



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

**(11) PI 1006896-1 B1**



**(22) Data do Depósito:** 28/01/2010

**(45) Data de Concessão:** 24/05/2022

**(54) Título:** CLORIDRATO DE N-((1S)-2-AMINO-1-[(3-FLUORFENIL)METIL]ETIL)-5-CLORO-4-(4-CLORO-1-METIL-1H-PIRAZOL-5-IL)-2-TIOFENOCARBOXAMIDA CRISTALINO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO O MESMO E USO DO DITO COMPOSTO PARA TRATAR OU DIMINUIR A GRAVIDADE DE CÂNCER E ARTRITE

**(51) Int.Cl.:** A61K 31/381.

**(30) Prioridade Unionista:** 30/01/2009 US 61/148,490.

**(73) Titular(es):** NOVARTIS AG.

**(72) Inventor(es):** PINGYUN Y. CHEN; JEFFREY GAULDING.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2010022323 de 28/01/2010

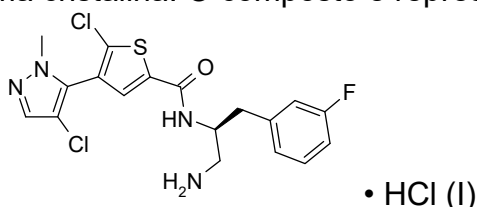
**(87) Publicação PCT:** WO 2010/088331 de 05/08/2010

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 18/07/2011

**(57) Resumo:** CLORIDRATO DE N-((1S)-2-AMINO-1-[(3-FLUORFENIL)METIL]ETIL)-5-CLORO-4-(4-CLORO-1-METIL-1H-PIRAZOL-5-IL)-2-TIOFENOCARBOXAMIDA CRISTALINO Um composto inibidor de AKT melhorado, cloridrato de N-((1S)-2-amino-1-[(3fluorfenil)metil]etil)-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida cris-talino.

“CLORIDRATO DE N-{(1S)-2-AMINO-1-[(3-FLUORFENIL)METIL]ETIL}-5-CLORO-4-(4-CLORO-1-METIL-1H-PIRAZOL-5-IL)-2-TIOFENOCARBOXAMIDA CRISTALINO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO O MESMO E USO DO DITO COMPOSTO PARA TRATAR OU DIMINUIR A GRAVIDADE DE CÂNCER E ARTRITE”

[0001] Esta invenção relaciona-se a um composto inibidor melhorado de proteína quinase B (de agora em diante PKB/Akt, PKB ou AKT), o sal cloridrato de N-{(1S)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida na forma cristalina. O composto é representado pela Estrutura I:



[0002] O composto desta invenção é útil como um inibidor da atividade AKT, e no tratamento de câncer e artrite.

#### Breve descrição dos Desenhos

[0003] Figura 1 – A Figura 1 descreve um padrão de Difração de Raio-X em Pó (PXRD) de N-{(1S)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida na forma cristalina.

[0004] Figura 2 – A Figura 2 descreve um padrão de Difração de Raio-X em Pó (PXRD) de N-{(1S)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida na forma cristalina.

[0005] Figura 3 – A Figura 3 descreve um padrão de Difração de Raio-X em Pó (PXRD) de N-{(1S)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida na forma amorfa.

#### Descrição Detalhada da Invenção

[0006] N-{(1S)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida é um composto que é revelado e reivindicado, junto com sais farmaceuticamente aceitáveis do mesmo, como sendo útil como um

inibidor da atividade de AKT, particularmente no tratamento do câncer e artrite, no Pedido Internacional No. PCT/US08/053269, tendo uma data de depósito Internacional em 7 de Fevereiro de 2008, Publicação Internacional Número WO 08/098104 e uma data de Publicação Internacional de 14 de Agosto de 2008 (composto do Exemplo 96). A inteira revelação da qual é aqui incorporada por referência. Pedido Internacional No. PCT/US08/053269 revela a preparação de cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida. Entretanto a forma cloridrato preparada pelo processo no Exemplo 96 do Pedido Internacional No. PCT/US08/053269 é amorfo.

[0007] Tem agora sido encontrado que o sal cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida pode ser preparado na forma cristalina e que a forma cristalina tem numerosas vantagens sobre o ácido livre e outras formas de sal, incluindo a forma de cloridrato amorfa. A forma cristalina de cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida é mais facilmente formulada nas formas de dosagem farmacêutica, particularmente comprimidos e tem estabilidade química aumentada. A forma cristalina é uma forma anidra não higroscópica, e exibe boa solubilidade em meio bio-relevante. A forma amorfa é higroscópica.

[0008] Enquanto o composto livre é altamente útil como um inibidor de atividade AKT, particularmente no tratamento de câncer e artrite, a forma cristalina do sal cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida tem vantagens adicionadas.

[0009] O composto desta invenção, cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida na forma cristalina (de agora em diante – “Ingrediente Ativo” ou “Composto A”), é útil como um inibidor da atividade AKT, particularmente no tratamento de câncer e artrite. O Ingrediente Ativo pode ser administrado em uma forma de dosagem convencional preparada pela combinação do Ingrediente Ativo com um veículo ou diluente farmacêuticamente aceitável convencional de acordo com técnicas facilmente conhecidas

pelos versados na técnica, tais como aquelas descritas no Pedido Internacional No. PCT/US08/053269.

[00010] Adequadamente, a presente invenção inclui dentro de seu objetivo composições farmacêuticas compreendendo cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida na forma cristalina, como o Ingrediente Ativo, em associação com um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. Composto A desta invenção pode ser administrado por via oral, parenteral, intradérmica ou tópica de administração. O termo parenteral como aqui utilizado inclui administração intravenosa, intramuscular, subcutânea, intranasal, intrarrenal, intravaginal e intraperitoneal. Administração oral é geralmente preferida. Composto A pode ser formulado nas formas de dosagem apropriadas para cada via de administração incluindo cápsulas, comprimidos, pílulas, pós e grânulos. Em cada forma de dosagem sólida, o composto ativo é geralmente misturado com pelo menos um diluente inerte. As formas de dosagem orais podem também compreender, como é prática normal, substâncias adicionais outras que diluentes inertes, por exemplo, agentes lubrificantes, fluidificantes e antioxidantes. No caso de cápsulas, comprimidos e pílulas, as formas de dosagem podem também compreender agentes tamponantes. Comprimidos e pílulas podem adicionalmente serem preparados para uma liberação controlada.

[00011] Preparações de acordo com esta invenção para administração parenteral incluem soluções aquosas estéreis embora suspensões não aquosas de emulsões possam ser empregadas. Tais formas de dosagens podem também conter adjuvantes tais como agentes conservantes, umectantes, osmóticos, tamponantes, emulsificantes e dispersantes. Elas podem ser esterilizadas por, por exemplo, filtração através de filtro retentor de bactéria, por incorporação de agentes esterilizantes nas composições, irradiação das composições ou por aquecimento das composições.

[00012] Doses do Ingrediente Ativo presentemente inventado em uma unidade de dosagem farmacêutica como descrito acima será uma quantidade eficaz preferivelmente selecionada a partir da variação de 0,001 a 100 mg/kg do peso corporal

total, preferivelmente 0,001 – 50 mg/kg. Quando tratando um paciente humano em necessidade de inibição de AKT, em necessidade do tratamento para câncer, em necessidade de tratamento para artrite, a dose selecionada é preferivelmente administrada a partir de 1-6 vezes diariamente, oralmente ou parentalmente. Formas preferidas de administração parenteral incluem topicamente, retalmente, transdermicamente, por injeção e continuamente por infusão. Unidades de dosagem orais para administração humana preferivelmente contêm a partir de 0,05 a 3500 mg de Ingrediente Ativo, mais preferivelmente de 0,5 a 1000 mg de Ingrediente Ativo. Administração oral, que usa dosagens inferiores é preferida. Administração parenteral, em altas dosagens, entretanto, também pode ser usada quando seguras e convenientes para o paciente. As dosagens acima relacionadas à quantidade preferida do Ingrediente Ativo são expressas com ácido livre.

[00013] Será reconhecido por aqueles versados na técnica que a quantidade ótima e espaçamento das dosagens individuais do Ingrediente Ativo serão determinados pela natureza e extensão da condição sendo tratada, a forma, via e local de administração, e o paciente particular sendo tratado, e que tais condições favoráveis podem ser determinadas por técnicas convencionais. Também será apreciado por um versado na técnica que o curso ótimo do tratamento, isto é, o número de doses do Ingrediente Ativo dado por dia para um número definido de dias, pode ser verificado por aqueles versados na técnica usando cursos convencionais de testes de determinação de tratamento.

[00014] Geralmente falando, o composto desta invenção é preparado por dissolução da base livre, *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida, em um solvente orgânico apropriado, tal como metil *t*-butil éter (MTBE), então adicionado a esta solução HCl, por exemplo, HCl 4M em dioxano, com aquecimento, por exemplo, 42° C por 4 horas. A solução é deixada arrefecer e o composto desta invenção é filtrado e seco, por exemplo, seco a vácuo ou ar seco em uma temperatura elevada.

[00015] Solventes orgânicos são disponíveis de Aldrich Chemical Company,

Milwaukee, Wisconsin.

[00016] Porque o composto farmacologicamente ativo da presente invenção é ativo como um inibidor de AKT ele é utilizado terapêuticamente no tratamento de câncer e artrite.

[00017] Adequadamente, a presente invenção relaciona-se a um método para tratar ou diminuir a severidade de um câncer selecionado de: cérebro (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, doença de Cowden, doença de Lhermitte-Duclos, câncer de mama, câncer de mama inflamatório, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, Rb, rabdomiosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, cólon, cabeça e pescoço, rim, pulmão, fígado, melanoma, ovário, pancreático, próstata, sarcoma, osteosarcoma, tumor de célula gigante óssea, tireoide, leucemia de célula T linfoblástica, leucemia mielógena crônica, leucemia linfocítica crônica, leucemia de células pilosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrofílica crônica, leucemia de célula T linfoblástica aguda, plasmacitoma, leucemia de célula grande imunoblástica, leucemia de célula do manto, mieloma múltiplo, leucemia megacarioblástica, mieloma múltipla, leucemia megacariocítica aguda, leucemia pró-mielocítica, eritroleucemia, linfoma maligno, linfoma de Hodgkins, linfoma não-Hodgkins, linfoma de célula T linfoblástico, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, câncer de bexiga, câncer urotelial, câncer de pulmão, câncer de vulva, câncer cervical, câncer endometrial, câncer renal, mesotelioma, câncer esofágico, câncer de glândula salivar, câncer hepatocelular, câncer gástrico, câncer nasofaríngeo, câncer bucal, câncer de boca, GIST (tumor estromal gastrointestinal) e câncer testicular.

[00018] Como revelado em PCT/US2008/053269, o composto da invenção preparada como em PCT/US2008/053269 foi testado para atividade geralmente de acordo com os ensaios da enzima AKT revelado em PCT/US2008/053269, e em pelo menos uma corrida experimental exibiu um valor de  $IC_{50}$  igual a 9,0 contra o comprimento inteiro AKT1; igual a 8,0 contra o comprimento inteiro AKT2; e igual a 8,8 contra o comprimento inteiro AKT3.

[00019] Pelo termo “tratamento” e derivados do mesmo, como aqui utilizado,

é terapia terapêutica. Terapia profilática é apropriada, por exemplo, quando um paciente é considerado em alto risco para desenvolvimento de câncer, ou quando um paciente tem sido exposto a um carcinógeno.

[00020] Como aqui utilizado, o termo “quantidade eficaz” e derivados do mesmo significa que a quantidade de uma droga ou agente farmacêutico que elicitará a resposta biológica ou médica de um tecido, sistema, animal ou humano que está sendo pesquisado, por exemplo, por um pesquisador ou médico. Além disso, o termo “quantidade terapeuticamente eficaz” e derivados do mesmo significa qualquer quantidade do mesmo, como comparado a um paciente correspondente que não tenha recebido tal quantidade, resulta em tratamento melhorado, cura, prevenção, ou melhora de uma doença, distúrbio, ou efeito colateral, ou diminuição da taxa de avanço de uma doença ou distúrbio. O termo também inclui dentro de seu objetivo quantidades eficazes para aumentar a função fisiológica normal.

[00021] Pelo termo “co-administrando” e derivados do mesmo como aqui utilizado significa ou administração simultânea ou qualquer maneira de administração sequencial separada do Composto A e um ingrediente ou ingredientes ativos adicionais, conhecidos serem úteis no tratamento de câncer, incluindo tratamento quimioterápico e com radiação, ou por serem úteis no tratamento de artrite. O termo ingrediente ou ingredientes ainda ativos, como aqui utilizados, incluem qualquer composto ou agente terapêutico conhecido a ou que demonstra propriedades vantajosas quando administrado a um paciente em necessidade de tratamento câncer ou artrite. Preferivelmente, se a administração não é simultânea, os compostos são administrados em um tempo muito próximo a cada uma. Além disso, não importa se os compostos são administrados na mesma forma de dosagem, por exemplo, um composto pode ser administrado topicamente e outro composto pode ser administrado oralmente.

[00022] Tipicamente, qualquer agente anti-neoplásico que tenha atividade versus um tumor susceptível sendo tratado pode ser co-administrado no tratamento de câncer na presente invenção. Exemplos de tais agentes podem ser encontrados em Cancer Principles and Practice of Oncology by V.T. Devita e S. Hellman (editores),

6ª edição (15 de Fevereiro de 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Um versado na técnica pode ser capaz de discernir quais combinações de agentes podem ser úteis baseados nas características particulares das drogas e o câncer envolvido. Agentes anti-neoplásicos típicos úteis na presente invenção incluem, mas não são limitados a, agentes anti-microtúbulos tais como diterpenóides e alcalóides da vinca; complexos de coordenação de platina; agentes alquilantes tais como mostarda de nitrogênio, oxazofosforinas, alquilsulfonatos, nitroureias e triazenos; agentes antibióticos tais como antraciclinas, actinomicinas e bleomicinas; inibidores da topoisomerase II tal como epipodofilotoxina; anti-metabólitos tais como análogos de purina e pirimidina e compostos anti-folato; inibidores da topoisomerase I tal como camptotecina; hormônios e análogos hormonais; inibidores da via de transdução de sinal; inibidores de angiogênese de tirosina-quinase não receptoras; agentes imunoterapêuticos; agentes pró-apoptóticos; e inibidores da sinalização do ciclo celular.

[00023] Exemplos de um ingrediente ou ingredientes ativos adicionais (agente anti-neoplásico) para uso em combinação ou co-administrado com o Composto A presentemente inventado são agentes quimioterápicos.

[00024] Agentes anti-microtúbulos ou anti-mitóticos são agentes específicos de fase ativos contra os microtúbulos de células tumorais durante M ou a fase de mitose do ciclo celular. Exemplos de agentes anti-microtúbulos incluem, mas não são limitados a, diterpenóides e alcalóides de vinca.

[00025] Diterpenóides, que são derivados de fontes naturais, são agentes anticancerígenos fases específicas que operam nas fases G<sub>2</sub>/M do ciclo celular. É acreditado que os diterpenóides estabilizam a subunidade  $\beta$ -tubulina dos microtúbulos por ligação com esta proteína. Desmonte da proteína parece então ser inibido com mitose sendo interrompida e seguida de morte celular. Exemplos de diterpenóides incluem, mas não são limitadas a paclitaxel e seu análogo docetaxel.

[00026] Paclitaxel, 5 $\beta$ ,20-epóxi-1,2 $\alpha$ ,4,7 $\beta$ ,10 $\beta$ ,13 $\alpha$ -hexa-hidroxitax-11-en-9-on 4,10-diacetato 2-benzoato 13-éster com (2R-3S)-N-benzoil-3-fenilisoserina; é um produto diterpeno natural isolado a partir do tipo árvore do Pacífico *Taxus brevifolia* e



é comercialmente disponível como uma solução injetável TAXOL®. Ele é um membro da família taxano de terpenos. Ele foi isolado em 1971 por Wani et al. J. Am. Chem. Soc., 93:2325. (1971), que caracterizou sua estrutura por métodos químicos e raio-X cristalográfico. Um mecanismo para sua atividade relaciona a capacidade do paclitaxel de ligar tubulina, assim inibindo crescimento de célula cancerígena. Schiff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:1561-1565 (1980); Schiff et al., Nature, 277:665-667 (1979); Kumar, J. Biol. Chem, 256: 10435-10441 (1981). Para uma revisão da síntese e atividade anticancerígena de alguns derivados paclitaxel ver: D. G. I. Kingston *et al.*, Studies in Organic Chemistry vol. 26, entitled "New trends in Natural Products Chemistry 1986", Attaur-Rahman, P.W. Le Quesne, Eds. (Elsevier, Amsterdam, 1986) pp 219-235.

[00027] Paclitaxel tem sido aprovado para uso clínico no tratamento de câncer de ovário refratário nos Estados Unidos (Markman et al., Yale Journal of Biology and Medicine, 64:583, 1991; McGuire et al., Ann. Intern. Med., 111:273, 1989) e para o tratamento de câncer de mama (Holmes et al., J. Nat. Cancer Inst., 83:1797, 1991.). Ele é um candidato potencial para tratamento de neoplasmas na pele (Einzig et. al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20:46) e carcinomas de cabeça e pescoço (Forastiere et. al., Sem. Oncol., 20:56, 1990). O composto também mostra potencial para o tratamento de doença renal policística (Woo et. al., Nature, 368:750. 1994), câncer de pulmão e malária. Tratamento de pacientes com paclitaxel resulta em supressão de medula óssea (múltiplas linhagens celulares, Ignoff, R.J. et. al, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998) relacionada a duração de dose acima de uma concentração limiar (50 nM) (Kearns, C.M. et. al., Seminars in Oncology, 3(6) p.16-23, 1995).

[00028] Docetaxel, éster de (2R,3S)- N-carbóxi-3-fenilisoserina, éster de N-terc-butila, 13-éster com 4-acetato 2-benzoato de 5β-20-epóxi-1,2α,4,7β,10β,13α-hexaidroxitax-11-en-9-ona, trihidrato; é comercialmente disponível como uma solução injetável como TAXOTERE®. Docetaxel é indicado para o tratamento de câncer de mama. Docetaxel é um derivado semi-sintético de paclitaxel q.v., preparado usando um precursor natural, 10-deacetil-bacatin III, a partir da agulha da árvore Tipo

Europeia. A dose limitante de toxidez de docetaxel é neutropenia.

[00029] Alcaloides da vinca são agentes antineoplásicos fase específicos derivados da planta mirta. Alcaloides da vinca atuam na fase M (mitose) do ciclo celular por se ligar especificamente à tubulina. Consequentemente, a molécula de tubulina ligada é incapaz de polimerizar em microtúbulos. Mitose é acreditada ser interrompida na metáfase seguida de morte celular. Exemplos de Alcaloides da vinca incluem, mas não são limitados a vinblastina, vincristina e vinorelbina.

[00030] Vinblastina, sulfato de vincalcoblastina, é comercialmente disponível como VELBAN® como uma solução injetável. Embora, ele tenha possível indicação como uma segunda linha de terapia de vários tumores sólidos, ele é primariamente indicado no tratamento de câncer testicular e vários linfomas, incluindo Doença de Hodgkin; e linfomas linfocíticos e histiocíticos. Mielosupressão é o efeito colateral dose limitante de vinblastina.

[00031] Vincristina, 22-oxo-sulfato de vincalcoblastina, é comercialmente disponível como ONCOVIN®, como uma solução injetável. Vincristina é indicada para o tratamento de leucemias agudas e também encontrou uso em regimes de tratamento para linfomas malignos de Hodgkin e não-Hodgkin. Alopecia e efeitos neurológicos são os efeitos colaterais mais comuns da vincristina e em uma menor extensão mielosupressão e efeitos gastrointestinais e mucosites ocorrem.

[00032] Vinorelbina, 3',4'-dideidro -4'-deóxi-C'-norvincalcoblastine [R-(R\*,R\*)-2,3-dihidrobutanedioato (1:2)(sal)], comercialmente disponível como uma solução injetável de tartarato de vinorelbina (NAVELBINE®), é um alcalóide vinca semi-sintético. Vinorelbina é indicada como um único agente ou em combinação com outros agentes quimioterápicos, tal como cisplatina, no tratamento de vários tumores sólidos, particularmente cânceres de pulmão de célula não pequena, de mama avançado, e de hormônio de próstata refratário. Mielosupressão é o efeito colateral dose-limitante mais comum de vinorelbina.

[00033] Complexos de coordenação de platina são agentes anticâncer fase não-específica, que são interativos com DNA. Os complexos de platina entram nas

células tumorais, sofrem adição de água e formam ligações cruzadas intra- e interfitas com o DNA causando efeitos biológicos adversos ao tumor. Exemplos de complexos de coordenação de platina incluem, mas não são limitados a cisplatina e carboplatina.

[00034] Cisplatina, cis-diaminodicloroplatina, é comercialmente disponível como PLATINOL®, como uma solução injetável. Cisplatina é primariamente indicada no tratamento de câncer testicular metastático e ovariano e câncer de bexiga avançado. Os efeitos colaterais dose-limitantes da cisplatina são nefrotoxicidade, que pode ser controlada por hidratação e diurese, e ototoxicidade.

[00035] Carboplatina, platina, [1,1-ciclobutano-dicarboxilato(2-)-O,O'] diamina, é comercialmente disponível como PARAPLATIN®, como uma solução injetável. Carboplatina é primariamente indicada na primeira e segunda linha de tratamento de carcinoma de ovário avançado. Supressão da medula óssea é a toxicidade dose-limitante de carboplatina.

[00036] Agentes alquilantes são agentes específicos não-fase anticâncer e fortes eletrófilos. Tipicamente, agentes alquilantes formam ligações covalentes, por alquilação, ao DNA através de frações nucleofílicas da molécula de DNA tais como grupos fosfato, amino, sulfidril, hidroxila, carboxila, e imidazol. Tal alquilação interrompe a função de ácido nucléico levando a morte celular. Exemplos de agentes alquilantes incluem, mas não são limitados a, mostardas de nitrogênio tais como ciclofosfamida, melfalan e cloranbucil; alquil sulfonatos tal como busulfan; nitroureias tal como carmustina; e triazenos tal como decarbazina.

[00037] Ciclofosfamida, 2-óxido monohidrato de 2-[bis(2-cloroethi)amino]tetraidro-2H-1,3,2-oxazafosforina, é comercialmente disponível como uma solução injetável ou comprimidos como CYTOXAN®. Ciclofosfamida é indicada como um agente único ou em combinação com outros agentes quimioterapêuticos, no tratamento de linfomas malignos, mieloma múltiplo, e leucemias. Alopecia, náusea, vômito e leucopenia são os efeitos colaterais dose-limitantes mais comuns da ciclofosfamida.

[00038] Melfalan, 4-[bis(2-cloroetil)amino]-L-fenilalanina, é comercialmente disponível como uma solução injetável ou comprimidos como ALKERAN®. Melfalan é

indicado para o tratamento paliativo de mieloma múltiplo e carcinoma epitelial não-operável do ovário. Supressão da medula óssea é o efeito colateral dose-limitante mais comum do melfalan.

[00039] Clorambucil, ácido 4-[bis(2-cloroetil)amino]benzenobutanóico, é comercialmente disponível como comprimidos LEUKERAN®. Clorambucil é indicado para o tratamento paliativo de leucemia linfática crônica, e linfomas malignos tais como linfossarcoma, linfoma folicular gigante, e doença de Hodgkin. Supressão de medula óssea é o efeito colateral dose-limitante mais comum do clorambucil.

[00040] Busulfan, 1,4-butanodiol dimetanosulfonato, é comercialmente disponível como comprimido MYLERAN®. Busulfan é indicado para o tratamento paliativo da leucemia mielogênica crônica. Supressão da medula óssea é o efeito colateral dose-limitante mais comum de busulfan.

[00041] Carmustina, 1,3-[bis(2-cloroetil)-1-nitrosouréia, é comercialmente disponível como frascos únicos de material liofilizado como BiCNU®. Carmustina é indicado para o tratamento paliativo como uma agente único ou em combinação com outros agentes para tumores cerebrais, mieloma múltiplo, doença de Hodgkin, e linfomas não Hodgkin. Mielossupressão atrasada é o efeito colateral dose-limitante mais comum da carmustina.

[00042] Dacarbazina, 5-(3,3-dimetil-1-triazeno)-imidazol-4-carboxamida, é comercialmente disponível como frascos únicos de material como DTIC-Dome®. Dacarbazina é indicada para o tratamento de melanoma maligno metastático e em combinação com outros agentes para a segunda linha de tratamento de Doença de Hodgkin. Náusea, vômito, e anorexia são os efeitos colaterais dose-limitante mais comuns da dacarbazina.

[00043] Antibióticos anti-neoplásicos são agentes não-fase específicos, que se ligam ou intercalam com DNA. Tipicamente, tal ação resulta em complexos de DNA estáveis ou ruptura da fita, que interrompem a função usual dos ácidos nucleicos levando a morte celular. Exemplos de agentes antibióticos anti-neoplásicos, mas não limitados a, actinomicinas tal como dactinomicina, antrocininas tais como

daunorubicina e doxorubicina; e bleomicinas.

[00044] Dactinomicina, também conhecida como Actinomicina D, é comercialmente disponível na forma injetável como COSMEGEN®. Dactinomicina é indicada para o tratamento de tumor de Wilm e rabdomiosarcoma. Náusea, vômito e anorexia são os efeitos colaterais dose-limitantes mais comuns da dactinomicina.

[00045] Daunorubicina, cloridrato de (8S-cis-)-8-acetil-10-[(3-amino-2,3,6-trideóxi- $\alpha$ -L-lixo-hexopiranosil)óxi]-7,8,9,10-tetraidro-6,8,11-triidróxi-1-metóxi-5,12 nafenodiona, é comercialmente disponível como uma forma injetável lipossomal como DAUNOXOME® ou como um injetável como CERUBIDINE®. Daunorubicina é indicada para indução da remissão no tratamento da leucemia não linfocítica aguda e sarcoma de Kaposi associado com HIV avançado. Mielossupressão é o efeito colateral dose-limitante mais comum da daunorubicina.

[00046] Doxorubicina, cloridrato de (8S, 10S)-10-[(3-amino-2,3,6-trideóxi- $\alpha$ -L-lixo-hexopiranosil)óxi]-8-glocoloil,7,8,9,10-tetraidro-6,8,11-triidróxi-1-metóxi-5,12 nafenodiona, é comercialmente disponível como uma forma injetável como RUBEX® ou ADRIAMYCIN RDF®. Doxorubicina é primariamente indicada para o tratamento da leucemia linfoblástica aguda e leucemia mieloblástica aguda, mas é também um componente útil no tratamento de alguns tumores sólidos e linfomas. Mielosupressão é o efeito colateral dose-limitante mais comum da doxorubicina.

[00047] Bleomicina, uma mistura de antibióticos glicopeptídeos citotóxicos isolados de uma cepa de *Streptomyces verticillus*, é comercialmente disponível como BLENOXANE®. Bleomicina é indicada como um tratamento paliativo, como um agente único ou em combinação com outros agentes, de carcinoma de célula escamosa, e carcinomas testiculares. Toxicidades pulmonares e cutâneas são os efeitos colaterais dose-limitantes mais comuns da bleomicina.

[00048] Inibidores da topoisomerase II incluem, mas não são limitados a epipodofilotoxinas.

[00049] Epipodofilotoxinas são agentes anti-neoplásicos fase-específicos derivados a partir da planta mandrágora. Epipodofilotoxinas tipicamente afetam células

nas fases S e G<sub>2</sub> do ciclo celular formando um complexo ternário com topoisomerase II e DNA causando quebras de fita de DNA. As quebras da fita acumulam e segue a morte celular. Exemplos de epipodofilotoxinas incluem, mas não são limitados a etoposídeo e teniposídeo.

[00050] Etoposídeo, 4'-demetil-epipodofilotoxin9[4,6-O-(R)-etilideno-β-D-glucopiranosídeo], é comercialmente disponível como uma solução injetável ou cápsulas como VePESID® e é comumente conhecido como VP-16. Etoposídeo é indicado como um agente único ou em combinação com outros agentes quimioterápicos no tratamento de câncer testicular e de pulmão de célula não pequena. Mielossupressão é o efeito colateral mais comum do etoposídeo. A incidência de leucopenia tende a ser mais severa que a trombocitopenia.

[00051] Teniposídeo, 4'-demetil-epipodofilotoxin9[4,6-O-(R)-tenilideno-β-D-glucopiranosídeo], é comercialmente disponível como uma solução injetável como VUMON® e é comumente conhecida como VM-26. Teniposídeo é indicado como um agente único ou em combinação com outros agentes quimioterápicos no tratamento de leucemia aguda em crianças. Mielossupressão é o efeito colateral dose-limitante mais comum do teniposídeo. Teniposídeo pode induzir ambos, leucopenia e trombocitopenia.

[00052] Agentes neoplásicos anti-metabólitos são agentes anti-neoplásicos fase-específica que atuam na fase S (síntese de DNA) do ciclo celular por inibição da síntese de DNA ou por inibição da síntese de base purina ou pirimidina e assim limitando a síntese de DNA. Consequentemente, fase S não prossegue e segue morte celular. Exemplos de agentes anti-neoplásicos anti-metabólitos, mas não limitados a, fluoruracil, metotrexato, citarabina, mecaptopurina, tioguanina e gemcitabina.

[00053] 5-fluoruracila, 5-flúor-2,4-(1H,3H)pirimidinodiona, é comercialmente disponível como fluoruracila. Administração de 5-fluoruracil leva a inibição da síntese de timidilato e é também incorporada em ambos, RNA e DNA. O resultado tipicamente é morte celular. 5-fluoruracila é indicado como um agente único ou em combinação com outros agentes quimioterápicos no tratamento de carcinomas de mama, cólon,

reto, estômago e pâncreas. Mielossupressão e mucosite são efeitos colaterais dose-limitantes da 5-fluoruracila. Outros análogos da fluorpirimidina incluem 5-flúor deoxiuridina (floxuridina) e monofosfato de 5-fluordeoxiuridina.

[00054] Citarabina, 4-amino-1-β-D-arabinofuranosil-2(1H)-pirimidinona, é comercialmente disponível como CYTOSAR-U® e é comumente conhecido como Ara-C. É acreditado que citarabina exibe especificidade de fase celular na fase S por inibição do alongamento da cadeia de DNA por incorporação terminal de citarabina na cadeia de DNA crescente. Citarabina é indicada como um agente único ou em combinação com outros agentes quimioterápicos no tratamento de leucemia aguda. Outros análogos de citidina incluem 5-azacitidina e 2'-2'-difluordeoxicitidina (gemcitabina). Citarabina induz leucopenia, trombocitopenia e mucosite.

[00055] Mercaptopurina, monohidrato de 1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona, é comercialmente disponível como PURINETHOL®. Mercaptopurina exibe especificidade de fase celular na fase S por inibição da síntese de DNA por um mecanismo ainda não especificado. Mercaptopurina é indicada como um agente único ou em combinação com outros agentes quimioterápicos no tratamento da leucemia aguda. Mielossupressão e mucosite gastrointestinal são efeitos colaterais esperados da mercaptopurina em altas doses. Um análogo de mercaptopurina útil é azatioprina.

[00056] Tioguanina, 1-amino-1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona, é comercialmente disponível como TABLOID®. Tioguanina exibe especificidade de fase celular na fase S por inibição da síntese de DNA por um mecanismo ainda não especificado. Tioguanina é indicada como um agente único ou em combinação com outros agentes quimioterápicos no tratamento da leucemia aguda. Mielossupressão, incluindo leucopenia, trombocitopenia, e anemia são os efeitos colaterais dose-limitantes mais comuns da administração de tioguanina. Entretanto, efeitos colaterais gastrointestinais ocorrem e podem ser dose-limitantes. Outros análogos de purina incluem pentostatina, eritroidroxinoniladenina, fosfato de fludarabina, e cladribina.

[00057] Gemcitabina, monoidrocloreto de 2'-deóxi-2',2'-difluorocitidina (isômero β), é comercialmente disponível como GEMZAR®. Gemcitabina exibe

especificidade de fase celular na fase S e por bloqueio de progressão de células através do limite G1/S. Gemcitabina é indicada em combinação com cisplatina no tratamento de câncer de pulmão de célula não pequena localmente avançado e sozinha no tratamento de câncer pancreático localmente avançado. Mielossupressão, incluindo leucopenia, trombocitopenia, e anemia, são os efeitos colaterais dose-limitantes mais comuns da administração de gemcitabina.

[00058] Metrotexato, ácido N-[4[[[(2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutâmico, é comercialmente disponível como metrotrexato sódico. Metrotrexato exibe efeitos de fase celular especificamente na fase S por inibição da síntese de DNA, reparo e/ou replicação através da inibição da ácido dihidrofólico redutase que é requerida para síntese de nucleotídeos de purina e timidilato. Metrotrexato é indicado como um agente único ou em combinação com outros agentes quimioterápicos no tratamento de coriocarcinoma, leucemia meníngea, linfoma não Hodgkin, e carcinomas de mama, cabeça, pescoço, ovário e bexiga. Mielossupressão (leucopenia, trombocitopenia, e anemia) e mucosite são efeitos colaterais esperados da administração de metrotrexato.

[00059] Camptotecinas, incluindo, camptotecina e derivados de camptotecinas estão disponíveis ou sob desenvolvimento como inibidores da Topoisomerase I. Atividade citotóxica da camptotecina é acreditada ser relacionada a sua atividade inibitória da Topoisomerase I. Exemplos de camptotecinas incluem, mas não são limitados a irinotecan, topotecan e várias formas ópticas de 7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodióxi-20-camptotecina descritos abaixo.

[00060] Irinotecan HCl, cloridrato de (4S)-4,11-dietil-4-hidróxi-9-[(4-piperidino-piperidino)carbonilóxi]-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolino-3,14(4H,12H)-diona, é comercialmente disponível como a solução injetável CAMPTOSAR®.

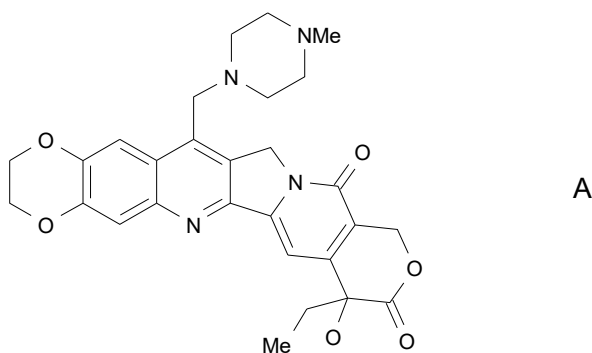
[00061] Irinotecan é um derivado da camptotecina que se liga, junto com seu metabólito ativo SN-38, ao complexo topoisomerase I-DNA. É acreditado que citotoxicidade ocorre como um resultado de quebras de fita dupla irreparáveis causadas pela interação da topoisomerase I:DNA:irinotecan ou complexo SN-38 ternário com enzimas



de replicação. Irinotecan é indicado para tratamento de câncer metastático do cólon ou reto. Os efeitos colaterais dose-limitantes do irinotecan HCl são mielossupressão, incluindo neutropenia, e efeitos GI, incluindo diarreia.

[00062] Topotecan HCl, monohidrocloreto de (S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-etil-4,9-diidroxi-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14-(4H,12H)-diona, é comercialmente disponível como a solução injetável HYCAMTIN®. Topotecan é um derivado de camptotecina que se liga ao complexo topoisomerase I-DNA e previne a religação das quebras das fitas simples causadas pela Topoisomerase I em resposta a fita de torção da molécula de DNA. Topotecan é indicada para a segunda linha de tratamento de carcinoma metastático de câncer de ovário e pulmão de célula pequena. O efeito dose-limitante do topotecan HCl é mielossupressão, primariamente neutropenia.

[00063] Também de interesse, é o derivado de camptotecina de fórmula A a seguir, correntemente sob desenvolvimento, incluindo a forma de mistura racêmica (R,S) bem como os enantiômeros R e S.



[00064] Conhecido pelo nome químico “7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodióxi-20(R,S)-camptotecina (mistura racêmica) ou “7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodióxi-20(R)-camptotecina (enantiômero R) ou “7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodióxi-20(S)-camptotecina (enantiômero S). Tal composto, bem como compostos relacionados, são descritos, incluindo métodos de fazer, na Patente dos EUA Nos. 6.063.923; 5.342.947; 5.559.235; 5.491.237 e Pedido de Patente dos EUA pendente No. 08/977.217 depositado em 24 de Novembro de 1997.

[00065] Hormônios e análogos de hormônios são compostos úteis para tratar

cânceres em que existe uma relação entre o(s) hormônio(s) e crescimento, e/ou ausência de crescimento do câncer. Exemplos de hormônios e análogos hormonais úteis no tratamento de câncer incluem, mas não são limitados a, adrenocorticosteróides tais como prednisona e prednisolona que são úteis no tratamento de linfoma maligno e leucemia aguda em crianças; aminoglutetimida e outros inibidores de aromatase tais como anastrozol, letrozol, vorazol e exemestano úteis no tratamento de carcinoma adrenocortical e hormônio dependente de carcinoma de mama contendo receptores de estrogênio; progestrinas, tal como acetato de megestrol útil no tratamento do hormônio dependente de câncer de mama e carcinoma endometrial; estrogênios, androgênios, e anti-androgênios tais como flutamida, nilutamida, bicalutamida, acetato de ciproterona e  $5\alpha$ -redutases tais como finasterida e dutasterida, úteis no tratamento de carcinoma prostático e começo da hipertrofia prostática; anti-estrogênios tais como tamoxifen, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno, iodoxifeno, bem como moduladores do receptor de estrogênio seletivos (SERMS) tais como aqueles descritos na Patente dos EUA Nos. 5.681.835, 5.877.219, e 6.207.716, úteis no tratamento do carcinoma de mama dependente de hormônio e outros cânceres susceptíveis; e hormônio de liberação gonadotrópico (GnRH) e análogos dos mesmos que estimulam a liberação do hormônio leutinizante (LH) e/ou hormônio estimulante de folículo (FSH) para o tratamento de carcinoma prostático, por exemplo, agonistas LHRH e antagonistas tais como acetato de goserelina e luprolida.

[00066] Inibidores da via de transdução de sinais são aqueles inibidores, que bloqueiam ou inibem um processo químico que evocam uma mudança intracelular. Como aqui utilizado esta mudança é proliferação ou diferenciação celular. Inibidores da transdução de sinal úteis na presente invenção incluem inibidores do receptor de tirosina quinase, não receptor de tirosina quinase, bloqueadores do domínio SH2/SH3, serina/treonina quinases, fosfatidil inositol-3 quinases, sinalização mio-inositol, e oncogenes Ras.

[00067] Várias proteínas tirosinas quinases catalisam a fosforilação dos resíduos tirosil específicos em várias proteínas envolvidas na regulação do crescimento

celular. Tais proteínas tirosinas quinases podem ser amplamente classificadas como receptores ou não receptores quinases.

[00068] Receptores tirosina quinase são proteínas transmembranares tendo um domínio de ligação de ligante extracelular, um domínio transmembranar, e um domínio de tirosina quinase. Receptores tirosina quinase são envolvidos na regulação do crescimento celular e são geralmente denominados receptores do fator de crescimento. Ativação inapropriada ou não controlada de muitas dessas quinases, isto é, atividade do receptor do fator de crescimento quinase aberrante, por exemplo, por super expressão ou mutação, tem mostrado resultado no crescimento celular não controlado. Consequentemente, a atividade aberrante de tais quinases tem sido ligada ao crescimento tecidual maligno. Por conseguinte, inibidores de tais quinases podem prover métodos de tratamento de câncer. Receptores do fator de crescimento incluem, por exemplo, receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFr), erbB2, erbB4, receptor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFr), tirosina quinase com domínios homólogos ao fator de crescimento tipo imunoglobulina e epidérmico (TIE-2), receptor do fator de crescimento de insulina – I (IGFI), fator estimulante de colônia de macrófago (cfms), BTK, ckit, cmet, fator de crescimento de fibroblasto (FGF), receptores Trk (TrkA, TrkB e TrkC), receptores de epinefrina (eph), e o protooncogene RET. Vários inibidores dos receptores de crescimento estão sob desenvolvimento e incluem ligantes antagonistas, anticorpos, inibidores tirosina quinase e oligonucleotídeos anti-senso. Receptores do fator de crescimento e agentes que inibem a função do receptor de fator de crescimento são descritos, por exemplo, em Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6):803-818; Shawver et al DDT Vol 2, No. 2 Fevereiro 1997; e Lofts, F. J. et al, “Growth factor receptors as targets”, New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, ed. Workman, Paul and Kerr, David, CRC press 1994, Londres.

[00069] Tirosinas quinase, que não são quinases do receptor de fator de crescimento são denominadas não receptor de tirosina quinase. Não receptor de tirosina quinase na presente invenção, que são alvos ou potenciais alvos de drogas anti-

câncer, incluem, cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (quinase de adesão focal), tirosina quinase Brutons, e Bcr-Abl. Tais não receptores de quinase e genes que inibem a função do não receptor de tirosina quinase são descritos em Sinh, S. e Corey, S.J., (1999) *Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research* 8 (5): 465 – 80; e Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) *Annual review of Immunology*. 15: 371-404.

[00070] Bloqueadores do domínio SH2/SH3 são agentes que rompem o domínio SH2 ou SH3 se ligando em uma variedade de enzimas ou proteínas adaptadoras incluindo, subunidade PI3-K p85, quinases da família Src, moléculas adaptadoras (Shc, Crk, Nck, Grb2) e Ras-GAP. Domínios SH2/SH3 como alvos para drogas anti-câncer são discutidas em Smithgall, T.E. (1995), *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 34(3) 125-32.

[00071] Inibidores de Serina/Treonina Quinases incluindo bloqueadores da cascata de MAP quinases que incluem bloqueadores da Raf quinase (rafk), Mitógeno ou Quinase Regulada Extracelularmente (MEKs), e Quinases Reguladas Extracelularmente (ERKs); e bloqueadores do membro da família da proteína quinase C incluindo bloqueadores de PKC (alfa, beta, gama, epsilon, mu, lambda, iota, zeta). Quinases I $\kappa$ B quinase (IKK $\alpha$ , IKK $\beta$ ), família de quinases PKB, membros da família quinase akt, e quinases do receptor de TGF  $\beta$ . Tais Serina/Treonina quinases e inibidores dos mesmos são descritas em Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), *Journal of Biochemistry*. 126 (5) 799-803; Brodt, P, Samani, A., e Navab, R. (2000), *Biochemical Pharmacology*, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) *Cancer Surveys*. 27:41-64; Philip, P.A., and Harris, A.L. (1995), *Cancer Treatment and Research*. 78: 3-27, Lackey, K. et al *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, (10), 2000, 223-226; Patente dos EUA No. 6,268,391; e Martinez-Iacaci, L., et al, *Int. J. Cancer* (2000), 88(1), 44-52.

[00072] Inibidores dos membros da família da fosfatidil inositol-3 quinase incluindo bloqueadores da PI3-quinase, ATM, DNA-PK, e Ku podem também ser úteis na presente invenção. Tais quinases são discutidas em Abraham, R.T. (1996), *Current Opinion in Immunology*. 8 (3) 412-8; Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), *Oncogene* 17

(25) 3301-3308; Jackson, S.P. (1997), International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 29 (7):935-8; e Zhong, H. et al, Cancer res, (2000) 60(6), 1541-1545.

[00073] Também de interesse na presente invenção são inibidores da sinalização de Mio-inositol tais como bloqueadores da fosfolipase C e análogos da Mioinositol. Tais inibidores de sinal são descritos em Powis, G., and Kozikowski A., (1994) New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy ed., Paul Workman and David Kerr, CRC press 1994, Londres.

[00074] Outro grupo de inibidores da via de transdução de sinal são inibidores do Oncogene Ras. Tais inibidores incluem inibidores da farnesiltransferase, geranilgeranil transferase e proteases CAAX, bem como, oligonucleotídeos anti-senso, ribozimas e imunoterapia. Tais inibidores têm sido mostrado bloquear ativação de ras nas células contendo mutante ras selvagem, assim atuando como agentes anti-proliferação. Inibição do oncogene Ras é discutida em Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), Journal of Biomedical Science. 7(4) 292-8; Ashby, M.N. (1998), Current Opinion in Lipidology. 9 (2) 99 – 102; e BioChim. Biophys. Acta, (1989) 1423(3):19-30.

[00075] Como mencionado acima, anticorpos antagonistas para o ligante do receptor ligante de quinase podem também servir como inibidores da transdução de sinal. Este grupo de inibidores da via de transdução de sinal inclui o uso de anticorpos humanizados para o domínio de ligação do ligante extracelular do receptor de tirosina quinase. Por exemplo, anticorpo específico de EGFR C225 Imclone (ver, Green, M.C. et al, Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev., (2000), 26(4), 269-286); anticorpo Herceptin<sup>®</sup> erbB2 (ver, Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, Breast Cancer Res., 2000, 2(3), 176-183); e anticorpo específico 2CB VEGFR2 (ver, Brekken, R.A. et al, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice, Cancer Res. (2000) 60, 5117-5124).

[00076] Inibidores de angiogênese de quinases não receptoras podem também ser úteis na presente invenção. Inibidores de angiogênese relacionados a

VEGFR e TIE2 são discutidos acima em relação aos inibidores de transdução de sinal (ambos receptores são receptores de tirosina quinase). Angiogênese em geral é ligada a sinalização erbB2/EGFR desde que inibidores de erbB2 e EGFR têm sido mostrado inibirem angiogênese, primariamente expressão de VEGF. Consequentemente, inibidores do não receptor tirosina quinase podem ser usados em combinação com os compostos da presente invenção. Por exemplo, anticorpos anti-VEGF, que não reconhecem VEGFR (o receptor de tirosina quinase), mas ligam ao ligante; inibidores de integrina de molécula pequena (alfa, beta) que inibirá a angiogênese; endostatina e angiostatina (não-RTK) podem também se provar úteis em combinação com os compostos revelados (ver, Bruns CJ et al (2000), *Cancer Res.*, 60: 2926-2935; Schreiber AB, Winkler ME, and Derynck R. (1986), *Science*, 232: 1250-1253; Yen L et al. (2000), *Oncogene* 19: 3460-3469).

[00077] Agentes usados nos regimes imunoterápicos podem também ser úteis na presente invenção. Existe um número de estratégias imunológicas para gerar uma resposta imune. Essas estratégias estão geralmente no campo da vacinação de tumores. A eficácia de abordagens imunológicas pode ser grandemente aumentada através da inibição combinada de vias de sinalização usando um inibidor de molécula pequena. Discussão da abordagem de vacina imunológica/tumoral contra erbB2/EGFR é encontrada em Reilly RT et al. (2000), *Cancer Res.* 60: 3569-3576; e Chen Y, Hu D, Eling DJ, Robbins J, e Kipps TJ. (1998), *Cancer Res.* 58: 1965-1971.

[00078] Agentes usados nos regimes pró-apoptóticos (por exemplo, oligonucleotídeos anti-senso bcl-2) podem ser também usados na combinação da presente invenção. Membros da família Bcl-2 das proteínas que bloqueiam apoptose. Regulação positiva de bcl-2 tem assim sido ligada a quimioresistência. Estudos têm mostrado que o fator de crescimento epidermal (EGF) estimula membros anti-apoptóticos da família bcl-2 (isto é, mcl-1). Assim, estratégias desenhadas para regular negativamente a expressão de bcl-2 em tumores têm demonstrado benefícios clínicos e agora estão nos testes Fase II/III, ou seja oligonucleotídeo anti-senso G3139 bcl-2 de Genta. Tais estratégias pró-apoptóticas usando a estratégia de oligonucleotídeo anti-senso

para blc-2 são discutidas em Water JS et al. (2000), J. Clin. Oncol. 18: 1812-1823; e Kitada S et al. (1994), Antisense Res. Dev. 4: 71-79.

[00079] Inibidores da sinalização do ciclo celular inibem moléculas envolvidas no controle do ciclo celular. Uma família de proteínas quinases chamada quinases dependentes de ciclina (CDKs) e sua interação com uma família de proteínas denominadas ciclinas controlam a progressão através do ciclo celular eucariótico. A ativação coordenada e inativação de diferentes complexos ciclina/CDK é necessária para progressão normal através do ciclo celular. Vários inibidores da sinalização do ciclo celular estão sob desenvolvimento. Por exemplo, exemplos de quinases dependentes de ciclina, incluindo CDK2, CDK4 e CDK6 e inibidores para os mesmos são descritos em, por exemplo, Rosania et al, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(2):215-230.

[00080] Em uma modalidade, o método de tratamento de câncer da invenção reivindicada inclui a co-administração do Composto A e pelo menos um agente anti-neoplásico, tal como um selecionado do grupo consistindo de agentes anti-microtúbulos, complexos de coordenação de platina, agentes alquilantes, agentes antibióticos, inibidores da topoisomerase II, antimetabólitos, inibidores da topoisomerase I, hormônios e análogos hormonais, inibidores da via de transdução de sinal, inibidores de angiogênese de tirosina-quinase não receptoras, agentes imunoterápicos, agentes pró-apoptóticos, e inibidores da sinalização do ciclo celular.

[00081] Composto A desta invenção é útil como um inibidor de AKT, no tratamento de câncer e artrite em mamíferos, particularmente humanos, em necessidade do mesmo.

[00082] O método desta invenção de tratamento de câncer e artrite em mamíferos, incluindo humanos, compreende administração a um paciente em necessidade de tal tratamento de uma quantidade terapeuticamente eficaz do Composto A da presente invenção.

[00083] A invenção também provê para o uso do Composto A na produção de um medicamento para uso na terapia.

[00084] A invenção também provê para o uso do Composto A na produção de um medicamento para uso como um inibidor de AKT.

[00085] A invenção também provê para o uso do Composto A na produção de um medicamento para uso no tratamento de câncer.

[00086] A invenção também provê para o uso do Composto A na produção de um medicamento para uso no tratamento de artrite.

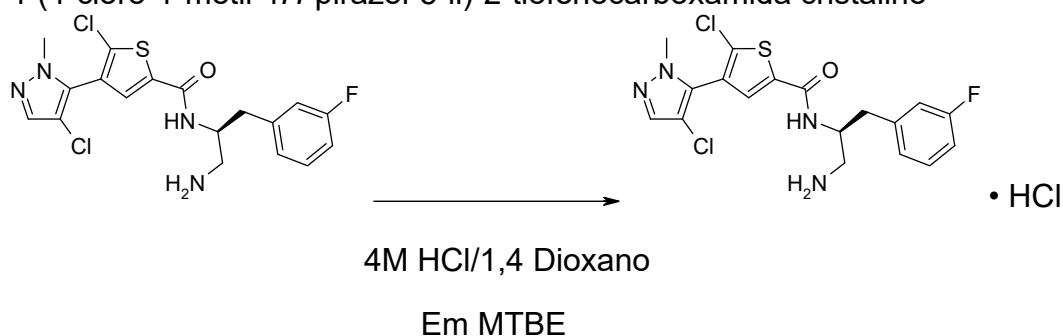
[00087] A invenção também provê para a composição farmacêutica para uso no tratamento de câncer que compreende Composto A e um veículo farmacêuticamente aceitável.

[00088] A invenção também provê para a composição farmacêutica para uso no tratamento de artrite que compreende Composto A e um veículo farmacêuticamente aceitável.

[00089] Os exemplos seguintes ainda ilustram a presente invenção. Os exemplos não são tencionados limitar o objetivo da invenção como definido acima e como reivindicado abaixo.

### EXEMPLO 1

Preparação de: cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-Amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida cristalino



[00090] Base livre *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida amorfa é como descrito no Pedido Internacional No. PCT/US08/053269, 1 mL de metil t-butil éter (MTBE) é adicionado a um frasco contendo 50,8 mg de base livre *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida amorfa A maioria do



sólido foi dissolvido. Após a adição do ácido HCl (1 eq, 29,7 mL de HCl 4 M em 1,4-dioxano) à mistura reacional, um material sólido branco se quebrou rapidamente em temperatura ambiente. Uma alíquota da mistura reacional foi analisada por microscopia de luz polarizada (MLP) e o sólido foi encontrado ser amorfo. A mistura foi então aquecida a 40 °C com agitação magnética para dissolver a maior parte do material sólido. A mistura fina foi agitada a 40° C por uma noite, e então arrefecida de 40° C para 25° C. Uma mistura branca densa foi formada. Uma alíquota da mistura de reação foi analisada por microscopia de luz polarizada (MLP) e o sólido foi encontrado ser cristalino. O sólido branco foi coletado por filtração a vácuo, e então seco a 50° C por uma noite. O produto foi determinado ser um sólido cristalino por padrão de Difração de Raio-X em Pó (PXRD) descrito na Figura 1.

Instrumento: Rigaku Miniflex II, Serial DD02652

Parâmetros Chave de Operação:

Método Normal de Corrida

A amostra é escaneada utilizando os seguintes parâmetros:

Variação de escaneamento: 2-40 graus dois-theta

Gerador de energia: 30 kV, 15 mA

Fonte de Energia: Cu Kalfa

Tempo de contagem: 1,0 segundos

Extensão do passo: 0,020 graus dois-tetha por passo

Eixo de escaneamento: 2 theta/theta

Feixe incidente ótico: fenda Soller de ângulo divergente  $\pm 2.5^\circ$ , 1,25 grau de fenda divergente, 0,3 mm RecSlit, 1,25 grau de fenda anti-dispersão

Feixe difratado ótico: feixes fixos (MiniFlex II),  $\pm 2.5^\circ$  fenda Soller

Tipo de Detector: Rigaku II SC (Contador de Cintilação)

[00091] A amostra é embalada em um detentor de amostra com zero de background (100  $\mu$ m de corte) e gentilmente nivelado usando uma lamínula.

## EXEMPLO 2

Preparação de: Cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-Amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-

cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida cristalino

[00092] 5 mL de MTBE foram adicionados a 213,9 mg de base livre *N*-{(1*S*)-2-Amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida amorfa (0,500 mMol). A mistura foi aquecida a 40° C com agitação magnética por 1 hora. Uma solução de 4 M de HCl em 1,4-dioxano (1 eq, 125,1 µL) foi adicionada em quatro porções iguais. Após adição da primeira porção (0,25 eq), a mistura foi aquecida a 42° C e 1 mL de acetonitrila foi adicionado para dissolver todo o material sólido. Após o remanescente da solução de HCl ser adicionada, algum material sólido apareceu. A mistura foi agitada a 42° C por 4 horas, então foi lentamente arrefecida para 22° C por uma noite com 90 minutos mantida a 35° C, 30° C, e 25° C. O sólido branco foi filtrado e seco a 50° C sob vácuo com uma lenta perda de nitrogênio por uma noite. A produção foi 73,6% (0,3685 mmol; 170,90 mg) do sal HCl. O sólido foi encontrado ser sal HCl estequiométrico 1:1 por cromatografia iônica, e ser cristalino por padrão de Difração de Raio-X em Pó (PXRD) descrito na Figura 2 e como caracterizado pelos picos de difração abaixo, e para ter um ponto de fusão de 211° C.

Picos PXRD (valores dados em graus dois-theta com d-espacamento em parênteses):

7,2(12,20) 14,4(6,16) 17,9(4,94) 18,5(4,79) 20,8(4,26)  
 21,5(4,12) 22,4(3,96) 22,9(3,88) 23,7(3,75) 24,5(3,63)  
 24,7(3,61) 25,1(4,12) 25,7(3,46) 27,3(3,26) 28,2(3,16)  
 28,8(3,10) 30,4(2,94) 32,4(2,76) 32,7(2,73) 35,2(2,55)  
 36,1(2,48) 40,0(2,25) 41,3(2,18) 41,7(2,16)

Instrumento: PANalytical X'Pert-Pro MPD com Johansson K $\alpha$ 1 monochromator, usando detector X'Celerator

Parâmetros Chaves de Operação:

Radiação: Cu (K $\alpha$ 1), 1.540598 angstroms (monocromático)

Detector: X'Celerator

Tensão: 45 kV

Corrente: 40 mA

Ângulo inicial: 2.0° 2θ

Ângulo final: 52.0° 2θ

Extensão do passo: 0,02°

Tempo/ passo: 40,0 s

Velocidade do escaneamento: 0.05°/s

Feixe incidente: 2ª fenda anti-dispersão fixa, e fenda divergente programável

Feixe difratado: fenda Soller 0,02 rad, e fenda anti-dispersão programável

[00093] Amostras preparadas em suporte de amostra de silicone com background zero.

### EXEMPLO 3

Preparação de: cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-Amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida amorfa

[00094] O sal cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-Amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida preparado geralmente como descrito no Exemplo 96 do Pedido Internacional No. PCT/US2008/053269, tendo uma data de Depósito Internacional de 07 de Fevereiro de 2008, e tendo Número de Publicação Internacional WO2008/098104 e uma Data de Publicação Internacional de 14 de Agosto de 2008, que declara de forma geral que o composto base livre, *N*-{(1*S*)-2-Amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida, é tratado com 4 M de HCl em dioxano e após 5 min, a solução é concentrada e seca sob vácuo para fornecer cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-Amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida, produziu um sólido amorfo como indicado pelo padrão de Difração de Raio-X em Pó (PXDR) descrito na Figura 3.

Instrumento: Rigaku Miniflex II, Serial DD02652

Parâmetros Chaves de Operação:

Método Normal de Corrida

A amostra é escaneada usando os seguintes parâmetros:

Variação de escaneamento: 2-40 graus dois-theta

Gerador de energia: 30kV, 15mA

Fonte de radiação: Cu KAlpha

Modo de escaneamento: FT

Tempo de contagem: 1.0 segundos

Largura do Passo: 0.020 graus dois-theta por passo

Eixo de escaneamento: 2 theta/theta

Feixe incidente ótico: fenda Soller de ângulo divergente  $\pm 2.5^\circ$ , 1,25 grau de fenda divergente, 0,3 mm RecSlit, 1,25 grau de fenda anti-dispersão

Feixe difratado ótico: fendas fixas (MiniFlex II),  $\pm 2.5^\circ$  fenda Soller

Tipo de Detector: Rigaku II SC (Contador de Cintilação)

[00095] A amostra é embalada em suporte de amostra de vidro e gentilmente nivelada usando uma lamínula.

#### EXEMPLO 4

Composição do comprimido

[00096] Lactose, celulose microcristalina, amido glicolato de sódio, estearato de magnésio e cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-yl)-2-tiofenocarboxamida cristalino são misturados nas proporções mostradas na Tabela 1 abaixo. A mistura é então comprimida em comprimidos.

Tabela 1	
INGREDIENTE	mg.
Cloridrato de <i>N</i> -{(1 <i>S</i> )-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1 <i>H</i> -pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida cristalina	8,45
Celulose microcristalina	112
lactose	70
Amido glicolato de sódio	8
Estearato de magnésio	2

#### EXEMPLO 5

Composição Parenteral Injetável

[00097] Uma forma injetável para administração do ingrediente ativo é produzida por agitação de 5,0 mg de cloridrato de de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-yl)-2-tiofenocarboxamida cristalino em 1,0 mL de salina normal.

#### EXEMPLO 6

##### Higroscopicidade

[00098] Cloridrato de de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-yl)-2-tiofenocarboxamida cristalino feito geralmente de acordo com o Exemplo 1, e confirmado ser cristalino por PXRD, foi testado usando um instrumento VTI SGA 100 usando o seguinte método.

Preparação da amostra:

Solvente: água

Temp de secagem (°C): Sem secagem

Temp de experimentação (°C): 25

Tempo máximo de equilíbrio (min): 240

Crítérios de Equilíbrio (p %): 0,0025 em 10 min

Intervalo de Registro de Dados (min): 2 ou 0,01 p %

[00099] Existiram 24 passos de Umidade Relativa usados. A Umidade Relativa em cada passo é como segue.

1 – 40; 2 – 50; 3 – 60; 4 – 70; 5 – 80; 6 – 90; 7 – 80; 8 – 70; 9 – 60; 10 – 50;  
11 – 40; 12 – 30; 13 – 20; 14 – 10; 15 – 5; 16 – 10; 17 – 20; 18 – 30; 19 – 40;  
20 – 50; 21 – 60; 22 – 70; 23 – 80; e 24 – 90.

[000100] O aumento de peso do composto foi menor que 1% p/p de umidade, indicando que o composto tem um nível baixo de higroscopicidade.

##### Amorfo

[000101] Em um experimento separado em um dia diferente, cloridrato de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-yl)-2-tiofenocarboxamida amorfo (confirmado ser amorfo por PXRD), foi testado usando um instrumento VTI SGA 100 usando o seguinte método.

Preparação da amostra:

Solvente: água

Temp de secagem (°C): 60

Taxa de aquecimento (°C): 1

Tempo máximo de secagem (min): 120

Temp de Experimentação (°C): 25

Tempo Máximo de Equilíbrio (min): 300

Crítérios de Equilíbrio (p %): 0,0025 em 10 min

Intervalo de Registro de Dados (min): 2 ou 0,01 p %

[000102] Existiram 19 passos de Umidade Relativa usados. A Umidade Relativa em cada passo é como segue.

1 – 0; 2 – 10; 3 – 20; 4 – 30; 5 – 40; 6 – 50; 7 – 60; 8 – 70; 9 – 80; 10 – 90; 11 – 80; 12 – 70; 13 – 60; 14 – 50; 15 – 40; 16 – 30; 17 – 20; 18 – 10; e 19 – 0.

[000103] O aumento do peso do composto foi mais que 18% p/p de umidade, indicando que o composto tem um alto nível de higroscopicidade.

[000104] Enquanto as modalidades preferidas da invenção são ilustradas pelo acima, é para ser entendido que a invenção não é limitada as instruções precisas aqui reveladas e que o direito de todas as modificações vindo dentro do objetivo das seguintes reivindicações é reservado.

## REIVINDICAÇÕES

1. Cloridrato de N-((1S)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil)-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida cristalino **CARACTERIZADO** pelo fato de que tem um ponto de fusão de 211 °C e picos de difração característicos em  $14,4^{\circ} \pm 0,3^{\circ}$ ,  $20,8^{\circ} \pm 0,3^{\circ}$ ,  $21,5^{\circ} \pm 0,3^{\circ}$ ,  $25,1^{\circ} \pm 0,3^{\circ}$ ,  $25,7^{\circ} \pm 0,3^{\circ}$  e  $32,4^{\circ} \pm 0,3^{\circ}$  em um Difrato-grama de Raio-X em Pó usando radiação Cu K $\alpha$ .

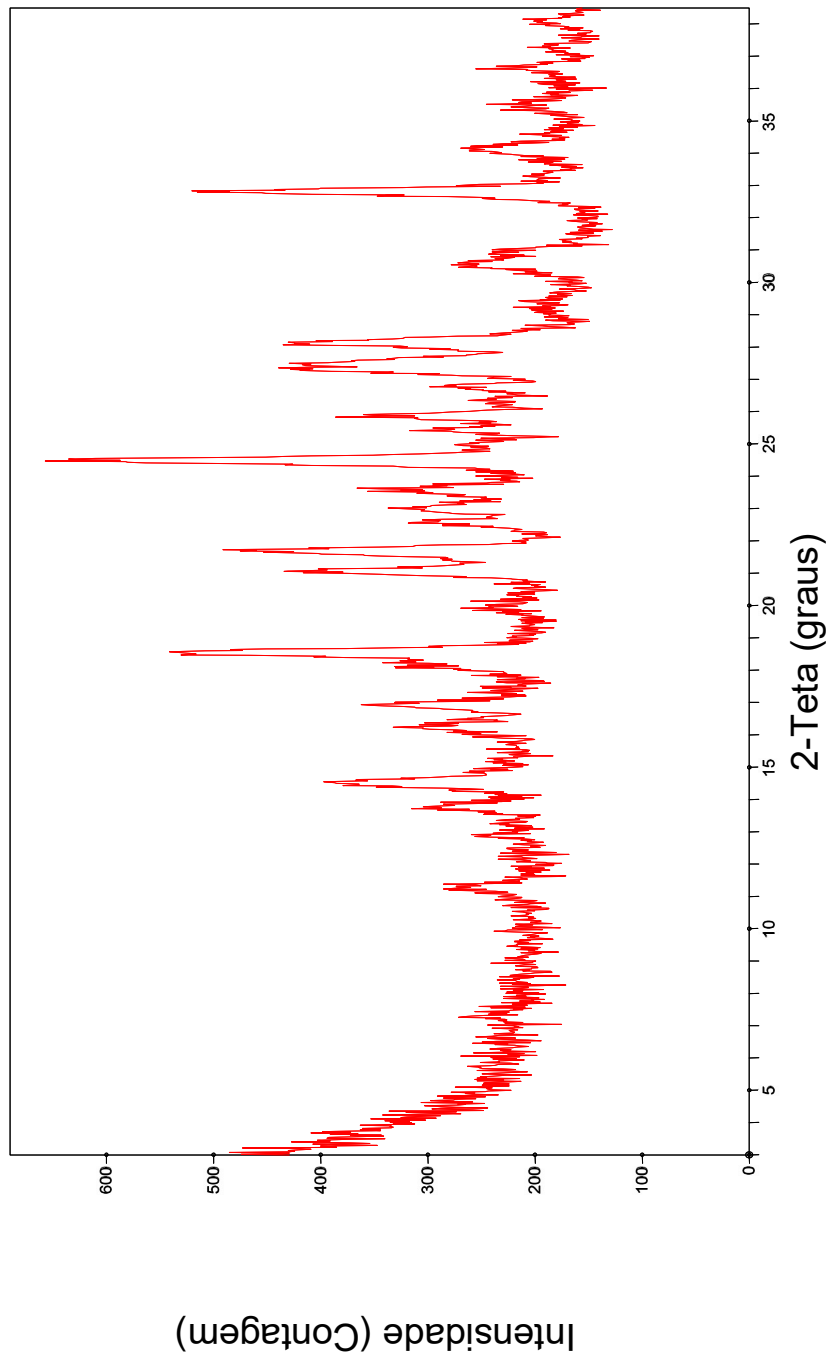
2. Composição farmacêutica **CARACTERIZADA** pelo fato de que compre-ende cloridrato de N-((1S)-2-amino-1-[(3-fluorfenil)metil]etil)-5-cloro-4-(4-cloro-1-me-til-1H-pirazol-5-il)-2-tiofenocarboxamida cristalino tendo os picos de difração caracte-rísticos, como definido na reivindicação 1, e um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

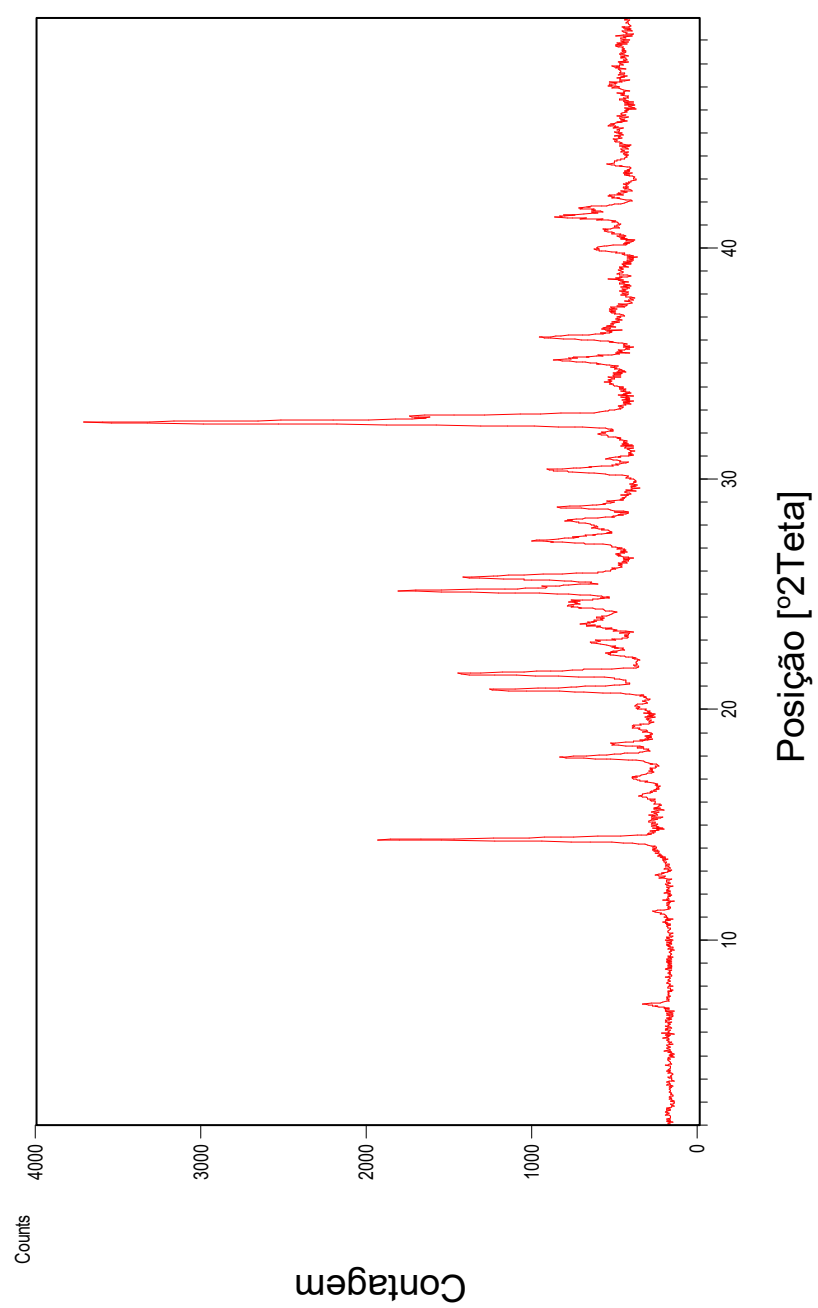
3. Uso do composto como definido na reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é na fabricação de um medicamento para tratar ou diminuir a gravi-dade de uma doença ou condição selecionada dentre: câncer e artrite, em um humano em necessidade do mesmo.

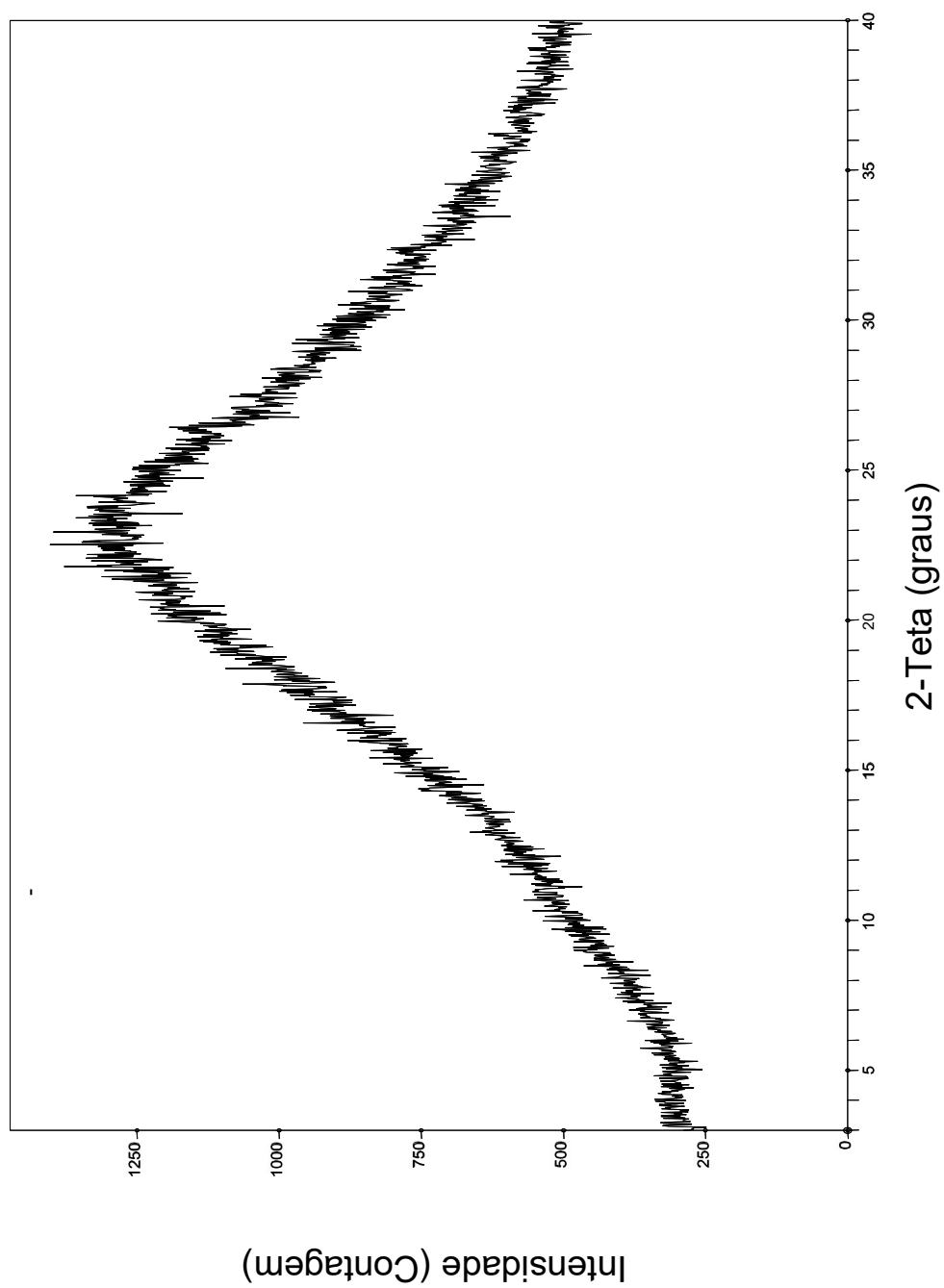
4. Uso, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o dito câncer é selecionado dentre: cerebral (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, doença de Cowden, doença de Lhermitte-Duclos, câncer de mama, câncer de mama inflamatório, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, Rabdomi-osarcoma, ependimoma, meduloblastoma, câncer de cólon, cabeça e pescoço, rim, pulmão, fígado, melanoma, ovário, pancreático, próstata, sarcoma, osteosarcoma, tu-mor de célula gigante ósseo, tireoide, leucemia de célula T linfoblástica, leucemia mi-elógena crônica, leucemia linfocítica crônica, leucemia de células pilosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrofílica crônica, leuce-mia de célula T linfoblástica aguda, plasmacitoma, leucemia de célula grande imuno-blástica, leucemia de células do manto, leucemia megacarioblástica mieloma múltiplo, mieloma múltiplo, leucemia megacariocítica aguda, leucemia pró-mielocítica, eritroleu-cemia, linfoma maligno, linfoma de Hodgkins, linfoma não Hodgkins, linfoma de célula T linfoblástico, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, câncer de bexiga,

câncer urotelial, câncer de pulmão, câncer de vulva, câncer cervical, câncer endometrial, câncer renal, mesotelioma, câncer esofágico, câncer da glândula salivar, câncer hepatocelular, câncer gástrico, câncer nasofaríngeo, câncer bucal, câncer de boca, GIST (tumor gastrointestinal estromal) e câncer testicular.



**FIG. 1**

**FIG. 2**

**FIG. 3**