MAPK foi identificada primeiro como uma cinase que se torna tirosina fosforilada em monócitos de camundongo depois do tratamento com lipopolissacarídeo (LPS). Uma ligação entre p38 MAPK e a resposta de células a citocinas, foram primeiro estabelecidas por Saklatvala e outros, (*Cell*, 1994, 78: 1039-1049), as quais mostraram que a IL-1 ativa uma cascata de proteína cinase que resulta na fosforilação da proteína de pequeno choque térmico, Hsp27, provavelmente por proteína cinase 2 ativada por proteína ativada por mitógeno (MAPKAP cinase-2). A análise de seqüências de peptídeo derivadas a partir da cinase purificada, indicou que foi relacionada à p38 MAPK ativada por LPS em monócitos de camundongo (Han, J., e outros, *Science*, 1994, 265:808-811). Ao mesmo tempo foi mostrado que p38 MAPK foi ela própria ativada por uma cinase a montante com respeito a uma variedade de estresses celulares, incluindo exposição à radiação UV e choque osmótico, e a identidade da cinase que diretamente fosforila Hsp27, foi confirmada como MAPKAP cinase-2 (Rouse, J., e outros, *Cell*, 1994, 78:1027-1037). Subseqüentemente, foi mostrado que p38 MAPK foi o alvo molecular de uma série de compostos de piridinilimidazol que inibiram a produção de TNF a partir de monócitos humanos desafiados por LPL (Lee, J., e outros, *Nature*, 372:739-746). Esta foi uma descoberta fundamental e conduziu ao desenvolvimento de vários inibidores seletivos de p38 MAPK e a elucidação de seu papel na sinalização da citocina.

[0005] Sabe-se agora que as múltiplas formas de p38 MAPK (α , β , γ , δ), cada qual codificada por um gene separado, forma parte de uma

cascata de cinase envolvida na resposta de células a uma variedade de estímulos, incluindo estresse osmótico, luz UV e eventos mediados por citocina. Estas quatro isoformas de p38, acredita-se regular os diferentes aspectos de sinalização intracelular. A ativação de p38 faz parte de uma cascata de eventos de sinalização que conduzem à síntese e produção de citocinas pró-inflamatórias tal como TNF- α . As funções de P38 por substratos a jusante de fosforilação, que incluem outras cinases e fatores de transcrição. Os agentes que inibem p38 MAPK mostraram bloquear a produção de citocinas que incluem porém não limitadas a, modelos *in vitro* e *in vivo* de TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-1 β (Adams, J. L., e outros, *Progress in Medicinal Chemistry*, 2001, 38:1-60).

[0006] Abl (também conhecida como Ableson) é uma tirosina cinase que é expressa em células hematopoéticas e é influenciada pela progressão de vários tumores líquidos que incluem leucemia mielóide crônica (CML) e leucemia linfoblástica aguda (ALL). A transformação é um resultado de uma translocação cromossômica, conhecida como o cromossomo Philadelphia. Isto conduz a uma quimera constitutivamente ativada entre Ableson e a região de aglomeração de ponto de ruptura (BCR) -- a proteína Abl-BCR. GLEEVEC®, também conhecido como Imatinib (Novartis) é um potente inibidor de Abl e é atualmente utilizado para tratar os pacientes com CML (*N. Engl. J. Med.*, 2001, 344:1031-1037). Este fármaco se tornou o padrão de cuidado para esta doença mortal e também está sendo observado em uma variedade de outras fixações do câncer que incluem tumores estromais gastrointestinais (GIST).

[0007] Há evidência que fibroblastos respondem à proteína de fator de crescimento TGF- β estimulando-se as séries de reação de Abl e conduz a mudanças morfológicas indicativas de fibrose; portanto, Abl pode desempenhar um papel na patogênese de doenças fibróticas

semelhantes à fibrose pulmonar idiopática. Leof e outros, (*J. Clin. Invest.*, 2004, 114(9) 1308-1316) demonstrou eficácia pré-clínica de GLEEVEC® em um modelo mediado por bleomicina de fibrose pulmonar em camundongos. GLEEVEC® está sendo avaliado em pacientes com fibrose pulmonar.

[0008] TEK (também conhecido como Tie-2) é outra tirosina cinase receptora expressa apenas em células endoteliais que mostraram desempenhar um papel na angiogênese. A ligação do fator angiopoetina-1 resulta na autofosforilação do domínio de cinase de TEK e resulta em um processo de transdução de sinal que parece mediar a interação de células endoteliais com células de sustentação periendoteliais, desse modo facilitando a maturação de vasos sanguíneos recentemente formados. Por outro lado, o fator angiopoetina-2 parece antagonizar a ação de angiopoetina-1 em TEK e romper a angiogênese (Maisonpierre e outros, *Science*, 1997, 277:55-60). Tie2 é supra-regulado em vasos angiogênicos de tumor (Trogan, E. *Br. J. Cancer*, 1998, 77:51-56) e há evidência que pode desempenhar um papel sustentador em cânceres de hematopoéticos (L. Naldini e outros, *Cancer Cell*, 2005, 8:211-226; Suda, T. e outros, *Cell*, 2004, 118:149-161). Além de seu possível papel em câncer, angiogênese podem ter também implicações em doenças como artrite reumatóide (RA), psoríase e na progressão de patologias direcionadas a inflamação. A formação de pano, a lesão destrutiva responsável pela progressão artrítica, é direcionada em parte por formação de vaso sanguíneo novo e um recente papel por Lin, C. e outros (*Arthritis and Rheumatism*, 2005, 52(5):1585-1594) demonstra o papel patológico de Tie2 em um modelo de artrite induzido por colágeno de camundongo de RA. Portanto, a inibição de Tie2 pode fornecer um efeito benéfico contra doenças proliferativas e inflamatórias.

[0009] Várias outras cinases foram influenciadas pela progressão de doenças proliferativas tal como câncer. Entre estas, numerosas pro-

teínas membros da família Src mostraram desempenhar um papel similar como Src e podem fornecer séries de reação de sinalização paralelas durante a proliferação celular descontrolada. Exemplos primários incluem as tirosina cinases Lyn, Fyn, Lck e Hck. Lin e Hck foram influenciadas pela progressão de leucemia linfoblástica aguda de célula B (B-ALL), um câncer hematopoético de células B (Li, S. e outros *Nat Genet.*, 2004 36(5):453-461).

[00010] A família Eph (seqüência amplificada por hepatoma de produção de eritropoetina) de receptores de tirosina cinase liga-se a efrinas que conduzem a numerosos processos celulares. Ephs parecem desempenhar um papel na modulação da adesão de célula de tumor e motilidade e invasividade, e alguma evidência demonstra um papel ativo de Ephs e efrinas em neovascularização durante processos patológicos. Os receptores de Eph A são superexpressos no pulmão, vasculatura de tumor gástrico e rim, e proteínas EphA2 ou A3 solúveis, dominante-negativas, mostraram modular a angiogênese de tumor e progressão *in vivo* (Lackmann M. e outros, *IUBMB Life*, 2005, 57(6):421-31).

[00011] Os fatores de crescimento endotelial vascular e seus receptores cognatos, por exemplo KDR (VEGFR2) e FLT1 (VEGFR1) são reguladores fundamentais de angiogênese. O fármaco terapêutico de proteína AVASTIN® tem mostrado promessas no câncer de cólon e funcionam através da série de reação de VEGFR. SUTENT/SU11248 (malato de sunitinib) (Pfizer) é um potente inibidor de KDR e tam mostrado resultados promissores contra GIST e carcinomas de célula renais.

[00012] Monócitos de sangue periférico (PBMCs) têm mostrado expressar e segregar citocinas pró-inflamatórias quando estimulados com lipopolissacarídeo (LPS) *in vitro*. Inibidores de P38 eficazmente bloqueiam este efeito quando PBMCs são pré-tratados com tais compostos antes da estimulação com LPS (Lee, J.C., e outros, *Int. J.*

Immunopharmacol., 1988, 10:835-843). A eficácia de inibidores de p38 em modelos de animal de doença inflamatória incitou uma investigação do(s) mecanismo(s) subjacente(s) que podem responder pelo efeito destes inibidores. O papel de p38 na resposta de células a IL-1 e TNF, foi investigado em vários sistemas de células relevantes à resposta inflamatória utilizando-se um inibidor de piridinil imidazol: células endoteliais e IL-8 (Hashimoto, S., e outros, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, 293:370-375), fibroblastos e IL-6/GM-CSF/PGE2 (Beyaert, R., e outros, *EMBO J.*, 1996, 15:1914-1923), neutrófilos e macrófagos de IL-8 (Albanyan, E. A., e outros, *Infect. Immun.*, 2000, 68:2053-2060) e IL-1 (Caivano, M. e Cohen, P., *J. Immunol.*, 2000, 164:3018-3025), e células do músculo liso e RANTES (Maruoka, S., e outros, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999, 161:659-668). Os efeitos destrutivos de muitos estados de doença, são causados pela superprodução de citocinas pró-inflamatórias. A capacidade de inibidores de p38 para regular esta superprodução torna-os excelentes candidatos para agentes modificadores de doença.

[00013] Inibidores conhecidos de p38 MAPK são ativos em uma variedade de modelos de doença amplamente reconhecidos. Inibidores de p38 MAPK mostram efeitos positivos em vários modelos animais padrão de inflamação, inclusive artrite induzida por colágeno de rato (Jackson, J.R., e outros, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1998, 284:687-692); artrite induzida por adjuvante de rato (Badger, A. M., e outros, *Arthritis Rheum.*, 2000, 43:175-183; Badger, A. M., e outros, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, (1996) 279:1453-1461); e edema de pata induzido por caragenina no camundongo (Nishikori, T., e outros, *Eur. J. Pharm.*, 2002, 451:327-333). As moléculas que bloqueiam a função de p38 mostraram ser eficazes na inibição da reabsorção óssea, inflamação, e outras patologias com base em inflamação e imunes nestes modelos animais.

[00014] Desse modo, um inibidor de cinase seguro e eficaz fornece-

ria um meio para tratar doenças debilitantes que podem ser reguladas por modulação de uma ou mais cinases.

[00015] O pedido de patente internacional número de publicação WO 2004/078116 descreve certos compostos como inibidores de cinase. Entre estes compostos, estão certos derivados de indazol substituídos por N1 que têm um substituinte na posição 5, que contém um grupo pirazol-5-iluréia. Exemplos de tais compostos incluem os compostos dos Exemplos 94 e 138, nos quais o substituinte de N1 é respectivamente um grupo metila e um grupo 2-hidróxi-2-metilpropila.

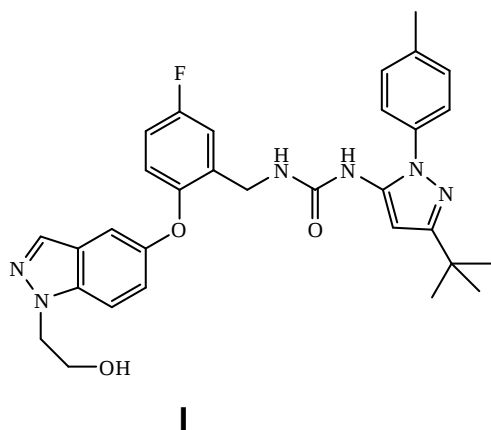
[00016] Constatou-se agora que compostos que têm propriedades particularmente desejáveis podem ser obtidos selecionando-se o grupo álcool primário, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, como o substituinte de N1, e um substituinte particular na posição 5 que contém um grupo 3-terc-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-ila.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[00017] Esta invenção fornece compostos que inibem uma ou mais cinases e eventos mediados por cinase, tal como a inibição de produção de citocina, angiogênese ou proliferação celular. Tais compostos têm utilidade como agentes terapêuticos para doenças que podem ser tratadas pela inibição de séries de reação de sinalização de cinase.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[00018] Em um aspecto, a invenção fornece um composto tendo a Fórmula I:



ou um sal farmaceuticamente aceitável deste.

[00019] O composto também pode ser descrito pelo nome químico 1-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1*H*-indazol-5-ilóxi)benzil)uréia.

[00020] Foi constatado que o composto de fórmula I melhorou a potência contra certas cinases. Além disso, foi observado que a solubilidade do composto correspondente, no qual o substituinte de N1 é substituído com um grupo éster de fosfato de fórmula $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{H}$, é várias ordens de magnitude maiores do que aquela do composto de fórmula I. Desse modo, o composto de Fórmula I possui uma única posição para criar pró-fármacos solúveis. Mais particularmente, como demonstrado com os dados teste mais adiante, o composto de fórmula I tem constatado ser um inibidor significativamente mais potente de Abl e Tie2 do que os compostos dos Exemplos 94 e 138 de WO 2004/078116. Além disso, os compostos dos Exemplos 94 e 138 de WO 2004/078116 não possuem um grupo álcool primário que pode ser derivado para proporcionar um pró-fármaco.

[00021] Além de composto de Fórmula I, a invenção também inclui sais farmaceuticamente aceitáveis do composto, e solvatos do composto e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

[00022] A expressão "farmaceuticamente aceitável" indica que a substância ou composição é compatível química e/ou toxicologicamente com os outros ingredientes que compreendem uma formulação, e/ou o mamífero que é tratado com isto.

[00023] Um "solvato" refere-se a uma associação ou complexo de uma ou mais moléculas de solvente e um composto da invenção. Exemplos de solventes que formam solvatos incluem, porém não são limitados a, água, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etila, ácido acético e etanolamina. O termo "hidrato" refere-se ao complexo onde a molécula de solvente é água.

[00024] De acordo com outro aspecto, a presente invenção fornece o uso de um composto de Fórmula I na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma condição mediada por cinase em um mamífero.

[00025] Em outro aspecto, a presente invenção fornece um método de tratar ou prevenir uma condição mediada por cinase, compreendendo administrar um composto de Fórmula I em uma quantidade eficaz para tratar ou prevenir a referida condição mediada por cinase.

[00026] Também aqui fornecido, estão os pró-fármacos do composto de Fórmula I.

[00027] Um "pró-fármaco" é um composto que pode ser convertido sob condições fisiológicas ou por solvólise para o composto especificado ou para um sal de tal composto.

[00028] O grupo hidróxi livre do composto desta invenção, pode ser derivado como um pró-fármaco convertendo-se o grupo hidróxi em um grupo tal como, porém não limitado a, um grupo éster de fosfato, hemissuccinato, dimetilaminoacetato ou fosforiloximetiloxicarbonila, como esboçado em *Advanced Drug Delivery Reviews*, **1996**, 19, 115. Os pró-fármacos de carbamato de grupos hidróxi também estão incluídos, assim como estão pró-fármacos de carbonato, ésteres de sulfonato e ésteres de sulfato de grupos hidróxi. A derivação de grupos hidróxi, assim como éteres de (acilóxi)metila e (acilóxi)etila, em que o grupo acila pode ser um alquil éster opcionalmente substituído com grupos incluindo, porém não limitados a, éter, amina e funcionalidades de ácido carboxílico, ou onde o grupo acila é um éster de aminoácido como descrito acima, também é abrangida. Os pró-fármacos deste tipo são descritos em *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 10. Exemplos mais específicos incluem substituição do átomo de hidrogênio do grupo álcool com um grupo tal como (C₁-C₆)alcanoiloximetila, 1-((C₁-C₆)alcanoilóxi)etil, 1-metil-1-((C₁-C₆)alcanoilóxi)etila, (C₁-C₆)alcoxycarboniloximetila, N-(C₁-

C₆)alcoxicarbonilaminometila, succinoíla, (C₁-C₆)alcanoíla, α-amino(C₁-C₄)alcanoíla, arilacila e α-aminoacila ou α-aminoacil-α-aminoacila, onde cada grupo α-aminoacila é selecionado independentemente a partir dos L-aminoácidos de ocorrência natural, P(O)(OH)₂, -P(O)(O(C₁-C₆)alquil)₂ ou glicosila (o radical resultando da remoção de um grupo hidroxila da forma de hemiacetal de um carboidrato).

[00029] Portanto, de acordo com outro aspecto, a presente invenção fornece o uso de um pró-fármaco de um composto de Fórmula I na fabricação de um medicamento para o tratamento com um composto de acordo com reivindicação 1 de uma condição mediada por cinase em um mamífero. Em uma modalidade, o pró-fármaco é um pró-fármaco de fosfato.

[00030] Em outro aspecto, a presente invenção fornece um método de tratar ou prevenir uma condição mediada por cinase em um mamífero com um composto de Fórmula I, compreendendo administrar ao mamífero um pró-fármaco de um composto de Fórmula I em uma quantidade eficaz para tratar prevenir a referida condição mediada por cinase. Em uma modalidade, o pró-fármaco é um pró-fármaco de fosfato.

[00031] De acordo com outro aspecto, portanto, a presente invenção fornece diidrogenofosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureído)-metil)-4-flúor-fenóxi)-1*H*-indazol-1-il)etila, ou um sal farmaceuticamente aceitável deste.

[00032] Sem desejar estar ligado por teoria, acredita-se que o composto de éster de fosfato funciona como um pró-fármaco para o álcool primário correspondente.

[00033] Como descrito aqui, o éster de fosfato do composto de Fórmula I foi constatado possuir solubilidade particularmente boa.

[00034] Um "sal farmaceuticamente aceitável", a menos que de outra maneira indicado, inclui sais que mantêm a eficácia biológica da

base ou ácido livre correspondente do composto especificado e não são biologicamente ou de outra maneira indesejáveis. Um composto da invenção pode possuir um grupo suficientemente ácido, um grupo suficientemente básico, ou ambos os grupos funcionais, e conseqüentemente reagir com quaisquer de vários ácidos ou bases inorgânicas ou orgânicas para formar um sal farmaceuticamente aceitável. Exemplos de sais farmaceuticamente aceitáveis incluem aqueles sais preparados por reação dos compostos desta invenção com um ácido mineral ou orgânico ou uma base inorgânica, tais sais incluindo, porém não limitados a, sulfatos, pirossulfatos, bissulfatos, sulfitos, bissulfitos, fosfato, monoidrogenofosfatos, diidrogenofosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloreto, brometos, iodetos, acetato, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butin-1,4-dioatos, hexina-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, sulfonatos, xilenossulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, γ -hidroxibutiratos, glicolatos, tartaratos, metanossulfonatos, propanossulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos, naftaleno-2-sulfonatos e mandelatos. Como um único composto desta invenção pode-se incluir mais de uma porção ácida ou básica, os compostos desta invenção podem incluir mono, di ou trissais em um único composto.

[00035] Se o composto inventivo é uma base, o sal farmaceuticamente aceitável desejado pode ser preparado por qualquer método adequado disponível na técnica, por exemplo, por tratamento da base livre com um composto ácido, por exemplo, um ácido inorgânico tal como ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico e similares, ou com um ácido orgânico, tal como ácido acético, ácido maléico, ácido sucínico, ácido mandélico, ácido

fumárico, ácido malônico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, um ácido de piranosidila tal como ácido glicurônico ou ácido galacturônico, um ácido alfa-hidróxi tal como ácido cítrico ou ácido tartárico, um aminoácido tal como ácido aspártico ou ácido glutâmico, um ácido aromático tal como ácido benzóico ou ácido cinâmico, um ácido sulfônico tal como ácido p-toluenossulfônico ou ácido etanossulfônico ou similares.

[00036] Se o composto inventivo é um ácido, o sal farmacêuticamente aceitável desejado pode ser preparado por qualquer método adequado, por exemplo, por tratamento do ácido livre com uma base inorgânica ou orgânica. Exemplos de sais inorgânicos adequados incluem aqueles formados com metais alcalino-terrosos e de álcali tais como lítio, sódio, potássio, bário e cálcio. Exemplos de sais de base orgânicos adequados incluem, por exemplo, amônio, dibenzilamônio, benzilamônio, 2-hidroxietilamônio, bis(2-hidroxietil)amônio, feniletilbenzilamina, dibenziletilenodiamina, e similares. Outros sais de porções ácidas podem incluir, por exemplo, aqueles sais formados com procaína, quinina e N-metilglicosamina, mais sais formados com aminoácidos básicos tais como glicina, ornitina, histidina, fenilglicina, lisina e arginina.

[00037] Os compostos de Fórmula I da mesma forma incluem outros sais de tais compostos que não são necessariamente sais farmacêuticamente aceitáveis, e que podem ser úteis como intermediários para preparar e/ou purificar compostos de Fórmula I e/ou para separar enantiômeros de compostos de Fórmula I.

[00038] Esta invenção da mesma forma abrange compostos isotopicamente rotulados desta invenção que são idênticos àqueles relacionados aqui, a não ser pelo fato que um ou mais átomos são substituídos por um átomo que tem uma massa atômica ou número de massa diferente da massa atômica ou número de massa normalmente encon-

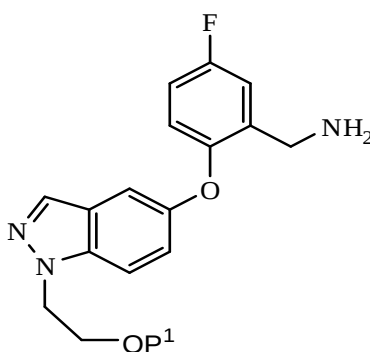
trado na natureza. Compostos isotopicamente rotulados desta invenção podem geralmente ser preparados seguindo procedimentos análogos àqueles descritos nos Esquemas e/ou nos Exemplos aqui abaixo, substituindo-se um reagente isotopicamente rotulado para um reagente não isotopicamente rotulado.

SÍNTESE DE COMPOSTOS DA INVENÇÃO

[00039] Os compostos desta invenção podem ser preparados por rotinas sintéticas que incluem processos análogos àqueles conhecidos nas técnicas químicas, ou como descrito no pedido de patente internacional, número de publicação WO 2004/078116, particularmente levando em conta a descrição contida aqui. Os materiais de partida estão geralmente disponíveis de fontes comerciais tais como Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) ou são facilmente preparados utilizando-se métodos bem-conhecidos por aqueles versados na técnica (por exemplo, preparados por métodos geralmente descritos em Louis F. Fieser e Mary Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, v. 1-19, Wiley, N.Y. (1967-1999 ed.), ou *Beilsteins Handbuch der organischen Chemie*, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlim, incluindo suplementos (da mesma forma disponíveis por meio da base de dados *online* de Beilstein).

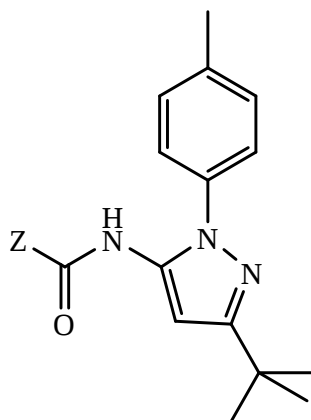
[00040] De acordo com outro aspecto, a presente invenção fornece um processo para a preparação de um composto de Fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável deste, que compreende,:

(a) acoplar um composto de fórmula II



II

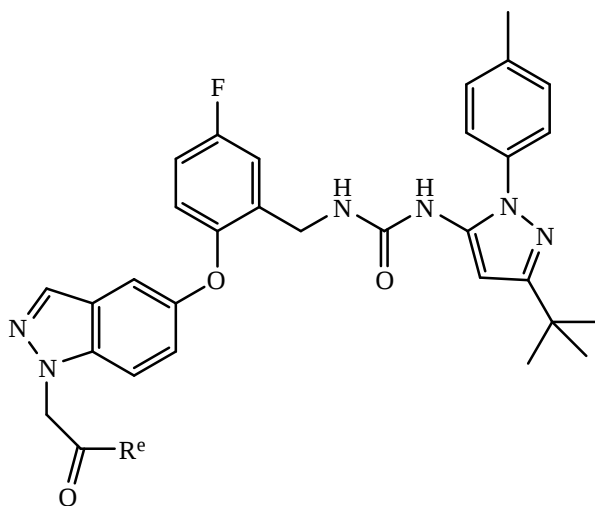
ou um sal deste, em que P^1 representa um átomo de hidrogênio ou uma grupo protetor de hidroxila, com um composto de fórmula III



III

em que Z representa um grupo de saída, ou o isocianato correspondente; ou

(b) reduzir um composto de fórmula IV



IV

em que R^e representa um átomo de hidrogênio ou um resíduo de um álcool;

seguido por remoção de qualquer grupo protetor e, se desejado, por formação de um sal farmaceuticamente aceitável.

[00041] Exemplos de grupos protetores de hidroxila convenientes representados por P^1 incluem hemicetais cíclicos, tal como tetraidro-

2H-piran-2-ila.

[00042] O grupo de saída representado por Z pode ser, por exemplo, um grupo hidrocarbilóxi substituído ou não substituído, por exemplo, um grupo halo(1-6C)alcóxi, tal como 2,2,2-tricloroetóxi, um grupo alquenilóxi tal como $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{O}-$, ou um grupo arilóxi opcionalmente substituído, por exemplo, com um ou mais grupos selecionados a partir de F, Cl, Br, e NO_2 . Valores particulares para um grupo arilóxi opcionalmente substituído incluem fenóxi, 4-clorofenóxi, 4-bromofenóxi, 4-fluorofenóxi, 4-nitrofenóxi, e 2-nitrofenóxi. Em uma modalidade particular, Z é fenóxi.

[00043] Foi constatado que o composto **IV** pode ser isolado vantajosamente em bom rendimento e pureza alta sem uma etapa de cromatografia quando Z do composto **III** for um grupo arilóxi opcionalmente substituído, tal como um grupo fenóxi.

[00044] O acoplamento de um composto de fórmula (**II**) com um composto de fórmula (**III**) quando Z for um grupo fenóxi opcionalmente substituído pode ser convenientemente realizado em uma temperatura entre 0 e 100 °C, e mais particularmente em temperatura ambiente. Solventes convenientes incluem solventes apróticos tais como éteres (por exemplo, tetraidrofurano ou p-dioxano), DMF, DMSO, ou acetonitrila. A reação de acoplamento é realizada convenientemente na presença de uma base tal como uma amina terciária (por exemplo, trietilamina ou DMA).

[00045] Valores particulares de R^e quando representados por um resíduo de um álcool incluem grupos (1-6C)alcóxi, tal como etóxi.

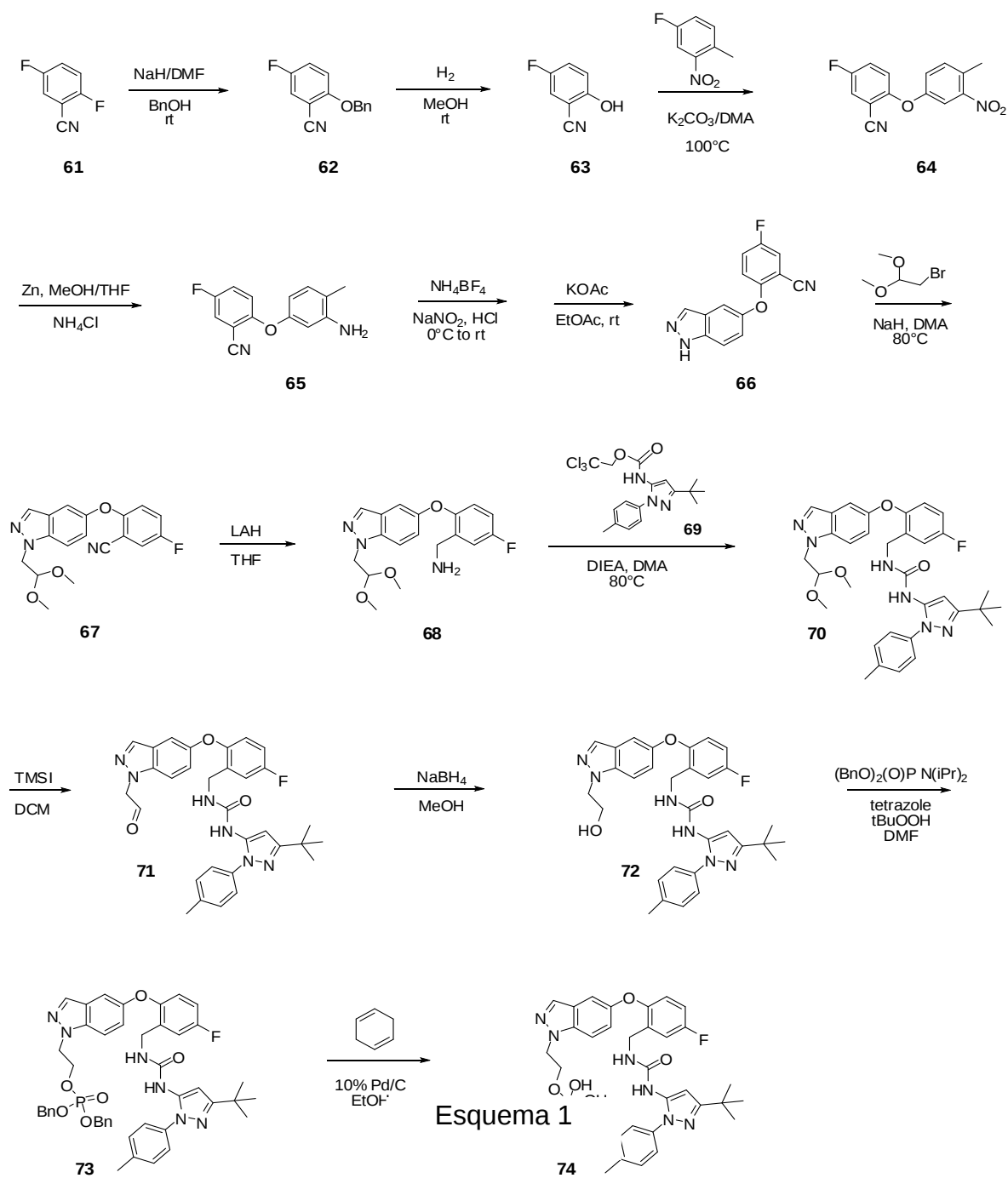
[00046] Acredita-se que os compostos das fórmulas (**II**) e (**IV**) sejam novos e fornecidos como outros aspectos da invenção.

[00047] Acredita-se que os compostos de fórmula (**III**) quando Z é representado por um grupo arilóxi opcionalmente substituído sejam também novos e fornecidos como aspectos adicionais da invenção.

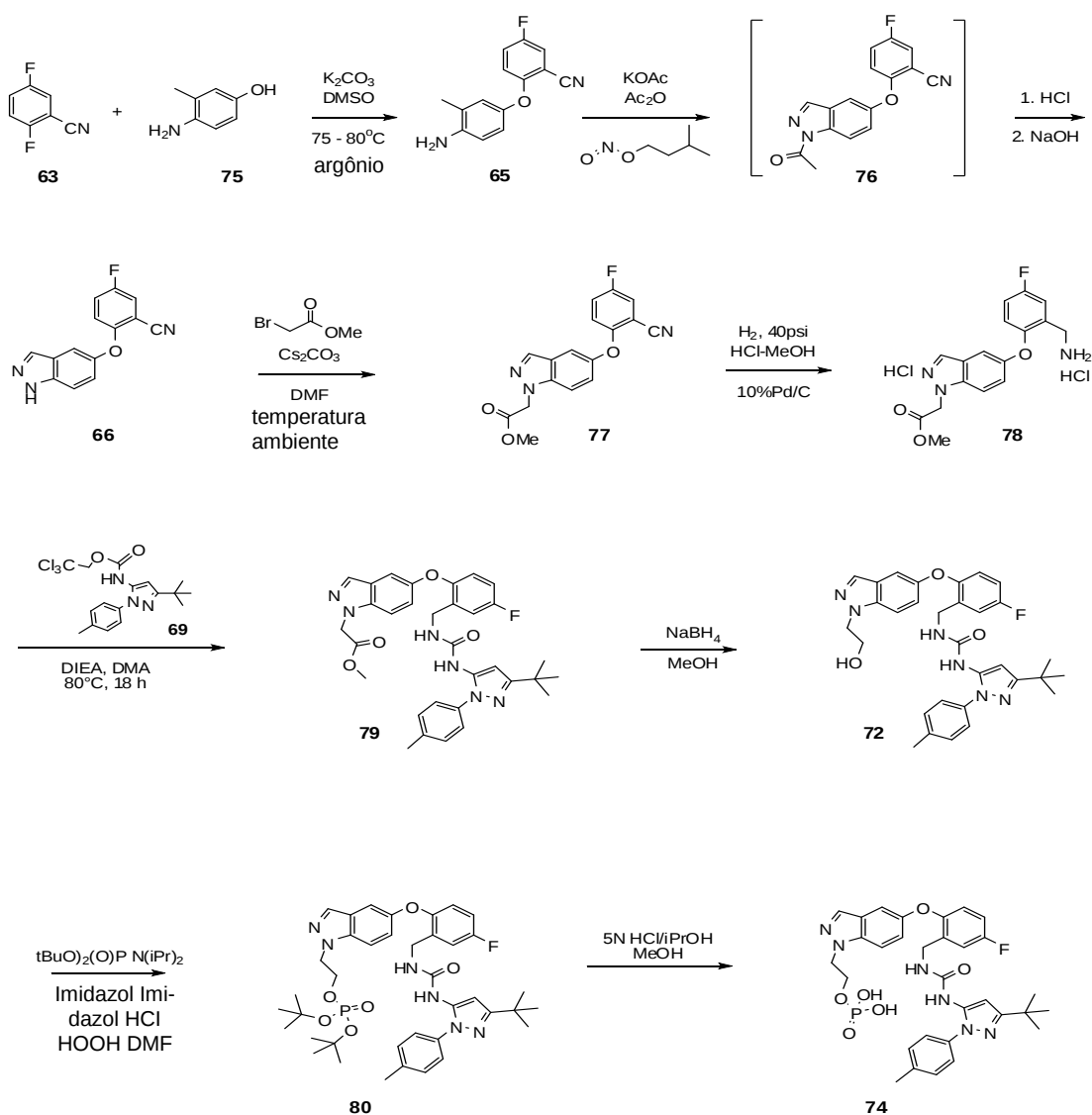
[00048] Em outro aspecto, a presente invenção fornece um processo para preparar um pró-fármaco de fosfato do composto de Fórmula I, isto é, diidrogenofosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1*H*-indazol-1-il)etila, ou um sal farmacologicamente aceitável deste que compreende a fosforilação de 1-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)-3-(5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil) -1*H*-indazol-5-ilóxi)benzil)uréia, ou um sal deste.

[00049] A fosforilação conseqüentemente é realizada reagindo-se o álcool com uma dialquil ou diaril dialquilfosfinamidita, tal como di-*terc*-butil diisopropilfosfinamidita ou difenil diisopropilfosfinamidita, seguido por remoção dos grupos alquila ou arila no produto de fosfato por hidrólise ou hidrogenação catalítica.

[00050] Para propósitos ilustrativos, Esquemas 1 e 2 e os Exemplos ilustram métodos para preparar os compostos desta invenção bem como intermediários fundamentais. Aqueles versados na técnica apreciarão que outras rotinas sintéticas podem ser utilizadas para sintetizar os compostos inventivos. Embora materiais de partida específicos e reagentes sejam descritos nos Esquemas e discutidos abaixo, outros materiais de partida e reagentes podem ser facilmente substituídos para fornecer uma variedade de derivados e/ou condições de reação. Além disso, muitos compostos preparados pelos métodos descritos abaixo podem ser também modificados levando em conta esta descrição utilizando a química convencional bem-conhecida por aqueles versados na técnica.

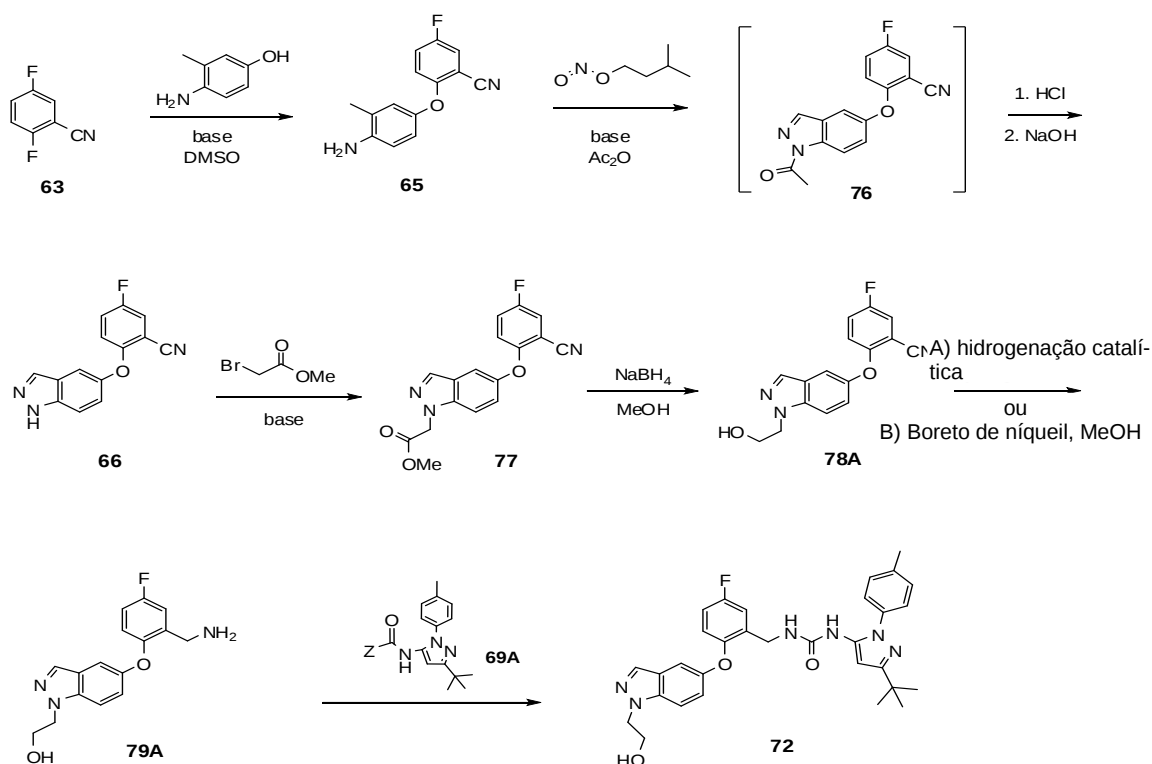


Scheme 1



Esquema 2

[00051] A redução de nitrila de composto 77 como mostrado em 2 requer concentrações altas de ácido (por exemplo, HCl ou ácido acético) para minimizar a formação de dímero. Entretanto, concentrações mais altas de ácido podem da mesma forma causar hidrólise de algum dos compostos de éster 78 ao ácido correspondente. Esquema 3 ilustra um processo melhorado para a preparação do composto de Fórmula I, que reduz a formação do dímero e impurezas de ácido.



Esquema 3

[00052] Esquema 3 ilustra um método de reduzir o grupo éster do composto **77** ao álcool correspondente antes da redução do grupo nitrila para fornecer composto **79A** livre de impurezas ácidas e com formação mínima de impurezas de dímero.

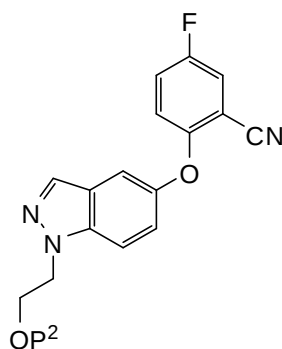
[00053] Mais especificamente, o composto **77** pode ser reduzido em um aspecto em etapas, em que o grupo éster é reduzido com boro-dreto de sódio em um solvente adequado para fornecer o composto de álcool correspondente **78A**. O grupo nitrila do composto **78A** é, em seguida, reduzido sob condições de hidrogenação catalítica padrão ou utilizando-se boreto de níquel em um solvente orgânico adequado para fornecer o composto metil amina correspondente **79A**.

[00054] A rotina mostrada no Esquema 3 ofertas várias vantagens sobre as rotinas mostradas no Esquema 2 para a formação do composto de Fórmula I. Utilizando-se as rotinas mostradas no Esquema 3, a redução do grupo nitrila pode ser realizada com concentrações mais

altas de HCl, que vantajosamente diminui a quantidade de impureza de dímero que forma-se. Além disso, a rotina mostrada no Esquema 3 evita o uso de boroidreto de sódio na etapa final, desse modo evitando as etapas de purificação adicional para remover as impurezas de boro residuais a partir do produto final. Portanto, incluindo-se a etapa de redução de boroidreto de sódio mais cedo na seqüência de reação, boro residual pode ser removido facilmente durante as etapas de seqüência intermediárias. Além disso, o acoplamento do composto amina álcool **79A** com o composto **69A** pode ser realizado em temperaturas mais baixas, desse modo, melhorando a pureza do produto **72**. Adequadamente, a rotina mostrada no Esquema 3 permite o processamento melhorado para a síntese do composto de Fórmula I, e por conseguinte fornece uma rotina sintética eficiente para a produção do composto de Fórmula I que é mais amena ou adequada para fabricação em grande escala.

[00055] Conseqüentemente, da mesma forma fornecido é um processo para preparar um composto de fórmula (II), compreendendo:

(i) reduzir um composto de fórmula (V)



(V)

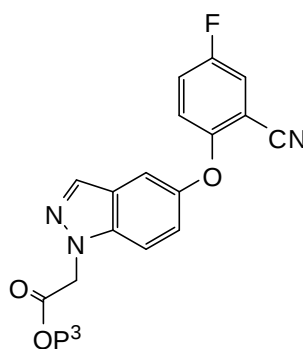
em que P² representa hidrogênio ou um grupo protetor hidroxila, sob condições de hidrogenação catalíticas ou na presença de boreto de níquel.

[00056] Referindo-se a etapa (i), catalisadores de hidrogenação incluem qualquer catalisador de paládio adequado, tal como Pd(OH)₂

ou paládio suportado em carbono. A hidrogenação ocorre sob condições ácidas (tal como pela adição de um ácido, por exemplo HCl ou ácido acético) ou com a adição de amônio. A hidrogenação catalítica pode ser realizada em qualquer sistema de solvente adequado tal como um álcool (por exemplo, metanol, etanol, isopropanol), éster (por exemplo, acetato de etila) ou éter (por exemplo, THF). Solventes mistos, por exemplo, álcool e THF, são da mesma forma adequados para a etapa de hidrogenação. Pressão de hidrogênio pode estar na faixa entre 1,76 kg/cm² a 7,03 kg/cm (25 a 100 psi), por exemplo, 2,81 kg/cm² (40 psi) A redução é realizada tipicamente em uma temperatura entre 20 - 100 °C.

[00057] Referindo-se a etapa (i), o boreto de níquel pode ser preparado *in situ* a partir de um sal de metal de transição, preferivelmente um sal de Ni(II), e boroidreto de sódio. Em uma modalidade preferida, o boreto de níquel é preparado a partir de cloreto de níquel (II) e boroidreto de sódio. A reação é realizada convenientemente em um solvente adequado tal como um álcool (por exemplo, metanol, etanol, isopropanol). A redução é realizada tipicamente em temperatura ambiente.

[00058] Um composto de fórmula (V) pode ser preparado reduzindo-se um composto de fórmula (VI)



(VI)

em que P³ é como definido para P², utilizando-se quaisquer condições de redução de éster convenientes (por exemplo, boroidreto de sódio), em um solvente adequado tal como um álcool (por exemplo,

metanol, etanol, isopropanol).

[00059] Na preparação de compostos desta invenção, a proteção de funcionalidades remotas (por exemplo, aminas primárias ou secundárias, álcoois, etc.) de intermediários pode ser necessária. A necessidade para tal proteção variará dependendo da natureza da funcionalidade remota e das condições dos métodos de preparação. Por exemplo, grupos protetores amino adequados (NH-Pg) incluem acetila, trifluoroacetila, t-butoxicarbonila (BOC), benziloxicarbonila (CBz) e 9-fluorenilmetilenooxicarbonila (Fmoc). Grupos protetores hidroxila convenientes incluem tetraidro-2H-piran-2-ila, benzila, trialkilsilila e acetal. A necessidade para tal proteção é facilmente determinada por alguém versado na técnica. Para uma descrição geral de grupos protetores e seu uso, veja T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 1991.

MÉTODOS DE TRATAMENTO

[00060] Os compostos da invenção podem ser utilizados para tratar doenças mediadas por modulação ou regulação de proteína cinases. Adequadamente, outro aspecto da invenção fornece métodos de tratar ou prevenir doenças ou condições descritas aqui por administração a um mamífero, tal como um ser humano, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto desta invenção ou solvato, metabólito, ou sal farmaceuticamente aceitável deste, em uma quantidade eficaz para tratar ou prevenir o referido distúrbio. Em uma modalidade, o método compreende administrar a um mamífero um composto desta invenção em uma quantidade eficaz para inibir uma ou mais cinases.

[00061] Uma "quantidade eficaz" refere-se a uma quantidade de composto que, quando administrada a um mamífero em necessidade de tal tratamento, é suficiente para realizar o tratamento para uma doença mediada pela atividade de uma ou mais proteína cinases, tal como p38 MAPK, e os eventos mediados por cinase associados tal como

produção de citocina. Por exemplo, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto desta invenção ou um sal, metabólito ativo deste, é uma quantidade suficiente para modular, regular, ou inibir a atividade de uma ou mais proteína cinases tal que uma condição de doença que é mediada por essa atividade é reduzida ou aliviada.

[00062] "Tratando" é pretendido significar pelo menos a mitigação de uma condição de doença em um mamífero, tal como um ser humano, que é afetado, pelo menos em parte, pela atividade de um ou mais proteína cinases. Os termos "tratar" e "tratamento" refere-se ao tratamento terapêutico e medidas profiláticas ou preventivas, em que o objetivo é prevenir ou reduzir (diminuir) um distúrbio ou mudança fisiológica indesejada. Para propósitos desta invenção, resultados benéficos ou clínicos desejados incluem, porém não são limitados ao alívio de sintomas, diminuição da extensão da doença, estado estabilizado (isto é, não piorando) de doença, retardo ou redução do progressão de doença, melhora ou mitigação do estado de doença, e remissão (seja parcial ou total), seja detectável ou não detectável. "Tratamento" pode da mesma forma significar sobrevivência quando comparado à sobrevivência esperada se não recebendo tratamento. Aqueles em necessidade de tratamento incluem aqueles já com a condição ou distúrbio bem como aqueles propensos a ter a condição ou distúrbio ou aqueles em que a condição ou distúrbio deve ser prevenido.

[00063] A quantidade de um composto desta invenção administrada a um mamífero variará dependendo de fatores tais como o composto particular, condição de doença e sua gravidade, a identidade (por exemplo, peso) do mamífero em necessidade de tratamento, porém pode, todavia, ser rotineiramente determinada por alguém versado na técnica.

[00064] Quando utilizado aqui, o termo "mamífero" refere-se a um animal homeotérmico que tem ou está em risco de contrair uma doen-

ça descrita aqui e inclui, porém não está limitado a, cobaias, cachorros, gatos, ratos, camundongos, *hamsters* e primatas, incluindo humanos.

[00065] Em um aspecto desta invenção, os compostos desta invenção ou sais farmacêuticos destes podem ser formulados em composições farmacêuticas para administração em animais ou seres humanos para tratar ou prevenir uma condição mediada por cinase. O termo "condição mediada por cinase" quando utilizado aqui significa qualquer doença ou outra condição danosa em que p38 é conhecido por desempenhar um papel, e inclui condições que são conhecidas por ser causadas por superprodução de IL-1, TNF, IL-6 ou IL-8. Tais condições incluem, porém não são limitadas a, doenças inflamatórias, doenças auto-imunes, distúrbios ósseos destrutivos, distúrbios proliferativos, doenças infecciosas, doença viral, doença fibrótica e doenças neurodegenerativas.

[00066] Doenças inflamatórias que podem ser tratadas ou prevenidas incluem, porém não são limitadas a, pancreatite aguda, pancreatite crônica, asma, alergias, e síndrome da angústia respiratória de adulto.

[00067] Doenças auto-imunes que podem ser tratadas ou prevenidas incluem, porém não são limitadas a, glomerulonefrite, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico, escleroderma, tireoidite crônica, doença de Grave, gastrite auto-imune, diabetes melito insulino-dependente (Tipo I), anemia hemolítica auto-imune, neutropenia auto-imune, trombocitopenia, dermatite atópica, hepatite ativa crônica, miastenia grave, esclerose múltipla, doença inflamatória do intestino, colite ulcerativa, doença de Crohn, psoríase, ou doença do enxerto vs. hospedeiro.

[00068] Distúrbios ósseos destrutivos que podem ser tratados ou prevenidos incluem, porém não são limitados a, osteoporose, osteoar-

trite e distúrbio ósseo relacionado ao mieloma múltiplo.

[00069] Doenças fibróticas que podem ser tratadas ou prevenidas incluem, porém não são limitadas a, fibrose pulmonar idiopática, rim e fibrose de fígado.

[00070] Doenças proliferativas que podem ser tratadas ou prevenidas incluem, porém não são limitadas a, leucemia mielogenosa aguda, leucemia mielogenosa crônica, melanoma metastático, sarcoma de Kaposi, síndrome mielodisplástica, mieloma múltiplo, astrocitoma, câncer ósseo, câncer cerebral, câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico, glioma, glioblastoma, multiforme, câncer de cabeça e pescoço, câncer hematológico, distúrbios de hematopoiese, doenças pulmonares intersticiais, sarcoma de kaposi, leucemia linfocítica, melanoma, leucemia mielóide, câncer de pulmão de célula não pequena, câncer ovariano, câncer prostático, sarcoma, câncer de pele, câncer de pulmão de célula pequena, e câncer de estômago. Outros pacientes que podem ser tratados incluem aqueles que submetem-se a transplante de medula óssea.

[00071] Doenças infecciosas que podem ser tratadas ou prevenidas incluem, porém não são limitadas a, sepse, choque séptico e Shigellosis.

[00072] Doenças virais que podem ser tratadas ou prevenidas incluem, porém não são limitadas a, infecção por hepatite aguda (incluindo hepatite A, hepatite B e hepatite C), infecção por HIV e retinite por CMV.

[00073] Condições degenerativas ou doenças que podem ser tratadas ou prevenidas pelos compostos desta invenção incluem, porém não são limitadas a, mal de Alzheimer, mal de Parkinson, isquemia cerebral e outras doenças neurodegenerativas.

[00074] O termo "condições mediadas por cinase" inclui isquemia/reperfusão em acidente vascular cerebral, ataques cardíacos, is-

quemia miocárdica, hipoxia de órgão, hiperplasia vascular, hipertrofia cardíaco e agregação de plaquetas induzida por trombina.

[00075] Além disso, os inibidores de cinase desta invenção são da mesma forma úteis para inibir a expressão de proteínas pró-inflamatórias induzíveis tal como prostaglandina endoperoxídeo sintase-2 (PGHS-2), da mesma forma como ciclooxigenase-2 (COX-2). Portanto, outras "condições mediada por cinases" incluem, porém não são limitados a, edema, analgesia, febre e dor, tal como dor neuromuscular, dor de cabeça, dor do câncer, dor dental e dor de artrite.

[00076] As condições e doenças que podem ser tratadas ou prevenidas pelos inibidores de cinase desta invenção podem da mesma forma ser convenientemente agrupadas pela citocina (por exemplo, IL-1, TNF, IL-6, IL-8) que acredita-se ser responsável pela doença.

[00077] Desse modo, uma condição ou doença mediada por IL-1 inclui artrite reumatóide, osteoartrite, acidente vascular cerebral, endotoxemia e/ou síndrome de choque tóxico, reação inflamatória induzida por endotoxina, doença inflamatória do intestino, tuberculose, aterosclerose, degeneração muscular, caquexia, artrite psoriática, síndrome de Reiter, gota, artrite traumática, artrite na rubéola, sinovite aguda, diabetes, doença de célula β pancreática e mal de Alzheimer.

[00078] Condições ou doenças mediadas por TNF incluem, porém não são limitadas a, artrite reumatóide, espondilite reumatóide, osteoartrite, artrite gotosa e outras condições artríticas, sepse, choque séptico, choque endotóxico, sepse gram-negativa, síndrome de choque tóxico, síndrome da angústia respiratória de adulto, malária cerebral, doença inflamatória pulmonar crônica, silicose, sarcoidose pulmonar, doenças de reabsorção óssea, lesão de perfusão, reação de enxerto vs. hospedeiro, rejeições ao aloenxerto, febre e mialgias devido à infecção, caquexia secundária à infecção, AIDS, ARC ou malignidade, formação de quelóide, formação do tecido de cicatriz, doença de

Crohn, colite ulcerativa ou pirese. Doenças mediadas por TNF da mesma forma incluem infecções virais, tal como HIV, CMV, gripe e herpes; e infecções virais veterinárias, tais como infecções por lentivírus, incluindo, porém não limitadas ao vírus da anemia infecciosa equina, vírus da artrite caprina, vírus visna ou vírus maedi; ou infecções por retrovírus, incluindo vírus da imunodeficiência felina, vírus da imunodeficiência bovina, ou vírus da imunodeficiência canina.

[00079] Condições ou doenças mediadas por IL-8 incluem, porém não são limitadas a, doenças caracterizadas por infiltração maciça de neutrófilos, tais como psoríase, doença inflamatória do intestino, asma, lesão de reperfusão cardíaca e renal, síndrome da angústia respiratória de adulto, trombose e glomerulonefrite.

[00080] Além disso, os compostos desta infecção podem ser utilizados topicamente para tratar ou prevenir condições causadas ou exacerbadas por IL-1 ou TNF. Tais condições incluem, porém não são limitadas à, articulações inflamadas, eczema, psoríase, condições de pele inflamatórias tal como queimadura de sol, condições oculares inflamatórias tal como conjuntivite, pirese, dor e outras condições associadas com inflamação.

[00081] Embora os compostos desta invenção sejam principalmente de valor como agentes terapêuticos para uso dentro animais homeotérmicos (incluindo seres humanos), eles são da mesma forma úteis sempre que for requerido para inibir os efeitos de citocinas. Desse modo, eles são úteis como padrões farmacológicos para uso no desenvolvimento de novos testes biológicos e na procura quanto a novos agentes farmacológicos.

[00082] O tamanho da dose para propósitos terapêuticos ou profiláticos de um composto desta invenção variará naturalmente de acordo com a natureza e gravidade das condições, a idade e sexo do animal ou paciente e a rotina de administração, de acordo com princípios

bem-conhecidos de medicina.

[00083] Outro aspecto desta invenção fornece um composto desta invenção para uso como um medicamento no tratamento das doenças ou condições descritas aqui em um mamífero, por exemplo, um ser humano, sofrendo de tal doença ou condição. Da mesma forma fornecido é o uso de um composto desta invenção na preparação de um medicamento para o tratamento das doenças e condições descritas aqui em um animal homeotérmico, tal como um mamífero, por exemplo, um ser humano, sofrendo de tal distúrbio.

TERAPIA DE COMBINAÇÃO

[00084] Os compostos desta invenção podem ser utilizados em combinação com outros fármacos e terapias utilizadas no tratamento de estados de doença que beneficiariam-se da inibição de cinases e as citocinas associadas, tal como IL-1, TNF, IL-6 ou IL-8. A dose do segundo fármaco pode ser selecionada adequadamente com base em uma dose clinicamente empregada. A proporção do composto desta invenção e o segundo fármaco pode ser determinada adequadamente de acordo com o indivíduo de administração, a rotina de administração, a doença-alvo, a condição clínica, a combinação e outros fatores. Em casos onde o indivíduo de administração é um ser humano, por exemplo, o segundo fármaco pode ser utilizado em uma quantidade de 0,01 a 100 partes em peso por parte em peso do composto desta invenção.

[00085] O segundo fármaco da formulação de combinação farmacêutica ou regime de dosagem tem, por exemplo, atividades complementares para o composto desta invenção tal que eles não afetam adversamente um ao outro. Tais fármacos estão apropriadamente presentes em combinação em quantidades que são eficazes para o propósito pretendido. Conseqüentemente, outro aspecto desta invenção fornece uma composição que compreende um composto desta inven-

ção em combinação com um segundo fármaco, tal como descrito aqui.

[00086] O composto desta invenção e o(s) fármaco(s) farmacêuticamente ativo(s) adicional(ais) pode ser administrado junto em uma composição farmacêutica unitária ou separadamente e, quando administrado separadamente isto pode ocorrer simultaneamente ou seqüencialmente em qualquer ordem. Tal administração seqüencial pode ser em tempo próximo ou em tempo remoto. As quantidades do composto desta invenção e do(s) segundo(s) fármaco(s) e das distribuições relativas de administração serão selecionadas para obter o efeito terapêutico combinado desejado.

[00087] A terapia de combinação pode fornecer "sinergia" e revelar ser "sinérgico", isto é, o efeito obtido quando os ingredientes ativos utilizados juntos são maiores do que a soma dos efeitos que resulta da utilização dos compostos separadamente. Um efeito sinérgico pode ser atingido quando um composto desta invenção e o segundo fármaco forem: (1) co-formulados ou administrados ou liberados simultaneamente em uma formulação de dosagem unitária, combinada; (2) liberados por alternância ou em paralelo como formulações separadas; ou (3) por algum outro regime. Quando liberados em terapia de alternância, um efeito sinérgico pode ser atingido quando um composto desta invenção e o segundo fármaco são administrados ou liberados seqüencialmente, por exemplo, por injeções diferentes em seringas separadas. Por exemplo, durante a terapia de alternância, uma dosagem eficaz de cada ingrediente ativo pode ser administrada seqüencialmente, isto é, serialmente, visto que na terapia de combinação, dosagens eficazes de dois ou mais ingredientes ativos são administradas juntas.

[00088] Por exemplo, em virtude de sua capacidade de inibir citocinas, os compostos desta invenção são de valor no tratamento de certas doenças inflamatórias e não inflamatórias que são tratadas atual-

mente com um fármaco antiinflamatório não esteróide inibidor de ciclooxigenase (NSAID) tal como cetorolaco de indometacina, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, sulindaco, tolmetina e piroxicam. A co-administração de um composto desta invenção com um NSAID pode resultar em uma redução da quantidade do último agente necessário para produzir um efeito terapêutico, e desse modo a probabilidade de efeitos colaterais adversos do NSAID tais como efeitos gastrointestinais são reduzidos. Desse modo, de acordo com uma outra característica da invenção, é fornecido uma composição farmacêutica que compreende um composto desta invenção, ou um sal farmacêuticamente aceitável destes, em conjunção ou mistura com um agente antiinflamatório não esteróide inibidor de ciclooxigenase, e um veículo ou diluente farmacêuticamente aceitável.

[00089] Os compostos desta invenção podem ser utilizados no tratamento de condições tal como artrite reumatóide em combinação com agentes antiartríticos tais como ouro, metotrexato, esteróides e penicilamina, e em condições tal como osteoartrite em combinação com esteróides.

[00090] Os compostos desta invenção podem ser utilizados no tratamento de doenças degradativas, por exemplo, osteoartrite, em combinação com agentes condroprotetores, anti-degradativos e/ou reparadores tal como *Diacerhein*, formulações de ácido hialurônico tais como *Hyalan*, *Rumalon*, *Arteparon* e sais de glicosamina tal como Antril.

[00091] Os compostos desta invenção podem da mesma forma ser utilizados no tratamento de asma em combinação com agentes antiasmáticos tais como broncodilatadores e antagonistas de leucotrieno.

ADMINISTRAÇÃO DE COMPOSTOS DA INVENÇÃO

[00092] Os compostos da invenção podem ser administrados por qualquer rotina apropriada para a condição a ser tratada. Rotinas adequadas incluem oral, parenteral (incluindo subcutânea, intramuscular,

intravenosa, intra-arterial, intradérmica, intratecal e epidural), transdérmica, retal, nasal, tópica (incluindo bucal e sublingual), vaginal, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal. Será evidenciado que a rotina utilizada pode variar com, por exemplo, a condição do recipiente. Onde o composto é administrado oralmente, ele pode ser formulado como uma pílula, cápsula, comprimido, etc. com um excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável. Onde o composto é administrado parenteralmente, ele pode ser formulado com um veículo parenteral farmaceuticamente aceitável e em uma forma injetável de dosagem unitária, como detalhado abaixo.

FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

[00093] Para utilizar um composto desta invenção para o tratamento terapêutico (incluindo tratamento profilático) de mamíferos incluindo seres humanos, é normalmente formulado de acordo com a prática farmacêutica padrão como uma composição farmacêutica. De acordo com este aspecto da invenção, é fornecido uma composição farmacêutica compreendendo um composto desta invenção em associação com um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

[00094] As composições farmacêuticas da invenção são formuladas, dosadas e administradas de uma maneira, isto é, quantidades, concentrações, horários, curso, veículos e rotina de administração, consistente com boa prática médica. Fatores para consideração neste contexto incluem o distúrbio particular a ser tratado, o mamífero particular a ser tratado, a condição clínica do paciente individual, a causa do distúrbio, o sítio de liberação do agente, o método de administração, o horário de administração, e outros fatores conhecidos pelo médico especializado. A quantidade terapeuticamente eficaz do composto a ser administrado será governada por tais considerações, e é a quantidade mínima necessária para prevenir, melhorar, ou tratar o distúrbio. O composto desta invenção é tipicamente formulado em formas de

dosagem farmacêuticas para fornecer uma dosagem facilmente controlável do fármaco e habilitar a concordância do paciente com o regime prescrito.

[00095] A composição para uso aqui é preferivelmente estéril. Em particular, formulações a ser utilizadas para administração *in vivo* devem ser estéreis. Tal esterilização é facilmente realizada, por exemplo, por filtração através de membranas de filtração estéreis. O composto ordinariamente pode ser armazenado como uma composição sólida, uma formulação liofilizada ou como uma solução aquosa.

[00096] Formulações farmacêuticas dos compostos desta invenção podem ser preparadas para várias rotinas e tipos de administração. Por exemplo, um composto desta invenção tendo o grau desejado de pureza pode opcionalmente ser misturado com diluentes, veículos, excipientes ou estabilizadores farmacêuticamente aceitáveis (Remington's Pharmaceutical Science (1980) 16^a edição, Osol, A. Ed.), na forma de uma formulação liofilizada, um pó moído, ou uma solução aquosa. Formulação pode ser conduzida misturando-se em temperatura ambiente ao pH apropriado, e ao grau desejado de pureza, com veículos fisiologicamente aceitáveis, isto é, veículos que são não tóxicos em recipientes nas dosagens e concentrações empregadas. O pH da formulação depende principalmente do uso particular e da concentração de composto, porém, pode variar, por exemplo, de cerca de 3 a cerca de 8. Formulação em um tampão de acetato em pH 5 é uma modalidade adequada. As formulações podem ser preparadas utilizando-se procedimentos de mistura e dissolução convencionais. Por exemplo, a substância de fármaco em volume (isto é, composto desta invenção ou forma estabilizada do composto (por exemplo, complexo com um derivado de ciclodextrina ou outro agente de complexação conhecido) é dissolvido em um solvente adequado na presença de um ou mais excipientes.

[00097] O veículo, diluente ou excipiente particular utilizado dependerá dos meios e propósitos para os quais o composto desta invenção está sendo aplicado. Solventes são geralmente selecionados com base em solventes reconhecidos por pessoas versadas na técnica como seguros (GRAS) a ser administrados a um mamífero. Em geral, solventes seguros são solventes aquosos não tóxicos tal como água e outros solventes não tóxicos que são solúveis ou miscíveis em água. Solventes aquosos adequados incluem água, etanol, propileno glicol, polietileno glicóis (por exemplo, PEG 400, PEG 300), etc. e misturas destes. Diluentes, veículos, excipientes e estabilizadores aceitáveis são não tóxicos a recipientes nas dosagens e concentrações empregadas, e incluem tampões tais como fosfato, citrato e outros ácidos orgânicos; antioxidantes incluindo ácido ascórbico e metionina; conservantes (tal como cloreto de octadecildimetilbenzil amônio; cloreto de hexametônio; cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio; fenol, álcool butílico ou benzílico; alquil parabenos tal como metil ou propil parabeno; catecol; resorcinol; cicloexanol; 3-pentanol; e m-cresol); polipeptídeos de baixo peso molecular (menor do que cerca de 10 resíduos); proteínas, tais como albumina de soro, gelatina, ou imunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tais como polivinilpirrolidona; aminoácidos tal como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, ou lisina; monossacarídeos, dissacarídeos e outros carboidratos incluindo glicose, manose ou dextrinas; agentes quelantes tal como EDTA; açúcares tais como sacarose, manitol, trealose ou sorbitol; contra-íons de formação de sal tal como sódio; complexos de metal (por exemplo, complexos de proteína de Zn); e/ou tensoativos não iônicos tais como TWEEN®, PLURONICS® ou polietileno glicol (PEG). As formulações podem da mesma forma incluir um ou mais agentes estabilizantes, tensoativos, agentes umectantes, agentes lubrificantes, emulsificantes, agentes de suspensão, conservantes, antioxidantes, agentes opacifi-

cantes, deslizantes, auxiliares de processamento, corantes, adoçantes, agentes perfumantes, agentes flavorizantes e outros aditivos conhecidos para fornecer uma apresentação elegante do fármaco (isto é, um composto desta invenção ou composição farmacêutica deste) ou ajudar na fabricação do produto farmacêutico (isto é, medicamento). Os ingredientes farmacêuticos ativos podem da mesma forma ser capturados em microcápsulas preparadas, por exemplo, por técnicas de co-acervação ou por polimerização interfacial, por exemplo, hidroximetilcelulose ou microcápsulas de gelatina e microcápsulas de poli(metilmetacrilato), respectivamente, em sistemas de liberação de fármaco coloidais (por exemplo, lipossomas, microesferas de albumina, microemulsões, nanopartículas e nanocápsulas) ou em macroemulsões. Tais técnicas são descritas na Remington's Pharmaceutical Science 16ª edição, Osol, A. Ed. (1980). Um "lipossoma" é uma vesícula pequena composta de vários tipos de lipídios, fosfolipídeos e/ou tensoativo que é útil para liberação de um fármaco em um mamífero. Os componentes do lipossoma estão geralmente dispostos em uma formação de bicamada, similar à disposição de lipídio de membranas biológicas.

[00098] Preparações de liberação prolongada de compostos desta invenção podem ser preparadas. Exemplos adequados de preparações de liberação prolongada incluem matrizes semi-permeáveis de polímeros hidrofóbicos sólidos contendo um composto desta invenção, cujas matrizes estão na forma de artigos moldados, por exemplo, películas ou microcápsulas. Exemplos de matrizes de liberação prolongada incluem poliésteres, hidrogéis (por exemplo, poli (2-hidroxietilmetacrilato), ou álcool polivinílico), polilactídeos (Patente U.S. No. 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutâmico e gama-etil-L-glutamato, acetato de etileno-vinila não degradável, copolímeros de ácido glicólico - ácido láctico degradáveis tal como o LUPRON DEPOT® (microesferas

injetáveis compostas de copolímero de ácido láctico - ácido glicólico e acetato de leuprolida) e ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico.

[00099] As composições farmacêuticas desta invenção podem ser na forma de uma preparação injetável estéril, tal como uma suspensão aquosa ou oleaginosa injetável estéril. Esta suspensão pode ser formulada de acordo com a técnica conhecida utilizando aqueles agentes dispersantes ou umectantes adequados e agentes de suspensão que foram mencionados acima. A preparação injetável estéril pode da mesma forma ser uma solução injetável estéril ou suspensão em um solvente ou diluente parenteralmente aceitável não tóxico, tal como uma solução em 1,3-butanodiol ou preparada como um pó liofilizado. Entre os veículos aceitáveis e solventes que podem ser empregados estão água, solução de Ringer e solução de cloreto de sódio isotônica. Além disso, óleos fixos estéreis podem convencionalmente ser empregados como um solvente ou meio de suspensão. Para este propósito, qualquer óleo fixo suave pode ser empregado incluindo mono ou diglicérides sintéticos. Além disso, ácidos graxos tal como ácido oléico podem igualmente ser utilizados na preparação de injetáveis.

[000100] Composições farmacêuticas desta invenção adequadas para administração parenteral incluem soluções de injeção estéreis aquosas e não aquosas que podem conter antioxidantes, tampões, bacteriostatos e solutos que tornam a formulação isotônica com o sangue do recipiente destinado; e suspensões estéreis aquosas e não aquosas que podem incluir agentes de suspensão e espessantes.

[000101] As composições da invenção podem da mesma forma ser formuladas em uma forma adequada para uso oral (por exemplo como comprimidos, pastilhas, cápsulas duras ou macias, suspensões aquosas ou oleosas, emulsões, pós dispersíveis ou grânulos, xaropes ou elixires), para uso tópico (por exemplo, como cremes, ungüentos, géis, ou soluções ou suspensões aquosas ou oleosas), para administração

através de inalação (por exemplo, como um pó finamente dividido ou um aerossol líquido), para administração por insuflação (por exemplo, como um pó finamente dividido)

[000102] Excipientes farmacologicamente aceitáveis adequados para uma formulação de comprimido incluem, por exemplo, diluentes inertes tais como lactose, carbonato de sódio, fosfato de cálcio ou carbonato de cálcio, agentes de granulação e desintegrantes tal como amido de milho ou ácido algênico; agentes de ligação tal como amido; agentes lubrificantes tal como estearato de magnésio, ácido esteárico ou talco; agentes conservantes tais como p-hidroxibenzoato de etila ou propila, e antioxidantes, tal como ácido ascórbico. Formulações de comprimido podem ser não revestidas ou revestidas para modificar sua desintegração e a absorção subsequente do ingrediente ativo dentro do trato gastrointestinal, ou para melhorar sua estabilidade e/ou aparência, em qualquer caso, utilizando-se agentes de revestimento convencionais e procedimentos conhecidos na técnica.

[000103] Composições para uso oral podem ser formuladas na forma de cápsulas de gelatina duras em que o ingrediente ativo é misturado com um diluente sólido inerte, por exemplo, carbonato de cálcio, fosfato de cálcio ou caulim, ou como cápsulas de gelatina macias em que o ingrediente ativo é misturado com água ou um óleo tal como óleo de amendoim, óleo de parafina, ou azeite de oliva.

[000104] Suspensões aquosas geralmente contêm o ingrediente ativo em forma finamente pulverizada juntamente com um ou mais agentes de suspensão, tais como carboximetilcelulose sódica, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, alginato de sódio, polivinil-pirrolidona, goma tragacanto e goma acácia; agentes dispersantes ou umectantes tais como lecitina ou produtos de condensação de um óxido de alquilenos com ácidos graxos (por exemplo, estearato de polioxetileno), ou produtos de condensação de óxido de etileno com álcoois alifáticos de

cadeia longa, por exemplo, heptadecaetilenooxicetanol, ou produtos de condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados de ácidos graxos e um hexitol tal como monooleato de sorbitol de polioxi-etileno, ou produtos de condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados de ácidos graxos e anidridos de hexitol, por exemplo, monooleato de sorbitano de polietileno. As suspensões aquosas podem da mesma forma conter um ou mais conservantes (tal como p-hidroxibenzoato de etila ou propila, antioxidantes (tal como ácido ascórbico), agentes corantes, agentes flavorizantes, e/ou agentes adoçantes (tal como sacarose, sacarina ou aspartame).

[000105] Suspensões oleosas podem ser formuladas suspendendo-se o ingrediente ativo em um óleo vegetal (tal como óleo de amendoim, azeite de oliva, óleo de gergelim ou óleo de coco) ou em um óleo mineral (tal como parafina líquida). As suspensões oleosas podem da mesma forma conter um agente espessante tal como cera de abelha, parafina dura ou álcool cetílico. Agentes adoçantes tais como aqueles mencionados acima, e agentes flavorizantes podem ser adicionados para fornecer uma preparação oral saborosa. Estas composições podem ser preservadas pela adição de um antioxidante tal como ácido ascórbico.

[000106] Pós dispersíveis e grânulos adequados para preparação de uma suspensão aquosa pela adição de água geralmente contêm o ingrediente ativo juntamente com um agente dispersante ou umectante, agente de suspensão e um ou mais conservantes. Agentes dispersantes ou umectantes adequados e agentes de suspensão são exemplificados por aqueles já mencionados acima. Excipientes adicionais tais como agentes adoçantes, flavorizantes e corantes, podem da mesma forma estar presentes.

[000107] As composições farmacêuticas da invenção podem da mesma forma ser na forma de emulsões de óleo-em-água. A fase ole-

osa pode ser um óleo vegetal, tal como azeite de oliva ou óleo de amendoim, ou um óleo mineral, tal como por exemplo, parafina líquida ou uma mistura de quaisquer destes. Agentes emulsificantes adequados podem ser, por exemplo, gomas de ocorrência natural tal como goma acácia ou goma tragacanto, fosfatídeos de ocorrência natural tais como soja, lecitina, ésteres ou ésteres parciais derivados a partir de ácidos graxos e anidridos de hexitol (por exemplo, monooleato de sorbitano) e produtos de condensação dos referidos ésteres parciais com óxido de etileno tal como monooleato de sorbitano de polioxietileno. As emulsões podem da mesma forma conter agentes adoçantes, flavorizantes e conservantes.

[000108] Xaropes e elixires podem ser formulados com agentes adoçantes tais como glicerol, propileno glicol, sorbitol, aspartame ou sacarose, e podem da mesma forma conter um agente demulcente, conservante, flavorizante e/ou corante.

[000109] Formulações de supositório podem ser preparadas misturando-se o ingrediente ativo com um excipiente não irritante adequado que é sólido em temperaturas ordinárias, porém, líquido na temperatura retal e, portanto, derreterá no reto para liberar o fármaco. Excipientes adequados incluem, por exemplo, manteiga de cacau e polietileno glicóis. Formulações adequadas para administração vaginal podem ser apresentadas como pessários, tampões, cremes, géis, pastas, espumas ou formulações em *spray* contendo além do ingrediente ativo tais veículos como são conhecidos na técnica a ser apropriada.

[000110] Formulações tópicas, tais como cremes, ungüentos, géis e suspensões ou soluções aquosas ou oleosas, podem geralmente ser obtidas formulando-se um ingrediente ativo com um veículo ou diluente convencional, topicamente aceitável, utilizando procedimentos convencionais bem-conhecidos na técnica.

[000111] Composições para administração transdérmica podem ser

na forma daqueles emplastos de pele transdérmicos que são bem-conhecidos por aqueles de experiência ordinária na técnica.

[000112] Composições para administração por insuflação podem ser na forma de um pó finamente dividido contendo partículas de diâmetro médio de, por exemplo, 30 μm ou muito menor, o próprio pó compreendendo ingrediente ativo sozinho ou diluído com um ou mais veículos fisiologicamente aceitáveis tal como lactose. O pó para insuflação é, em seguida, convenientemente retido em uma cápsula contendo, por exemplo, 1 a 50 mg de ingrediente ativo para uso com um dispositivo turboinalador, tal como é utilizado para insuflação do agente conhecido, cromoglicato sódico.

[000113] Composições para administração por inalação podem ser na forma de um aerossol pressurizado convencional disposto para distribuir o ingrediente ativo como um aerossol contendo gotículas sólidas ou líquidas finamente divididas. Propelentes de aerossol convencionais tais como hidrocarboneto fluorados voláteis ou hidrocarbonetos podem ser utilizados e o dispositivo de aerossol é convenientemente disposto para distribuir uma quantidade medida de ingrediente ativo.

[000114] A composição farmacêutica (ou formulação) para aplicação pode ser empacotada em uma variedade de maneiras dependendo do método utilizado para administrar o fármaco. Por exemplo, um artigo para distribuição pode incluir um recipiente tendo depositado nele a formulação farmacêutica em uma forma apropriada. Recipientes adequados são bem-conhecidos por aqueles versados na técnica e incluem materiais tais como frascos (plásticos e vidro), sachês, ampolas, bolsas plásticas, cilindros de metal e similares. O recipiente pode, da mesma forma, incluir um dispositivo à prova de violação para prevenir o acesso indiscreto aos conteúdos do pacote. Além disso, o recipiente tem depositado nele um rótulo que descreve os teores do recipiente. O rótulo pode, da mesma forma, incluir advertências apropriadas. As

formulações podem, da mesma forma, ser empacotadas em recipientes de dose unitária ou múltiplas doses, por exemplo, ampolas seladas e frascos, e podem ser armazenadas em uma condição secada por congelamento (liofilizada) requerendo apenas a adição do veículo líquido estéril, por exemplo, água, para injeção imediatamente antes do uso. Suspensões e soluções de injeção extemporâneas são preparadas a partir de pós estéreis, grânulos e comprimidos do tipo previamente descritos. Formulações de dosagem unitária preferidas são aquelas contendo uma dose diária ou subdose unitária diária, como aqui acima referido, ou uma fração apropriada destas, do ingrediente ativo.

[000115] A invenção, portanto, também fornece composições veterinárias compreendendo pelo menos um ingrediente ativo como acima definido juntamente com um veículo veterinário. Os veículos veterinários são materiais úteis para o propósito de administração da composição e podem ser materiais sólidos, líquidos ou gasosos que são de outra maneira inertes ou aceitáveis na técnica veterinária e são compatíveis com o ingrediente ativo. Estas composições veterinárias podem ser administradas parenteralmente, oralmente ou por qualquer outra rotina desejada.

[000116] A quantidade de um composto desta invenção que é combinada com um ou mais excipientes para produzir uma única forma de dosagem variará necessariamente dependendo do indivíduo tratado, da gravidade do distúrbio ou condição, da taxa de administração, da disposição do composto e da descrição da prescrição médica. Em uma modalidade, uma quantidade adequada de um composto desta invenção é administrada a um mamífero em necessidade desta. Administração em uma modalidade ocorre em uma quantidade entre cerca de 0,001 mg/kg de peso corporal a cerca de 60 mg/kg de peso corporal por dia. Em outra modalidade, administração ocorre em uma quantida-

de entre 0,5 mg/kg de peso corporal a cerca de 40 mg/kg de peso corporal por dia. Em alguns exemplos, níveis de dosagem abaixo do limite inferior da faixa supracitada pode ser mais do que adequada, enquanto em outros casos doses ainda maiores podem ser empregadas sem causar qualquer efeito colateral prejudicial, contanto que tais doses maiores sejam primeiro divididas em várias doses pequenas para administração ao longo do dia. Para outra informação sobre rotinas de administração e regimes de dosagem, veja Capítulo 25.3 no Volume 5 de *Comprehensive Medicinal Chemistry* (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990, que está especificamente incorporado aqui por referência.

ARTIGOS DE FABRICAÇÃO

[000117] Em outra modalidade da invenção, um artigo de fabricação, ou "kit", contendo materiais úteis para o tratamento dos distúrbios descritos acima é fornecido. Em uma modalidade, o *kit* compreende um recipiente compreendendo um composto desta invenção. Por exemplo, recipientes adequados incluem frascos, frasconetes, seringas, embalagem de bolhas, etc. O recipiente pode ser formado a partir de uma variedade de materiais tais como vidro ou plástico. O recipiente pode sustentar um composto desta invenção ou uma formulação deste que é eficaz para tratar a condição e pode ter um orifício de acesso estéril (por exemplo, o recipiente pode ser uma bolsa de solução intravenosa ou um frasconete tendo um tampão perfurável por uma agulha de injeção hipodérmica).

[000118] O *kit* pode também compreender um rótulo ou inserção de pacote sobre ou associado com o recipiente. O termo "inserção de pacote" é utilizado para referir-se às instruções habitualmente incluídas em pacotes comerciais de produtos terapêuticos, que contêm informação sobre as indicações, uso, dosagem, administração, contra-indicações e/ou advertências relativas ao uso de tais produtos terapêu-

ticos. Em uma modalidade, as inserções do rótulo ou pacote indicam que a composição compreendendo um composto desta invenção pode ser utilizada para tratar um distúrbio ou doença mediada por cinase. O rótulo ou inserção do pacote pode da mesma forma indicar que a composição pode ser utilizada para tratar outros distúrbios.

[000119] Em certas modalidades, os *kits* são adequados para a liberação de formas orais sólidas de um composto desta invenção, tais como comprimidos ou cápsulas. Um tal *kit* preferivelmente inclui várias dosagens unitárias. Tais *kits* podem incluir um cartão tendo as dosagens orientadas na ordem de seu uso destinado. Um exemplo de um tal *kit* é uma "embalagem do tipo blister". Embalagens do tipo blister são bem-conhecidas na indústria de embalagem e são amplamente empregadas para empacotar formas de dosagem unitária farmacêuticas. Se desejado, um auxiliar de memória pode ser fornecido, por exemplo, na forma de números, cartas, ou outras marcações ou com uma inserção de calendário, designando os dias no horário de tratamento em que as dosagens podem ser administradas.

[000120] De acordo com outra modalidade, um *kit* pode compreender (a) um primeiro recipiente com um composto desta invenção contido nele; e (b) um segundo recipiente com uma segunda formulação farmacêutica contida nele, em que a segunda formulação farmacêutica compreende um segundo composto útil para tratar um distúrbio ou doença mediada por cinase. Alternativamente, ou adicionalmente, o *kit* pode também compreender um terceiro recipiente compreendendo um tampão farmacêuticamente aceitável, tal como água bacteriostática para injeção (BWFI), solução salina tamponada por fosfato, solução de Ringer e solução de dextrose. O *kit* pode também incluir outros materiais desejáveis de um ponto de vista do usuário e comercial, incluindo outros tampões, diluentes, filtros, agulhas e seringas.

[000121] O *kit* pode também compreender direções para a adminis-

tração do composto desta invenção e, se presente, a segunda formulação farmacêutica. Por exemplo, se o *kit* compreende uma primeira composição compreendendo um composto desta invenção e uma segunda formulação farmacêutica, o *kit* pode também compreender direções para a administração simultânea, seqüencial ou separada da primeira e segunda composições farmacêuticas a um paciente em necessidade deste.

[000122] Em certas outras modalidades em que o *kit* compreende uma composição desta invenção e uma segunda formulação farmacêutica, o *kit* pode compreender um recipiente contendo as composições separadas tal como um frasco dividido ou um pacote de folha metálica dividida, porém, as composições separadas podem da mesma forma estar contidas dentro de um único recipiente, não dividido. Em certas modalidades, o *kit* compreende direções para a administração dos componentes separados. A forma de *kit* é particularmente vantajosa quando os componentes separados são preferivelmente administrados em formas de dosagem diferentes (por exemplo, orais e parenterais), são administrados em intervalos de dosagem diferentes, ou quando a titulação dos componentes individuais da combinação é desejada pela prescrição médica.

ATIVIDADE BIOLÓGICA

Inibição de p38 MAPK

[000123] A atividade dos compostos desta invenção pode ser analisada quanto a inibição de p38 MAPK *in vitro*, *in vivo*, ou em uma linhagem celular. Ensaios *in vitro* incluem ensaios que determinam a inibição de atividade de cinase ou atividade de ATPase de p38 MAPK ativada. Ensaios *in vivo* alternados quantificam a capacidade do inibidor ligar-se a p38 MAPK e podem ser medidos radiorrotulando-se o inibidor antes de ligar, isolando-se o complexo inibidor / p38 MAPK e determinando-se a quantidade de ligação radiorrotulada, ou conduzindo-

se uma experiência de competição onde novos inibidores são incubados com ligação de p38 MAPK aos radioligantes conhecidos. Estes e outros ensaios de cultura celular e *in vitro* úteis são bem-conhecidos por aqueles versados na técnica.

[000124] Ensaios de cultura celular do efeito inibidor dos compostos desta invenção podem ser utilizados para determinar as quantidades de TNF- α , IL-1, IL-6 ou IL-8 produzida no sangue total ou frações celulares deste em células tratadas com inibidor quando comparado às células tratadas com controles negativos. Níveis destas citocinas podem ser determinados através do uso de ELISAs comercialmente disponíveis ou como descrito na seção de Exemplos Biológicos abaixo.

EXEMPLOS

[000125] Para ilustrar a invenção, os exemplos seguintes são incluídos. Entretanto, deve ser entendido que estes exemplos não limitam a invenção e são apenas referidos para sugerir um método de praticar a invenção.

EXEMPLOS BIOLÓGICOS

[000126] As atividades biológicas dos compostos da invenção foram demonstradas pelos seguintes ensaios *in vitro*. Compostos utilizados nos Exemplos C-M foram: Composto 72: 1-(3-*terc*-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)benzil)uréia (Exemplos 1 e 3); e Composto 74: dihidrogenofosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etila (Exemplos 2 e 4).

Exemplo A

Ensaio Bioquímico de p38

[000127] Atividade de p38 foi analisada em temperatura ambiente em uma reação de 100 μ L que contém 5 nM de enzima de p38 α ativada e 1 μ M de ATF-2 (proteína de fusão de Fator de Transcrição Ativador 2) como o substrato em 25 mM de HEPES (pH 7,4), 100 μ M de

Vanadato, 1 mM de DTT, 10 mM de MgCl_2 e 10 μM de $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{-ATP}$ ($\sim 0,1 \mu\text{Ci P}^{33}/\text{reação}$). A reação foi terminada depois de 30-40 minutos adicionando-se 25% de TCA, permitida repousar 5 minutos, e em seguida transferida diretamente para uma placa de filtro de membrana GF-B. O filtro foi lavado duas vezes durante 30 segundos com 0,5% de ácido fosfórico utilizando uma Colheitadeira Automatizada Tomtec Mach III. Depois da lavagem, o vácuo foi continuado durante 30 segundos para secar o filtro. Aproximadamente 30 μL de cintilante foram adicionados por cavidade à placa de filtro e, em seguida, lida em uma Contadora de Cintilação Líquida (Packard TopCount HTS).

Exemplo B

Ensaio de PBMC

[000128] A capacidade dos compostos desta invenção inibir a produção de $\text{TNF-}\alpha$ foi avaliada utilizando-se células mononucleares de sangue periférico humano ("PBMC") que sintetizam e secretam $\text{TNF-}\alpha$ quando estimulado com lipopolissacarídeo.

[000129] Soluções teste de composto foram feitas preparando-se diluições seriais de 5 vezes em DMSO, cujas diluições foram, em seguida, diluídas em matérias-primas 5x diluindo-se com MEM, 2% de soro bovino fetal inativado por calor ("FBS"), 20 mM de HEPES, 2 mM de L-glutamina, e 1% de penicilina/estreptomicina.

[000130] PBMC's foram isolados a partir de sangue humano como segue. Amostras de sangue inteiras foram coletadas a partir de voluntários humanos em Vacutainer® CPT de Becton Dickinson. Os tubos foram misturados e centrifugados em temperatura ambiente (18 - 25 °C) em um rotor horizontal durante um mínimo de 15 minutos em 1500 - 1800 RCF (força centrífuga relativa). Para cada doador, as camadas de revestimento leucocitárias foram agrupadas em um único tubo e lavadas duas vezes com solução salina tamponada ("PBS"). O pélete de célula foi ressuspensão em MEM, 2% de soro bovino fetal inativado

por calor ("FBS"), 20 mM de HEPES, 2 mM de L-glutamina, e 1% de penicilina/estreptomicina. Número de célula total foi determinado utilizando-se um hemocítômetro e a suspensão celular foi ajustado em 2×10^6 de células/mL.

[000131] Para cada cavidade de uma placa de cultura celular de 96 cavidades foi adicionado 0,1 mL de suspensão celular. Uma solução teste de composto (30. L) foi adicionada, e as células foram incubadas em uma incubadora de CO₂ a 5%/37°C durante 1 hora, e em seguida 20 µL de 7,5 ng/mL de lipopolissacarídeo (LPS *E. Coli* K-235) foram adicionados cada cavidade, e as células foram retornadas para a incubadora de CO₂ a 5%/37°C durante 16 - 20 horas. As células foram centrifugadas durante 15 minutos em 1100 RCF. Aproximadamente 0,12 mL do sobrenadante foi transferido em uma placa de polipropileno de 96 cavidades limpa. As amostras foram analisadas imediatamente ou foram armazenadas a -80°C até que prontas para ensaio. Níveis de TNF-α foram determinados em cada amostra utilizando-se um ensaio ELISA de TNF-α humano tal como aqueles descritos abaixo.

[000132] Níveis de TNF-α foram determinados utilizando-se o ensaio seguinte. Placas revestidas de anticorpo de TNF-α foram preparadas adicionando-se 150 µL de 2 µg/mL de IgG monoclonal de camundongo purificado com anti-TNF-α em tampão de Carbonato-Bicarbonato (Pacote de Tampão de Carbonato-Bicarbonato BupH®) em cavidades de uma placa Immulon 4 de 96 cavidades (Placa de Base Plana ELISA Immulon 4; Dynex, número de catálogo 011-010-3855) e incubadas durante a noite a 2 - 8°C. Solução de revestimento foi removida e 200 µL de tampão de bloqueio (20 mM de HEPES pH 7,4, 150 mM de NaCl, 2% de BSA) foram adicionados e as placas foram armazenados 2 - 8°C até que prontas para uso. Uma curva-padrão de TNF-α humano recombinante em ponto dez foi preparada por uma diluição serial

de 1:2 em diluente de amostra (20 mM de HEPES, pH 7,4, 150 mM de NaCl, 2 mM de $MgCl_2$, 1% de BSA) com uma concentração de topo de 6000 pg/mL.

[000133] Solução de bloqueio foi removida das placas de ELISA de TNF- α lavando-se cinco vezes com 300 μ L de "tampão de lavagem" (20 mM de HEPES, pH 7,4, 150 mM de NaCl, 2 mM de $MgCl_2$, 0,02% de Tween-20). 50 μ L de diluente de amostra foram adicionados a todas as cavidades, e em seguida 50 μ L de uma curva de solução padrão de TNF- α ou sobrenadante de composto teste foram adicionados a todas as cavidades. A placa foi incubada em temperatura ambiente durante uma hora com agitação (300 rpm). A placa foi lavada cinco vezes com 300 μ L de tampão de lavagem. 100 μ L de 0,2 μ g/mL de TNF- α anti-humano de cabra biotilado em "diluente de anticorpo" (20 mM de HEPES, pH 7,4, 150 mM de NaCl, 2 mM de $MgCl_2$, 1% de BSA, 0,02% de Tween-20) foram adicionados por cavidade, e a placa foi incubada em temperatura ambiente durante uma hora com agitação (300 rpm). A placa foi lavada cinco vezes com 300 μ L de tampão de lavagem por cavidade. 100 μ L de 0,02 μ g/mL de fosfatase alcalina de estreptavidina em diluente de anticorpo foram adicionados por cavidade, e a placa foi incubada em temperatura ambiente durante uma hora com agitação (300 rpm). A placa foi lavada cinco vezes com 300 μ L de tampão de lavagem por cavidade. 200 μ L de 1 mg/mL de pNPP (fosfato de p-nitrofenila) em tampão de dietanolamina com 0,5 mM de $MgCl_2$ foram adicionados por cavidade, e a placa foi incubada durante 30 a 45 minutos em temperatura ambiente com agitação (300 rpm). O progresso da reação foi monitorado determinando-se a densidade óptica: quando o padrão de topo alcançou uma OD entre 2,0 e 3,0, 50 μ L de NaOH a 2N foram adicionados por cavidade. A densidade óptica de cada cavidade foi determinada dentro de 30 minutos, utilizando-se uma leitora de placa de microtítulo fixada em 405 nm. Os dados foram

analisados em ajuste XL utilizando-se ajustamento de curva de 4 parâmetros.

[000134] Os reagentes seguintes foram utilizados nos ensaios acima descritos. A Solução Salina Tamponada por Fosfato de Dulbecco sem Cálcio ou Magnésio (Número de Catálogo de Gibco 14190); Meio essencial mínimo Eagle (MEM; Número de Catálogo de Gibco 11090); penicilina-estreptomicina (Número de Catálogo de Gibco 15140); L-glutamina, 200 mM (Número de Catálogo de Gibco 25030); HEPES, 1M (Número de Catálogo de Gibco 15630); soro bovino fetal ("FBS"; Número de Catálogo de HyClone SH30070.03); lipopolissacarídeos de *Escherichia coli* K-235 ("LPS"; Número de Catálogo de Sigma L2018); anti-TNF- α , IgG Monoclonal Purificado de Rato (Número de Catálogo de R&D Systems MAB210); Pacote de Tampão de Carbonato-Bicarbonato BupH® (Número de Catálogo de Pierce 28382); HEPES (FW 238.3; Número de Catálogo de Sigma H3575); NaCl (Número de Catálogo de Sigma S7653); albumina de soro bovino ("BSA"; Número de Catálogo de Jackson ImmunoResearch 001-000-162); monolaurato de sorbitano de polioxietileno 20 (Número de Catálogo de Sigma P2287); cloreto de magnésio, hexaidrato (Número de Catálogo de Sigma M2670); TNF- α humano recombinante (Número de Catálogo de R&D Systems 210TA010); IgG de cabra purificado por afinidade de TNF- α biotinilado (Número de Catálogo de R&D Systems BAF210); fosfatase alcalina de estreptavidina (Número de Catálogo de Jackson ImmunoResearch 016-050-084); Tampão de Substrato de dietanolamina (Número de Catálogo de Pierce 34064); fosfato de *p*-nitrofenila (Número de Catálogo de Sigma N2765).

Exemplo C

Atividade de Composto 72 versus várias cinases

[000135] A atividade de p38 do Composto 72 empregando-se um ensaio de cinase radioativo de p38 interno utilizando ATF-2 como um

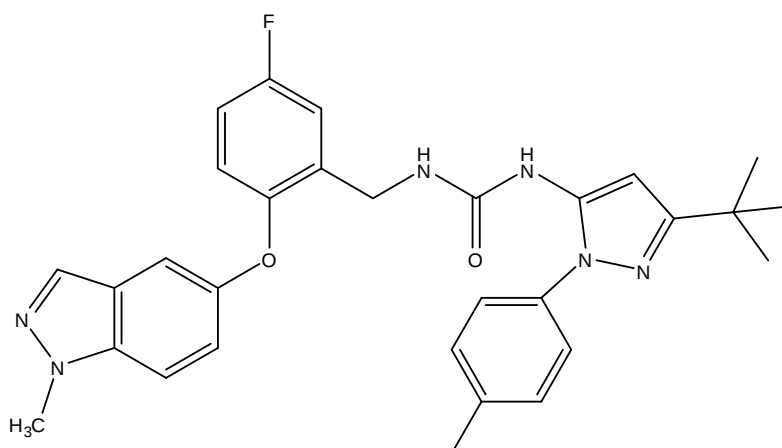
substrato foi explorada. A seletividade do Composto 72 foi determinada analisando a atividade de 202 proteína cinases na presença de 1 μ M de Composto 72. Determinações de IC₅₀ foram subsequentemente conduzidas para essas cinases inibidas por >80% na avaliação inicial (concentração de ATP em K_m) por protocolos estabelecidos.

[000136] Como mostrado na Tabela 1, Composto 72 é um inibidor potente de tirosina cinase citoplásmica de Abelson de p38 α (Abl), gene relacionado a Abelson (Arg) e a a tirosina cinase do receptor de Tie-2. Além destas atividades, Composto 72 é da mesma forma moderadamente potente contra a forma resistente a Imatinib de BCR-Abl T315I, as tirosina cinases da família de src Hck, Lyn e Fyn, e as tirosina cinases do receptor FGFR1 (receptor do fator de crescimento de fibroblasto 1; FGFR1) e VEGFR2 (receptor do fator de crescimento endotelial vascular 2; KDR).

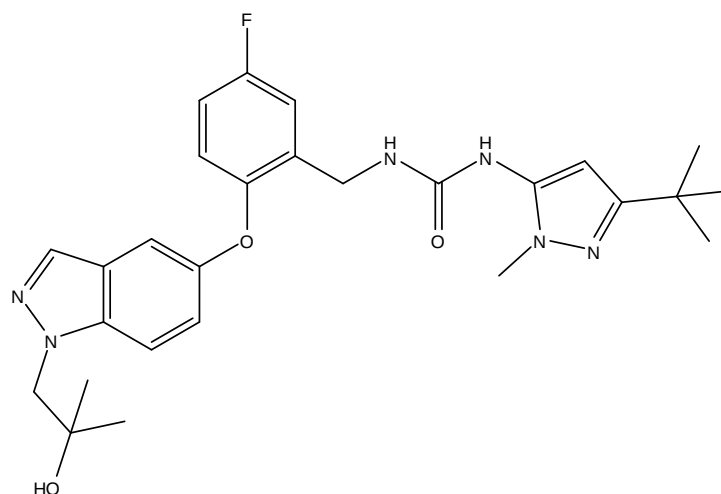
Tabela 1

Cinase	IC₅₀
p38 α	< 2 nM
Abl	4 nM
Arg	10 nM
Tie2	1 nM
Abl (T315I)	68 nM
Hck	26 nM
Lyn	25 nM
Fyn	41 nM
FGFR1	28 nM
VEGFR	74 nM

[000137] Por meio de comparação, os compostos dos Exemplos 94 e 138 de WO 2004/078116 foram da mesma forma testados.



Exemplo 94



Exemplo 138

[000138] Os resultados são fornecidos na Tabela 1a abaixo.

Tabela 1a

	Exemplo 94	Exemplo 138
Cinase	IC ₅₀	IC ₅₀
P38α	< 2 nM	< 2 nM
Abl	10 nM	>500 nM
Tie2	4 nM	>500 nM

[000139] Os resultados mostram que o composto 72 é um inibidor significativamente mais potente de Abl e Tie2 que os compostos dos Exemplos 94 e 138 de WO 2004/078116.

Exemplo D

Atividade de célula do Composto 72 contra a série de reação de p38

[000140] As células de HeLa foram tratadas com Composto 72 durante 60 minutos antes da estimulação com 1 µg/mL de anisomicina durante 60 minutos para induzir a ativação da série de reação de p38. As células foram rotuladas com anticorpos contra a forma fosforilada de HSP27 (Ser78) e GAPDH como um controle de normalização. As células foram imageadas e quantificadas utilizando-se um imageador LI-COR Aeriustm.

[000141] Os resultados demonstraram que Composto 72 é um inibidor potente da série de reação de p38 em células, com uma IC₅₀ aparente de 2 nM. Em um ensaio celular funcional, este composto foi da mesma forma testado quanto a sua capacidade de inibir a produção de TNF-α em sangue total tratado com lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) para induzir a produção de citocina (como detectado por ELISA), gerando uma IC₅₀ aparente de 30 nM.

Exemplo E

Atividade de célula do Composto 72 contra receptor de Tie2

[000142] Para a experiência de curso de tempo, HUVECs foram privadas de soro durante 2 horas, em seguida, estimulados com 200 ng/mL do agonista do receptor de Tie2 Angiopietina-1 (Ang-1). As células foram colhidas nos pontos de tempo indicados e imunoblots com anticorpos contra fosfo-AKT, fosfo-Erk, fosfo-HSP27, fosfo-p38 e GAPDH. Sinais foram quantificados e normalizados em GAPDH para avaliar a extensão da indução como um resultado da ativação do receptor de Tie2. Os resultados foram demonstrados como uma imunomancha e gráfico mostrando o curso de tempo da ativação da série de reação de Erk, AKT e p38 em resposta ao agonista de receptor de Tie2 contra Ang-1 em células endoteliais vasculares umbilicais humanas (HUVECs). Os resultados mostram que apenas os percursos AKT e Erk são ativados em resposta à ativação do receptor de Tie2.

[000143] Para o estudo de ativação de Tie2, HUVECs foram privadas

de soro durante 2 horas, em seguida, tratados com concentrações variadas do Composto 72 durante 60 minutos antes da estimulação com 200 ng/mL de Ang-1 durante 10 minutos. Tie2 foi, em seguida, imunopurificado (IP) e imunoblottado com anticorpos antifosfotirosina (pTyr) e anti-Tie2 para avaliar o grau de autofosforilação de Tie2. Os lisados foram imunoblottados com anticorpos anti-fosfo-Erk e anti-fosfo-AKT (Ser473), respectivamente. Sinais foram quantificados e normalizados em GAPDH como um controle de carregamento. Os resultados foram mostrados em um imunomancha e um gráfico. O tratamento do Composto 72 resulta em uma inibição dependente de dose igualmente da autofosforilação de Tie2 bem como seus efetores a jusante Erk e AKT com uma IC_{50} de < 33 nM para anterior e < 11 nM para o posterior.

Exemplo F

Atividade de célula do Composto 72 contra BCR-Abl

[000144] A linhagem celular de leucemia mielogenosa crônica positiva de BCR-Abl K562 foi tratada com várias concentrações de Imatinib ou Composto 72 como indicado durante 72 horas a 37 °C, CO₂ a 5%. A viabilidade da célula foi subsequentemente medida utilizando-se CellTiter Blue (Promega) para determinar os valores de IC_{50} para cada composto. Os valores de IC_{50} determinados foram 278 nM e 62 nM para Imatinib e Composto 72, respectivamente.

[000145] Extratos de células K562 tratados com concentrações variadas de Imatinib ou Composto 72 durante 2 horas a 37°C, CO₂ a 5% foram preparados e imunoblottados para substratos de Abl autofosforilados (p-Abl, Tyr245) e de Abl STAT5 (pSTAT5, Tyr694) e CrkL (pCrkL, Tir207). Os resultados mostram que o Composto 72 é mais que quatro vezes mais potente do que Imatinib na inibição da proliferação na linhagem celular direcionada a BCR-Abl K562. Os resultados do imunoblotting de extratos de K562 tratados com pBCR-Abl, pSTAT5, pCrkL ou GAPDH nas concentrações 5000, 1000, 333, 111, 37 e 0 nM

de Imatinib ou Composto 72 foram medidos. Este ensaio mostra que tanto o Composto 72 quanto Imatinib são capazes de inibir a autofosforilação da BCR-Abl bem como seus substratos STAT5 e CrkL. Composto 72, de acordo com os dados de proliferação, é mais potente na inibição da fosforilação destes substratos.

Exemplo G

Propriedades físicas, perfil Metabólico e perfil de Segurança dos Compostos 72 e 74

1. Determinação da solubilidade

[000146] Os resultados da determinação da solubilidade são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Solubilidade

Composto 72	Composto 74 (Pró-fármaco)
pH 3,0 < 0,005 mg/mL	pH 1,2 < 1 mg/mL
pH 7,4 < 0,005 mg/mL	pH 6,5 >1000 mg/mL
	pH 7,4 ~940 mg/mL

[000147] Por meio de comparação, as solubilidades dos compostos dos Exemplos 94 e 138 de WO 2004/078116 foram constatadas ser < 0,001 mg/mL em pH 6,5 e 7,4.

2. Ensaios de Inibição de CYP (Fluorescente, LC-MS)

[000148] Valores de IC₅₀ para CYP3A4, CYP2C19 e CYP2C9 foram derivados medindo-se a relação da formação de metabólito de um substrato específico em padrão interno comparado ao controle por cromatografia líquida/ espectrometria de massa (LC/MS) utilizando-se microsomas de fígado humano agrupados (n = 1). Valores de IC₅₀ para CYP2D₆ e CYP1A2 foram derivados medindo-se a fluorescência relativa comparada ao controlar de sondas fluorescentes específicas de isoforma de P450 comercialmente disponíveis e proteína recombinante (n = 1). Os resultados são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3: perfil de Inibição de CYP (Composto 72)

	IC ₅₀
CYP3A4	Midazolam: ~8 µM Testosterona: ~10 µM
CYP2D6	3 µM
CYP2C9	5 µM (LC/MS)
CYP2C19	25 µM (LC/MS)
CYP1A2	25 µM

3. Ensaio de toxicidade fora de alvo

[000149] Composto 72 foi analisado quanto a ligação (ensaio de deslocamento de ligando) em 10 µM contra o painel seguinte de 28 receptores, canais de íon e transportadores.

[000150] Das 28 entidades moleculares avaliadas, apenas o canal de sódio (sítio 2) mostrou interagir significativamente (>50% de deslocamento) com o composto.

4. Ensaio de Avaliação de Segurança

[000151] Ensaio de hERG foi realizado utilizando um protocolo de grampo de emplastro-padrão. Ensaio de AMES (ensaio de mutação reversa bacteriano) foi realizado de acordo com o protocolo. Composto 72 foi testado em 0,5-5000 µg/placa teste com/sem ativação de S9. Ensaio de micronúcleo *in vitro* e *in vivo* foram realizados de acordo com o protocolo. Os resultados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Segurança

Ensaio	Composto 72
Grampo de Emplastro de hERG	64% de inibição em 10 µM
Mutagenicidade de AMES	Negativo
Micronúcleo (<i>in vitro</i>)	Negativo

5. Estudo de tolerabilidade

[000152] Camundongos (cepa CD-1, n = 5 por grupo de dose) foram dosados com Composto 72 (como Composto 74) em 10, 30 ou 100 mg/kg BID durante 14 dias. A perda de peso foi avaliada ao longo de

estudo. Sangue foi removido no dia final para químicas clínicas (albumina, fosfatase alcalina, ALT, Amilase, BUN, cálcio, colesterol, creatinina, glicose, fosfato, bilirrubina total, TP, Globulina). Os resultados são mostrados na Tabela 5. Nenhuma mortalidade relacionada ao composto foi observada. Neste estudo, mesmo em 100 mg/kg, nenhuma toxicidade de limitação de dose (DLTs) foi vista e, portanto, uma dose tolerada máxima (MTD) não foi identificada.

Tabela 5: Tolerabilidade (em vivo)

Espécie	Camundongo (CD-1)
Dosagem	10, 30 e 100 mg/kg BID,
Duração do estudo	14 dias
Perda de peso	< 5% (toda os grupos de dose)
Químicas clínicas	Dentro da faixa normal (todos grupos de dose)
Comentários:	Nenhuma mortalidade relacionada ao composto nenhuma DLTs observada MTD não alcançada

Exemplo H

Farmacocinéticas do Composto 72 em Roedores e Primatas

[000153] Métodos não comportamentais (independente de modelo) foram utilizados para analisar as curvas-tempo de concentração de plasma derivadas de todas as espécies como descrito abaixo. Valores de depuração (Cl), percentual das relações de extração calculado (ER%), volume de distribuição (V_z), tempo para ½-concentração máxima (t_{1/2}) e exposição (AUC, área sob a curva) são fornecidos abaixo para camundongo, rato, e macaco, respectivamente.

1. Camundongo: as farmacocinéticas do Composto 72 foram examinadas seguindo administração de bolus intravenoso (IV, 1 mg/kg) ou oral (PO, 10 mg/kg) em camundongos Balb/c fêmea (n = 3/ ponto de tempo). As amostras de sangue foram obtidas em 15 e 30 minutos, e 1, 2, 4, 8 e 24 horas depois da dosagem PO, e em 15 e 30 minutos, e 1, 2, 4, e 8 horas para administração IV.

IV: 1mg/kg

Cl = 2,6 mL/min/kg

ER = 2,8%

 $V_z = 0,085 \text{ L/kg}$ $t_{1/2} = 3,9 \text{ h}$ AUC = 6,6 ($\mu\text{g-h/kg}$)**Oral: 10mg/kg**AUC = 10,5 $\mu\text{g-h/kg}$

F = 16%

 $C_{\text{máx}} = 1,8 \mu\text{g/mL}$

2. Rato: As farmacocinéticas do Composto 72 foram examinadas em ratos Sprague-Dawley machos ($n = 3/\text{ponto de tempo}$) seguindo administração de bolus IV (2 mg/kg) ou PO (30 mg/kg). Sangue foi experimentado nos mesmos tempos como listado para o estudo de PK de Camundongo.

IV: 1mg/kg

Cl = 3,2 mL/min/kg

ER = 4,6%

 $V_z = 0,048 \text{ L/kg}$ $t_{1/2} = 3,9 \text{ h}$ AUC = 4,7 $\mu\text{g-h/kg}$ **Oral: 30mg/kg**AUC = 35 $\mu\text{g-hr/kg}$

F = 15%

 $C_{\text{máx}} = 4,5 (\mu\text{g/mL})$

3. Macaco: as farmacocinéticas do Composto 72 foram examinadas em macacos Cinomólogos machos ($n = 3/\text{ponto de tempo}$) seguindo administração de bolus IV (2 mg/kg) ou PO (10 mg/kg). Sangue foi experimentado nos mesmos pontos de tempo para o estudo de PK de Camundongo.

IV: 1mg/kg

Cl = 8,8 mL/min/kg

ER = 20%

 $V_z = 3,2 \text{ L/kg}$ $t_{1/2} = 4,6 \text{ h}$ AUC = 4,1 $\mu\text{g-h/kg}$ **Oral: 10mg/kg**AUC = 7,6 $\mu\text{g-h/kg}$

F = 38%

 $C_{\text{máx}} = 0,26 \mu\text{g/mL}$

Exemplo I**Composto 72 em um modelo de rato de artrite induzida por colágeno (CIA)**

[000154] Composto 72 foi dosado na forma de pró-fármaco (Composto 74) neste estudo. Ratos de Lewis fêmea (200 g); n = 8 por grupo de tratamento foram injetados com adjuvante incompleto de Freund/colágeno tipo II (300 µL de injeção de 0,6 mg de colágeno, superfície dorsal Dia 0 e Dia 6). Os animais foram dosados com: (1) Veículo: 5 mL/kg, PO, BID x 7; (2) Composto 72: 0,3, 1, 3 ou 10 mg/kg, PO, BID x 7; ou (3) ENBREL®: 10 mg/kg, SC, Dias 1 e 4. ENBREL® servido como um controle positivo. Compostos foram administrados nos dias 11-18. O diâmetro do tornozelo foi medido no dia 11 e diariamente depois disso (Figura 70). No final do estudo, o peso da pata e histologia microscópica foram determinados. Tanto as patas traseiras quanto os joelhos foram removidos, as patas traseiras pesadas e, em seguida, colocadas, com os joelhos, em formalina. Depois de 1-2 dias em fixador e 4 - 5 dias em descalcificador, articulações do tornozelo e os joelhos foram processados, implantados, seccionados e manchados com azul de toluidina. Os tornozelos e joelhos foram determinados com escores de 0-5 para inflamação, formação de pano e reabsorção óssea.

[000155] Os resultados mostram que o Composto 72 dependentemente de dose melhorou todos os parâmetros associados com este modelo de doença. Para diâmetro do tornozelo e histopatologia, o Composto 72 teve uma ED₅₀ aparente de 1,5 e 3,0 mg/kg, respectivamente. Em 10 mg/kg o Composto 72 induziu o regresso de doença pelo final do estudo.

Exemplo J**Composto 72 inibe angiogênese *in vivo***

[000156] Composto 72 foi dosado na forma de pró-fármaco (Com-

posto 74) neste estudo. Camundongos CD-1 fêmeas (19 - 22 g), n = 4 grupos por tratamento, foram implantados subcutaneamente com 500 µL de matrigel reduzido com fator de crescimento contendo 1500 ng/mL de bFGF ou 0 ng/mL de bFGF como um controle negativo. Compostos teste foram administrados por gavagem oral nos horários e doses indicadas. Os animais foram dosados com (1) Veículo: 30 mM de tampão de fosfato, 10 mL/kg, PO, BID x 7; (2) Composto 72: 10, 30 ou 100 mg/kg de fármaco ativo, PO, BID x 7; ou (3) SU11248: (*Sutent*) 40 mg/kg, PO, QD x 7. *Sutent* é um inibidor de KDR e servido como um controle de fármaco positivo neste estudo. Os animais foram eutanizados no dia 7. Matrigel foi colhido, pesado e homogeneizado em solução salina tamponada por fosfato, pH 7,4. As amostras foram centrifugadas e o lisado resultante analisado quanto a concentração de hemoglobina por reação colorimétrica. Composto 72 inibiu a angiogênese induzida por bFGF de uma maneira dependente de dose. Em 100 mg/kg, angiogênese foi inibida significativamente por 72% (p < 0,05, teste de comparação múltipla de Dunnett).

Exemplo K

Composto 72 inibe Tumores direcionados a BCR-Abl

[000157] Composto 72 foi dosado na forma de pró-fármaco (Composto 74) neste estudo. Camundongos Scid-beige fêmeas (17-20 g), n = 8 por grupo, foram implantados com 107 células K562 subcutaneamente no flanco direito. Os compostos teste foram administrados por gavagem oral nos horários e doses indicados quando os tumores alcançaram $200 \pm 50 \text{ mm}^3$ no tamanho. Os animais foram dosados com (1) Veículo: 20% de Trappsol, 10 mL/kg, PO, BID x 7; (2) Composto 74: 30 ou 100 mg/kg de fármaco ativo, PO, BID ou QD x 7) ou (3) Imatinib (GLEEVEC®): 400 mg/kg, PO, BID x 7. Imatinib é um inibidor conhecido de Abl e servido como um controle de fármaco positivo neste estudo. O tamanho do tumor e peso corporal foram monitorados ao

longo do estudo. Os resultados são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6

Tratamento	% de Regressão e Respostas completas
Imatinib 400 mg/kg BID	98% R (6/8)
Composto 72 30 mg/kg BID 100 mg/kg BID 100 mg/kg QD	Estase (0/8) 93% de R (5/8) Estase (0/8)

[000158] Composto 74 foi eficaz neste modelo. A administração de 30 mg/kg BID ou 100 mg/kg QD resultou na estase de tumor, e 94% de regressão de tumor ocorreu e 5 ou 8 animais tiveram uma resposta completa (100% de regressão de tumor) quando a dose foi aumentada para 100 mg/kg BID. O Composto 72 foi bem-tolerado causando menos que 10% de perda de peso corporal ao longo do curso de tratamento.

Exemplo L

Composto 72 em um modelo de mieloma múltiplo

[000159] Composto 72 foi dosado na forma de pró-fármaco (Composto 74) neste estudo. Camundongos Scid-beige fêmeas (17-20 g), n = 8 por grupo, foram implantados com 15×10^6 de células RPMI 8226 subcutaneamente no flanco à direita com veículo (20% Trappsol, 10 mL/kg, PO, BID x 14) ou Composto 74 (100 mg/kg de fármaco ativo, PO, BID x 14). Compostos teste foram administrados por gavagem oral nos horários e doses indicados quando os tumores alcançaram $200 \pm 50 \text{ mm}^3$ no tamanho. Tamanho de tumor e peso corporal foram monitorados ao longo do estudo e o Composto 72 foi avaliado quanto a capacidade de inibir o crescimento de tumor ($\% \text{ de TGI} = (1 - T/C) \times 100$). Os resultados são mostrados na Tabela 7. Composto 72 (dosado em sua forma de pró-fármaco como Composto 74) produziu um efeito estatisticamente significativo sobre o crescimento de tumor durante o cur-

so deste estudo. Estes dados sugerem que o efeito do Composto 72 observado neste estudo seja além de ou independente de sua capacidade de inibir p38. Composto 72 foi bem tolerado causando menos de 10% de perda do peso corporal ao longo do tratamento.

Tabela 7

Grupo	% de Inibição de crescimento de tumor (TGI)
Controle	0%
Composto 37d 60 mg/kg	31%
Composto 72 100 mg/kg	67%

[000160] A linhagem celular de mieloma múltiplo RPMI 8226 foi tratada com várias concentrações do inibidor de proteassoma MG-132 (para servir como um controle positivo) ou Composto 72 durante 72 horas a 37 °C, 5% de CO₂. Viabilidade da célula foi, em seguida, medida utilizando-se CellTiter Blue (Promega) para determinar valores de IC₅₀ para cada composto (Tabela 8). O tratamento com Composto 72 não foi antiproliferativo sobre a faixa de concentração indicada. MG-132 produziu uma IC₅₀ que estava dentro das faixas históricas de teste interno (Tabela 8). Estes dados indicam fortemente que o efeito de TGI observado para o Composto 72 visto *in vivo* é provável devido aos efeitos extratumorais. Um tal papel é consistente com relatos publicados que sugerem que a atividade de ambos p38 e Tie2 pode ser crítica para crescimento/sobrevivência deste tipo de tumor *in vivo*.

Tabela 8

Composto	IC₅₀ de Proliferação
MG-132	114 nM
Composto 72	>10.000 nM

Exemplo M

Atividade celular do composto 72 contra VEGFR2

[000161] HUVECs foram privadas de soro durante 2 horas, em seguida, tratadas com concentrações variadas de Composto 72 ou o inibidor de VEGFR2 de controle ((Z)-3-[(2,4-Dimetil-3-(etoxicarbonil)pirrol-5-il)metilidenil]indolin-2-ona) durante 60 minutos antes da estimulação com 20 ng/mL de VEGF durante 5 minutos. Os lisados de vários tratamentos foram preparados e imunoblotteds com anticorpos específicos para VEGFR2 fosforilado em Tyr1175. Mancha resultante para o Composto 72 e o inibidor de controle VEGFR1 foram, em seguida, imageados e quantificados utilizando-se o imageador LICOR Aeriustm. Sinal de Fosfo-VEGFR2 foi normalizado em GAPDH como um controle de carregamento. Estes valores foram, em seguida, utilizados para gerar valores de IC₅₀ para o Composto 72 e o inibidor de VEGFR2 de controle VEGFR1, empregando-se um protocolo de ajustamento de curva de 4-parâmetros.

[000162] Composto 72 inibe a autofosforilação tipo II do receptor endotelial vascular (VEGFR2) em HUVECs. Os resultados mostram que o tratamento do Composto 72 resulta em uma inibição dependente de dose de autofosforilação de VEGFR2 no resíduo de Tirosina 1175 com uma IC₅₀ de 48 nM

EXEMPLOS PREPARATIVOS

[000163] Nos exemplos descritos abaixo, a menos que de outra maneira indicado, todas as temperaturas são mencionadas em graus Celsius. Os reagentes foram adquiridos de fornecedores comerciais tal como Aldrich Chemical Company, Lancaster, TCI ou Maybridge, e foram utilizados sem outra purificação a menos que de outra maneira indicado. Tetraidrofurano (THF), N,N-dimetilformamida (DMF), diclorometano (DCM), tolueno, dioxano e 1,2-difluoroetano foram adquiridos a partir de Aldrich em frascos com selo Sure e utilizados como recebido.

[000164] As reações mencionadas abaixo foram feitas geralmente

sob uma pressão positiva de nitrogênio ou argônio ou com um tubo de secagem (a menos que de outra maneira indicado) em solventes anidrosos, e os frascos de reação foram tipicamente adaptados com septos de borracha para a introdução de substratos e reagentes por meio de seringa. Artigos de vidro foram secados em forno e/ou secados no calor.

[000165] Cromatografia de coluna foi feita em um sistema Biotage (Fabricante: Dyax Corporation) tendo uma coluna de sílica-gel ou em um cartucho SepPak de sílica (Waters).

[000166] Espectros de ^1H -RMN foram registrados em um instrumento Varian que opera em 400 MHz. Espectros de ^1H -RMN foram obtidos como soluções de CDCl_3 (relatado em ppm), utilizando-se clorofórmio como o padrão de referência (7,25 ppm). Outros solventes de RMN foram utilizados quando necessário. Quando multiplicidades de pico são relatadas, as abreviações seguintes são utilizadas: s (singleto), d (dubleto), t (tripleto), m (multiplete), br (ampliado), dd (dubleto de dubletos), dt (dubleto de tripletos). Constantes de acoplamento, quando determinadas, são relatadas em Hertz (Hz).

Exemplo 1

Preparação de 1-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)benzil)uréia (72): Método 1

[000167] A síntese do composto (72) de acordo com o Método 1 é mostrada no Esquema 1, etapas A a J.

[000168] Etapa A: preparação de 2-(benzilóxi)-5-fluorobenzonitrila **62**: em um frasco de base arredondada de 4 gargalos de 12 L equipado com um agitador mecânico e sonda de temperatura, uma suspensão de hidreto de sódio (74 g, 1,82 mol) em DMF (1,95 L) foi adicionada álcool benzílico (142 g, 1,3 mol) através de um funil de gotejamento lentamente durante 30 minutos em um banho de gelo sob nitrogênio. A mistura foi agitada em um banho de gelo (0 °C) durante 120 minutos,

uma solução de 2,5-difluorobenzonitrila (180 g, 1,3 mol) em DMF (650 mL) foi adicionada através de um funil de gotejamento durante 35 minutos. A mistura resultante foi aquecida até à temperatura ambiente. Depois de 2 horas, a mistura foi resfriada em um banho de gelo (4 °C) e extinguida com NH₄Cl saturado (130 mL) seguido pela adição de água (2,6 L x 3). A suspensão foi agitada durante a noite a temperatura ambiente e o precipitado foi filtrado e lavado com água (650 mL x 3). O sólido foi secado em vácuo durante 2 dias para produzir 292 g (99,3%) do composto desejado. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,78 (dd, 1H, J = 3,2 Hz, J = 8,2 Hz), 7,5 - 7,76 (m, 1H), 7,35 - 7,48 (m, 6H), 5,28 (s, 2H).

[000169] Etapa B: preparação de 5-Flúor-2-hidroxibenzonitrila **63**: 10% de Pd/C seco (2,48 g) foram colocados em um frasco de 5 L sob N₂. Uma solução de 2-(benzilóxi)-5-fluorobenzonitrila (148 g, 651 mmols) em metanol (2,34 L) foi adicionada lentamente sob N₂. O ar do frasco foi removido por vácuo e o frasco foi carregado com H₂ (balão) três vezes. A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 1 hora. O processo anterior foi repetido mais duas vezes para empurrar a reação até a conclusão. A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante mais 2 horas. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite sob N₂ e lavada com EtOAc (150 mL x 2). O resíduo de paládio foi enxaguado com água (50 mL) e descartado. Os filtrados foram concentrados para produzir (94,6 g, 106%) do composto desejado como um sólido amarelo. MS (APCI -) *m/z* 137 (M-1) foi detectada. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,07 (br, 1H), 7,58 (dd, 1H, J = 3,2 Hz, J = 8,2 Hz), 7,43 (m, 1H), 6,91-7,03 (dd, 1H J = 4,5 Hz, J = 9,2 Hz).

[000170] Etapa C: preparação de 5-Flúor-2-(4-metil-3-nitrofenóxi) benzonitrila **64**: em um frasco de 5L de 3 gargalos equipado com um agitador mecânico, um condensador e uma sonda de temperatura J-Kem, uma solução de 5-flúor-2-nitrotolueno (158 g, 1,02 mol) em N,N-

dimetilacetamida (500 mL) foi adicionada a uma mistura de 5-flúor-2-hidroxibenzonitrila (147 g, 1,07 mol) e carbonato de potássio (163 g, 1,2 mol) em N,N-dimetilacetamida (573 mL) em temperatura ambiente. A mistura foi aquecida a 100 °C. Depois de 8 horas, a mistura de reação foi resfriada em temperatura ambiente e água (3400 mL) foi adicionada em um banho de gelo. O precipitado foi filtrado, lavado com água (1073 mL x 2), e secado em vácuo (40 °C) para produzir (264 g, 90%) do composto desejado como um sólido marrom. MS (APCI -) m/z 272 (M-1) foi detectada. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 7,41 - 7,48 (m, 1H), 7,38 (m, 1H), 7,07 - 7,14 (m, 1H), 6,88 - 7,10 (m, 1H), 2,63 (s, 3H).

[000171] Etapa D: preparação de 2-(3-amino-4-metilfenóxi)-5-benzonitrila **65**: em um frasco de base arredondada de 4 gargalos de 12000 mL equipado com um agitador mecânico, um condensador e uma sonda de temperatura J-Kem, 2-(3-amino-4-metilfenóxi)-5-benzonitrila (247 g, 907 mmols) e pó de Zn (297 g, 4,5 mols) foram colocados e suspensos em 1:1 de MeOH/THF (2,2 L). NH_4Cl aquoso saturado (1,6 L) foi adicionado lentamente durante 40 minutos através de um funil de adição (mantendo a temperatura interna sob 60 °C). A mistura de reação foi resfriada em temperatura ambiente e agitada em temperatura ambiente durante 1 hora. Pó de zinco foi removido por filtração e a massa foi lavada com EtOAc (450 mL x 3). NH_4OAc aquoso saturado (1500 mL, preparado de 2 kg de NH_4OAc e 4 L de H_2O) e H_2O (1500 mL x 2) foi adicionado. Os filtrados foram concentrados por evaporação rotativa até que quase toda a água permaneça. O sólido castanho foi filtrado e lavado com H_2O (1500 mL x 4), e secado em vácuo para fornecer 211,5 g (96%) do composto desejado. MS (APCI +) m/z 243 (M+1) foi detectada. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,38 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,65 - 6,85 (m, 5H), 3,60 (br, 2H), 2,17 (s, 3H).

[000172] Etapa E: preparação de 2-(1 H-indazol-5-ilóxi)-5-

fluorobenzonitrila **66**: em um frasco de base arredondada de 6 L equipado com um agitador mecânico, sonda de temperatura J-KEM, uma solução fria (0 °C) de 2-(3-amino-4-metilfenóxi)-5-benzonitrila (209 g, 862 mmols) e NH_4BF_4 em ácido acético (1,75 L)/água (862 mL) foi tratada com HCl concentrado (359 mL) gota a gota durante 2 minutos. A suspensão foi agitada em um banho de gelo durante 30 minutos e nitrito de sódio foi adicionado. A mistura de reação foi agitada a 0 °C durante 1 hora e, em seguida, aquecida em temperatura ambiente. Depois da agitação em temperatura ambiente durante 3 horas, os solventes foram removidos por evaporação rotativa e azeotropados com tolueno (200 mL x 2). O resíduo foi secado em vácuo durante a noite. O sólido foi suspenso em acetona (200 mL) e EtOAc (200 mL) e os solventes foram removidos por evaporação rotativa. O resíduo foi suspenso em EtOAc (200 mL) e removido por evaporação rotativa. O resíduo foi suspenso em EtOAc (1145 mL) e acetato de potássio (254 g, 2,6 mol) foi adicionado em uma porção. A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 20 horas e filtrada. A massa foi lavada com EtOAc (500 mL x 6). Os filtrados combinados foram concentrados. O resíduo foi suspenso em EtOAc (500 mL) e heptano (500 mL). O sólido amarelo foi filtrado (141,3 g). O líquido-mãe foi concentrado e recristalizado a partir de MTBE/Hexano (100 mL/100 mL) para proporcionar 20,1 g. O segundo líquido-mãe foi concentrado e triturado com MTBE/heptano (100 mL/100 mL) para produzir um adicional de 14,28 g. Colheitas combinadas produziram 176 g (81% de rendimento) do composto desejado. MS (APCI +) m/z 254 (M+1) detectada. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13,38 (br, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,94 (dd, 1H, $J = 3,1$ Hz, $J = 8,2$ Hz), 7,64 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 7,54 (m, 2H), 7,21 (dd, 1H, $J = 9$ Hz), 6,96 (dd, 1H, $J = 4,3$ Hz, $J = 9,3$ Hz).

[000173] Etapa F: preparação de 2-(1-(2,2-dimetoxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)-5-fluorobenzonitrila **67**: 2-(1H-Indazol-5-ilóxi)-5-fluorobenzonitrila

(5,000 g, 19,7 mmols) foi suspensa em N,N-dimetilacetamida (50 mL) e hidreto de sódio (0,684 g, 25,7 mmols) foi adicionado porção a porção em temperatura ambiente. 2-Bromo-1,1-dimetoxietano (3,49 mL, 29,6 mmols) foi adicionado gota a gota em uma porção e a mistura de reação foi aquecida a 80 °C durante 18 horas. A mistura de reação foi resfriada em temperatura ambiente e concentrada sob pressão reduzida para proporcionar o material bruto, que foi dividido entre EtOAc e NH₄Cl aquoso saturado. As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (3x), salmoura e secadas (MgSO₄) e, em seguida, concentradas sob pressão reduzida para proporcionar o material bruto. O produto bruto foi purificado por cromatografia de coluna instantânea (eluente 25% de EtOAc/Hexanos) para fornecer 3,88 g (57,6%) do composto desejado. O isômero N-2 não foi isolado. MS (APCI +) *m/z* 342 (M+1) foi detectada. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,98 (s, 1H), 7,54 (d, 1H, J = 9 Hz), 7,36 (m, 2H), 7,16 (m, 2H), 6,82 (dd, 1H, J = 4,3 Hz, J = 9,3 Hz), 4,76 (t, 1H, J = 5,3 Hz), 4,49 (d, 2H, J = 5,3 Hz), 3,41 (s, 6H).

[000174] Etapa G: preparação de (2-(1-(2,2-dimetoxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)-5-fluorofenil)metanamina **68**: 2-(1-(2,2-Dimetoxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)-5-fluorobenzonitrila (3,80 g, 11,13 mmols) em THF (100 mL) foi adicionado gota a gota a uma suspensão a 0°C agitada de hidreto de alumínio de lítio (0,6338 g, 16,70 mmols) em THF (100 mL). A mistura de reação foi mantida a 0°C até que a adição completa do material de partida fosse alcançada. A mistura de reação foi aquecida em temperatura ambiente e agitada até que o consumo completo do material de partida fosse visto por análise de HPLC. A mistura de reação foi adicionada gota a gota a uma solução em temperatura ambiente agitada de sal de Rochelle aquoso saturado. A mistura de duas fases foi agitada rapidamente durante 30 minutos até que os sais de alumínio estejam na solução. As camadas foram separadas e a camada aquosa extraí-

da com mais EtOAc. Os orgânicos combinados foram secados (MgSO_4) e concentrados sob pressão reduzida para proporcionar 3,73 g (97%) do produto bruto que foi utilizado sem outra purificação. MS (APCI +) m/z 346 ($M+1$) foi detectada. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,90 (s, 1H), 7,48 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 6,9 - 7,15 (m, 5H), 4,76 (t, 1H, $J = 5,3$ Hz), 4,49 (d, 2H, $J = 5,3$ Hz), 3,88 (s, 2H), 3,36 (s, 6H).

[000175] Etapa H: preparação de 1-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(2-(1-(2,2-dimetoxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)-5-fluorobenzil)uréia **70**: 2-(1-(2,2-dimetoxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)-5-fluorofenil)metanamina (2,00 g, 5,791 mmols), 2,2,2-tricloroetil-3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-ilcarbamato (3,516 g, 8,686 mmols) e N,N-diisopropiletilamina (3,026 mL, 17,37 mmols) foram suspensos em N,N-dimetilacetamida (50 mL) e aquecidos a 80 °C durante a noite. A mistura de reação foi concentrada sob pressão reduzida e os resíduos diluídos com EtOAc e NH_4Cl aquoso saturado. Os orgânicos foram lavados com água (3x), salmoura, secados (MgSO_4) e, em seguida, concentrados sob pressão reduzida para proporcionar o material bruto que foi purificado por cromatografia de coluna instantânea (eluente 35 - 45% de EtOAc/Hexanos). Depois da evaporação do solvente, o produto desejado foi obtido como uma espuma amarela pálida (2,57 g, 74%). MS (APCI +) m/z 602 ($M+1$) foi detectada. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,88 (s, 1H), 7,43 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 6,72 - 7,30 (m, 9H), 6,18 (s, 1H), 6,01 (br, 1H), 5,47 (t, 1H, $J = 6,1$ Hz), 4,76 (t, 1H, $J = 5,3$ Hz), 4,44 (t, 4H, $J = 5,6$ Hz), 3,38 (s, 6H), 2,37 (s, 3H), 1,30 (s, 9H).

[000176] Etapa I: preparação de 1-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(5-flúor-2-(1-(2-oxoetil)-1H-indazol-5-ilóxi)benzil)uréia **71**: 1-(3-*terc*-Butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-((2-(1-(2,2-dimetoxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)-5-fluorofenil)metil)uréia (0,500 g, 0,8324 mmol) foi dissolvida em diclorometano em temperatura ambiente e iodotrimetilsilano (0,3554 mL, 2,497 mmols) adicionado gota a gota à solução agitada.

A mistura de reação foi monitorada por análise de HPLC e quando nenhum material de partida foi detectado, a mistura foi diluída com diclorometano e lavada com 10% de Na₂S₂O₄ aquoso, NaHCO₃ aquoso saturado, salmoura, secada (MgSO₄) e concentrada sob pressão reduzida para proporcionar 536 mg (rendimento quant.) do produto bruto, que foi utilizado sem outra purificação. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,76 (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 6,78 - 7,30 (m, 10H), 6,17 (s, 1H), 5,99 (br, 1H), 5,44 (q, 1H, J = 6,1 Hz), 4,46 (m, 4H), H 2,35 (s, 3H), 1,34 (s, 9H). [000177] Etapa J: preparação de 1-(3-*terc*-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)benzil)uréia **72**: 1-(3-*terc*-Butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-((5-flúor-2-(1-(2-oxoetil)-1H-indazol-5-ilóxi)fenil)metil)uréia (2,179 g, 3,929 mmols) foi suspensa em MeOH (40 mL) e tratado com boroidreto de sódio (0,7432 g, 19,64 mmols) porção a porção em temperatura ambiente. A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente até que a conversão completa do material de partida para produto fosse observada por análise de HPLC. A mistura de reação foi concentrada sob pressão reduzida e, em seguida, diluída com NH₄Cl aquoso saturado e extraída em diclorometano. Os materiais orgânicos foram secados (MgSO₄) e concentrados sob pressão reduzida para proporcionar o material bruto que foi purificado por cromatografia de coluna instantânea (eluente 2-6% de iPrOH/DCM) para fornecer 1,21 g (55%) do composto desejado. MS (APCI +) *m/z* 557 (M+1) foi detectada. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,29 (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,68 (d, 1H, J = 9,1 Hz), 7,35 (s, 1H), 6,85-7,4 (m, 8H), 6,24 (s, 1H), 4,87 (t, 1H, J = 5,4 Hz), 4,43 (t, 1H, J = 5,6 Hz), 4,28 (d, 1H, J = 5,9 Hz), 3,80 (q, 1H, J = 5,5 Hz), 2,35 (s, 3H), 1,25 (s, 9H).

Exemplo 2

Preparação de Diidrogenofosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etila (**74**):

Método 1

[000178] A síntese do composto (74) de acordo com o Método 1 é mostrada no Esquema 1, etapa K a L.

[000179] Etapa K: preparação de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-5-il)etilfosfato de dibenzila **73**: 1-(3-*terc*-Butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-((5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)fenil)metil)uréia (0,357 g, 0,6414 mmol), diisopropilfosforamidita de difenila (0,2970 ml, 0,9620 mmol) e 2H-tetrazol (0,07189 g, 1,026 mmol) foram suspensos em DMF (10 mL) e agitados em temperatura ambiente até que a análise de TLC (10:1 de DCM-Et₂O) mostrasse o consumo completo do material de partida. Peróxido de hidrogênio de *t*-butila (0,4439 mL, 3,207 mmols) foi adicionado e, em seguida, a reação monitorada por análise de HPLC. Na conclusão da reação, 10% de Na₂S₂O₃ aquoso foram adicionados e a mistura de reação foi agitada durante 10 minutos. A mistura de reação foi vertida em NaHCO₃ aquoso saturado e extraída em EtOAc. Os materiais orgânicos combinados foram lavados com água (2x) e salmoura. Os orgânicos foram secados (MgSO₄) e concentrados sob pressão reduzida para proporcionar o material bruto, que foi purificado por cromatografia de coluna instantânea (eluente 30 - 40% de EtOAc/Hexanos) para fornecer 458 mg (87%) do composto desejado. MS (APCI +) *m/z* 817 (M+1) foi detectada. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,85 (s, 1H), 6,7 - 7,35 (m, 10H), 6,18 (s, 1H), 6,16 (s, 1H), 4,62 (s, 1H), 5,36 (t, 1H, J = 6 Hz), 4,81 (d, 4H, J = 8,2 Hz), 4,54 (t, 2H, J = 5,1 Hz), 4,39 (m, 4H), 2,35 (s, 3H), 1,25 (s, 9H).

[000180] Etapa L: preparação de diidrogenofosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etila **74**: fosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etila (1,920 g, 2,35 mmols) foi suspenso em EtOH (0,05M, 50 mL) e cicloexa-1,4-

dieno (3,56 ml, 82,14 mmols) e 10% de Pd/C (20%/peso, 0,384 g) foram adicionados. A mistura de reação foi refluxada durante a noite. A mistura de reação foi filtrada através de papel GF e lavada com MeOH. As camadas orgânicas foram concentradas sob pressão reduzida para proporcionar o material bruto, que foi dissolvido em MeOH e passado através de um filtro Gellman acrodisk (0,45 µm) para remover sinal de contaminação de paládio. Depois da evaporação do solvente, a goma resultante foi triturada em CH₃CN e os sólidos formados foram coletados por filtração e secados sob alto vácuo durante 3 horas para fornecer 1,21 g (89%) do composto desejado. MS (APCI +) *m/z* 637 (M+1) foi detectada. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,30 (s, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,71 (d, 1H, J = 9 Hz), 6,88-7,37 (m, 10H), 6,24 (s, 1H), 4,61 (br, 1H), 4,28 (d, 2H, J = 5,7 Hz), 4,19 (dd, 2H, J = 5,2 Hz), 2,35 (s, 3H), 1,25 (s, 9H).

Exemplo 3

Preparação de 1-(3-*terc*-Butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-((5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)fenil)metil)uréia (72): Método 2

[000181] Um método alternativo para a síntese do composto (72), de acordo com o Método 2, é mostrado no Esquema 2, etapas A a F.

[000182] Etapa A: preparação de 2-(4-amino-3-metilfenóxi)-5-fluorobenzonitrila **65**: em um frasco de 4 gargalos de 3 L que foi evacuado e preenchido novamente com argônio, 2,5-difluorobenzonitrila (295,3 ml, 812,0 mmols) e 4-amino-3-metilfenol (100,0 g, 812,0 mmols) foram dissolvidos em DMSO seco (2,75 M) com agitação rápida em temperatura ambiente. A solução foi evacuada/preenchida novamente com argônio (3x). Carbonato de potássio (185,2 g, 1340 mmols) (malha-325) foi adicionado. A mistura de reação foi evacuada/preenchida novamente com argônio (3x) e aquecida a 80°C (sonda interna) durante 16 horas. TLC indicou conversão completa. A mistura de reação foi resfriada em temperatura ambiente e vertida lentamente em 2 L de

água gelada com agitação rápida. O resíduo no frasco de base arredondada foi apreendido em água repetidamente e vertido na água gelada até que um volume total de 3 L fosse alcançado e todos os sólidos ficassem na água gelada. A suspensão foi agitada rapidamente durante 2 horas quando alcançou a temperatura ambiente. Os sólidos marrons foram coletados por filtração, lavados com água (3 L), secados a ar, secados com barragem de látex, e secados sob alto vácuo a 40 °C durante 44 horas para fornecer 194 g (99%) do produto desejado como um sólido bronzeado. MS (APCI +) m/z 243 (M+1) foi detectada. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,38 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,65 - 6,85 (m, 5H), 3,60 (br, 2H), 2,17 (s, 3H).

[000183] Etapa B: preparação de 2-(1H-Indazol-5-ilóxi)-5-fluorobenzonitrila **66**: em um frasco de um gargalo de 500 mL contendo uma barra de agitação magnética grande, 2-(4-amino-3-metilfenóxi)-5-fluorobenzonitrila (274,5 mL, 219,6 mmols) foi apreendida em clorofórmio (0,8 M) e tratada com acetato de potássio (25,86 g, 263,5 mmols) em temperatura ambiente. A mistura de reação foi resfriada a 0°C e tratada com anidrido acético (62,28 mL, 658,8 mmols) por funil de adição durante 5 minutos. A reação foi adaptada com um condensador de refluxo, tratada com 100 mL de clorofórmio adicional, e aquecida a 40 °C. Nitrito de isoamila (58,74 mL, 439,2 mmols) foi adicionada gota a gota por um funil de adição. O funil de adição foi enxaguado com 60 mL + 40 mL de clorofórmio, removido, e substituído com um tampão de vidro. A reação foi aquecida em refluxo durante 20 horas, resfriada em temperatura ambiente, e concentrada em vácuo em um sólido marrom. Depois de ser secado sob alto vácuo durante 30 minutos, o sólido marrom foi suspenso em 1 L de água, agitado vigorosamente durante 15 minutos, e filtrado. O sólido marrom alaranjado resultante (83 g) foi apreendido em 400 mL de MeOH e tratado com 1,0 M de ácido clorídrico (241,6 mL, 241,6 mmols) em temperatura ambiente. A mistura

foi adaptada com um condensador de refluxo e aquecida a 70 °C durante 20 horas. A reação foi resfriada a 0 °C e 1,0 M de hidróxido de sódio (252,6 mL, 252,6 mmols) foi adicionado, seguido por água (250 mL). A suspensão amarela resultante foi agitada no banho de gelo durante 10 minutos e em seguida permitida assentar. A suspensão foi filtrada, lavada com água (1 L), secada a ar, secada com barragem de látex, e secada sob alto vácuo a 40 °C durante 36 horas, para fornecer 50,7 g (91%) do produto desejado como um sólido castanho de fluxo livre. MS (APCI +) m/z 254 (M+1) detectada. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13,38 (br, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,94 (dd, 1H, $J = 3,1$ Hz, $J = 8,2$ Hz), 7,64 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 7,54 (m, 2H), 7,21 (dd, 1H, $J = 9$ Hz), 6,96 (dd, 1H, $J = 4,3$ Hz, $J = 9,3$ Hz).

[000184] Etapa C: preparação de 2-(5-(2-ciano-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metila **77**: 2-(1H-Indazol-5-ilóxi)-5-fluorobenzonitrila (40,7 g, 160,7 mmols) foi dissolvida em 400 mL de DMF e a solução foi colocada em um banho de água (temperatura ambiente). Carbonato de cézio (157,1 g, 482,2 mmols) foi adicionado. Depois de 30 minutos em um banho de água, 2-bromoacetato de metila (33,47 mL, 353,6 mmols) foi adicionada gota a gota. A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 4 horas. À mistura foi adicionada água (400 mL, ligeiramente exotérmica) e a mistura inteira foi transferida para um funil separador de 2 L (continha 400 mL de EtOAc). As camadas foram separadas, e a camada aquosa foi extraída com EtOAc (3 X 200 mL). Os extratos combinados foram lavados com água e salmoura e as camadas foram separadas. A camada orgânica foi secada em MgSO_4 , filtrada através de uma almofada de Celite, concentrada sob pressão reduzida, e secada sob alto vácuo durante 1 hora para fornecer 66,3 g de sólido castanho. O sólido foi dissolvido em 400 mL de EtOAc quente e tratado com carvão durante 10 minutos sob refluxo. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite e

concentrada sob pressão reduzida. Materiais insolúveis foram removidos por filtração. O sólido foi dissolvido em 300 mL de EtOAc quente e 300 mL de hexanos foram adicionados. A mistura foi resfriada em temperatura ambiente. Sólido marrom claro foi coletado por filtração, 32,24 g (61,7%). MS (APCI +) m/z 326 (M+1) foi detectada. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), 8,03, (1H), 7,41, 7,36 (m, 3H), 7,22, 7,16 (m, 2H), 6,81 (dd, $J = 4,29$ Hz, 9,37 Hz, 1H), 5,19 (s, 2H), 3,79 (s, 3H).

[000185] Etapa D: preparação de dicloridrato de 2-(5-(2-(aminometil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metila **78**: 2-(5-(2-ciano-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metila (10,00 g, 30,74 mmols) foi colocado em um vaso de hidrogenação Parr de 2500 mL. Metanol (0,1M, 310 mL) e HCl concentrado (25,62 mL, 307,4 mmols) foram adicionados. 10% de Pd/C (2,0g, tipo Degussa) foram adicionados e o vaso foi purgado com gás hidrogênio (três vezes, nenhuma evacuação de vácuo foi feita). O vaso foi carregado com gás hidrogênio em 2,81 kg/cm² e foi deixado no agitador durante 18 horas. À mistura foi adicionado 1,0g adicional de 10% de Pd/C e a mistura foi colocada outra vez no hidrogenador Parr durante um adicional de 18 horas. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite e concentrada sob pressão reduzida (temperatura de banho mantida abaixo de 20 °C). O resíduo foi azeotropado com MeOH (3 X 100 mL). A temperatura do banho foi elevada para 40°C depois do terceiro azeótropo. O resíduo (óleo) foi secado sob alto vácuo durante 2 horas para fornecer o produto desejado como um sólido amarelo (11,6g, 93,8%). MS (APCI +) m/z 330 (M+1) foi detectada. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,08 (s, 1H), 6,84 - 7,76 (m, 6H), 5,43 (s, 2H), 4,8 (br, 2H), 4,105 (q, 2H, $J = 5,6$ Hz), 3,68 (s, 3H).

[000186] Etapa E: preparação de 2-(5-(2-((3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metila **79**: Uma solução de dicloridrato de 2-(5-(2-(aminometil)-4-

fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metila (17,5 g, 43,51 mmols) em dimetilacetamida (0,5M, 88 mL) foi tratada com 2,2,2-tricloroetil-3-*terc*-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-ilcarbamato (17,96 g, 44,38 mmols), seguido por diisopropiletilamina (30,3 mL, 174 mmols) em temperatura ambiente. A mistura foi aquecida durante a noite a 80 °C. A mistura foi concentrada em vácuo e o resíduo distribuído entre EtOAc e NH₄Cl aquoso saturado. A camada orgânica foi separada e lavada com salmoura, filtrada através de papel 1PS, evaporada em vácuo em uma espuma marrom. A espuma foi triturada em éter, e os sólidos precipitados foram coletados por filtração para fornecer 22,55 g (89%) do composto desejado. MS (APCI +) *m/z* 585 (M+1) detectada. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,3 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,68 (d, 1H, J = 8,9 Hz), 6,85-7,37 (m, 8H), 6,24 (s, 1H), 5,4 (s, 2H), 4,28 (d, 2H, J = 5,8 Hz), 3,68 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 1,25 (s, 9H).

[000187] Etapa F: preparação de 1-(3-*terc*-Butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-((5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)fenil)metil)uréia **72**: Uma solução de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metila (4,6 g, 7,87 mmols) em metanol (0,1M, 80 mL) foi tratada com boroidreto de sódio (893 mg, 23,6 mmols) em porções em temperatura ambiente. A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 18 horas, e o solvente evaporado em vácuo em um resíduo amarelo escuro. O resíduo foi distribuído entre diclorometano e NH₄Cl aquoso saturado. A camada orgânica foi filtrada através de papel 1PS, evaporada em vácuo e purificada em Biotage eluindo com 2-10% de iPrOH/DCM. As frações desejadas foram evaporadas em vácuo em uma espuma branca, 2,97 g (68%). MS (APCI +) *m/z* 557 (M+1) foi detectada. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,29 (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,68 (d, 1H, J = 9,1 Hz), 7,35 (s, 1H), 6,85-7,4 (m, 8H), 6,24 (s, 1H), 4,87 (t, 1H, J = 5,4 Hz), 4,43 (t, 1H, J = 5,6 Hz), 4,28 (d, 1H, J = 5,9 Hz), 3,80 (q, 1H, J =

5,5 Hz), 2,35 (s, 3H), 1,25 (s, 9H).

Exemplo 4

Preparação de dihidrogenofosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etila (74):

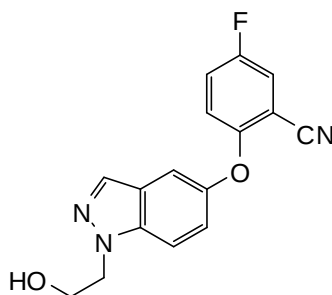
Método 2

[000188] Um método alternativo para a síntese do composto (72), de acordo com o Método 2, é mostrado no Esquema 2, etapas G a H.

[000189] Etapa G: preparação de fosfato de di-*terc*-butil 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etila **80**: uma solução de 1-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-((5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)fenil)metil)uréia (1,5 g, 2,69 mmols) em DMF (0,2M, 15 mL) foi tratada com imidazol (183 mg, 2,69 mmols), e cloridrato de imidazol (423 mg, 4,04 mmols) em temperatura ambiente. Depois que a dissolução completa foi observada, diisopropilfosforamida de di-*terc*-butila (1,28 mL, 4,04 mmols) foi adicionada. A agitação foi continuada em temperatura ambiente durante 18 horas. Peróxido de hidrogênio (50% aquoso, 0,535 mL 9,43 mmols) foi adicionado lentamente em temperatura ambiente, e a agitação foi continuada durante 1 hora. A reação foi completada como detectado por LC e TLC. O resíduo foi distribuído entre diclorometano e 10% de Na₂S₂O₃ aquoso. A camada aquosa foi extraída com EtOAc (2x). Os extratos orgânicos combinados foram lavados com salmoura, filtrados através de papel 1PS, evaporados em vácuo até um óleo amarelo. O óleo foi purificado por um tampão de sílica-gel eluindo com DCM, 3 - 5% de MeOH/DCM. As frações desejadas foram evaporadas em vácuo para fornecer o produto desejado como uma espuma branca, 1,59 g (79%). MS (APCI +) *m/z* 749 (M⁺) foi detectada. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,29 (s, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,73 (d, 1H, J = 9,1 Hz), 6,79-7,35 (m, 8H), 6,23 (s, 1H), 4,62 (t, 2H, J = 4,7 Hz), 4,26 (m, 4H), 2,35 (s, 3H), 1,43, s, 9H), 1,25 (s, 18H).

[000190] Etapa H: preparação de dihidrogenofosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etila **74**: uma solução de di-*terc*-butil fosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etila de (3,66 g, 4,89 mmols) em EtOH (0,2M, 24 mL) foi tratada com HCl a 5N /iPrOH (2,93 mL, 14,7 mmols) em temperatura ambiente. A agitação em temperatura ambiente foi continuada durante a noite. O solvente foi evaporado em vácuo, e o resíduo foi co-evaporado a partir de tolueno, e éter (2x). A espuma bege foi apreendida em MeOH e vertida lentamente em um béquer contendo água. Os sólidos precipitados foram coletados por filtração para fornecer 2,83 g (91%) do produto desejado. MS (APCI +) m/z 637 (M+1) foi detectada. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,30 (s, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,71 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 6,88-7,37 (m, 10H), 6,24 (s, 1H), 4,61 (br, 1H), 4,28 (d, 2H, $J = 5,7$ Hz), 4,19 (dd, 2H, $J = 5,2$ Hz), 2,35 (s, 3H), 1,25 (s, 9H),

Exemplo 5

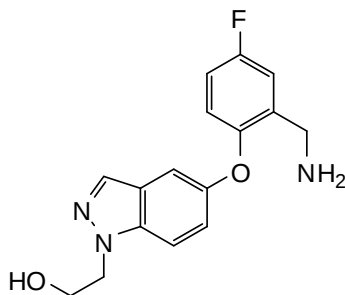


5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)benzonitrila (**78A**)

[000191] Em uma solução de 2-(5-(2-ciano-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)acetato de metila **77** (preparado como no Exemplo 3) (60,0 g, 184,4 mmols) em MeOH (370 mL) foi adicionado NaBH₄ (24,42 g) em cinco porções de 5 gramas durante 90 minutos. A temperatura subiu de 25 °C para 44,7 °C na adição final de NaBH₄. A mistura foi concentrada sob vácuo. Ao concentrado foi adicionado NH₄Cl saturado (600 mL) e EtOAc (600 mL) e a mistura foi agitada vigorosamente durante 1 hora. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi ex-

traída com EtOAc (2 X 100 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com NH₄Cl saturado (2 X 100 mL), água (200 mL), salmoura (500 mL), secados em MgSO₄, filtrados através de papel GF/F e concentrados em um sólido laranja brilhante. O sólido bruto foi dissolvido em CH₂Cl₂ (1 L) e hexanos (2,25 L) foram adicionados com agitação. Um sólido marrom claro formou-se e depois da agitação durante 30 min, o sólido foi coletado e secado sob alto vácuo para produzir 45,5 g. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida. Este material foi redissolvido em CH₂Cl₂ (100 mL) e hexanos foram adicionados (200 mL). O sólido resultante (6,2 g) foi coletado por meio de filtração. As duas colheitas foram combinadas para produzir 51,7 g (94,3%) de **78A**. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,99 (s, 1H), 7,49 (d, 1H), 7,39, 7,36 (m, 2H), 7,21, 7,16 (m, 2H), 6,90 (dd, 1H), 4,49 (t, 2H), 4,17, 4,13 (m, 2H), 2,81 (t, 1H).

Exemplo 6



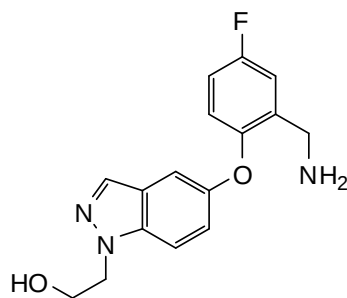
2-(5-(2-(aminometil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etanol (79A)

(Método A)

[000192] Em um agitador Parr de 250 mL foi adicionado 5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)benzonitrila **78A** (preparado como no Exemplo 5) (80,0 g, 269,1 mmols), Pd(OH)₂ (32 g, 40% de carregamento), EtOH (5 L) e HCl concentrado (224 mL, 2691 mmols). O vaso foi selado, purgado com hidrogênio, descarregado e carregado com hidrogênio em 12,65 kg/cm². A temperatura interna foi diminuída a 18 °C e depois da agitação durante 23 horas, a reação foi julgada completa por HPLC. A mistura de reação anterior foi removida e a seqüência

inteira foi repetida duas vezes com 80 g de material de partida, e em seguida com 53,2 g de material de partida. As misturas de reação combinadas (4 reações) foram filtradas através de GF/F e o filtrado foi concentrado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em HCl a 1 N (3,0 L) e lavado com EtOAc (3 X 2L). À camada aquosa foi adicionado EtOAc (2 L) e as fases foram agitadas vigorosamente durante 10 minutos e, em seguida, a camada orgânica foi removida. Esta etapa foi mais 2 vezes repetida e a camada aquosa foi transferida para um frasco resfriado (banho de gelo). À mistura aquosa ácida foi adicionado péletes de NaOH (40 g x 11) de uma maneira tal que a temperatura não subiu acima de 35 °C. Logo que o pH foi ~14, a mistura foi transferida para um funil separador e extraída com CH₂Cl₂ (4 X 1L). Os extratos combinados foram lavados com água (2 X 1 L) e salmoura (2 X 1 L). O extrato foi secado em MgSO₄ (~250 g), filtrado através de GF/F e concentrado sob pressão reduzida. O concentrado foi dissolvido em CH₂Cl₂ (3,5 L) e hexanos foram adicionados (4 L). Depois que os primeiros 2 L de hexanos foram adicionados, um sólido marrom formou-se. Depois de agitar durante 1 hora, o sólido foi coletado por meio de filtração e a massa foi lavada com 1:2 de CH₂Cl₂/hexanos (500 mL). A massa foi secada sob vácuo para produzir 165,1 g (55,6%) de 79A. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,90 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,17-7,12 (m, 3H), 6,87 (td, 1H), 6,80 (dd, 1H), 4,46 (t, 2H), 4,12 (t, 2H), 3,86 s (2H), 1,87 (br s, 1H).

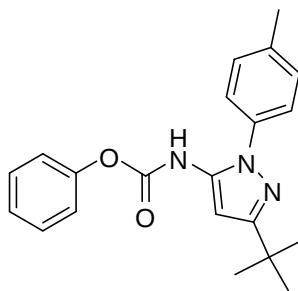
Exemplo 7



2-(5-(2-(Aminometil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etanol (79A)

(Método B)

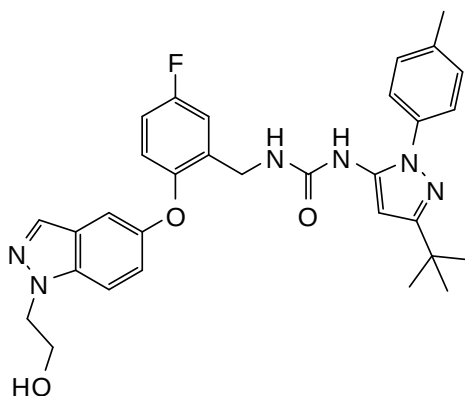
[000193] A uma solução de (5-flúor-2-(1-(2-hidroxietil)-1H-indazol-5-ilóxi)benzonitrila (1,0 g, 3,36 mmols) e $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: (148 mg, 0,336 mmol) em MeOH (30 mL) foi adicionado NaBH_4 (636 mg, 16,8 mmols) em porções (2-3), e a reação foi agitada durante 3 horas. Uma solução de Na_2CO_3 saturado (15 mL) foi adicionada lentamente e a mistura foi agitada durante 75 minutos, durante os quais um sólido fino formou-se. A mistura de reação foi filtrada através de GF/F e a massa foi lavada com MeOH (20 mL). O filtrado foi concentrado em cerca de 15 mL sob vácuo, acetato de isopropila (20 mL) foi adicionado, e a mistura foi concentrada. Ao concentrado foi adicionado acetato de isopropila (20 mL) e a mistura foi agitada durante 5 minutos. As fases foram separadas, e a camada orgânica foi lavada com 10% de salmoura (20 mL). Ácido cítrico (0,1 M, 20 mL) foi adicionado e as fases foram vigorosamente misturadas. A camada orgânica foi removida e o aquoso foi lavado com acetato de isopropila (20 mL) e EtOAc (20 mL). À camada aquosa foi adicionado acetato de isopropila (20 mL) e 50% de NaOH (1 mL) foram adicionados. As fases foram vigorosamente misturadas e o aquoso foi removido. O orgânico foi lavado com 10% de salmoura (20 mL), secado em Na_2SO_4 e concentrado em 850 mg (85%).

Exemplo 83-*tert*-Butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-ilcarbamato de fenila

[000194] A uma solução de 3-*tert*-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-amina (102,9 g, 448,9 mmols) em EtOAc (1 L) a 10,9 °C foi adicionado uma solução de NaOH (2,5 M, 269 mL), e a mistura de reação bifásica

aquecida em 15,9 e, em seguida, estabilizada. Cloroformato de fenila (98,4 g, 156,5 mmols) foi adicionado em uma porção e a temperatura elevada para 25,5 e, em seguida, estabilizada. O banho de gelo foi removido e a reação foi monitorada por HPLC. Depois de 1 hora, um adicional de 25 mL de 2,5 M de NaOH foi adicionado. A mistura de reação foi agitada durante a noite, e em seguida diluída com EtOAc (200 mL). A camada orgânica foi lavada com salmoura (1 L), secada em Na₂SO₄ (200 g) e concentrada em cerca de 400 a 500 mL de EtOAc. A solução concentrada foi aquecida a 60 °C. Depois que os sólidos dissolveram, heptano (2 L) foi adicionado lentamente, durante o qual os sólidos formaram. Depois da agitação durante 30 minutos, o sólido foi coletado por meio de filtração e a massa foi lavada com 400-500 mL de heptano. A massa foi secada em um forno à vácuo em temperatura ambiente para produzir 156,9 g (95,0%) do composto do título. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), 7,39, 7,31 (m, 6H), 7,26-7,225 (m, 2H), 7,13 (br s, 2H), 6,96 (br s, 1H), 6,47 (br s, 1H), 2,42 (s, 3H), 1,34 (s, 9H).

Exemplo 9



1-(3-*terc*-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(5-flúor-2-(1-(2-hidroxi-etil)-1H-indazol-5-ilóxi)benzil)uréia (72):

[000195] Em uma solução a 4,1 °C de 2-(5-(2-(aminometil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etanol (71,55 g, 237 mmols) em DMA (350 mL) foi adicionada uma solução de DMA (350 mL) de 3-*terc*-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-ilcarbamato de fenila (80,5 g, 230 mmols). A temperatura elevou-se para 18,4 °C e estabilizou-se. O banho de gelo

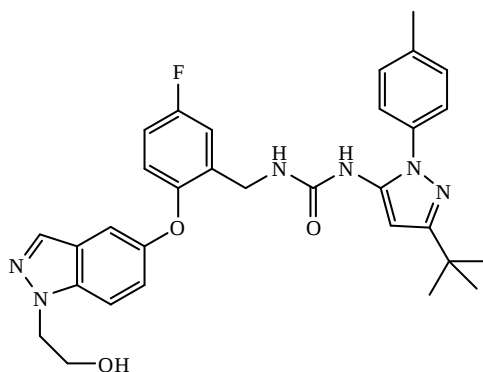
foi removido e a reação foi agitada durante 2 horas. Uma porção adicional de 2-(5-(2-(aminometil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il) etanol foi adicionada e a reação foi agitada durante 2 horas. A mistura de reação foi dividida entre acetato de isopropila (1,6 L) e água (2,4 L). A camada aquosa foi removida e a camada orgânica foi lavada com NaOH a 0,5 N (2 X 2,4 L) e, em seguida, salmoura saturada (1 X 2,4 L). A camada orgânica foi secada em Na₂SO₄ (300 g) e concentrada para produzir 110,8 g (86,6%).

[000196] A descrição anterior é considerada como ilustrativa apenas dos princípios da invenção. Além disso, uma vez que mudanças de modificações numerosas e mudanças ficarão facilmente evidentes para aqueles versados na técnica, não é desejado limitar a invenção à construção exata e processo mostrado como descrito acima. Consequentemente, todas as modificações adequadas e equivalentes podem ser referidos para incluir-se no escopo da invenção como definido pelas reivindicações que seguem.

[000197] As palavras "compreende", "compreendendo", "inclui", "incluindo" e "incluem" quando empregadas nesta especificação e nas reivindicações seguintes são pretendidas especificar a presença de aspectos declarados, números inteiros, componentes, ou etapas, porém, eles não impedem a presença ou adição de um ou mais outros aspectos, números inteiros, componentes, etapas, ou grupos destes.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a Fórmula I:

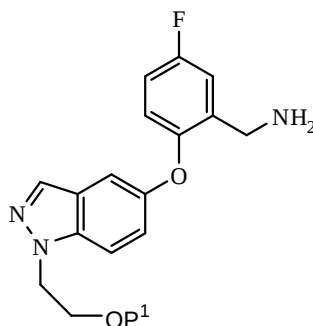


I

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

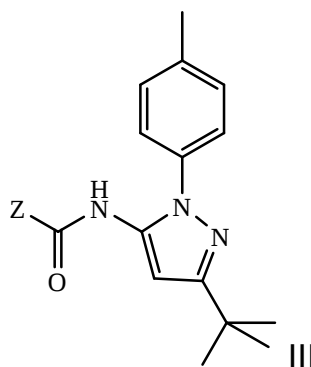
2. Processo para a preparação de um composto como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende:

(a) acoplar um composto de fórmula II



II

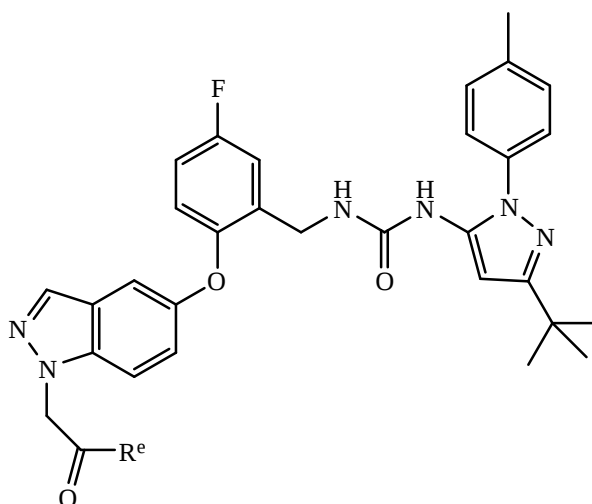
ou um sal do mesmo, no qual P¹ representa um átomo de hidrogênio ou um grupo protetor hidroxila, com um composto de fórmula III



III

em que Z representa um grupo de partida, ou o isocianato correspondente; ou

(b) reduzir um composto de fórmula IV



IV

em que R^e representa um átomo de hidrogênio de um resíduo de um álcool;

seguido pela remoção de qualquer grupo protetor e, se desejado, formando um sal farmaceuticamente aceitável.

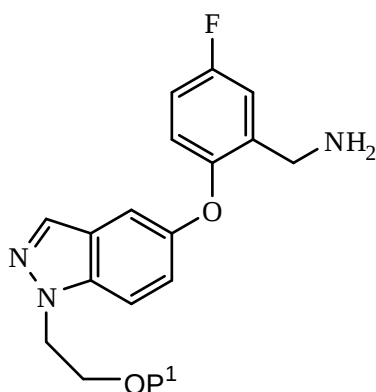
3. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um composto como definido na reivindicação 1 e um diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

4. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser para uso como um medicamento.

5. Uso de um composto como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma condição mediada por cinase em um mamífero.

6. Uso de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a referida condição mediada por cinase é doença inflamatória, doença auto-imune, distúrbio ósseo destrutivo, distúrbio proliferativo, doença infecciosa, doença viral, ou doença neurodegenerativa.

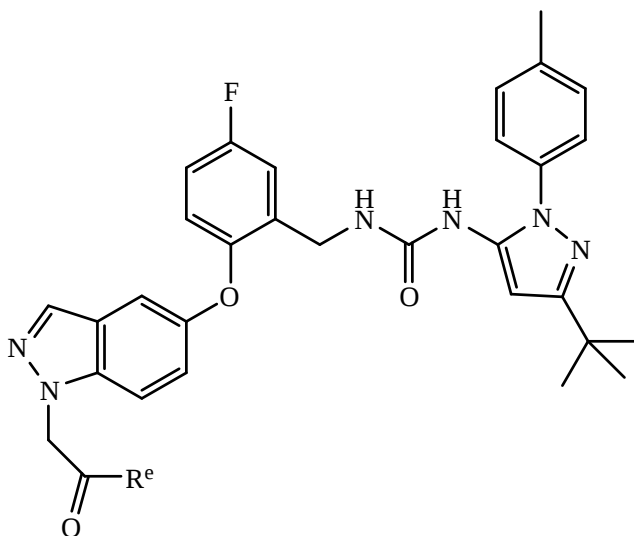
7. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula II



II

ou um sal do mesmo, no qual P¹ representa um átomo de hidrogênio ou um grupo protetor hidroxila.

8. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula IV



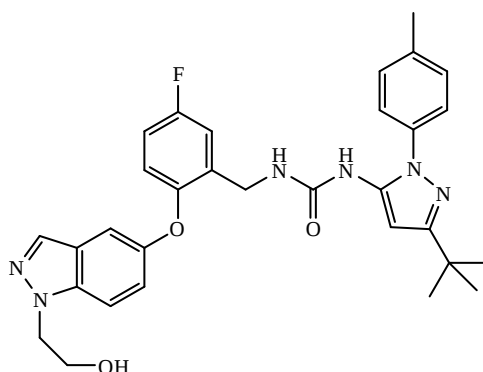
IV

em que R^e representa um átomo de hidrogênio ou um resíduo de um álcool.

9. Uso de um pró-fármaco de um composto como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o tratamento com um composto como definido na reivindicação 1 de uma condição mediada por cinase em um mamífero, em que o pró-fármaco é diidrogenofosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-

REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a Fórmula I:

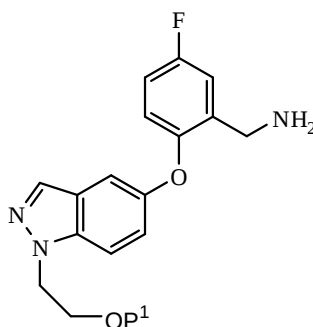


I

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

2. Processo para a preparação de um composto como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende:

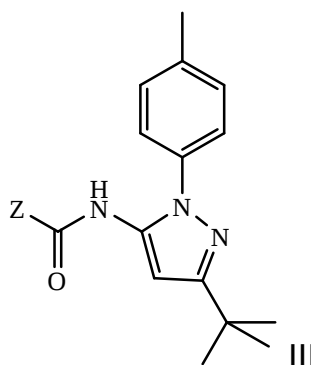
(a) acoplar um composto de fórmula II



II

ou um sal do mesmo, no qual P¹ representa um átomo de hidrogênio ou um grupo protetor hidroxila, com um composto de fórmula

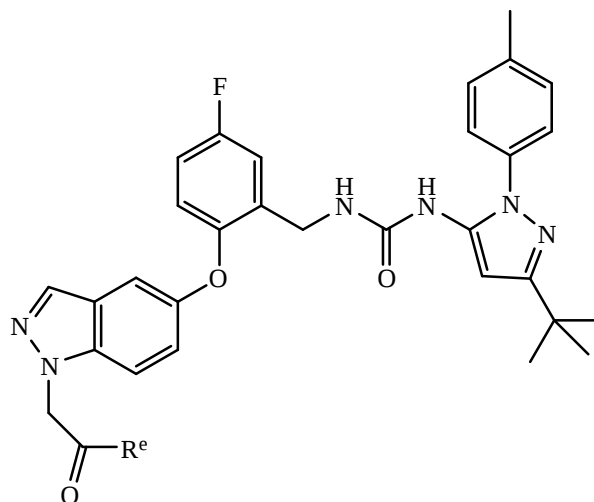
III



III

em que Z representa um grupo de partida, ou o isocianato correspondente; ou

(b) reduzir um composto de fórmula IV



IV

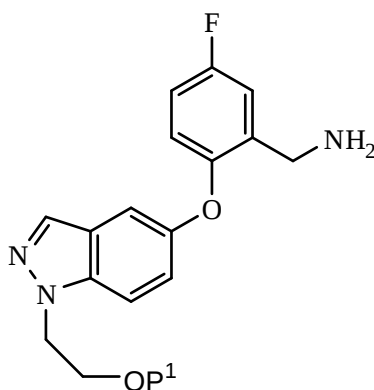
em que R^e representa um átomo de hidrogênio de um resíduo de um álcool;

seguido pela remoção de qualquer grupo protetor e, se desejado, formando um sal farmaceuticamente aceitável.

3. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um composto como definido na reivindicação 1 e um diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

4. Uso de um composto como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma condição mediada por cinase em um mamífero, em que a referida condição mediada por cinase é doença inflamatória, doença auto-imune, distúrbio ósseo destrutivo, distúrbio proliferativo, doença infecciosa, doença viral, ou doença neurodegenerativa.

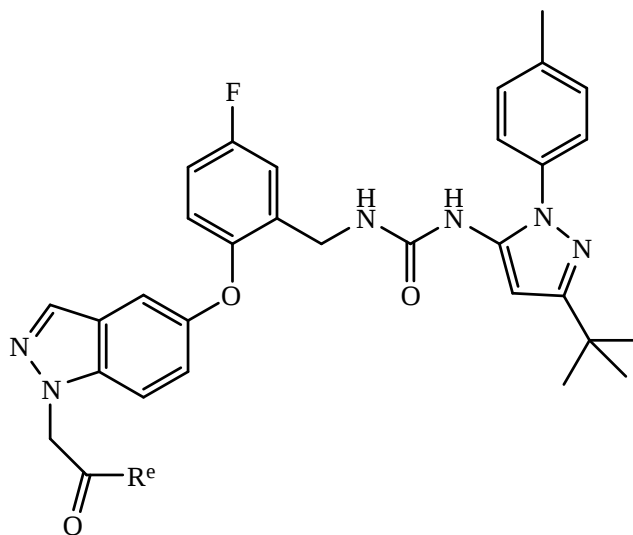
5. Composto obtido por um processo como definido na reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula II



II

ou um sal do mesmo, no qual P¹ representa um átomo de hidrogênio ou um grupo protetor hidroxila.

6. Composto obtido pelo processo como definido na reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula IV



IV

em que R^e representa um átomo de hidrogênio ou um resíduo de um álcool.

7. Uso de um pró-fármaco de um composto como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o tratamento com um composto como definido na reivindicação 1 de uma condição mediada por cinase em um mamífero, em que o pró-fármaco é diidrogenofosfato de 2-(5-(2-((3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etila,

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo e em que a referida condição mediada por cinase é doença inflamatória, doença auto-imune, distúrbio ósseo destrutivo, distúrbio proliferativo, doença infecciosa, doença viral ou doença neurodegenerativa.

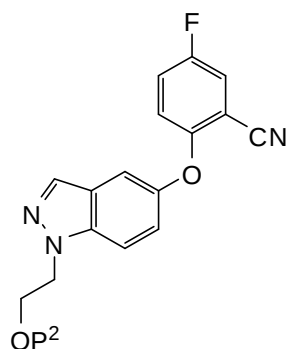
8. Composto, caracterizado pelo fato de que é o diidrogenofosfato de 2-(5-(2-((3-(3-Tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)ureído)metil)-4-fluorofenóxi)-1H-indazol-1-il)etila, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

9. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um composto como definido na reivindicação 8 e um diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

10. Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que Z é um grupo arilóxi opcionalmente substituído com um ou mais grupos selecionados a partir de F, Cl, Br, e NO₂.

11. Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que o referido composto de fórmula (II) foi preparado pelo método compreendendo:

(i) reduzir um composto de fórmula (V)



(V)

em qual P² representa hidrogênio ou um grupo protetor hidroxila, sob condições de hidrogenação catalítica ou na presença de boreto de níquel.