

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

(21) **PI0707666-5 A2**

(22) Data de Depósito: 06/02/2007
(43) Data da Publicação: 10/05/2011
(RPI 2105)



(51) *Int.Cl.:*
C07D 401/04
C07D 401/14
C07D 413/14
A61K 31/4427
A61K 31/444
A61K 31/4468

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

(30) Prioridade Unionista: 06/02/2006 US 60/771,045

(73) Titular(es): IRM LLC

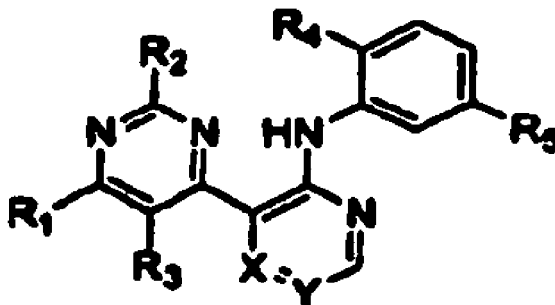
(72) Inventor(es): Nathanael S. Gray, Pamela A. Albaugh, Pingda Ren, Qiang Ding, Qiong Zhang, Taebo Sim, Xia Wang

(74) Procurador(es): DANNEMANN

(86) Pedido Internacional: PCT US2007003319 de 06/02/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/092531 de 16/08/2007

(57) **Resumo:** COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DE PROTEÍNA CINASE. A presente invenção refere-se a uma nova classe de compostos, composições farmacêuticas compreendendo tais compostos e métodos de uso de tais compostos para tratar ou prevenir doenças ou distúrbios associados à atividade anormal ou desregulada de cinase, particularmente doenças ou distúrbios que envolvem a ativação anormal das classes Abl, Bcr-Abl, Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, PKC α , SAPK2 α , Tie2, TrkB e P70S6K. Estes compostos apresentam a seguinte estrutura (fórmula I), na qual: R₁ é selecionado de -NR₆R₇ e -NR₆C(O)R₈; no qual R₆ é selecionado a partir de hidrogênio e C₁₋₆alquila; R₇ é selecionado a partir de hidrogênio, C₁₋₆alquila, -NR₉R₁₀, C₆₋₁₀aril-C₀₋₄alquila, C₁₋₁₀heteroaril-C₀₋₄alquila, C₃₋₁₂cicloalquil-C₀₋₄alquila e C₃₋₈heterocicloalquil-C₀₋₄alquila; no qual qualquer arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila de R₇ pode ser opcionalmente substituída por 1 a 3 radicais independentemente selecionados a partir de C₁₋₆alquila, C₁₋₆alcóxi, -QNR₉R₁₀ e C₃₋₈heterocicloalquil-C₀₋₄alquila; no qual Q é selecionado a partir de uma ligação e C₁₋₄alquileno; R₈ é selecionado a partir de hidrogênio e C₁₋₆alquila; R₂ é selecionado a partir de hidrogênio e C₁₋₆alquila; R₃ é selecionado a partir de hidrogênio, halo, C₁₋₆alcóxi substituído por halogênio; R₅ é selecionado a partir de -C(O)NHR₁₁ e -NHC(O)R₁₁; na qual qualquer arila ou heteroarila de R₁₁ é opcionalmente substituída por 1 a 3 radicais independentemente selecionados, a partir de halo, C₁₋₆alquila, C₁₋₆alcóxi, C₁₋₆alquila substituída por halogênio, C₁₋₆alcóxi substituído por halogênio, di-C₁₋₄alquil-amino-C₁₋₆alcóxi, di-C₁₋₄alquil-amino-C₁₋₄alquil(C₁₋₄alquil)amino, C₁₋₁₀heterocicloalquil-óxi; na qual qualquer substituinte heteroarila ou heterocicloalquila de R₁₁ é ainda opcionalmente substituída por 1 a 2 radicais independentemente selecionados a partir de C₁₋₆alquila e hidróxi-C₁₋₆alquila, X e Y são independentemente selecionados a partir de N e CH; e os sais farmacêuticamente aceitáveis, hidratos, solvatos e isômeros dos mesmos.





PI0707666-5

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DE PROTEÍNA CINASE**".

Referência Cruzada a Pedidos Relacionados

5 Este pedido reivindica o benefício de prioridade para o Pedido de Patente Provisório US Nº 60/771.045, depositado em 06 de fevereiro de 2006. O relatório completo desse pedido está aqui incorporado em sua integridade a título de referência e para todos os fins.

Antecedentes da Invenção

Campo da Invenção

10 A presente invenção refere-se a uma nova classe de compostos, composições farmacêuticas compreendendo tais compostos e métodos de uso de tais compostos para tratar ou prevenir doenças ou distúrbios associados à atividade anormal ou desregulada de cinase, particularmente doenças ou distúrbios que envolvem a ativação anormal das cinases Abl, Bcr-Abl, 15 Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, PKC α , SAPK2 α , Tie2, TrkB e P70S6K.

Antecedentes

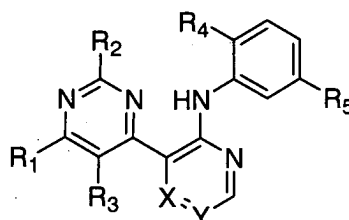
20 As proteínas cinases representam uma grande família de proteínas, que desempenham um papel central na regulação de uma variedade de processos celulares e na manutenção do controle do funcionamento celular. Uma lista parcial e não limitativa destas cinases incluem: tirosina cinases receptoras tais como cinase receptora do fator de crescimento de derivados plaquetários (PDGF-R), o receptor do fator de crescimento nervoso, trkB, e o receptor do fator de crescimento de fibroblastos, FGFR3, B-RAF e KDR; 25 tirosina cinases não receptoras tais como Abl e a cinase de fusão BCR-Abl, Lck, Bmx e c-src; e serina/treonina cinases tais como as cinases c-RAF, sgk, MAP (por exemplo, MKK4, MKK6, etc.) e SAPK2 α e SAPK2 β . atividade de cinase aberrante foi observada em muitas doenças incluindo distúrbios proliferativos benignos e malignos assim como em doenças resultantes da ativação inadequada dos sistemas imunológico e nervoso. 30

Os novos compostos desta invenção inibem a atividade de uma ou mais proteínas cinases e espera-se, portanto, que sejam úteis no trata-

mento de doenças associadas a cinases.

Sumário da Invenção

Em um aspecto, a presente invenção fornece compostos de fórmula I:



5 onde:

R_1 é selecionado de $-NR_6R_7$ e $-NR_6C(O)R_8$; onde R_6 é selecionado de hidrogênio e C_{1-6} alquila; R_7 é selecionado de hidrogênio, C_{1-6} alquila, $-NR_9R_{10}$, C_{6-10} aril- C_{0-4} alquila, C_{1-10} heteroaril- C_{0-4} alquila, C_{3-12} cicloalquil- C_{0-4} alquila e C_{3-8} heterocicloalquil- C_{0-4} alquila; onde qualquer arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila de R_7 pode ser opcionalmente substituída por 1 a 3 radicais independentemente selecionados de C_{1-6} alquila, C_{1-6} alcóxi, $-QNR_9R_{10}$ e C_{3-8} heterocicloalquil- C_{0-4} alquila; onde Q é selecionado de uma ligação e C_{1-4} alquileno; R_8 é selecionado de hidrogênio e C_{1-6} alquila; R_9 e R_{10} são independentemente selecionados de hidrogênio e C_{1-6} alquila;

15 R_2 é selecionado de hidrogênio e C_{1-6} alquila;

R_3 é selecionado de hidrogênio e C_{1-6} alquila;

R_4 é selecionado de hidrogênio, halo, C_{1-6} alquila, C_{1-6} alcóxi, C_{1-6} alquila substituída por halogênio e C_{1-6} alcóxi substituído por halogênio;

R_5 é selecionado de $-C(O)NHR_{11}$ e $-NHC(O)R_{11}$; onde R_{11} é selecionado de C_{6-10} arila e C_{1-10} heteroarila; onde qualquer arila ou heteroarila de R_{11} é opcionalmente substituída por 1 a 3 radicais independentemente selecionados de halo, C_{1-6} alquila, C_{1-6} alcóxi, C_{1-6} alquila substituída por halogênio, C_{1-6} alcóxi substituído por halogênio, di- C_{1-4} alquil-amino- C_{1-6} alcóxi, di- C_{1-4} alquil-amino- C_{1-6} alquil(C_{1-4} alquil)amino, C_{1-10} heteroaril- C_{0-4} alquila, C_{3-8} heterocicloalquil- C_{0-4} alquila e C_{3-8} heterocicloalquil-óxi; onde qualquer substituinte heteroarila ou heterocicloalquila de R_{11} é ainda opcionalmente substituída por 1 a 2 radicais independentemente selecionados de C_{1-6} alquila e hidróxi- C_{1-6} alquila;

X e Y são independentemente selecionados de N e CH; e os derivados do tipo N-óxido, derivados do tipo pró-fármaco, derivados protegidos, isômeros individuais e mistura de isômeros do mesmo; e os sais farmacologicamente aceitáveis e solvatos (por exemplo hidratos) de tais compostos.

5 Em um segundo aspecto, a presente invenção fornece uma composição farmacêutica que contém um composto de fórmula I ou um derivado do tipo N-óxido, isômeros individuais e mistura de isômeros do mesmo; ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, em mistura com um ou mais excipientes adequados.

10 Em um terceiro aspecto, a presente invenção fornece um método de tratamento de uma doença em um animal onde a inibição da atividade de cinase, particularmente a atividade de Abl, Bcr-Abl, Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, PKC α , SAPK2 α , Tie2, TrkB e/ou P70S6K, pode prevenir, inibir ou melhorar a patologia e/ou a sintomatologia das doenças, método este que compreende administrar ao animal uma
15 quantidade terapêuticamente eficaz de um composto de fórmula I ou de um derivado do tipo N-óxido, isômeros individuais e mistura de isômeros do mesmo, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

20 Em um quarto aspecto, a presente invenção fornece o uso de um composto de fórmula I na produção de um medicamento para tratamento de uma doença em um animal onde a atividade de cinase, particularmente a atividade de Abl, Bcr-Abl, Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, PKC α , SAPK2 α , Tie2, TrkB e/ou P70S6K, contribui para a patologia e/ou a sintomatologia da doença.

25 Em um quinto aspecto, a presente invenção fornece um processo para preparar compostos de fórmula I e os derivados do tipo N-óxido, derivados do tipo pró-fármaco, derivados protegidos, isômeros individuais e mistura de isômeros dos mesmos, e os sais farmacologicamente aceitáveis dos mesmos.

30 Descrição Detalhada da Invenção

Definições

"Alquila" como um grupo e como um elemento estrutural de ou-

tros grupos, por exemplo alquila e alcóxi substituídos por halogênio, pode ser de cadeia reta ou de cadeia ramificada. C₁₋₄-alcóxi inclui, metóxi, etóxi, e similares. Alquila substituída por halogênio inclui trifluormetila, pentafluoretila, e similares.

- 5 "Arla" significa um sistema de anel aromático monocíclico ou bicíclico fundido contendo seis a dez átomos de carbono no anel. Por exemplo, arila pode ser fenila ou naftila, de preferência fenila. "Arleno" significa um radical divalente derivado de um grupo arila.

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

- 15 "Cicloalquila" significa um sistema de anel monocíclico, bicíclico fundido ou policíclico ligado por ponte, saturado ou parcialmente insaturado, contendo o número indicado de átomos de anel. Por exemplo, C₃₋₁₀ cicloalquila inclui ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, ciclohexila, etc.

- 20 "Heterocicloalquila" significa cicloalquila, como definido neste pedido, contanto que um ou mais dos carbonos do anel indicados sejam substituídos por uma porção selecionada de -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O) - ou -S(O)₂-, onde R é hidrogênio, C₁₋₄alquila ou um grupo protetor de nitrogênio. Por exemplo, C₃₋₈heterocicloalquila conforme usado neste pedido para descrever os compostos da invenção inclui morfolino, pirrolidinila, pirrolidinil-2-ona, piperazinila, piperidinila, piperidinilona, 1,4-dioxa-8-aza-
25 spiro[4,5]dec-8-ila, etc.

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

- 30 "Lista de Cinases" é uma lista de cinases compreendendo Abl (humana), Abl(T315I), JAK2, JAK3, ALK, JNK1 α 1, ALK4, KDR, Aurora-A, Lck, Blk, MAPK1, Bmx, MAPKAP-K2, BRK, MEK1, CaMKII(rat), Met, CDK1/ciclinaB, p70S6K, CHK2, PAK2, CK1, PDGFR α , CK2, PDK1, c-kit,

Pim-2, c-RAF, PKA(h), CSK, PKB α , cSrc, PKC α , DYRK2, Plk3, EGFR, ROCK-I, Fes, Ron, FGFR3, Ros, Flt3, SAPK2 α , Fms, SGK, Fyn, SIK, GSK3 β , Syk, IGF-1R, Tie-2, IKK β , TrKB, IR, WNK3, IRAK4, ZAP-70, ITK, AMPK(rato), LIMK1, Rsk2, Axl, LKB1, SAPK2 β , BrSK2, Lyn (h), SAPK3, BTK, MAPKAP-K3, SAPK4, CaMKIV, MARK1, Snk, CDK2/ciclinaA, MINK, SRPK1, CDK3/ciclinaE, MKK4(m), TAK1, CDK5/p25, MKK6(h), TBK1, CDK6/ciclinaD3, MLCK, TrkA, CDK7/ciclinaH/MAT1, MRCK β , TSSK1, CHK1, MSK1, Yes, CK1d, MST2, ZIPK, c-Kit (D816V), MuSK, DAPK2, NEK2, DDR2, NEK6, DMPK, PAK4, DRAK1, PAR-1B α , EphA1, PDGFR β , EphA2, Pim-1, EphA5, PKB β , EphB2, PKC β I, EphB4, PKC δ , FGFR1, PKC η , FGFR2, PKC θ , FGFR4, PKD2, Fgr, PKG1 β , Flt1, PRK2, Hck, PYK2, HIPK2, Ret, IKK α , RIPK2, IRR, ROCK-II(humana), JNK2 α 2, Rse, JNK3, Rsk1(h), PI3 K γ , PI3 K δ e PI3-K β . Os compostos da invenção são rastreados contra a lista de cinases (tipo selvagem e/ou mutação da mesma) e inibem a atividade de pelo menos um dos membros da referida relação.

"Formas mutantes de BCR-Abl" significa alterações simples ou múltiplas de aminoácidos da sequência do tipo selvagem. As mutações na BCR-ABL agem rompendo pontos de contato críticos entre a proteína e o inibidor (por exemplo, Gleevec, e similares), com maior frequência, induzindo uma transição do estado inativo para o estado ativo, isto é, para uma conformação à qual BCR-ABL e Gleevec são incapazes de se ligar. A partir de análises de amostras clínicas, o repertório de mutações encontradas em associação ao fenótipo resistente vem crescendo lenta, porém inexoravelmente com o tempo. As mutações parecem se agrupar em quatro regiões principais. Um grupo de mutações (G250E, Q252R, Y253F/H, E255K/V) inclui aminoácidos que formam a alça fixadora de fosfato para ATP (também conhecida como a alça P). Um segundo grupo (V289A, F311L, T315I, F317L) pode ser encontrado no sítio de ligação de Gleevec e interage diretamente com o inibidor via ligações de hidrogênio ou interações de Van der Waals. O terceiro grupo de mutações (M351T, E355G) se agrupa bem próximo ao domínio catalítico. O quarto grupo de mutações (H396R/P) fica localizado na alça de ativação, cuja conformação é a chave molecular que controla a ati-

vação/inativação das cinases. Mutações pontuais BCR-ABL associadas à resistência de Gleevec detectada em pacientes com CML e ALL incluem: M224V, L248V, G250E, G250R, Q252R, Q252H, Y253H, Y253F, E255K, E255V, D276G, T277A, V289A, F311L, T315I, T315N, F317L, M343T, M315T, E355G, F359V, F359A, V379I, F382L, L387M, L387F, H396P, H396R, A397P, S417Y, E459K, e F486S (as posições dos aminoácidos, indicadas pelo código de uma letra, são aquelas para a seqüência do Gen-Bank, número de acesso AAB60394, e correspondem ao ABL tipo 1a; Martinnelli et al., Haematologica/The Hematology Journal, 2005, Abril; 90-4). A menos que de outra forma especificado nesta invenção, Bcr-Abl refere-se ao tipo selvagem e às formas mutantes da enzima.

"Tratar", "tratando" e "tratamento" referem-se a um método de alívio ou melhora de uma doença e/ou seus conseqüentes sintomas.

Descrição das Modalidades Preferidas

A proteína de fusão BCR-Abl é o resultado de uma translocação recíproca que funde o proto-oncogene Abl com o gene Bcr. BCR-Abl é então capaz de transformar células B através do aumento da atividade mitogênico. Este aumento resulta em uma redução da sensibilidade à apoptose, assim como na alteração da adesão e alojamento de células progenitoras de CML. A presente invenção fornece compostos, composições e métodos para o tratamento de doenças associadas a cinases, particularmente doenças associadas às cinases Abl, Bcr-Abl, Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, PKC α , SAPK2 α , Tie2, TrkB e P70S6K. Por exemplo, leucemia e similares distúrbios proliferativos associados a BCR-Abl podem ser tratados através da inibição do tipo selvagem e de formas mutantes de Bcr-Abl.

Em uma modalidade, com referência aos compostos de fórmula I, X é CH e Y é selecionado de CH e N; R₂ é hidrogênio e R₃ é hidrogênio.

Em uma outra modalidade, R₁ é selecionado de -NHR₇ e -NHC(O)R₈; onde R₇ é selecionado de: hidrogênio; amino; metila; etila; isopropila; ciclopropila; morfolino-etila; benzila opcionalmente substituída por radicais 1-3 metóxi; piridinila substituída por um grupo selecionado de morfo-

lino-metila, dimetil-amino-etila e dimetil-amino-metila; metil-piperazinil-etila; piperazinil-etila; metil-piperazinil-propila; pirrolidinil-etila; pirrolidinil-metila opcionalmente substituída por etila; piperidinil-metila; piperidinila opcionalmente substituída por metila; e metil-piperazinila; e R_8 é metila.

5 Em uma outra modalidade, R_4 é metila; e R_5 é selecionado de -C(O)NHR₁₁ e -NHC(O)R₁₁; onde R₁₁ é selecionado de fenila, 2-oxopirrolidin-1-ila, 1,3,4-tiadiazolila, piridinila, pirazolila, tienila, isoxazolila e tiazolila; onde o referido fenila, pirazolila, tienila, 2-oxopirrolidin-1-ila, 1,3,4-tiadiazolila, piridinila, isoxazolila ou tiazolila é opcionalmente substituída por 1 a 3 radi-
10 cais independentemente selecionados de halo, trifluormetila, metil-piperazinila, etil-piperazinila, 2-oxoazetidin-1-ila, morfolino, morfolino-metila, hidróxi-etil-piperazinila, dimetilamino-etil-(metil)amino, dimetilamino-propil-(metil)amino, metil-imidazolila, metila, isopropila, t-butila, metóxi, metil-piperidinil-óxi, metil-piperazinil-metila, etil-piperazinil-metila, etila e ciclopropila.

15 Os compostos preferidos da invenção são selecionados de: N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-[4-(2-hidróxi-etil)-piperazin-1-il]-5-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico; N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(1-metil-piperidin-4-ilóxi)-5-trifluormetil-benzamida; {3-[3-(6-ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-amida do ácido 1-t-Butil-5-metil-1H-pirazol-3-carboxílico; {3-[3-(6-ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-tiofeno-2-carboxílico; 3-[3-(6-Ciclo-

20

25

30

propilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluormetil-fenil)-benzamida; 3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-N-[3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluormetil-fenil]-benzamida; N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluormetil-benzamida; 4-Cloro-N-{3-[3-(6-ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; 4-Cloro-N-(4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; 3-(4-Metil-imidazol-1-il)-N-(4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-5-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-(1-metil-piperidin-4-ilóxi)-5-trifluormetil-benzamida; 4-(4-Etil-piperazin-1-il)-N-(4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; (4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-amida do ácido 1-t-Butil-5-metil-1H-pirazol-3-carboxílico; (4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-amida do ácido 5-t-Butil-2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico; 4-Metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-N-(3-trifluormetil-fenil)-benzamida; N-(4-Cloro-3-trifluormetil-fenil)-4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-benzamida; 3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluormetil-fenil)-benzamida; 3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-N-(4-cloro-3-trifluormetil-fenil)-4-metil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-etil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(1-metil-piperidin-4-ilóxi)-5-trifluormetil-benzamida; {3-[3-(6-amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-amida do ácido 1-t-Butil-5-metil-1H-pirazol-3-carboxílico; {3-[3-(6-

amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico; {3-[3-(6-amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-tiofeno-2-carboxílico; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-piperazin-1-il-5-trifluor-
 5 metil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-[4-(2-hidróxi-etil)-piperazin-1-il]-5-trifluormetil-benzamida; 3-[3-(6-Acetilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-N-[4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluormetil-fenil]-4-metil-benzamida; N-(4-Me-
 10 til-3-{3-[6-(5-morfolin-4-ilmetil-piridin-2-ilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{3-[6-(4-morfolin-4-ilmetil-piridin-2-ilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(3-{3-[6-(5-Dimetilaminometil-piridin-2-ilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-4-metil-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(3-{3-[6-(4-Dimetilamino-
 15 metil-piridin-2-ilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-4-metil-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{6-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etilamino]-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{6-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propilamino]-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino}-
 20 fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Amino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-
 25 4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-(4-etil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-[4-(2-hidróxi-etil)-piperazin-1-il]-5-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluormetil-benzamida; 4-Metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilami-
 30 no]-N-(3-trifluormetil-fenil)-benzamida; 4-Metil-3-[6-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etilamino]-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-N-(3-trifluormetil-fenil)-benzamida; 4-Metil-3-[6-(2-piperazin-1-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-N-(3-trifluor-

metil-fenil)-benzamida; N-[3-(6-Hidrazino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Isopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; N-[4-Metil-3-(6-metilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Etilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 3-t-Butil-isoxazol-5-carboxílico; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-isoxazol-3-carboxílico; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-tiofeno-2-carboxílico; N-(4-t-Butil-tiazol-2-il)-4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-benzamida; N-{4-Metil-3-[6-(2-pirrolidin-1-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-(3-{6-[(1-Etil-pirrolidin-2-ilmetil)-amino]-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino}-4-metil-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{6-[(piperidin-4-ilmetil)-amino]-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-[6-(piperidin-4-ilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-{4-Metil-3-[6-(1-metil-piperidin-4-ilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-[6-(4-metil-piperazin-1-ilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-Ciclopropil-isoxazol-3-carboxílico; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-Ciclopropil-2H-pirazol-3-carboxílico; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(2-metoxipiridin-4-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(2-cloropiridin-4-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(4-(trifluormetil)tiazol-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(3-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)piridin-2-ilamino)-N-(2-(3-(dimetilamino)propóxi)-5-(trifluorometil)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(3-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)piridin-2-ilamino)-N-(2-(N-(2-(dimetilamino)etil)-N-metilamino)-5-(trifluormetil)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-(tri-

fluormetil)-2-(morfolinometil)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-t-butil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-(trifluormetil)-2-(2-oxopirrolidin-1-il)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(2-(N-(2-(dimetilamino)etil)-N-metilamino)-5-(trifluormetil)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(6-etilpiridin-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-t-butil-4-metiltiazol-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(4-t-butiltiazol-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(6-(trifluormetil)piridin-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(4-(trifluormetil)piridin-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-4-metil-N-(piridin-4-il)benzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(3-(trifluormetil)-4-(2-oxoazetidin-1-il)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-4-metil-N-(piridin-2-il)benzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(1-etil-1H-pirazol-4-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-(trifluormetil)-2-morfolinofenil)-4-metilbenzamida; N-(2-(3-(dimetilamino)propóxi)-5-(trifluormetil)fenil)-3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-(trifluormetil)-2-(2-oxoazetidin-1-il)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-(trifluormetil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)-4-metilbenzamida; e 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(2-(N-(3-(dimetilamino)propil)-N-metilamino)-5-(trifluormetil)fenil)-4-metilbenzamida.

Outros compostos preferidos da invenção estão detalhados nos Exemplos e na Tabela I, *infra*.

Farmacologia e Utilidade

Os compostos da invenção modulam a atividade das cinases e, como tais, são úteis para tratar doenças ou distúrbios em que as cinases contribuem para a patologia e/ou a sintomatologia da doença. Exemplos de

cinases que são inibidas pelos compostos e composições descritos nesta invenção e contra as quais os métodos descritos neste relatório são úteis incluem, porém sem limitação, Abl, BCR-Abl (tipo selvagem e formas mutantes), Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, PKC α , SAPK2 α , Tie2, TrkB e P70S6K.

A Abelson tirosina cinase (isto é, Abl, c-Abl) está envolvida na regulação do ciclo celular, na resposta celular ao estresse genotóxico, e na transmissão de informações sobre o ambiente celular através da sinalização de integrina. De um modo geral, parece que a proteína Abl tem um papel complexo como um módulo celular que integra sinais de várias fontes extracelulares e intracelulares e que influencia decisões referentes ao ciclo celular e à apoptose. A Abelson tirosina cinase inclui derivados subtipos tais como a BCR-Abl de fusão quimérica (oncoproteína) com atividade de tirosina cinase desregulada ou a v-Abl. A BCR-Abl é crítica na patogênese de 95% das leucemias mielogênicas crônicas (CML) e 10% das leucemias linfocíticas agudas. STI-571 (Gleevec) é um inibidor da tirosina cinase BCR-Abl oncogênica e é usado para o tratamento de leucemia mielóide crônica (CML). No entanto, alguns pacientes no estágio de crise blástica da CML são resistentes ao STI-571 devido a mutações na cinase BCR-Abl. Foram reportadas até hoje mais de 22 mutações com as mais comuns sendo G250E, E255V, T315I, F317L e M351T.

Os compostos da presente invenção inibem a cinase abl, especialmente a cinase v-abl. Os compostos da presente invenção também inibem a cinase BCR-Abl do tipo selvagem e as mutações da BCR-Abl e são portanto adequados para o tratamento de câncer e de doenças tumorais positivos para Bcr-abl, tais como leucemias (especialmente leucemia mielóide crônica e leucemia linfoblástica aguda, onde são encontrados especialmente mecanismos de ação apoptóticos), e também apresentam efeitos sobre o subgrupo de células-tronco leucêmicas assim como potencial para a purificação dessas células in vitro depois da remoção das referidas células (por exemplo, remoção da medula óssea) e reimplantação das células depois de terem sido clarificadas das células cancerosas (por exemplo, reimplantação

das células da medula óssea purificadas).

A via de sinalização Ras-Raf-MEK-ERK medeia a resposta celular a sinais de crescimento. A Ras é mutada para uma forma oncogênica em ~15% dos cânceres humanos. A família Raf pertence à serina/treonina cinase e inclui três membros, A-Raf, B-Raf e c-Raf (ou Raf-1). O foco sobre a Raf sendo um alvo medicamentoso foi concentrado na relação da Raf como um efetor descendente da Ras. No entanto, dados recentes sugerem que a B-Raf pode ter um papel proeminente na formação de certos tumores sem necessidade de um alelo de Ras ativado (Nature 417, 949 - 954 (01 Jul 2002). Em particular, mutações de B-Raf foram detectadas em um grande percentual de melanomas malignos.

Os tratamentos médicos existentes para melanoma são de eficácia limitada, especialmente para melanomas no estágio final. Os compostos da presente invenção também inibem processos celulares envolvendo a cinase b-Raf, oferecendo uma nova oportunidade terapêutica para tratamento de cânceres humanos, especialmente para melanoma.

Os compostos da presente invenção também inibem processos celulares envolvendo a cinase c-Raf. A c-Raf é ativada pelo oncogene ras, que é mutado em inúmeros cânceres humanos. Portanto a inibição da atividade de cinase da c-Raf pode proporcionar uma maneira de prevenir o crescimento tumoral mediado por ras [Campbell, S. L., Oncogene, 17, 1395 (1998)].

PDGF (fator de crescimento de derivados plaquetários) é um fator de crescimento muito comum, que desempenha um papel importante tanto no crescimento normal como também na proliferação celular patológica, tal como se observa na carcinogênese e em doenças de células dos músculos lisos dos vasos sanguíneos, por exemplo na aterosclerose e na trombose. Os compostos da invenção podem inibir a atividade do receptor de PDGF (PDGFR) e são, portanto, adequados para o tratamento de doenças tumorais, tais como gliomas, sarcomas, tumores de próstata, e tumores de cólon, mama, e ovário.

Os compostos da presente invenção inibem a atividade de KDR

que foi identificado como um dos principais receptores de VEGF de alta afinidade. KDR apresenta expressão celular endotelial mais abundante e acredita-se que ele domina a resposta angiogênica o que o torna de grande interesse terapêutico e diagnóstico. A expressão de KDR é altamente supra-regulada nos vasos angiogênicos, especialmente em tumores que induzem uma forte resposta angiogênica.

Os compostos da presente invenção podem ser usados não apenas como uma substância inibidora de tumor, por exemplo em câncer de pulmão de células pequenas, mas também como um agente para tratar distúrbios proliferativos não malignos, tais como aterosclerose, trombose, psoríase, escleroderma e fibrose, assim como para a proteção das células-tronco, por exemplo para combater o efeito hemotóxico de agentes quimioterápicos, tais como 5-fluoruracila, e na asma. Os compostos da invenção podem ser usados especialmente para o tratamento de doenças, que respondem a uma inibição da cinase receptora de PDGF.

Os compostos da presente invenção apresentam efeitos úteis no tratamento de distúrbios que surgem como resultado de transplante, por exemplo, transplante alogênico, especialmente rejeição de tecido, tal como especialmente bronquiólite obliterativa (OB), isto é, uma rejeição crônica de transplantes de pulmão alogênicos. Ao contrário de pacientes sem OB, aqueles com OB freqüentemente apresentam uma concentração elevada de PDGF nos fluidos de lavagem bronquioalveolar.

Os compostos da presente invenção também são eficazes em doenças associadas à migração e proliferação de células dos músculos lisos vasculares (onde PDGF e PDGF-R geralmente desempenham um papel importante), tais como restenose e aterosclerose. Estes efeitos e suas consequências para a proliferação ou migração de células dos músculos lisos vasculares *in vitro* e *in vivo* podem ser demonstrados pela administração dos compostos da presente invenção, e também pesquisando-se seus efeitos sobre o espessamento da íntima vascular subsequente a uma lesão mecânica *in vivo*.

A família trk de receptores de neurotrofina (trkA, trkB, trkC) pro-

move a sobrevivência, o crescimento e a diferenciação dos tecidos neuronais e não-neuronais. A proteína TrkB é expressa em células do tipo neuroendócrino no intestino delgado e no cólon, e nas células alfa do pâncreas, nos monócitos e nos macrófagos dos nódulos linfáticos e do baço, e nas camadas granulares da epiderme (Shibayama & Koizumi, 1996). A expressão da proteína TrkB foi associada a uma progressão desfavorável de tumores de Wilms e de neuroblastomas. A TrkB é, além disso, expressa em células prostáticas cancerosas mas não em células normais. A via de sinalização descendente dos receptores de trk envolve a cascata de ativação de MAPK através dos genes Shc, Ras ativado, ERK-1 e ERK-2 genes, e a via de transdução de PLC-gama (Sugimoto et al., 2001).

A cinase c-Src transmite sinais oncogênicos de muitos receptores. Por exemplo, a superexpressão de EGFR ou HER2/neu em tumores leva à ativação constitutiva de c-src, que é característica para a célula maligna, mas que está ausente na célula normal. Por outro lado, camundongos deficientes na expressão de c-src apresentam um fenótipo osteopetrótico, indicando uma participação essencial de c-src na função de osteoclastos e um possível envolvimento em distúrbios associados.

A cinase da família Tec, Bmx, uma tirosina proteína cinase não receptora, controla a proliferação de células cancerosas epiteliais mamárias.

Foi mostrado que o receptor do fator de crescimento de fibroblastos 3 exerce um efeito regulador negativo sobre o crescimento ósseo e uma inibição da proliferação de condrócitos. A displasia tanatofórica é causada por diferentes mutações no receptor do fator de crescimento de fibroblastos 3, e uma mutação, TDII FGFR3, tem uma atividade de tirosina cinase constitutiva que ativa o fator de transcrição Stat1, levando à expressão de um inibidor do ciclo celular, interrupção do crescimento e desenvolvimento ósseo anormal (Su et al., Nature, 1997, 386, 288-292). FGFR3 também é geralmente expresso em vários cânceres do tipo mieloma. Inibidores da atividade de FGFR3 são úteis no tratamento de doenças inflamatórias ou autoimunes mediadas pelas células T incluindo, porém sem limitação artrite reumatóide (RA), artrite induzida por colágeno II, esclerose múltipla (MS), lúpus

eritematoso sistêmico (SLE), psoríase, diabetes de início na juventude, doença de Sjogren, doença da tireóide, sarcoidose, uveíte auto-imune, doença de intestino inflamado (colite de Crohn e colite ulcerativa), doença celíaca e miastenia grave.

- 5 A atividade da cinase regulada por soro e glicocorticóide (SGK) está correlacionado a atividades de canais iônicos perturbados, em particular, aquelas dos canais de sódio e/ou de potássio e os compostos da invenção podem ser úteis para tratar hipertensão.

- Lin et al. (1997) J. Clin. Invest. 100, 8: 2072-2078 e P. Lin (1998) PNAS 95, 8829-8834, mostraram uma inibição de crescimento e vascularização tumoral e também uma redução em metástases de pulmão durante infecções adenovirais ou durante injeções do domínio extracelular de Tie-2 (Tek) em modelos de tumor de mama e de xenoenxerto de melanoma. Inibidores de Tie2 podem ser usados em situações nas quais a neovascularização ocorre de forma inadequada (isto é, em retinopatia diabética, inflamação crônica, psoríase, sarcoma de Kaposi, neovascularização crônica devido à degeneração macular, artrite reumatóide, hemangioma infantil e cânceres).
- 10
- 15

- O Lck desempenha um papel na sinalização de células T. Camundongos sem o gene Lck possuem pobre capacidade de desenvolver timócitos. A função do Lck como ativador positivo de sinalização de células T sugere que inibidores de Lck podem ser úteis para o tratamento de doenças auto-imunes tais como artrite reumatóide.
- 20

- JNKs, junto com outros MAPKs, foram implicados em ter um papel na mediação de resposta celular para câncer, agregação plaquetária induzida por trombina, distúrbios imunodeficientes, doenças auto-imunes, morte celular, alergias, osteoporose e doenças cardíacas. Os alvos terapêuticos associados à ativação da via de JNK incluem leucemia mielogênica crônica (CML), artrite reumatóide, asma, osteoartrite, isquemia, câncer e doenças neurodegenerativas. Como resultado da importância da ativação de JNK associada a doenças hepáticas ou episódios de isquemia hepática, os compostos da invenção também podem ser úteis para tratar vários distúrbios hepáticos. Um papel para JNK em doenças cardiovasculares tais como infar-
- 25
- 30

to do miocárdio ou insuficiência cardíaca congestiva também foi reportado visto que foi demonstrado que JNK medeia respostas hipertróficas a várias formas de estresse cardíaco. Já foi demonstrado que a cascata de JNK também desempenha um papel na ativação de células T, incluindo a ativação do promotor para IL-2. Por conseguinte, inibidores de JNK podem ter valor terapêutico na alteração de respostas imunes patológicas. Um papel para a ativação de JNK em vários cânceres já foi estabelecido, sugerindo o uso potencial de inibidores de JNK em câncer. Por exemplo, JNK constitutivamente ativado é associado à tumorigênese mediada por HTLV-1 [Oncogene 13:135-42 (1996)]. JNK pode desempenhar um papel no sarcoma de Kaposi (KS). Outros efeitos proliferativos de outras citocinas envolvidas na proliferação de KS, tais como fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), IL-6 e TNF α , também podem ser mediados por JNK. Além disso, a regulação do gene c-jun nas células transformadas de p210 BCR-ABL corresponde à atividade de JNK, sugerindo um papel para os inibidores de JNK no tratamento de leucemia mielogênica crônica (CML) [Blood 92:2450-60 (1998)].

Acredita-se que certas condições proliferativas anormais estejam associadas à expressão de raf e, portanto, se acredita que sejam sensíveis à inibição da expressão de raf. Níveis anormalmente altos de expressão da proteína raf também estão envolvidos na transformação e na proliferação de células anormais. Acredita-se que essas condições proliferativas anormais sejam sensíveis à inibição da expressão de raf. Por exemplo, acredita-se que a expressão da proteína c-raf desempenha um papel na proliferação de células anormais uma vez que já foi relatado que 60% das linhagens celulares de carcinoma de pulmão expressão níveis incomumente altos de c-raf mRNA e proteína. Outros exemplos de condições proliferativas anormais são distúrbios hiperproliferativos tais como cânceres, tumores, hiperplasia, fibrose pulmonar, angiogênese, psoríase, aterosclerose e proliferação de células dos músculos lisos nos vasos sanguíneos, tais como estenose ou restenose subsequente à angioplastia. A via de sinalização celular da qual raf faz parte também foi envolvida em distúrbios inflamatórios caracterizados por proliferação de células T (ativação e crescimento de células T), tais como rejeição

de enxerto de tecido, choque endotóxico, e nefrite glomerular, por exemplo.

As proteínas cinases ativadas por estresse (SAPKs) são uma família de proteínas cinases que representam a penúltima etapa nas vias de transdução de sinal que resultam na ativação do fator de transcrição c-jun e na expressão de genes regulados por c-jun. Em particular, o c-jun está envolvido na transcrição de genes que codificam proteínas envolvidas no reparo de DNA que é danificado devido a insultos genotóxicos. Por conseguinte, agentes que inibem a atividade de SAPK em uma célula previnem o reparo de DNA e tornam a célula sensível a agentes que induzem danos em DNA ou inibem a síntese de DNA e induzem a apoptose de uma célula ou que inibem a proliferação celular.

Proteínas cinases ativadas por mitógenos (MAPKs) são membros de vias de transdução de sinal conservadas que ativam fatores de transcrição, fatores de tradução e outras moléculas alvo em resposta a uma variedade de sinais extracelulares. As MAPKs são ativadas por fosforilação em um motivo de fosforilação dual tendo a sequência Thr-X-Tyr por cinase proteínas cinases ativadas por mitógenos (MKKs). Nos eucariotas superiores, o papel fisiológico da sinalização de MAPK foi correlacionado a eventos celulares tais como proliferação, oncogênese, desenvolvimento e diferenciação. Por conseguinte, a capacidade de regular a transdução de sinal por meio destas vias (particularmente via MKK4 e MKK6) pôde levar ao desenvolvimento de tratamentos e terapias preventivas para doenças humanas associadas à sinalização de MAPK, tais como doenças inflamatórias, doenças auto-imunes e câncer.

A família das proteínas cinases S6 ribossômicas humanas consiste em pelo menos 8 membros (RSK1, RSK2, RSK3, RSK4, MSK1, MSK2, p70S6K e p70S6 Kb). As proteínas cinases S6 protéicas ribossômicas desempenham funções pleotrópicas importantes, entre elas está um papel essencial na regulação da tradução de mRNA durante a biossíntese de proteínas (Eur. J. Biochem Novembro 2000; 267(21): 6321-30, Exp Cell Res. Nov. 25, 1999; 253 (1):100-9, Mol Cell Endocrinol. 25 de maio de 1999;151(1-2):65-77). A fosforilação da proteína ribossômica S6 por p70S6 também está

envolvida na regulação da motilidade celular (Immunol. Cell Biol. 2000 August;78(4):447-51) e do crescimento celular (Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol., 2000;65:101-27), e por conseguinte, pode ser importante em metástases tumores, na resposta imune e no reparo de tecidos assim como em outras doenças.

As SAPKs (também chamadas " cinases N-terminais jun" ou "JNKs") são uma família de proteínas cinases que representam a penúltima etapa nas vias de transdução de sinal que resultam na ativação do fator de transcrição de c-jun e na expressão de genes regulados por c-jun. Em particular, o c-jun está envolvido na transcrição de genes que codificam proteínas envolvidas no reparo de DNA que é danificado devido a insultos genotóxicos. Agentes que inibem a atividade de SAPK em uma célula previnem o reparo de DNA e tornam a célula sensível a modalidades terapêuticas de câncer que agem induzindo danos no DNA.

BTK desempenha um papel em doenças auto-imunes e/ou inflamatórias tais como lúpus eritematoso sistêmico (SLE), artrite reumatóide, vasculite múltipla, púrpura trombocitopênica idiopática (ITP), miastenia grave, e asma. Devido ao papel das BTKs na ativação de células B, inibidores de BTK são úteis como inibidores da atividade patogênica mediada por células B, tal como produção de auto-anticorpo, e são úteis para o tratamento de linfoma de células B e leucemia.

CHK2 é um membro da família de cinases de controle ("check-point kinase") das serina/treonina proteínas cinases e está envolvida em um mecanismo usado para a fiscalização de danos no DNA, tais como danos causados por mutágenos ambientais e espécies reativas ao oxigênio endógeno. Como resultado, ela é considerada um supressor de tumor e é um alvo para terapia de câncer.

CSK influencia o potencial metastático das células cancerosas, particularmente câncer de cólon.

Fes é tirosina proteína cinase não receptora que está envolvida em uma variedade de vias de transdução de sinal de citocina, assim como na diferenciação de células mielóides. Fes também é um componente es-

sencial do mecanismo de diferenciação de granulócitos.

A atividade da tirosina cinase receptora de Flt3 está envolvida em leucemias e síndrome mielodisplásica. Em aproximadamente 25% das AML as células leucêmicas expressam uma forma constitutivamente ativa de

5 tirosina cinase FLT3 fosforilada (p) na superfície celular. A atividade de p-FLT3 confere a vantagem de crescimento e sobrevivência às células leucêmicas. Pacientes com leucemia aguda, cujas células leucêmicas expressam atividade da cinase p-FLT3, apresentam um resultado clínico geral pobre. Inibição da atividade da cinase p-FLT3 induz a apoptose (morte celular pro-

10 gramada) das células leucêmicas.

Inibidores de $IKK\alpha$ e $IKK\beta$ (1 & 2) são terapêuticos para doenças que incluem artrite reumatóide, rejeição de transplante, doença do intestino inflamado, osteoartrite, asma, doença pulmonar obstrutiva crônica, ateroscle-

15 rose, psoríase, esclerose múltipla, acidente vascular cerebral, lúpus eritematoso sistêmico, mal de Alzheimer, isquemia cerebral, lesão cerebral traumática, mal de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica, hemorragia subaracnóide ou outras doenças ou distúrbios associados à produção excessiva de mediadores inflamatórios no cérebro e no sistema nervoso central.

Met é associada à maioria dos tipos de cânceres humanos importantes e sua expressão freqüentemente é correlacionada a um prognóstico ruim e metástase. Inibidores de Met são terapêuticos para doenças que incluem cânceres tais como câncer de pulmão, NSCLC (câncer de pulmão não-pequenas células), câncer ósseo, câncer de pâncreas, câncer de pele, câncer da cabeça e pescoço, melanoma cutâneo ou intra-ocular, câncer de

25 útero, câncer de ovário, câncer retal, câncer da região anal, câncer de estômago, câncer de cólon, câncer de mama, tumores ginecológicos (por exemplo, sarcomas uterinos, carbinoma das trompas de Falópio, carcinoma do endométrio, carcinoma cervical, carcinoma da vagina ou carcinoma da vulva), doença de Hodgkin, câncer de esôfago, câncer do intestino delgado,

30 câncer do sistema endócrino (por exemplo, câncer da tireóide, paratireóide ou glândulas adrenais), sarcomas dos tecidos moles, câncer de uretra, câncer de pênis, câncer de próstata, leucemia crônica ou aguda, tumores sólidos

dos da infância, linfomas linfocíticos, câncer de bexiga, câncer renal ou câncer de ureter (por exemplo, carcinoma de células renais, carcinoma da pélvis renal), malignidade pediátrica, neoplasmas do sistema nervoso central (por exemplo, linfoma do SNC primário, tumores do eixo espinhal, glioma do tronco cerebral ou adenomas pituitários), cânceres do sangue tais como leucemia mielóide aguda, leucemia mielóide crônica etc., esôfago de Barrett (síndrome pré-maligna), doenças cutâneas neoplásicas, psoríase, micoses, fungóides, e hipertrofia prostática benigna, doenças associadas ao diabetes tais como retinopatia diabética, isquemia retinal e neovascularização retinal, cirrose hepática, doenças cardiovasculares tais como aterosclerose, doenças imunológicas tais como doenças auto-imunes e doenças renais. De preferência, a doença é câncer tal como leucemia mielóide aguda e câncer colorretal.

A cinase associada a Nima 2 (Nek2) é uma proteína cinase regulada pelo ciclo celular com atividade máxima no início da mitose que se localiza no centróssoma. Estudos funcionais envolveram a Nek2 na regulação da separação de centróssomas e formação de fusos. A proteína Nek2 é 2 a 5 vezes mais alta em linhagens celulares derivadas de uma gama de tumores humanos incluem tumores cervical, de ovário, de próstata, e particularmente de mama.

Doenças ou condições mediadas por p70S6K incluem, porém sem limitação, distúrbios proliferativos, tais como câncer e esclerose tuberosa.

Os compostos da invenção são úteis no tratamento de malária. O filo, Apicomplexa, contém muitos membros que são patógenos humanos ou animais incluindo, porém sem limitação, *Plasmodium spp.* (Malária), *Toxoplasma gondii* (defeitos neurológicos congênitos em humanos), *Eimeria spp.* (patógenos de aves e gado), *Cryptosporidia* (patógenos humanos e animais oportunistas), *Babesia* (parasitas de gado) e *Theileria* (parasitas de gado). A patogênese associada a estas doenças parasitárias deve-se a ciclos repetidos de invasão da célula hospedeira, replicação intracelular e lise da célula hospedeira. Por conseguinte, entender a proliferação parasitária é

essencial para o desenvolvimento de novos fármacos e vacinas, por exemplo, para tratar malária.

5 A malária é causada por parasitas protozoários do gênero *Plasmodium*. Quatro espécies de *Plasmodium* podem produzir a doença em suas várias formas: *Plasmodium falciparum*; *Plasmodium vivax*; *Plasmodium ova-*
le; e *Plasmodium malariae*. *P. falciparum*, um parasita protozoário e agente
causador da forma mais letal de malária, pode levar à malária cerebral fatal
se não for tratado. Ele é responsável por mais de 1 milhão de mortes de se-
res humanos por ano.

10 Em hospedeiros vertebrados, o parasita passa por duas fases principais de desenvolvimento, as fases hepatocítica e eritrocítica, mas é a fase eritrocítica do seu ciclo de vida que causa patologia grave. Durante a fase eritrocítica, o parasita atravessa uma série complexa, porém bem sin-
cronizada de estágios, sugerindo a existência de vias de sinalização bastan-
te regulada.

15 O cálcio serve como um mensageiro intracelular para controlar a sincronização e o desenvolvimento na fase de vida eritrocítica. Os genomas do *Plasmodium* spp. revelam muitas identidades de seqüência com motivos
20 protéicos fixadores/sensores de cálcio que incluem Pf39, calmodulina, e pro-
teínas cinases dependentes de cálcio (CDPKs). Foi mostrado que CDPKs de
Plasmodium, CDPK3 e 4 de *Plasmodium*, estão envolvidas na infecção por
mosquito. Foi demonstrado que a CDPK4 é essencial para a reprodução
sexual no intestino médio do mosquito traduzindo o sinal de cálcio em uma
resposta celular e regulando a evolução do ciclo celular no gametócito mas-
culino. A CDPK3 regula a motilidade de deslizamento do oocineto e a pene-
tração da camada que cobre o epitélio do intestino médio. A CDPK1 de *P.*
25 *falciparum* (PfCDPK1) é expressa durante a esquizogonia tardia do estágio
sanguíneo e no estágio esporozoíto infeccioso e é secretada para o vacúolo
parasitóforo por um mecanismo dependente de acilação. Ela pode ser miris-
toilada e é encontrada em abundância em frações de membrana resistentes
30 a detergente isoladas de parasitas na fase de esquizogonia. Análise de iden-
tificação do padrão baseado em ontologia revela que a PfCDPK1 é agrupada

com genes associados ao egresso de parasitas ou à invasão de eritrócitos. A inibição direta de PfCDPK1 pode interromper a evolução do ciclo de vida eritrocítico do parasita na fase de esquizogonia tardia.

Portanto, a atividade de cinase é distribuída em todos os está-
5 gios de maturação do parasita *P. falciparum* e os inibidores de cinase da presente invenção podem ser usados para tratar doenças associadas ao *Plasmodium*. Em particular, os inibidores de cinase da presente invenção podem ser o caminho para o tratamento da malária por inibição da cinase PfCDPK1. Os ensaios *in vitro*, *infra*, podem ser usados para avaliar a ativi-
10 dade dos compostos da invenção contra uma variedade de cepas de parasitas maláricos.

De acordo com o acima exposto, a presente invenção fornece ainda um método para prevenir ou tratar qualquer uma das doenças ou dis-
túrbios descritos acima em um indivíduo com necessidade de tal tratamento,
15 método este que compreende administrar ao referido indivíduo uma quanti-
dade terapeuticamente eficaz (vide "*Administration and Pharmaceutical Compositions*", *infra*) de um composto de fórmula I ou de um sal farmacêuti-
camente aceitável do mesmo. Para qualquer dos usos acima, a dosagem
requerida vai variar dependendo do modo de administração, da condição
20 particular a ser tratada e do efeito desejado.

Administração e composições farmacêuticas

Em geral, os compostos da invenção vão ser administrados em quantidades terapeuticamente eficazes por qualquer um dos modos usuais e
aceitáveis conhecidos na técnica, seja isoladamente ou em combinação com
25 ou mais agentes terapêuticos. Uma quantidade terapeuticamente eficaz po-
de variar amplamente dependendo da severidade da doença, da idade e da
saúde relativa do indivíduo, da potência do composto usado e de outros fato-
res. Em geral, foi indicado que resultados satisfatórios são obtidos sistemi-
camente a dosagens diárias de cerca de 0,03 a 2,5 mg/kg em peso corporal.
30 Uma dosagem diária indicada em mamíferos superiores, por exemplo seres
humanos, está na faixa de cerca de 0,5 mg a cerca de 100 mg, convenientemente administrados, por exemplo em doses fracionadas até quatro vezes

ao dia ou na forma retardada. Formas de dosagem unitária adequadas para administração oral compreendem de cerca de 1 a 50 mg do componente ativo.

- Os compostos da invenção podem ser administrados como composições farmacêuticas por qualquer via convencional, em particular por via entérica, por exemplo, por via oral, por exemplo, na forma de comprimidos ou cápsulas, ou por via parenteral, por exemplo, na forma de soluções ou suspensões injetáveis, por via tópica, por exemplo, na forma de loções, géis, pomadas ou cremes, ou em uma forma nasal ou na forma de supositório.
- 5 Composições farmacêuticas compreendendo um composto da presente invenção na forma livre ou na forma de um sal farmaceuticamente aceitável em associação com pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável podem ser produzidas de maneira convencional por métodos de misturação, granulação ou revestimento. Por exemplo, as composições orais
- 10 podem ser comprimidos ou cápsulas gelatinosas compreendendo o componente ativo junto com a) diluentes, por exemplo, lactose, dextrose, sacarose, manitol, sorbitol, celulose e/ou glicina; b) lubrificantes, por exemplo, sílica, talco, ácido esteárico, seu sal de magnésio ou de cálcio e/ou polietileno glicol; para comprimidos também c) aglutinantes, por exemplo, silicato de
- 15 magnésio e alumínio, pasta de amido, gelatina, tragacanto, metilcelulose, carboximetilcelulose sódica e/ou polivinilpirrolidona; se desejado d) desintegrantes, por exemplo, amidos, ágar, ácido algínico ou seu sal de sódio, ou misturas efervescentes; e/ou e) absorventes, corantes, flavorizantes e adoçantes. As composições injetáveis podem ser soluções ou suspensões iso-
- 20 tônicas aquosas, e os supositórios podem ser preparados a partir de emulsões ou suspensões graxas. As composições podem ser esterilizadas e/ou conter adjuvantes, tais como agentes conservantes, estabilizantes, umectantes ou emulsificantes, promotores de solução, sais para regular a pressão osmótica e/ou tampões. Além disso, elas também podem conter outras substâncias
- 25 terapêuticamente valiosas. Formulações adequadas para aplicações transdérmicas incluem uma quantidade eficaz de um composto da presente invenção com um veículo. Um veículo pode incluir solventes farmaceutica-
- 30

mente aceitáveis absorvíveis para auxiliar a passagem através da pele do hospedeiro. Por exemplo, os dispositivos transdérmicos estão na forma de uma bandagem compreendendo um membro de forro, um reservatório contendo o composto opcionalmente com veículos, opcionalmente uma barreira controladora da taxa de liberação para distribuir o composto para a pele do hospedeiro a uma taxa controlada e predeterminada durante um período de tempo prolongado, e um meio para prender o dispositivo à pele. Formulações transdérmicas matriciais também podem ser usadas. Formulações adequadas para aplicação tópica, por exemplo, à pele e aos olhos, são de preferência soluções aquosas, pomadas, cremes ou géis bastante conhecidos na técnica. Estas formulações podem conter solubilizantes, estabilizantes, agentes aumentadores da tonicidade, tampões e conservantes.

Os compostos da invenção podem ser administrados em quantidades terapeuticamente eficazes em combinação com um ou mais agentes terapêuticos (combinações farmacêuticas). Por exemplo, podem ocorrer efeitos sinérgicos com outras substâncias imunomoduladoras ou antiinflamatórias, por exemplo quando usados em combinação com ciclosporina, rapamicina, ou ascomicina, ou análogos imunossuppressores dos mesmos, por exemplo ciclosporina A (CsA), ciclosporina G, FK-506, rapamicina, ou compostos equiparáveis, corticosteróides, ciclofosfamida, azatioprina, metotrexato, brequinar, leflunomida, mizoribina, ácido micofenólico, micofenolato mofetila, 15-deoxispergualina, anticorpos imunossuppressores, especialmente anticorpos monoclonais para receptores de leucócitos, por exemplo MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD25, CD28, B7, CD45, CD58 ou seus ligandos, ou similares compostos imunomoduladores, tais como CTLA41g. Onde os compostos da invenção são administrados em conjunto com outras terapias, as dosagens dos compostos co-administrados naturalmente vão variar dependendo do tipo de co-fármaco empregado, do fármaco específico empregado, da condição sendo tratada e assim por diante.

A invenção também fornece combinações farmacêuticas, por exemplo um kit, compreendendo a) um primeiro agente que é um composto da invenção descrito neste relatório, na forma livre ou na forma de um sal

farmaceuticamente aceitável, e b) pelo menos um co-agente. O kit pode compreender instruções para sua administração.

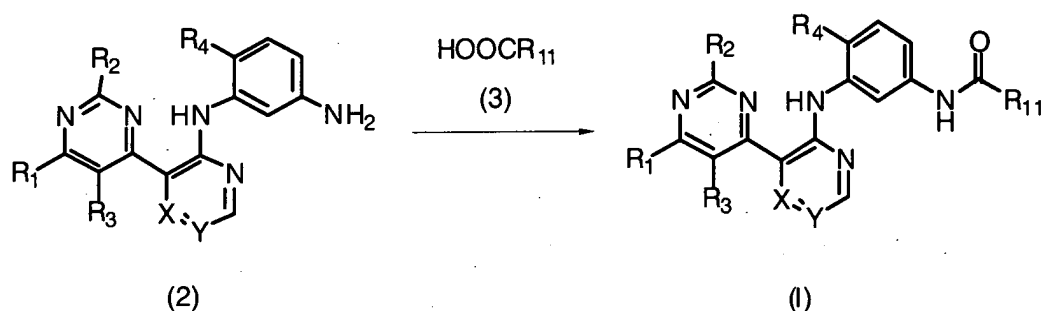
Os termos "co-administração" ou "administração combinada" ou similares utilizados nesta invenção abrangem a administração dos agentes terapêuticos selecionados a um único paciente, e incluem regimes de tratamento nos quais os agentes não são necessariamente administrados pela mesma via de administração ou ao mesmo tempo.

O termo "combinação farmacêutica" conforme usado neste relatório significa um produto que resulta da mistura ou combinação de mais de um componente ativo e inclui combinações fixas e não fixas dos componentes ativos. O termo "combinação fixa" significa que os componentes ativos, por exemplo um composto de fórmula I e um co-agente, são ambos administrados a um paciente simultaneamente na forma de uma entidade ou dosagem única. O termo "combinação não fixa" significa que os componentes ativos, por exemplo um composto de fórmula I e um co-agente, são ambos administrados a um paciente como entidades separadas seja simultaneamente, concorrente ou seqüencialmente sem limites de tempo específicos, onde tal administração oferece níveis terapeuticamente eficazes dos 2 compostos no corpo do paciente. Esta última definição também se aplica à terapia com um coquetel, por exemplo a administração de 3 ou mais componentes ativos.

Processos para fazer os compostos da invenção

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

Compostos de fórmula I, onde R_5 é $-NHC(O)R_{11}$, podem ser preparados pelo procedimento mostrado no esquema reacional I a seguir:

Esquema reacional I

onde X, Y, R₁, R₂, R₃, R₄ e R₁₁ são como definidos para a fórmula I no Sumário da Invenção. Um composto de fórmula I pode ser preparado por reação de um composto de fórmula 2 com um composto de fórmula 3 na presença de uma base adequada (por exemplo, DIEA, ou outras) e um agente reativo (por exemplo, HATU, ou similares). A reação ocorre em uma faixa de temperatura de cerca de 5 a cerca de 50°C e pode levar até cerca de 10 horas para terminar. Uma reação semelhante é empregada, usando materiais de partida apropriados, para os compostos da invenção onde R₅ é -C(O)NHR₁₁.

Um exemplo detalhado da síntese de um composto de fórmula I pode ser encontrada na seção Exemplos, *infra*.

Processos adicionais para fazer os compostos da invenção

Um composto da invenção pode ser preparado como um sal de adição de ácido farmacologicamente aceitável por reação da forma de base livre do composto com um ácido inorgânico ou orgânico farmacologicamente aceitável. Alternativamente, um sal de adição de base farmacologicamente aceitável de um composto da invenção pode ser preparado por reação da forma de ácido livre do composto com uma base inorgânica ou orgânica farmacologicamente aceitável. Alternativamente, as formas de sal dos compostos da invenção podem ser preparadas usando sais dos materiais de partida ou intermediários.

As formas de ácido livre ou de base livre dos compostos da invenção podem ser preparadas a partir do sal de adição de base ou do sal de adição de ácido correspondente, respectivamente. Por exemplo um composto da invenção na forma de um sal de adição de ácido pode ser convertido

na base livre correspondente por tratamento com uma base adequada (por exemplo, solução de hidróxido de amônio, hidróxido de sódio, e similares). Um composto da invenção na forma de um sal de adição de base pode ser convertido no ácido livre correspondente por tratamento com um ácido adequado (por exemplo, ácido clorídrico etc.).

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

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

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

Os compostos da presente invenção podem ser convenientemente preparados, ou formados durante o processo da invenção, como solvatos (por exemplo, hidratos). Hidratos dos compostos da presente invenção podem ser convenientemente preparados por recristalização a partir de uma mistura de solventes aquosos/orgânicos, usando solventes orgânicos tais como dioxina, tetrahidrofurano ou metanol.

Os compostos da invenção podem ser preparados como seus estereoisômeros individuais por reação de uma mistura racêmica do com-

posto com um agente de resolução oticamente ativo para formar um par de compostos diastereoisoméricos, separação dos diastereômeros e recuperação dos enantiômeros oticamente puros. Embora a resolução de enantiômeros possa ser realizada usando derivados diastereoméricos covalentes dos compostos da invenção, complexos dissociáveis são preferidos (por exemplo, sais diastereoméricos cristalinos). Diastereômeros possuem propriedades físicas distintas (por exemplo, pontos de fusão, pontos de ebulição, solubilidades, reatividade etc.) e podem ser facilmente separados tirando-se proveito dessas diferenças. Os diastereômeros podem ser separados por cromatografia, ou de preferência, por técnicas de separação/resolução baseadas nas diferenças em solubilidade. O enantiômero oticamente puro é então recuperado, junto com o agente de resolução, por qualquer meio prático que não possa resultar em racemização. Uma descrição mais detalhada das técnicas aplicáveis à resolução de estereoisômeros dos compostos de sua mistura racêmica podem ser encontradas em Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley & Sons, Inc., 1981.

Em suma, os compostos de fórmula I podem ser feitos por um processo, que envolve:

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

e

(h) opcionalmente converter um derivado do tipo pró-fármaco de um composto da invenção em sua forma não derivatizada.

Onde a produção dos materiais de partida não está particularmente descrita, os compostos são conhecidos ou podem ser preparados de maneira análoga aos métodos conhecidos na literatura ou descritos nos Exemplos a seguir.

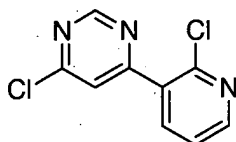
O especialista na técnica vai perceber que as transformações acima são apenas representativas dos métodos para a preparação dos compostos da presente invenção, e que outros métodos bastante conhecidos podem ser igualmente usados.

Exemplos

A presente invenção é ainda exemplificada, porém não limitada, pelos exemplos a seguir que ilustram a preparação de compostos de fórmula I de acordo com a invenção.

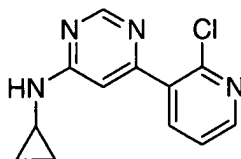
Exemplo 1

4-Cloro-6-(2-cloro-piridin-3-il)-pirimidina



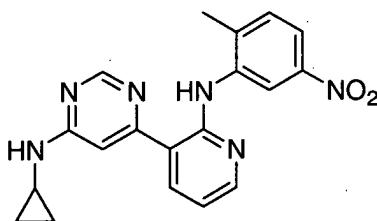
Ácido 2-Cloropiridina-3-borônico 5,0g (31,8 mmols) é misturado com 9,55g de 4,6-cloropirimidina (63,7 mmols), 1,84g de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (5%, 1,59 mmol), e 8,79g de K_2CO_3 (63,7 mmols). MeCN desgaseificado em uma proporção 1 para 1 e água como solvente 60 ml é adicionado e em seguida aquecido a 80°C por 2 horas no balão tampado. Depois de esfriamento da reação, separar a camada orgânica, e usar 200 ml de acetato de etila para fazer a extração 3 vezes. Combinar as camadas orgânicas e usar solução saturada de NaCl para lavar uma vez. A camada orgânica é secada com Na_2SO_4 e evaporada a vácuo. O produto bruto é purificado por cromatografia instantânea em 3% de MeOH em DCM. O produto final é 3,90 g de um sólido branco.

[6-(2-Cloro-piridin-3-il)-pirimidin-4-il]-ciclopropil-amina



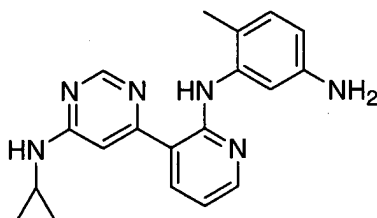
4-Cloro-6-(2-cloro-piridin-3-il)-pirimidina (1,3 g, 5,75 mmols) e ciclopropilamina (1,65g, 28,7 mmols) são misturadas em etanol 25 ml e aquecidas a 110°C por 30 minutos em um tubo vedado. Análise por LC-MS confirmou que a reação era límpida e estava terminada. Em seguida a mistura é concentrada e o produto bruto é passado por uma coluna de sílica-gel para remover o excesso de ciclopropilamina eluindo com 15% de MeOH em DCM. O produto final é um sólido amarelo-pálido, 1,40g. MS m/z 247,1 (M + 1).

Ciclopropil-{6-[2-(2-metil-5-nitro-fenilamino)-piridin-3-il]-pirimidin-4-il}-amina



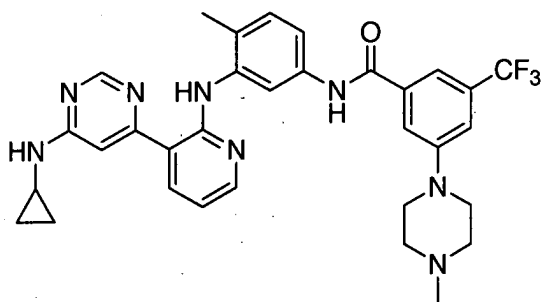
Uma mistura de [6-(2-Cloro-piridin-3-il)-pirimidin-4-il]-ciclopropil-
amina (1000 mg, 4,06 mmols), 2-Metil-5-nitro-fenilamina (1240 mg, 8,12
mmols), acetato de paládio (450 mg, 2,03 mmols), Xantophos (1,76g, 3,04
mmols) e t-butóxido de potássio (909 mg, 8,12 mmols) são misturados em
20 ml de 1, 4-dioxano anidro em uma atmosfera de nitrogênio e aquecidos a
100°C por 24 horas. Análise por TLC acompanhou a reação até o material
de partida [6-(2-Cloro-piridin-3-il)-pirimidin-4-il]-ciclopropil-amina ser total-
mente consumido e o produto desejado, formado. O produto bruto é purifica-
do em uma coluna de sílica-gel com 5% de MeOH em DCM. É obtido um
sólido amarelo, 1,03g. MS m/z 363,2 (M + 1).

N3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-il]-4-metil-benzeno-1,3-
diamina



Ciclopropil-{6-[2-(2-metil-5-nitro-fenilamino)-piridin-3-il]-pirimidin-4-il}-amina (230 mg, 0,6 mmol) e cloreto de estanho desidratado (1,44 g, 6 mmols) são misturados em 10 ml de etanol e a mistura é agitada a 50°C por uma noite. Em seguida a mistura é primeiro passada através de celite, purificada em uma coluna de sílica-gel usando 10% de MeOH em DCM para dar um produto amarelo-claro 170 mg. MS m/z 333,2 (M + 1).

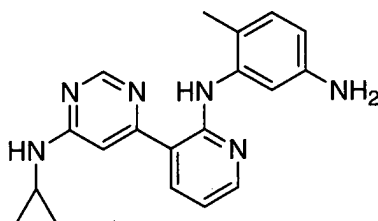
N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzamida



Ácido 3-(4-Metil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzóico (21,6 mg, 0,066 mmol) é dissolvido em DMF 500 ul e são adicionados DIEA (53ul, 0,3 mmol), HATU (25 mg, 0,066 mmol). Depois de 1 minuto, N3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-il]-4-metil-benzeno-1,3-diamina (20 mg, 0,06 mmol) é adicionada à mistura e a solução é agitada à temperatura ambiente por 5 minutos. O produto bruto é purificado em LC-MS e são obtidos 24 mg do produto final desejado como um sólido amarelo. ¹H RMN 400 MHz (d⁶-DMSO) δ 11,66 (s, 1H), 10,28 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,28 (d, 2H, J=4,8Hz), 7,93 (s, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,36 (m, 2H), 7,18 (d, 1H, J=8,6Hz), 6,93 (m, 1H), 4,20-4,06 (m, 2H), 3,64-3,40 (m, 2H), , 3,26-3,06 (m, 4H), 2,89 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 0,81 (s, 2H), 0,55 (s, 2H). MS m/z 603,3 (M + 1).

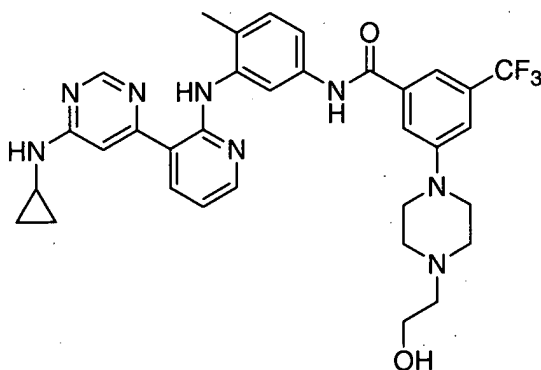
20 Exemplo 2

N3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-il]-4-metil-benzeno-1,3-diamina



Ciclopropil-{6-[2-(2-metil-5-nitro-fenilamino)-piridin-3-il]-pirimidin-4-il}-amina (460 mg, 1,2 mmol) é suspendida em 20 ml de etanol e 10% de níquel de Raney (cerca de 50 mg) são adicionados. A reação é agitada em uma atmosfera de hidrogênio por 2 horas à temperatura ambiente. A mistura reacional é passada através de celite e lavada com mais 40 ml de etanol. Depois de evaporação do solvente, são obtidos 350 mg de um sólido amarelo-claro. MS m/z 333,2 (M + 1).

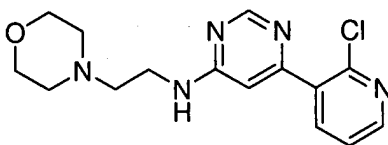
N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-[4-(2-hidróxi-etil)-piperazin-1-il]-5-trifluormetil-benzamida



10 Ácido 3-(4-Metil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzóico (21,6 mg, 0,066 mmol) é dissolvido em DMF 500 uL e são adicionados DIEA (53uL, 0,3 mmol), HATU (25 mg, 0,066 mmol). Depois de 1 minuto, ácido 3-[4-(2-Hidróxi-etil)-piperazin-1-il]-5-trifluormetil-benzóico (20 mg, 0,06 mmol) é adicionado à mistura e a solução é agitada à temperatura ambiente por 5 minutos. O produto bruto é purificado em LC-MS e são obtidos 23 mg do produto final desejado como um sólido amarelo. ¹H RMN 400 MHz (d⁶-DMSO) δ 11,66 (s, 1H), 10,28 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,28 (d, 1H, J=4,8Hz), 7,93 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,36 (m, 2H), 7,18 (d, 1H, J=8,6Hz), 6,93 (m, 1H), 4,48(s, 1H), 3,55(m, 1H), 3,35(m, 6H), 2,60 (m, 6H), 2,33 (s, 3H), 0,81 (s, 2H), 0,53 (s, 2H).MS m/z 633,3 (M + 1).

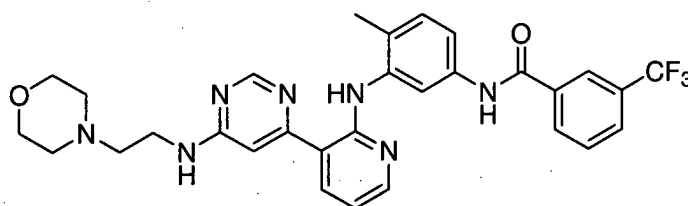
Exemplo 3

[6-(2-Cloro-piridin-3-il)-pirimidin-4-il]-(2-morfolin-4-il-etil)-amina



4-Cloro-6-(2-cloro-piridin-3-il)-pirimidina (450 mg, 2 mmols) e 4-(3-Aminoetil)morfolina (290 mg, 2 mmols) são misturadas em etanol 10 ml e aquecidas a 80°C por 30 minutos. A mistura é concentrada e o produto bruto é purificado em uma coluna de sílica-gel eluindo com 15% de MeOH em DCM. O produto final é um sólido amarelo, 570 mg. MS m/z 320,1 (M + 1).

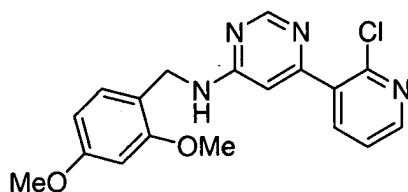
N-(4-Metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida



[6-(2-Cloro-piridin-3-il)-pirimidin-4-il]-(2-morfolin-4-il-etil)-amina (64 mg, 0,2 mmol) é misturada com N-(3-Amino-4-metil-fenil)-3-trifluormetil-benzamida (88 mg, 0,3 mmol), acetato de paládio (22,4 mg, 0,1 mmol), Xantophos (86,7 mg, 0,15 mmol) e t-butóxido de potássio (45 mg, 0,4 mmol). 4 ml de 1,4-dioxano anidro são adicionados em uma atmosfera de nitrogênio e a mistura é aquecida até 100°C por 16 horas. Depois de resfriamento para a temperatura ambiente e evaporação do solvente, o produto bruto é dissolvido em 3 ml de DMSO e purificado por LC/MS. O produto final é um sólido amarelo, 91 mg, ¹H RMN 400 MHz (d⁶-DMSO) δ 11,47 (s, 1H), 10,43 (s, 1H), 9,89 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,28 (t, 2H, J=8,4Hz), 7,97 (d, 1H, J=8,4Hz), 7,78 (t, 1H, 8,4Hz), 7,41 (d, 1H, J=8,2Hz), 7,22 (d, 1H, J=8,2Hz), 7,08 (s, 1H), 6,96 (m, 1H), 3,98-3,17 (m, 12H), 2,33 (s, 3H). MS m/z 578,2 (M + 1).

Exemplo 4

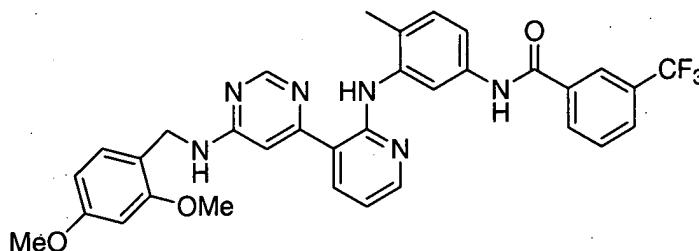
[6-(2-Cloro-piridin-3-il)-pirimidin-4-il]-(2,4-dimetóxi-benzil)-amina



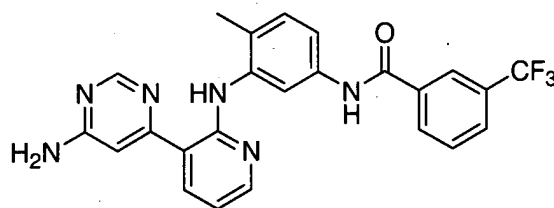
4-Cloro-6-(2-cloro-piridin-3-il)-pirimidina (450 mg, 2 mmols) e 2,4-Dimetóxi-benzilamina (340 mg, 2 mmols) são misturadas em etanol 10

ml e aquecidas a 80°C for 30 minutos. A mistura é concentrada e o produto bruto é purificado em uma coluna de sílica-gel eluindo com 5% de MeOH em DCM. O produto final é um sólido pálido, 640 mg. MS m/z 357,2 (M + 1).

N-(3-{3-[6-(2,4-Dimetóxi-benzilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-4-metil-fenil)-3-trifluormetil-benzamida



- 5 [6-(2-Cloro-piridin-3-il)-pirimidin-4-il]-(2,4-dimetóxi-benzil)-amina (72 mg, 0,2 mmol) é misturada com N-(3-Amino-4-metil-fenil)-3-trifluormetil-benzamida (88 mg, 0,3 mmol), acetato de paládio (22,4 mg, 0,1 mmol), Xantophos (86,7 mg, 0,15 mmol) e t-butóxido de potássio (45 mg, 0,4 mmol). 4
- 10 ml de 1,4-dioxano anidro é adicionado em uma atmosfera de nitrogênio e a mistura é aquecida até 100°C por 16 horas. Depois de resfriamento para a temperatura ambiente e evaporação do solvente, o produto bruto é purificado em uma coluna de sílica-gel por eluição com 5% de MeOH em DCM. O produto final é um sólido amarelo, 92 mg. MS m/z 615,3 (M + 1).
- 15 N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluormetil-benzamida

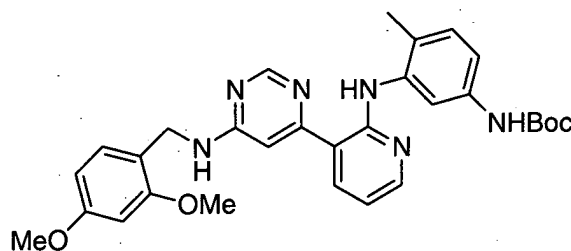


- N-(3-{3-[6-(2,4-Dimetóxi-benzilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-il-amino}-4-metil-fenil)-3-trifluormetil-benzamida (92 mg) é adicionada a 1 ml de TFA e aquecida até 70°C por 1 hora. Depois de remoção do TFA extra, o
- 20 produto bruto é dissolvido em 2 ml de DMSO e purificado por LC/MS. O produto final é um sólido amarelo, 63 mg. ¹H RMN 400 MHz (d⁶-DMSO) δ 11,65 (s, 1H), 10,43 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,26 (m, 4H), 7,99 (m, 2H), 7,78 (t, 1H, J = 8,0 Hz), 7,43 (d, 1H, J=8,0), 7,22 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 6,94 (m, 2H), 2,27 (s,

3H). MS m/z 465,2 (M + 1).

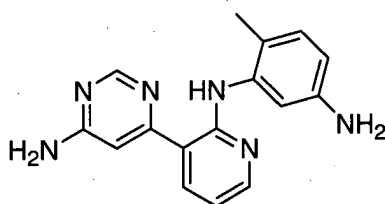
Exemplo 5

Éster t-butilico do ácido (3-{3-[6-(2,4-Dimetóxi-benzilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-4-metil-fenil)-carbâmico



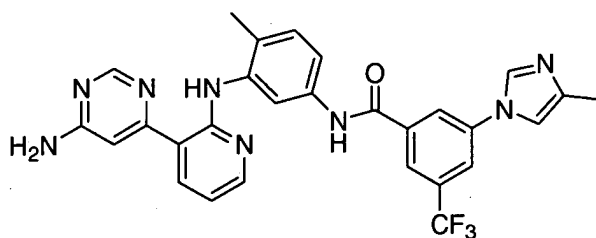
- 5 [6-(2-Cloro-piridin-3-il)-pirimidin-4-il]-(2,4-dimetóxi-benzil)-amina (360 mg, 1 mmol) é misturada com éster t-butilico do ácido (3-Amino-4-metil-fenil)-carbâmico (340 mg, 1,5 mmol), acetato de paládio (112 mg, 0,5 mmol), Xantophos (435 mg, 0,75 mmol) e t-butóxido de potássio (225 mg, 2 mmols). 10 ml de 1,4-dioxano anidro é adicionado em uma atmosfera de nitrogênio e a mistura é aquecida até 100°C por 16 horas. Depois de resfriamento para a temperatura ambiente e evaporação do solvente, o produto bruto é purificado em uma coluna de sílica-gel por eluição com 10% de MeOH em DCM. O produto final é um sólido amarelo, 390 mg. MS m/z 543,2 (M + 1).

N3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-il]-4-metil-benzeno-1,3-diamina



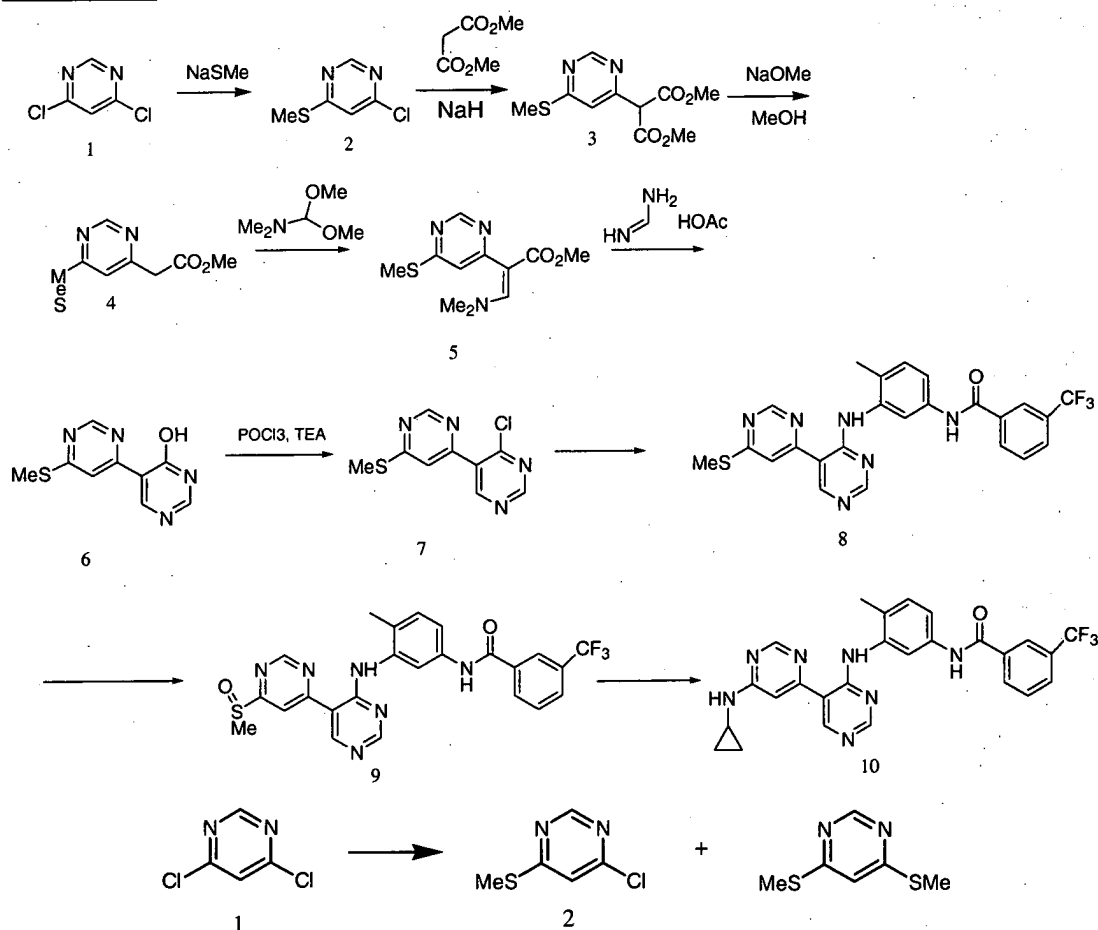
- 15 Éster t-butilico do ácido (3-{3-[6-(2,4-Dimetóxi-benzilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-4-metil-fenil)-carbâmico (390 mg) é adicionado a 5 ml de MeOH e 5 ml de HCl a 4N. A mistura é aquecida até 50°C por 2 horas. Depois de resfriamento para a temperatura ambiente e evaporação do solvente, o produto bruto é usado na reação da etapa seguinte sem purificação posterior. MS m/z 293,2 (M + 1).

N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluormetil-benzamida

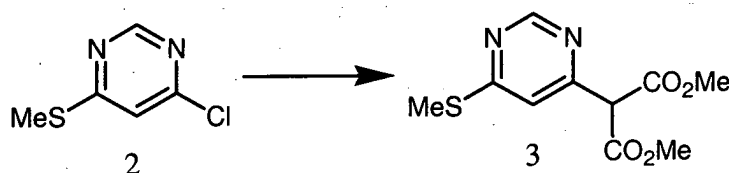


O produto bruto N3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-il]-4-metil-benzeno-1,3-diamina (36 mg, 0,1 mmol) é dissolvido em DMF 500 uL e são adicionados DIEA (87uL, 0,5 mmol), HATU (38 mg, 0,1 mmol). Em seguida ácido 3-(4-Metil-imidazol-1-il)-5-trifluormetil-benzóico (27 mg, 0,1 mmol) é adicionado à mistura e a solução é agitada à temperatura ambiente por 5 minutos. O produto bruto é purificado em LC-MS e 45 mg de produto final são obtidos como um sólido amarelo. ^1H RMN 400 MHz (d^6 -DMSO) δ 11,67 (s, 1H), 10,44 (s, 1H), 8,63 (d, 1H, $J=2,1\text{Hz}$), 8,57 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,41 (d, 1H, $J=2,1\text{Hz}$), 8,28 (m, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 8,07 (d, 1H, $J=8,0\text{Hz}$), 7,72 (s, 1H), 7,21 (d, 1H, $J=8,0\text{Hz}$), 7,14 (s, 2H), 6,93 (t, 2H, $J=5,5\text{Hz}$), 2,35 (s, 3H), 2,19 (s, 3H). MS m/z 545,2 ($M + 1$).

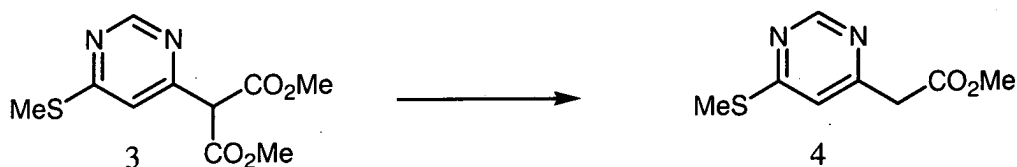
Exemplo 6



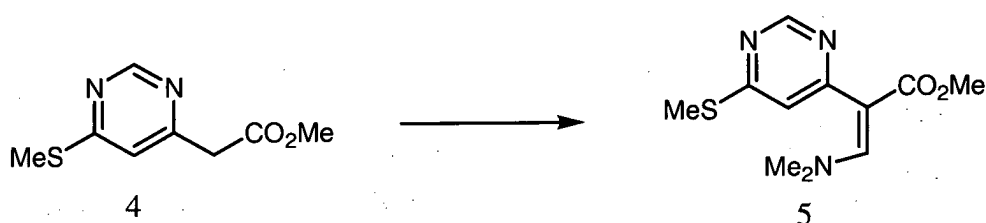
Uma mistura de 4,6-dicloro-pirimidina 1 (20,93 g, 140 mmols), tiometóxido de sódio (10,34 g, 147 mmols) em THF (100 ml) é agitada à temperatura ambiente. Depois de uma noite, a mistura reacional é concentrada. O resíduo é distribuído entre acetato de etila e salmoura. A camada orgânica é separada e lavada com salmoura, secada em Na₂SO₄. O produto bruto é purificado por recristalização a partir de hexanos (60 ml) para dar 4-cloro-6-metilsulfanil-pirimidina (15,01 g). O licor-mãe é concentrado e o resíduo é purificado por cromatografia instantânea sobre sílica-gel eluindo com acetato de etila em hexanos de 0% a 10% para dar 4,51 g de 4-cloro-6-metilsulfanil-pirimidina contendo uma pequena quantidade do subproduto 4,6-bis metiltio-pirimidina, que pôde ser facilmente removido na etapa seguinte.



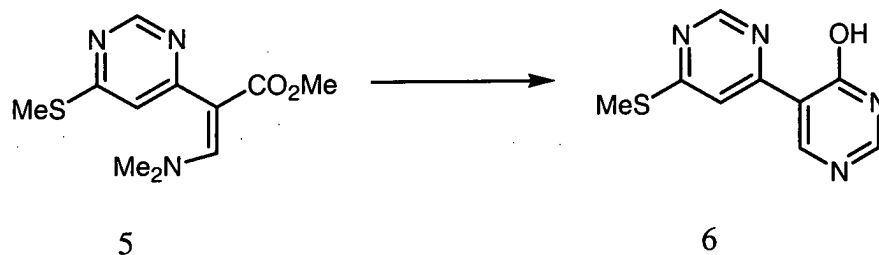
À suspensão de NaH (1,98 g, 50 mmols, 60% em óleo) em DMSO (20 ml) é adicionado malonato de dimetila (5,67 ml, 50 mmols) a 23°C (resfriado em água gelada se necessário). Depois de cessado o desprendimento de hidrogênio, 4-cloro-6-metilsulfanil-pirimidina (3,22 g, 20 mmols) é adicionada. A reação é ainda aquecida a 80°C por 5 horas. A mistura reacional é então resfriada para a temperatura ambiente, e resfriada bruscamente com NH₄Cl saturado (50 ml). Os orgânicos são extraídos com acetato de etila (3 x 60 ml). As camadas orgânicas combinadas são lavadas com salmoura (2x) e secadas em Na₂SO₄, filtradas e concentradas. 50 ml de hexanos são adicionados ao resíduo e aquecidos a 60°C por meia hora e em seguida resfriados para a temperatura ambiente. O sólido é filtrado e lavado com hexanos para dar éster dimetílico do ácido 2-(6-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-malônico (4,99 g). (se necessário, os hexanos de lavagem podem ser concentrados e purificados por cromatografia instantânea sobre sílica-gel eluindo com acetato de etila em hexanos de 0% a 40% para dar produto adicional).



Uma mistura de éster dimetílico do ácido 2-(6-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-malônico (3,35 g, 13 mmols) e metóxido de sódio (0,300 ml de solução a 25% p/v, 1,30mmol, 0,1 eq.) em MeOH (100 ml) é aquecida a 60°C por 3 horas. A mistura reacional é resfriada para a temperatura ambiente e neutralizada com solução de HCl a 1N (1,30 ml) e concentrada e o resíduo é extraído com acetato de etila. A camada orgânica é lavada com salmoura e secada em Na₂SO₄, filtrada e concentrada. O produto bruto é purificado por cromatografia instantânea sobre sílica-gel eluindo com acetato de etila em hexanos de 0% a 50% para dar éster metílico do ácido (6-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-acético (2,10 g) como um óleo amarelo. ¹H RMN 400 MHz (CDCl₃) δ 8,86 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,70 (s, 2H), 2,55 (s, 3H).

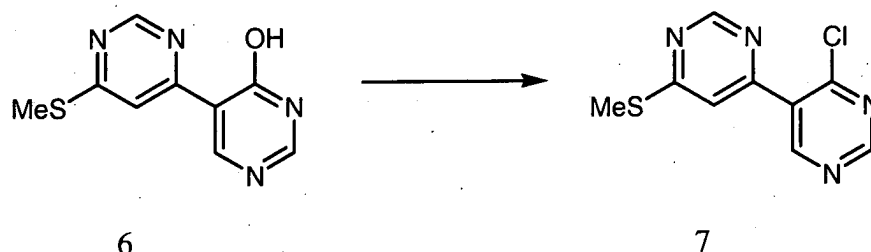


Uma mistura de éster metílico do ácido (6-metilsulfanil-pirimidin-4-il)-acético (4,83 g, 24 mmols) e N,N-dimetilformamida dimetil acetal (35 ml, 263 mmols) é aquecida a 110°C. Depois de uma noite, a mistura reacional é resfriada para a temperatura ambiente e concentrada, o resíduo é usado para a reação seguinte sem purificação posterior.

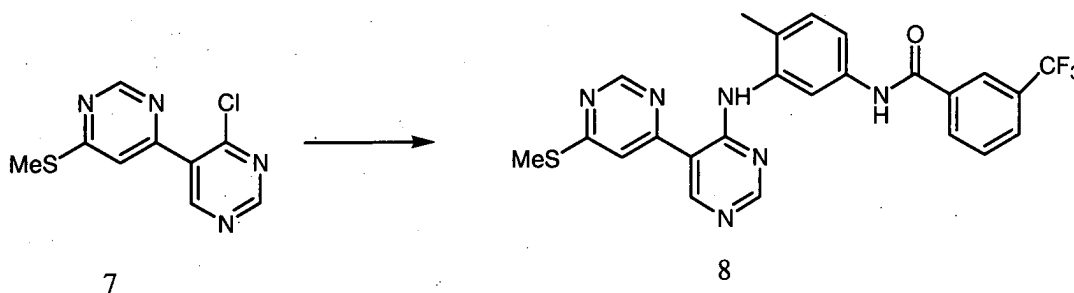


Uma mistura de 5 bruto (1,36 g) e acetato de formamidina (2,79 g, 26,8 mmols, 5,0 eq.) em 2-metoxietanol (20 ml) é aquecida a 110°C em um tubo vedado por 24 horas. A mistura reacional é resfriada para a temperatura ambiente e concentrada e o sólido é filtrado e lavado com água, e se-

cado para dar 6-metilsulfanil-[4,5']bipirimidinil-4'-ol (0,88 g) como um sólido marrom. ^1H RMN 400 MHz (d^6 -DMSO) δ 8,98 (s, 1H), 8,96 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 2,57 (s, 3H).

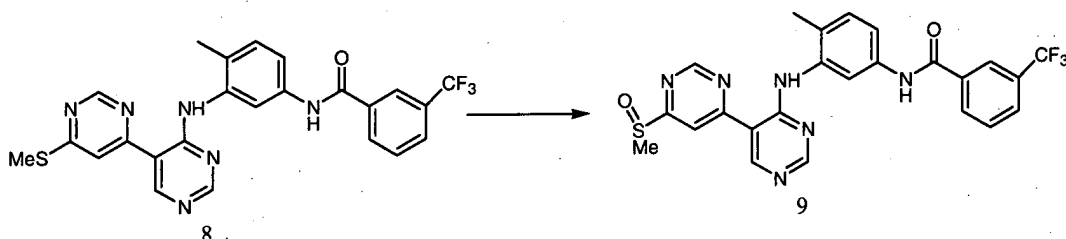


POCl₃ (1,51 ml, 16,2 mmols, 3,0 eq.) é adicionado lentamente a uma suspensão de 6-metilsulfanil-[4,5']bipirimidinil-4'-ol (1,20 g, 5,44 mmols) e trietil amina (0,76 ml, 5,44 mmols, 1,0 eq.) em acetonitrila (30 ml). A mistura reacional é aquecida a 85°C por 2 horas. Em seguida a mistura reacional é resfriada para a temperatura ambiente e despejada em água gelada e extraída com acetato de etila. A camada orgânica é lavada com salmoura e secada em Na₂SO₄, filtrada e concentrada. O produto bruto é purificado por cromatografia instantânea sobre sílica-gel eluindo com acetato de etila em hexanos de 0% a 40% para dar 4'-cloro-6-metilsulfanil-[4,5']bipirimidinila (0,937 g) como um sólido branco. ^1H RMN 400 MHz (d^6 -DMSO) δ 9,19 (s, 1H), 9,12 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz), 9,07 (s, 1H), 7,91 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz), 2,62 (s, 3H).

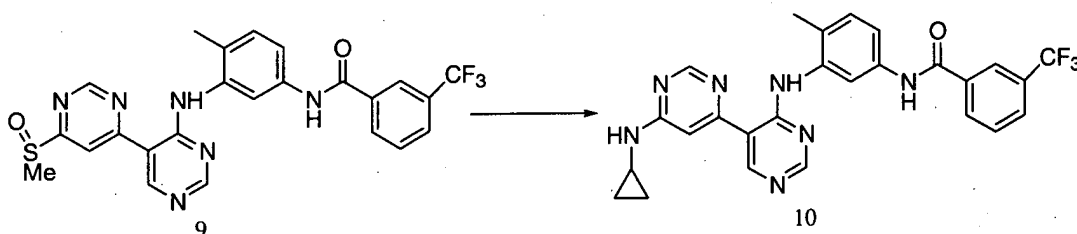


Uma mistura do composto 4'-cloro-6-metilsulfanil-[4,5'] bipirimidinila (140 mg, 0,587 mmol), N-(3-amino-4-metil-fenil)-3-trifluormetil-benzamida (189 mg, 0,643 mmol), DIPEA (0,216 ml, 1,24 mmol) em 2-butanol (5 ml) é aquecida a 110°C por 24 horas. Em seguida a mistura reacional é resfriada para a temperatura ambiente. O sólido é filtrado e lavado com água, isopropanol, e secado para dar N-[4-metil-3-(6-metilsulfanil-[4,5']bipirimidinil-4'-il-amino)-fenil]-3-trifluormetil-benzamida (260 mg) como um sólido amarelo. ^1H

RMN 400 MHz (d^6 -DMSO) δ 11,75 (s, 1H), 10,50 (s, 1H), 9,22 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,42 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 8,31 (s, 1H), 8,28 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 8,21 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 7,97 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,79 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,57 (dd, 1H, $J = 2,0, 8,4$ Hz), 7,28 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 2,65 (s, 1H), 2,33 (s, 3H). MS m/z 497,00 ($M + 1$).



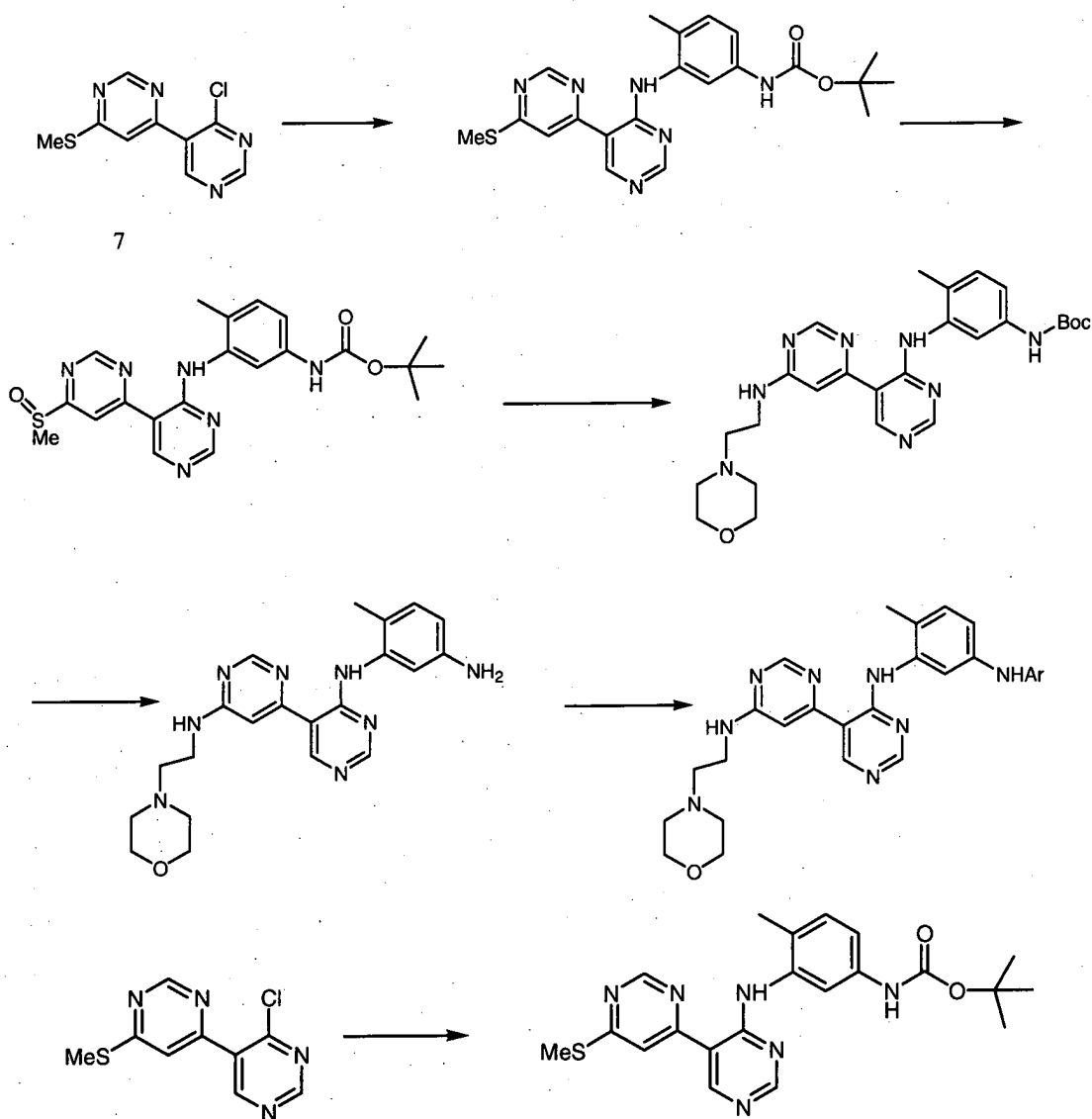
A suspensão de N-[4-metil-3-(6-metilsulfanil-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-fenil]-3-trifluormetil-benzamida (300 mg, 0,60 mmol) em 20 ml de CH_2Cl_2 é tratada com ácido 3-cloroperoxibenzóico (77% max., 267 mg, 1,2 mmol, 2,0 eq) a 0°C . A mistura reacional é deixada esquentar até a temperatura ambiente e mantida com agitação por 3 horas. Depois de completada a oxidação, a mistura reacional é resfriada bruscamente com solução saturada de tiosulfato de sódio 10 ml e vigorosamente agitada por 30 minutos, e em seguida tratada com 50 ml de diclorometano. A mistura reacional é distribuída entre diclorometano e a camada aquosa. A camada orgânica é lavada com solução saturada de NaHCO_3 , água, e salmoura sequencialmente, e em seguida secada em Na_2SO_4 , concentrada para dar N-[3-(6-Metanossulfonil-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida (280 mg) como um sólido amarelo. MS m/z 513,1 ($M + 1$).



Uma mistura de (N-[3-(6-Metanossulfonil-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida (30 mg, 0,058 mmol) e ciclopropilamina (100 μL) em 2-propanol é aquecida a 60°C por uma noite. A mistura reacional é resfriada para a temperatura ambiente, concentrada e purificada por Prep-HPLC para dar N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-

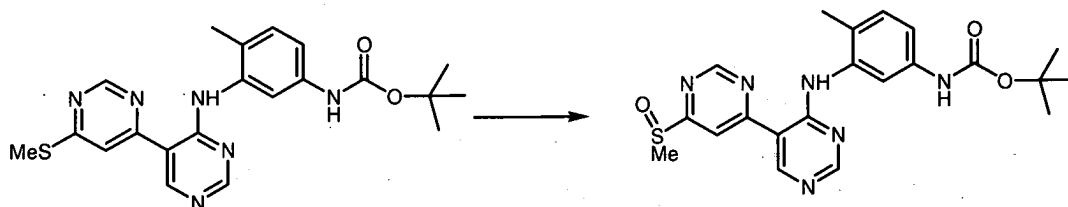
ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida como sal de TFA (19 mg). ^1H RMN 400 MHz (d^6 -DMSO) δ 10,52 (s, 1H), 8,76 (bs, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,27 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 8,20 (bs, 1H), 7,97 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 7,79 (t, 1H, $J = 8,2$ Hz), 7,55 (dd, 1H, $J = 8,2, 2,0$ Hz), 7,30 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz), 2,30 (s, 3H), 0,84 (s, 2H), 0,55 (s, 2H). MS m/z 506,2 ($M + 1$).

Exemplo 7

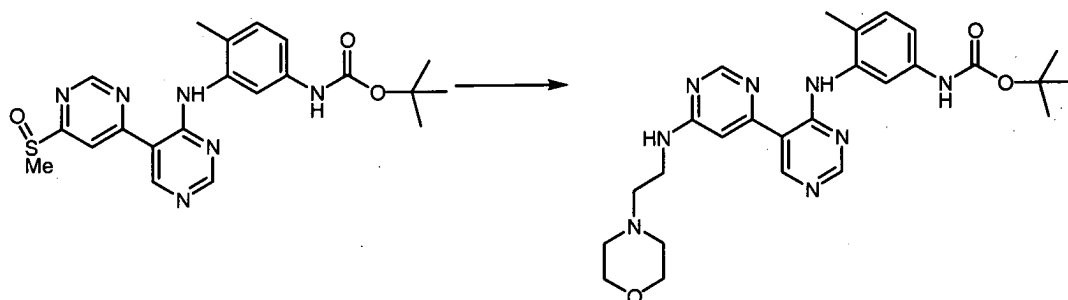


Uma mistura do composto 4'-cloro-6-metilsulfanil-[4,5'] bipirimidina (353 mg, 1,479 mmol), éster t-butílico do ácido (3-amino-4-metil-fenil)-carbâmico (361 mg, 1,624 mmol), DIPEA (0,615 ml, 1,24 mmol) em 2-butanol (7 ml) é aquecida a 110°C por 24 horas. Em seguida a mistura reacional é resfriada para a temperatura ambiente. O sólido é filtrado e lavado com água, isopropanol, e secado para dar éster t-butílico do ácido [4-metil-3-(6-

metilsulfanil-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-fenil]-carbâmico (587 mg). MS m/z 425,17 ($M + 1$).

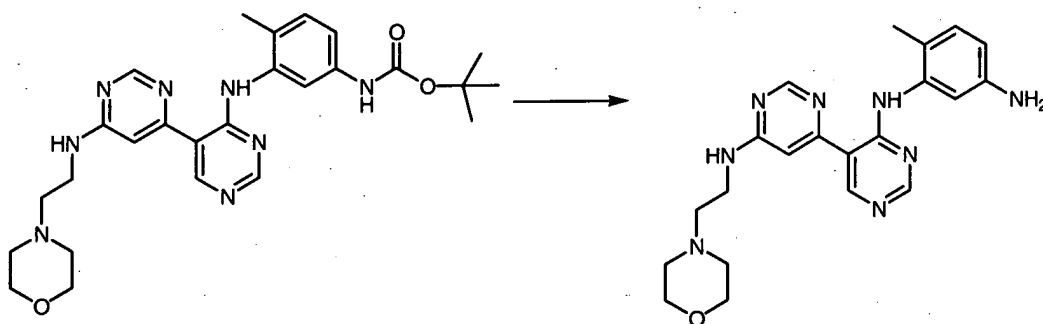


A suspensão de éster t-butílico do ácido [4-metil-3-(6-metilsulfanil-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-fenil]-carbâmico (560 mg, 1,32 mmol) em 40 ml de CH_2Cl_2 é tratada com ácido 3-cloroperoxibenzóico (77% max, 533 mg, 2,38 mmols, 1,8eq) a 0°C . A mistura reacional é deixada esquentar até a temperatura ambiente e mantida com agitação por 3 horas. Depois de completada a oxidação, a mistura reacional é resfriada bruscamente com solução saturada de tiosulfato de sódio 15 ml e vigorosamente agitada por 30 minutos, e em seguida tratada com 100 ml de diclorometano. A mistura reacional é distribuída entre diclorometano e a camada aquosa. A camada orgânica é lavada com solução saturada de NaHCO_3 , água, e salmoura sequencialmente, e em seguida secada com Na_2SO_4 , e condensada para dar éster t-butílico do ácido [3-(6-Metanossulfonil-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-carbâmico (485 mg) como um sólido amarelo. MS m/z 441,2 ($M + 1$).

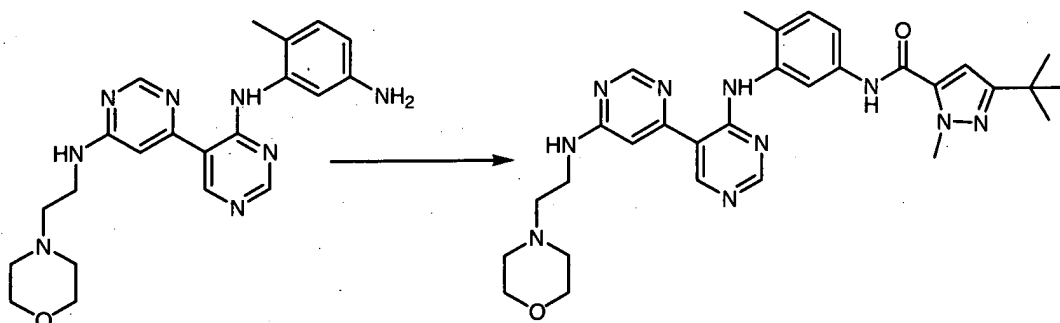


Uma mistura de éster t-butílico do ácido [3-(6-Metanossulfonil-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-carbâmico (450 mg, 1,0 mmol), diisopropiletilamina (365 μL , 2,0 mmols, 2,0 eq), e 2-Morfolin-4-il-etilamina (268 μL , 2,0 mmols, 2,0 eq.) em 2-propanol é aquecida até 80°C por uma noite. Formou-se um precipitado amarelo. A mistura reacional é resfriada para a temperatura ambiente. O sólido é filtrado e lavado com solução saturada de

NaHCO₃, água e uma pequena quantidade de etanol, e secado para dar éster t-butilíco do ácido {4-Metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-carbâmico (335 mg) como um sólido amarelo-claro. MS *m/z* 507,3 (*M* + 1).



- 5 Uma mistura de éster t-butilíco do ácido {4-Metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-carbâmico (275 mg, 0,54 mmol), solução aquosa de HCl a 2M (5 ml) em dioxano (15 ml) é aquecida até 80 °C por 3 horas. Em seguida a mistura reacional é resfriada para a temperatura ambiente, concentrada e tratada com diclorometano (50 ml). A
- 10 camada orgânica é então lavada com solução saturada de NaHCO₃, água, e salmoura, secada com Na₂SO₄, e concentrada. O produto bruto é purificado por recristalização a partir de uma mistura de acetato de etila e hexanos (v/v = 5 ml/25 ml) para dar N4'-(5-Amino-2-metil-fenil)-N6-(2-morfolin-4-il-etil)-[4,5']bipirimidinil-6,4'-diamina (170 mg) como um pó amarelo. MS *m/z* 407,2
- 15 (*M* + 1).

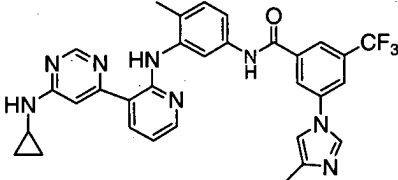
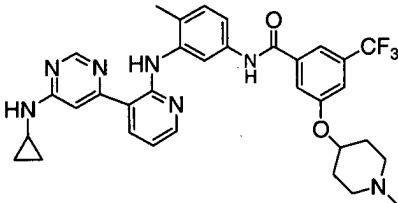
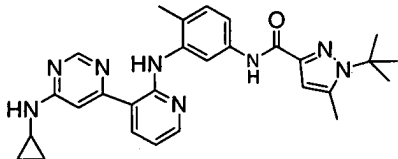


- Uma mistura de N4'-(5-Amino-2-metil-fenil)-N6-(2-morfolin-4-il-etil)-[4,5']bipirimidinil-6,4'-diamina (25 mg, 0,061 mmol), ácido 5-t-Butil-2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico (14 mg, 0,076 mmol, 1,25 eq), HATU (26 mg, 0,068 mmol, 1,1 eq), e diisopropiletil amina (35 μ L, 0,20 mmol, 3,3 eq) em
- 20 DMF (1,5 ml) é mantida em agitação por 1,5 hora. A mistura reacional é con-

centrada e purificada por Prep-HPLC para dar {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico (22 mg) como sal de TFA. ^1H RMN 400 MHz (d^6 -DMSO) δ 12,16(*bs*, 1H), 10,18(*s*, 1H), 8,74-8,69 (*m*, 2H), 8,30 (*s*, 1H), 8,03 (*bs*, 1H), 7,48(*dd*, $J=8,2$, 2,0Hz, 1H), 7,27 (*d*, $J=8,2$ Hz, 1H), 7,20 (*bs*, 1H), 6,96(*s*, 1H), 4,01(*s*, 3H), 3,90-3,10(*m*, 12H), 2,29(*s*, 3H), 1,27 (*s*, 9H). MS m/z 571,32 ($M + 1$).

Repetindo os procedimentos descritos nos exemplos acima, usando os materiais de partida apropriados, são obtidos os seguintes compostos de fórmula I, identificados na Tabela 1.

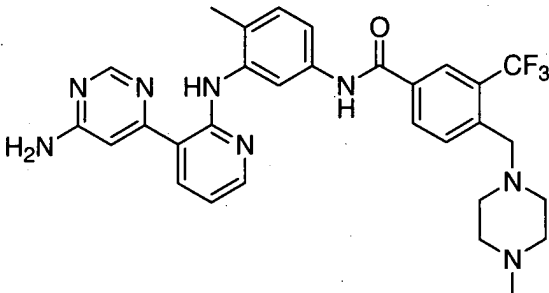
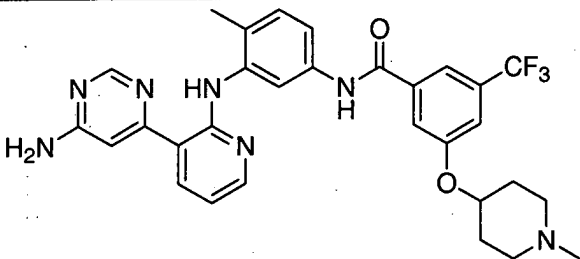
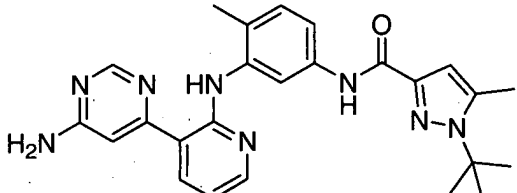
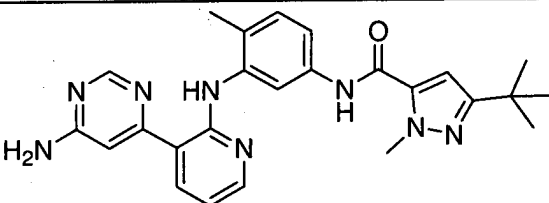
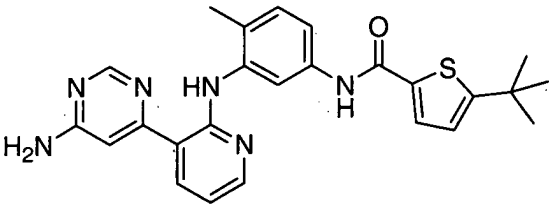
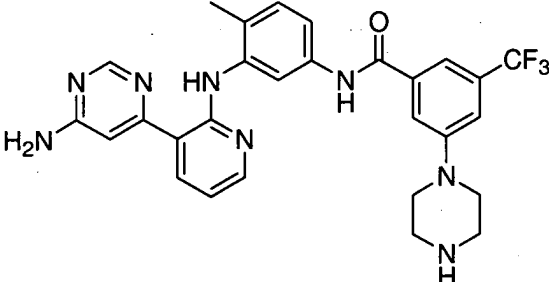
Tabela 1

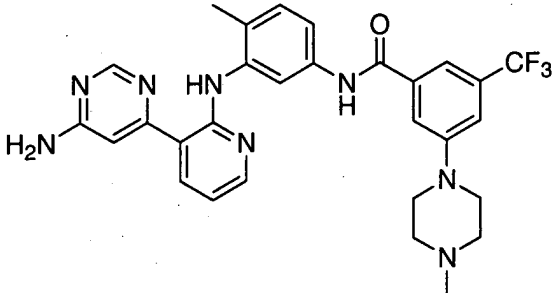
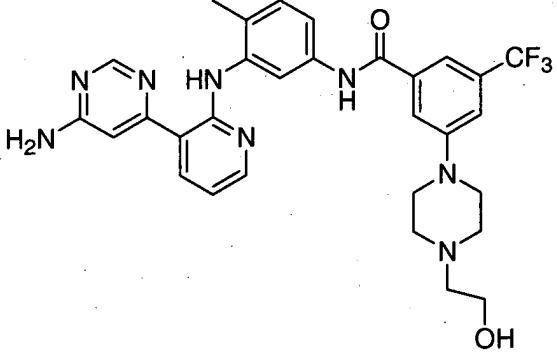
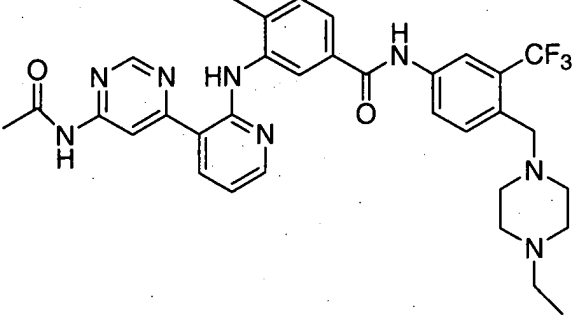
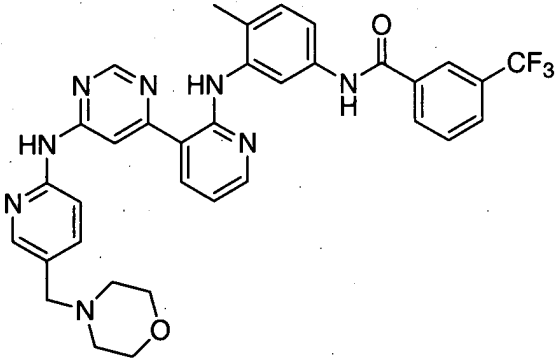
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
8		MS m/z 585,2 ($M + 1$).
9		MS 618,3 m/z ($M + 1$).
		MS m/z 497,3 ($M + 1$).

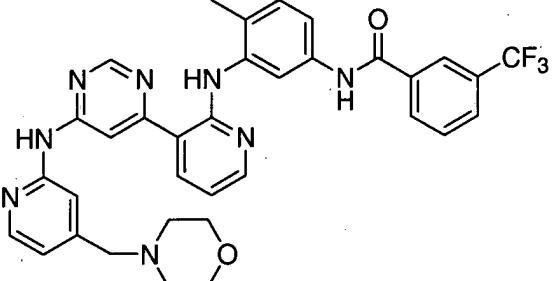
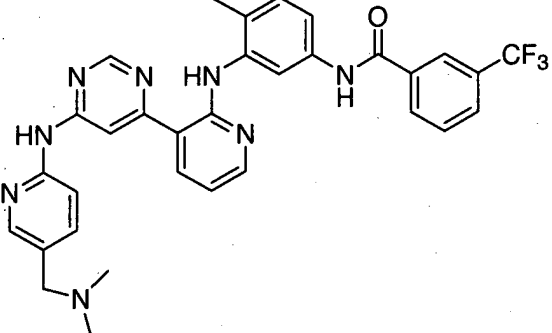
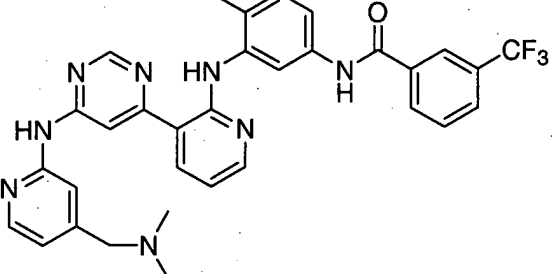
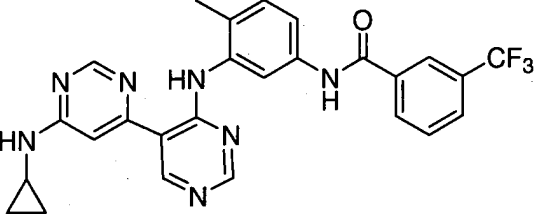
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
10		MS m/z 499,2 (M + 1).
11		MS m/z 505,2 (M + 1).
12		MS m/z 585,2 (M + 1).
13		MS m/z 505,2 (M + 1).
14		MS m/z 631,3 (M + 1).
15		MS m/z 539,3 (M + 1).

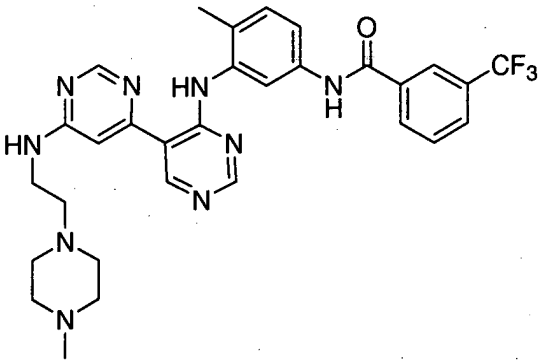
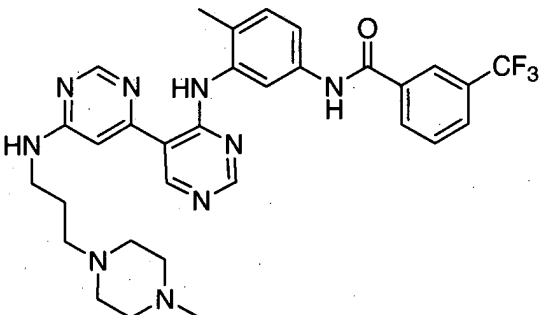
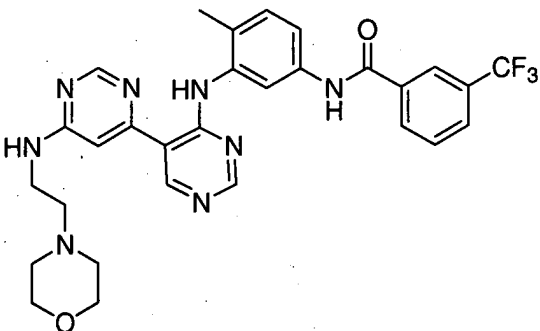
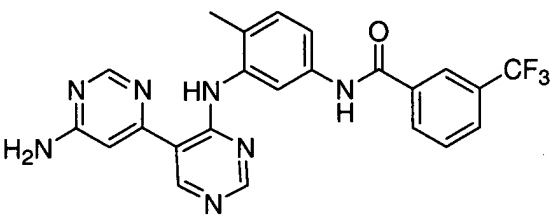
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
16		MS m/z 578,2 (M + 1).
17		MS m/z 612,2 (M + 1).
18		MS m/z 658,3 (M + 1)
19		MS m/z 691,3 (M + 1)
20		MS m/z 690,3 (M + 1)
21		MS m/z 570,3 (M + 1)
22		MS m/z 570,3 (M + 1)

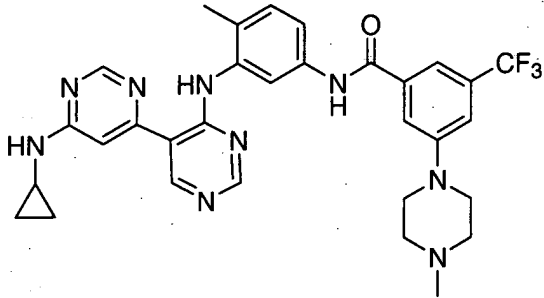
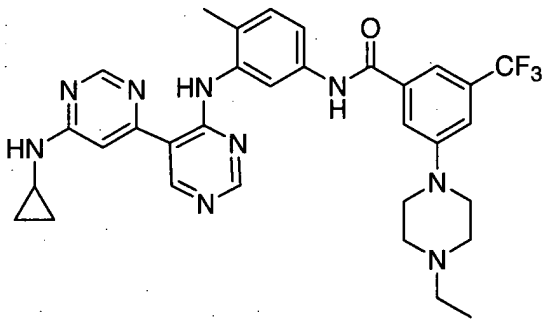
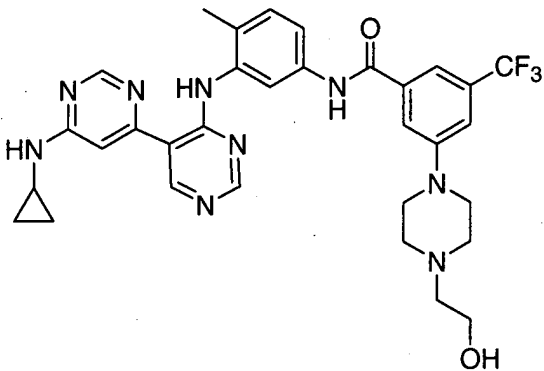
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) e/ou MS (m/z)
23		MS <i>m/z</i> 578,2 (M + 1)
24		MS <i>m/z</i> 613,3 (M + 1)
25		MS <i>m/z</i> 465,2 (M + 1)
26		MS <i>m/z</i> 499,3 (M + 1)
27		MS <i>m/z</i> 545,2 (M + 1)
28		MS <i>m/z</i> 577,3 (M + 1)

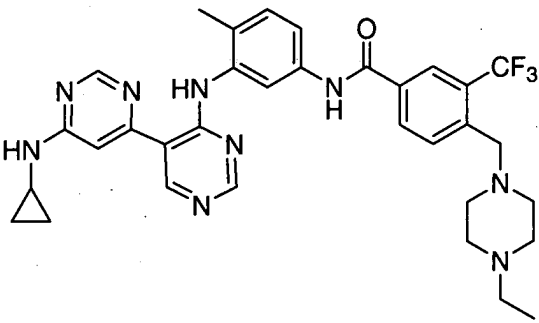
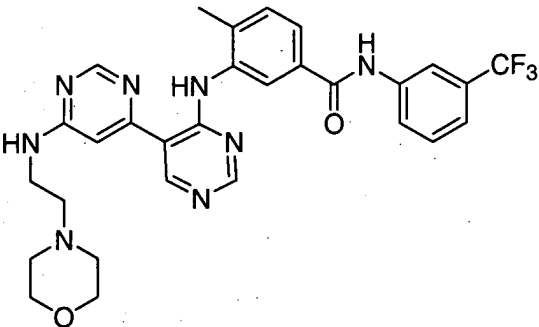
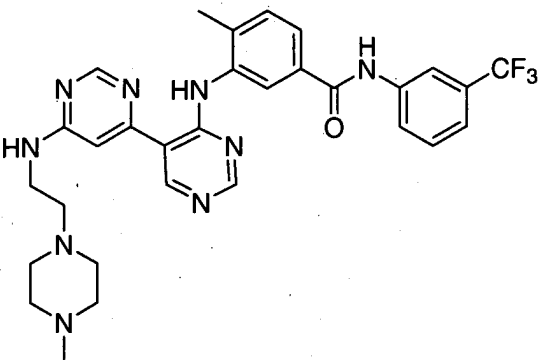
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
29		MS m/z 577,3 (M + 1)
30		MS m/z 579,3 (M + 1)
31		MS m/z 457,2 (M + 1)
32		MS m/z 457,2 (M + 1)
33		MS m/z 459,2 (M + 1)
34		MS m/z 549,2 (M + 1)

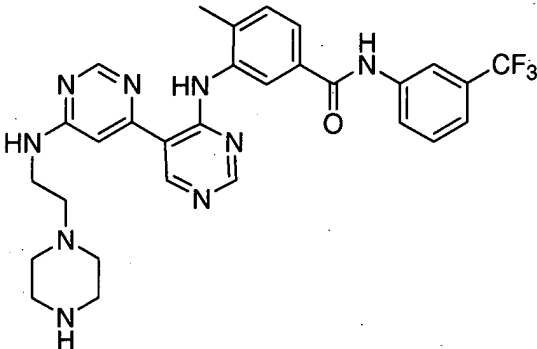
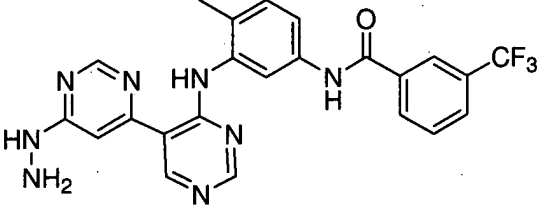
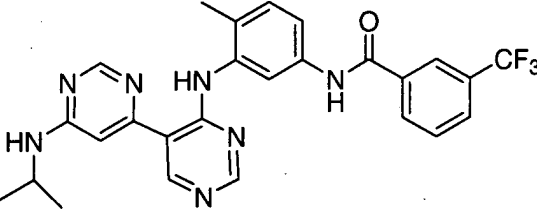
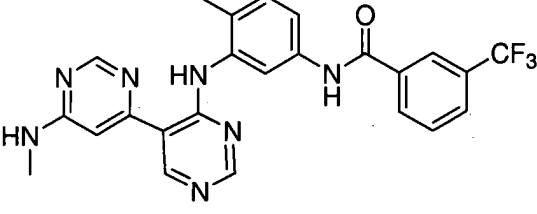
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
35		MS m/z 563,2 (M + 1)
36		MS m/z 593,3 (M + 1)
37		MS m/z 633,3 (M + 1)
38		MS m/z 641,3 (M + 1)

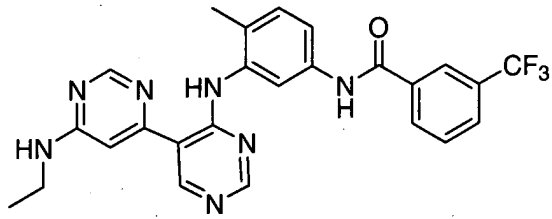
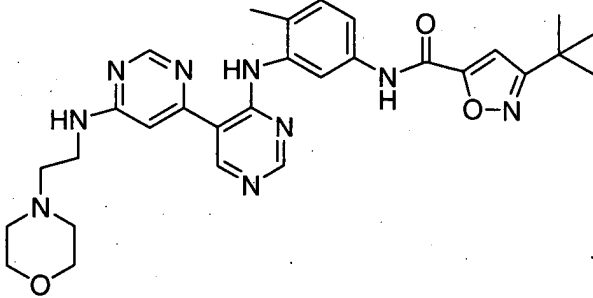
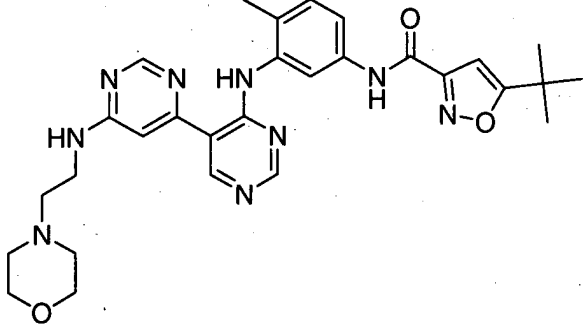
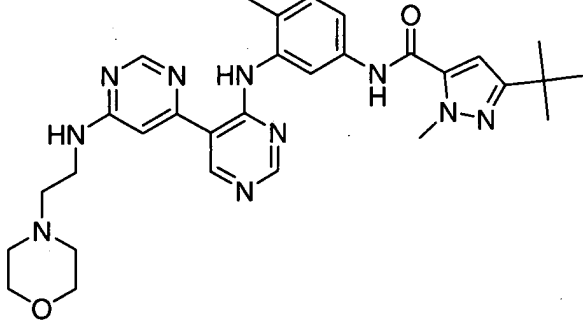
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) e/ou MS (m/z)
39		MS <i>m/z</i> 641,3 (M + 1)
40		MS <i>m/z</i> 599,3 (M + 1)
41		MS <i>m/z</i> 599,3 (M + 1)
42		MS <i>m/z</i> 506,2 (M + 1)

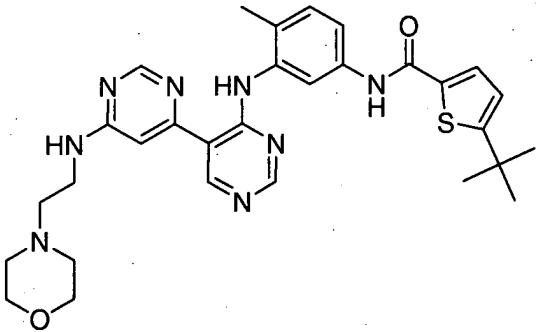
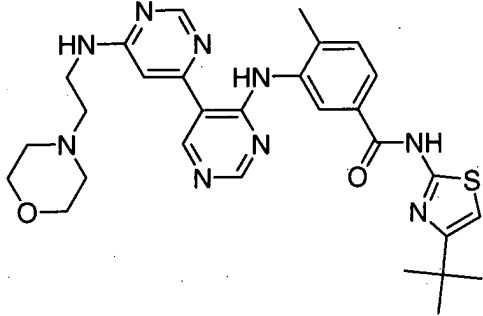
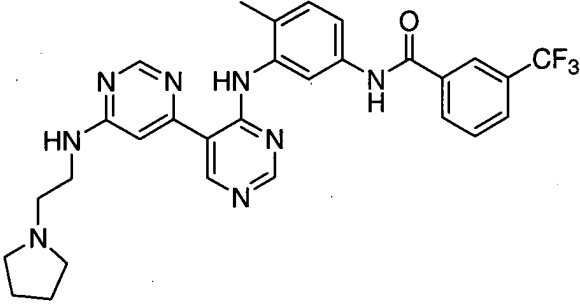
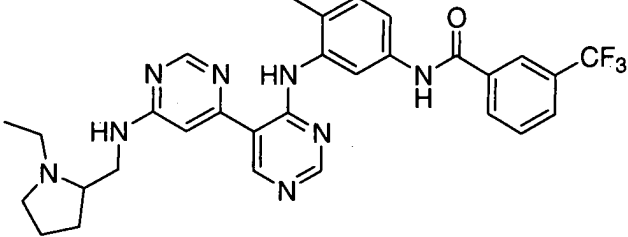
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
43		MS m/z 592,3 (M + 1)
44		MS m/z 606,3 (M + 1)
45		MS m/z 579,2 (M + 1)
46		MS m/z 466,18 (M + 1)

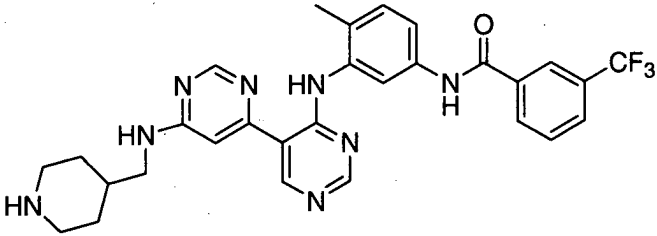
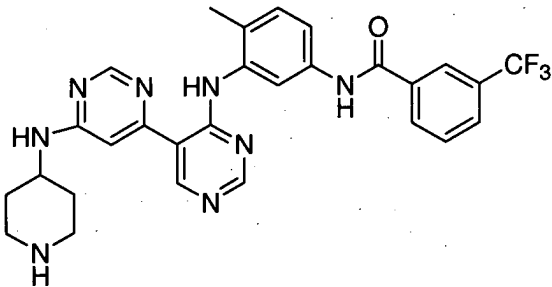
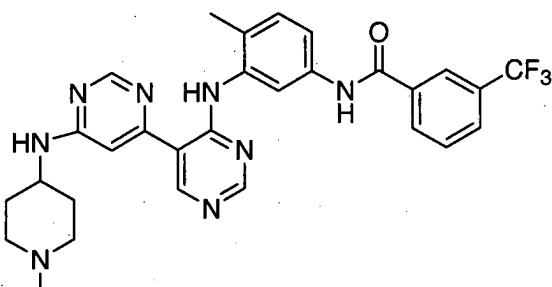
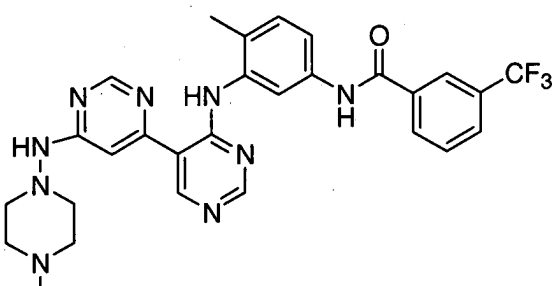
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) e/ou MS (m/z)
47		MS <i>m/z</i> 604,3 (M + 1)
48		MS <i>m/z</i> 618,3 (M + 1)
49		MS <i>m/z</i> 634,3 (M + 1)

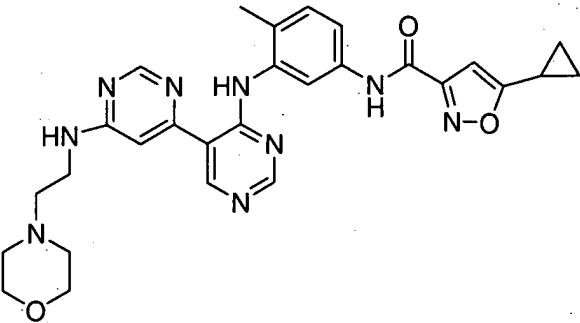
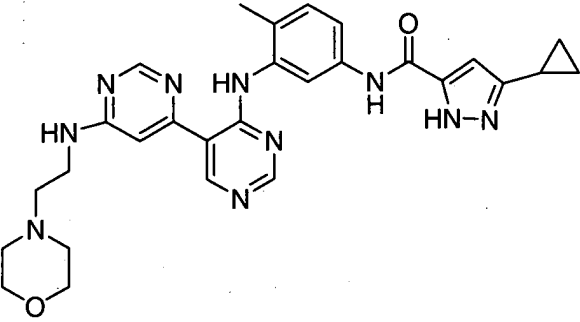
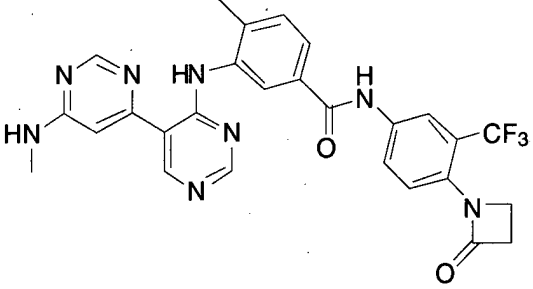
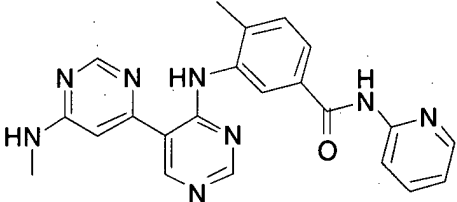
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) e/ou MS (m/z)
50		MS <i>m/z</i> 632,3 (M + 1)
51		MS <i>m/z</i> 579,2 (M + 1)
52		MS <i>m/z</i> 592,3 (M + 1)

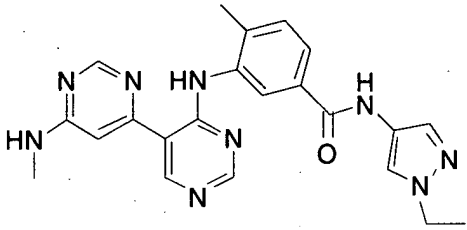
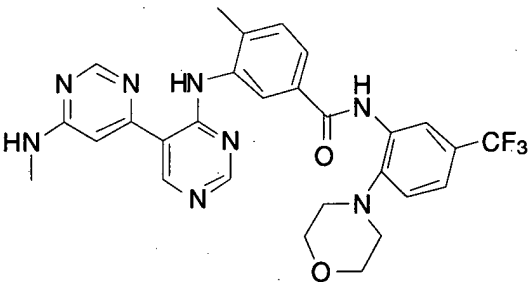
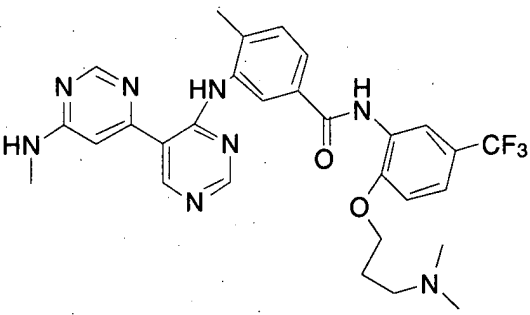
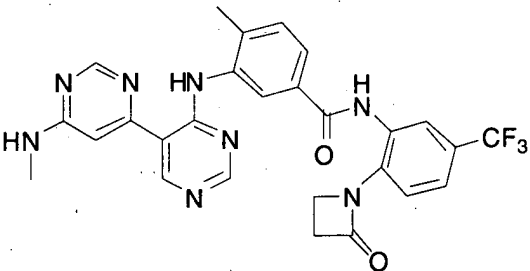
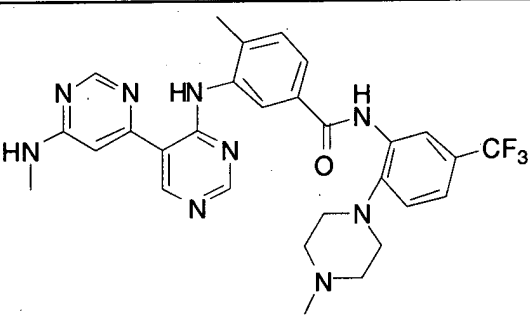
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) e/ou MS (m/z)
53		MS <i>m/z</i> 578,3 (M + 1)
54		MS <i>m/z</i> 481,2 (M + 1)
55		MS <i>m/z</i> 508,2 (M + 1)
56		MS <i>m/z</i> 480,2 (M + 1)

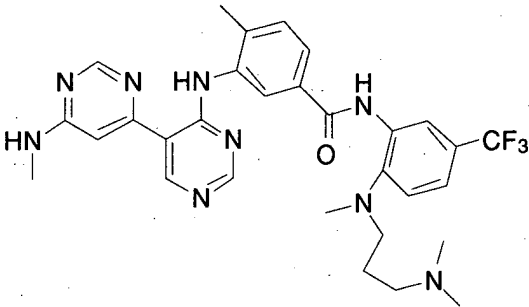
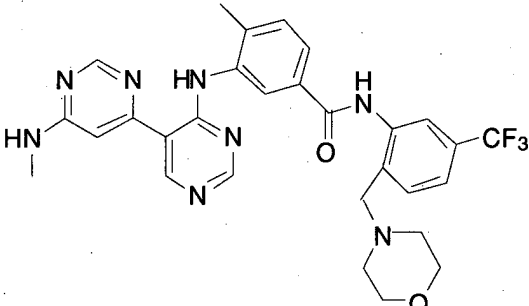
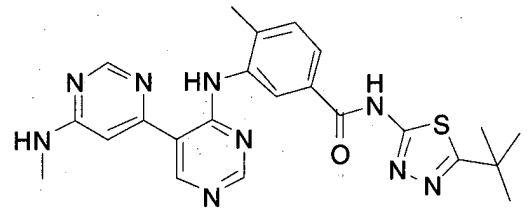
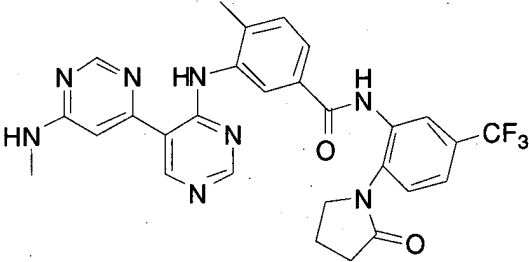
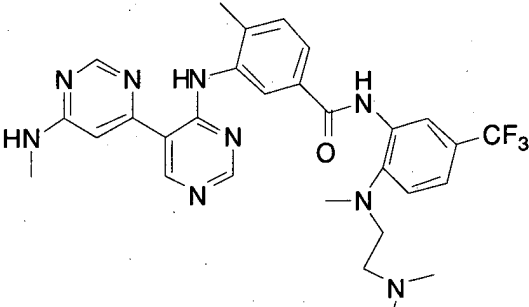
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
57		MS m/z 494,2 (M + 1)
58		MS m/z 558,3 (M + 1)
59		MS m/z 558,3 (M + 1)
60		MS m/z 571,3 (M + 1)

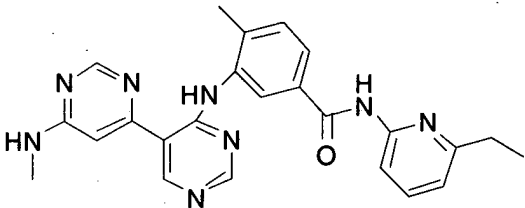
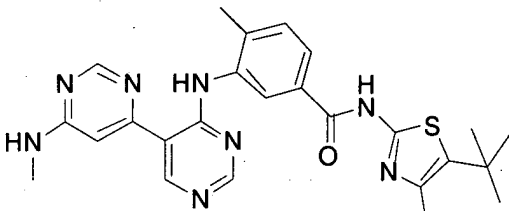
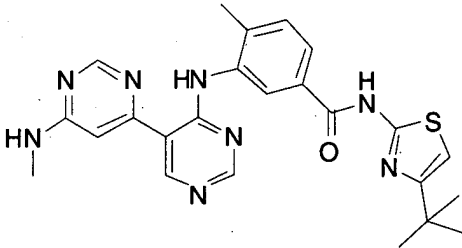
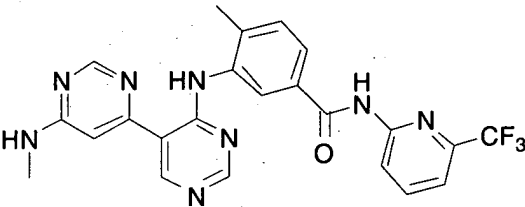
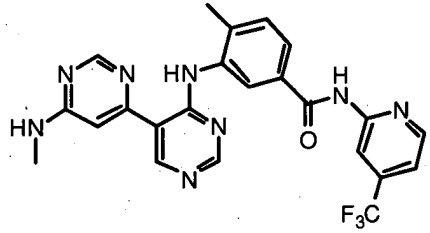
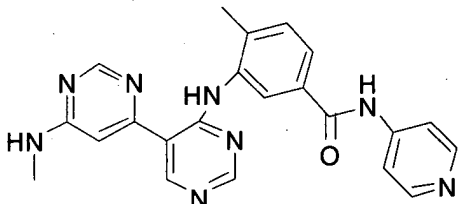
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) e/ou MS (m/z)
61		MS <i>m/z</i> 573,3 (M + 1)
62		MS <i>m/z</i> 574,3 (M + 1)
63		MS <i>m/z</i> 563,24 (M + 1)
64		MS <i>m/z</i> 577,26 (M + 1)

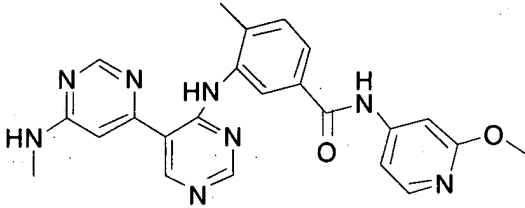
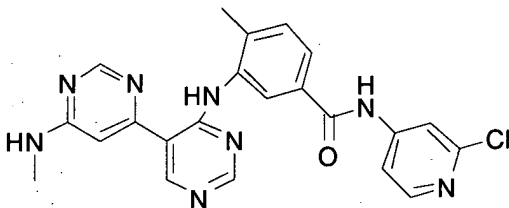
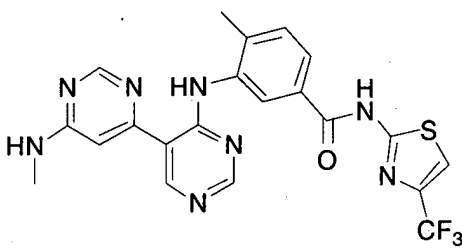
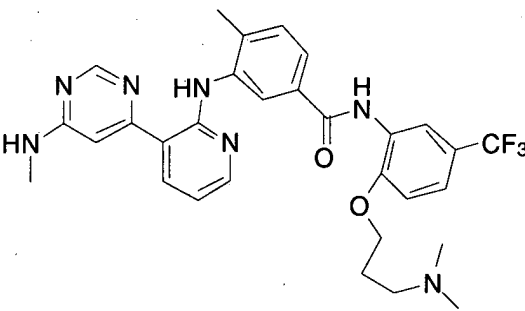
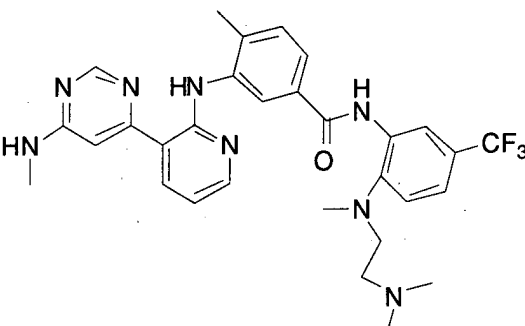
Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) e/ou MS (m/z)
65		MS <i>m/z</i> 563,24 (M + 1)
66		MS <i>m/z</i> 549,23 (M + 1)
67		MS <i>m/z</i> 563,24 (M + 1)
68		MS <i>m/z</i> 564,24 (M + 1)

Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
69		MS m/z 543,25 (M + 1)
70		MS m/z 541,27 (M + 1)
71		MS m/z 549,2 (M + 1)
72		MS m/z 413,2 (M + 1)

Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
73		MS m/z 430,2 (M + 1)
74		MS m/z 546,3 (M + 1)
75		MS m/z 581,2 (M + 1)
76		MS m/z 549,2 (M + 1)
77		MS m/z 578,3 (M + 1)

Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
78		MS m/z 593,3 (M + 1)
79		MS m/z 579,3 (M + 1)
80		MS m/z 476,3 (M + 1)
81		MS m/z 563,2 (M + 1)
82		MS m/z 580,3 (M + 1)

Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ^1H RMN 400 MHz (DMSO- d_6) e/ou MS (m/z)
83		MS m/z 441,2 ($M + 1$)
84		MS m/z 489,2 ($M + 1$)
88		MS m/z 475,3 ($M + 1$)
86		MS m/z 481,2 ($M + 1$)
87		MS m/z 481,3 ($M + 1$)
88		MS m/z 413,2 ($M + 1$)

Composto Número	Estrutura	Dados Físicos ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) e/ou MS (m/z)
89		MS <i>m/z</i> 443,2 (M + 1)
90		MS <i>m/z</i> 447,2 (M + 1)
91		MS <i>m/z</i> 487,3 (M + 1)
92		MS <i>m/z</i> 580,3 (M + 1)
93		MS <i>m/z</i> 579,3 (M + 1)

Ensaio

Os compostos da presente invenção são analisados para medir sua capacidade de inibir seletivamente a proliferação celular de células 32D expressando BCR-Abl (32D-p210) em comparação com células 32D paren-

tais. Os compostos que inibem seletivamente a proliferação dessas células BCR-Abl transformadas são testados quanto à atividade antiproliferativa em células Ba/F3 expressando o tipo selvagem ou as formas mutantes de B-cr-abl. Além disso, os compostos são analisados para medir sua capacidade de inibir as cinases Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, PKC α , SAPK2 α , Tie2, TrkB e P70S6K.

Inibição da proliferação celular dependente de BCR-Abl (método de alto rendimento)

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

50 μ l de uma suspensão de células 32D ou 32D-p210 são plaqueados em microplacas de 384 cavidades Greiner (pretas) a uma densidade de 5000 células por cavidade. 50 nl de composto do teste (em solução de estoque em DMSO a 1 mM) são adicionados a cada cavidade (STI571 é incluído como controle positivo). As células são incubadas por 72 horas a 37°C, 5% de CO₂. 10 μ l de uma solução de azul de Alamar a 60% (Tek diagnostics) são adicionados a cada cavidade e as células são incubadas por mais 24 horas. A intensidade de fluorescência (excitação a 530 nm, emissão a 580 nm) é quantificada usando o sistema Acquest® (Molecular Devices).

Inibição da proliferação celular dependente de BCR-Abl

Células 32D-p210 são plaqueadas em placas TC de 96 cavidades a uma densidade de 15.000 células por cavidade. 50 μ l de diluições sucessivas 1 para 2 do composto do teste (C_{max} é 40 μ M) são adicionados a cada cavidade (STI571 é incluído como controle positivo). Depois de incubar as células por 48 horas a 37°C, 5% de CO₂, 15 ml de MTT (Promega) são adicionados a cada cavidade e as células são incubadas por mais 5 horas. A densidade ótica a 570 nm é quantificada por espectrofotometria e os valores

de IC₅₀, a concentração de composto necessária para 50% de inibição, são determinados a partir de uma curva de dose resposta.

Efeito sobre a distribuição do ciclo celular

Células 32D e 32D-p210 são plaqueadas em placas TC de 6
5 cavidades a uma densidade de $2,5 \times 10^6$ células por cavidade em 5 ml de
meio e composto do teste a 1 ou 10 μM são adicionados (STI571 é incluído
como controle). As células são então incubadas por 24 ou 48 horas a 37 °C,
5% de CO₂. 2 ml da suspensão de células são lavados com PBS, fixados em
70% EtOH de por 1 hora e tratados com PBS/EDTA/RNase A por 30 minu-
10 tos. Iodeto de propídio (Cf= 10 $\mu\text{g/ml}$) é adicionado e a intensidade de fluo-
rescência é quantificada por citometria de fluxo no sistema FACScalibur®
(BD Biosciences). Os compostos do teste da presente invenção demonstram
um efeito apoptótico sobre as células 32D-p210, mas não induzem a apop-
tose nas células 32D parentais.

15 Efeito sobre a autofosforilação de células BCR-Abl

A autofosforilação de BCR-Abl é quantificada com Elisa de cap-
tura usando um anticorpo de captura específico para c-abl e um anticorpo
antifosfotirosina. Células 32D-p210 são plaqueadas em placas TC de 96 ca-
vidades a uma densidade de 2×10^5 células por cavidade em 50 μl de meio.
20 50 μl de diluições sucessivas um para dois de compostos do teste (C_{max} é 10
 μM) são adicionados a cada cavidade (STI571 é incluído como controle posi-
tivo). As células são incubadas por 90 minutos a 37°C, 5% de CO₂. As célu-
las são então tratadas por 1 hora em gelo com 150 μl de tampão de lise (50
mM de Tris-HCl, pH 7,4, NaCl a 150 mM, 5 mM de EDTA, 1 mM de EGTA e
25 1% de NP-40) contendo inibidores de protease e fosfatase. 50 μl de lisado
celular são adicionados a optiplacas de 96 cavidades previamente revestidas
com anticorpo específico anti-abl e bloqueadas. As placas são incubadas por
4 horas a 4°C. Depois de lavagem com o tampão TBS-Tween 20, 50 μl do
anticorpo antifosfotirosina conjugado com fosfatase alcalina são adicionados
30 e a placa é ainda incubada por uma noite a 4°C. Depois de lavagem com o
tampão TBS-Tween 20, 90 μl de um substrato luminescente são adicionados
e a luminescência é quantificada usando o sistema Acquest® (Molecular De-

vices). Os compostos do teste da invenção que inibem a proliferação das células expressando BCR-Abl, inibem a autofosforilação das células BCR-Abl de maneira dependente da dose.

Efeito sobre a proliferação de células expressando formas mutantes de B-

5 cr-abl

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

15 FGFR3 (Ensaio enzimático)

O ensaio de atividade de cinase com FGFR3 purificado (Upstate) é realizado em um volume final de 10 μl contendo 0,25 $\mu\text{g/ml}$ de enzima em tampão de cinase (30 mM de Tris-HCl pH 7,5, 15 mM de MgCl_2 , 4,5 mM de MnCl_2 , 15 μM de Na_3VO_4 e 50 $\mu\text{g/ml}$ de BSA), e substratos (5 $\mu\text{g/ml}$ de biotina-poli-EY(Glu, Tyr) (CIS-US, Inc.) e 3 μM de ATP). São feitas duas soluções: a primeira solução de 5 μl contém a enzima FGFR3 em tampão de cinase foi primeiro dispensado em ProxiPlate® de formato 384 (Perkin-Elmer) seguida da adição de 50 nl de compostos dissolvidos em DMSO, e em seguida 5 μl da segunda solução contém o substrato (poli-EY) e ATP em tampão de cinase foi adicionada a cada cavidade. As reações são incubadas à temperatura ambiente por uma hora, interrompidas pela adição de 10 μl de mistura de detecção de HTRF, que contém 30 mM de Tris-HCl pH 7,5, 0,5 M de KF, 50 mM de ETDA, 0,2 mg/ml de BSA, 15 $\mu\text{g/ml}$ de estreptavidina-XL665 (CIS-US, Inc.) e 150 ng/ml de anticorpo antifosfotirosina conjugado com criptato (CIS-US, Inc.). Depois de uma hora de incubação à temperatura ambiente para permitir a interação estreptavidina-biotina, os sinais fluorescentes resolvidos no tempo são lidos no Analyst GT (Molecular Devices Corp.).

Os valores de IC_{50} são calculadas por análise por regressão linear da percentagem de inibição de cada composto em 12 concentrações (diluição 1:3 de 50 μ M a 0,28 nM). Neste ensaio, os compostos da invenção têm um IC_{50} na faixa de 10 nM a 2 μ M.

5 FGFR3 (Ensaio celular)

Os compostos da invenção são testados quanto a sua capacidade de inibir a proliferação de células Ba/F3-TEL-FGFR3 transformadas, que é dependente da atividade de cinase celular de FGFR3. Ba/F3-TEL-FGFR3 são cultivadas até 800.000 células/ml em suspensão, com RPMI 1640 suplementado com 10% de soro bovino fetal como o meio de cultura. As células são dispensadas em uma placa de formato de 384 cavidades a uma densidade de 5000 células/cavidade em 50 μ l de meio de cultura. Os compostos da invenção são dissolvidos e diluídos em dimetil sulfóxido (DMSO). Diluições sucessivas 1:3 de doze pontos são feitas em DMSO para criar gradiente de concentrações variando tipicamente de 10 mM a 0,05 μ M. As células são acrescidas de 50 nl de compostos diluídos e incubadas por 48 horas em uma incubadora de cultura de células. Azul de Alamar® (TREK Diagnostic Systems), que pode ser usado para monitorar a atmosfera redutora criada pelas células em proliferação, é adicionado às células a uma concentração final de 10%. Depois de mais quatro horas de incubação em uma incubadora de cultura de células a 37°C, os sinais de fluorescência do azul de Alamar® reduzido (excitação a 530 nm, emissão a 580 nm) são quantificados no Analyst GT (Molecular Devices Corp.). Os valores de IC_{50} são calculados por análise por regressão linear da percentagem de inibição de cada composto em 12 concentrações.

b-Raf – ensaio enzimático

Os compostos da invenção são testados quanto a sua capacidade de inibir a atividade de b-Raf. O ensaio é realizado em placas MaxiSorp de 384 cavidades (NUNC) com paredes pretas e fundo transparente. O substrato, IKB α é diluído em DPBS (1:750) e 15 μ l são adicionados a cada cavidade. As placas são incubadas a 4°C por uma noite e lavadas 3 vezes com TBST (25 mM de Tris, pH 8,0, de NaCl a 150 mM e 0,05% de Tween-

20) usando a lavadora de placas EMBLA. As placas são bloqueadas com Superblock (15 µl/cavidade) por 3 horas à temperatura ambiente, lavadas 3 vezes com TBST e secadas por tapotagem. Tampão de ensaio contendo 20 µM de ATP (10 µl) é adicionado a cada cavidade seguido de 100 nl ou 500 nl de composto. B-Raf é diluído no tampão de ensaio (1 µl em 25 µl) e 10 µl de b-Raf diluído é adicionado a cada cavidade (0,4 mg/cavidade). As placas são incubadas à temperatura ambiente por 2,5 horas. A reação de cinase é interrompida pela lavagem das placas 6 vezes com TBST. O anticorpo Phospho-IKBα (Ser32/36) é diluído em Superblock (1:10.000) e 15 µl são adicionados a cada cavidade. As placas são incubadas a 4°C por uma noite e lavadas 6 vezes com TBST. IgG anticamundongo de cabra conjugada com AP é diluída em Superblock (1:1.500) e 15 µl são adicionados a cada cavidade. As placas são incubadas à temperatura ambiente por 1 hora e lavadas 6 vezes com TBST. 15 µl de substrato Attophos AP fluorescente (Promega) são adicionados a cada cavidade e as placas são incubadas à temperatura ambiente por 15 minutos. As placas são lidas no Acquest ou Analyst GT usando um programa de intensidade de fluorescência (excitação 455 nm, emissão 580 nm).

b-Raf – ensaio celular

Os compostos da invenção são testados em células A375 quanto a sua capacidade de inibir a fosforilação de MEK. A linhagem celular (ATCC) é derivado de um paciente humano com melanoma e tem uma mutação V599E no gene B-Raf. Os níveis de MEK fosforilado são elevados devido à mutação de B-Raf. Células A375 subconfluentes a confluentes são incubadas com compostos por 2 horas a 37°C em meio livre de soro. As células são então lavadas uma vez com PBS frio e lisadas com o tampão de lise contendo 1% de Triton X100. Depois de centrifugação, os sobrenadantes são submetidos à SDS-PAGE, e em seguida transferidos para membranas de nitrocelulose. As membranas são então submetidas à análise da mancha ocidental com anticorpo antifosfo-MEK (ser217/221) (Cell Signaling). A quantidade de MEK fosforilado é monitorada pela densidade das bandas de fosfo-MEK nas membranas de nitrocelulose.

Ensaio de cintilação com PfCDPK1 recombinante

Este ensaio de proximidade de cintilação mede a capacidade do PfCDPK1 de catalisar a transferência do grupo gama-fosfatase do gama-(33) P-ATP para o peptídeo substrato de caseína biotinilada. Os peptídeos fosforilados são então capturados em glóbulos de cintilação revestidas com estreptavidina e a atividade é quantificada em um contador de cintilação de placa de microtitulação. Os compostos da invenção são avaliados quanto à capacidade de alterar a atividade de PfCDPK1 neste ensaio de proximidade de cintilação.

Uma proteína de fusão PfCDPK1 é analisada em 20 mM de Tris-HCl, pH7,5, MgCl₂ 10 mM, EGTA 1 mM, CaCl₂ 1,1 mM, 1 μM de ATP e 0,1 ng/μl de caseína biotinilada. O ensaio é realizado em placas de 384 cavidades. Enzima e tampão sem cálcio são misturados e divididos em alíquotas (5 μl) em placas de 384 cavidades usando um dispensador de líquido de microplaca. Os compostos da invenção (50 nl de 3 mM) são adicionados. ATP e [γ-³³P] ATP (0,1 μCi/reação) são misturados com tampão contendo 1,5 x de cálcio e adicionados à reação. O ensaio prossegue por 1 hora à temperatura ambiente e é interrompido usando 10 μl de uma solução contendo glóbulos de PVT SPA marcados com estreptavidina (50 μg/reação) (GE Healthcare), 50 mM de ATP, 5 mM de EDTA e 0,1% de TritonX-100. Os glóbulos de SPA são centrifugados (3 minutos a 2000 rpm) transformando-se em um pélete em cada cavidade. A radioatividade incorporada é medida usando um contador de cintilação e o IC₅₀ é calculado para cada composto.

Este ensaio de proliferação de parasita mede o aumento no teor de DNA de parasita usando um corante de intercalação de DNA, SYBR Green®.

A cepa 3D7 P. Falciparum é cultivada em meio de cultura completo até a parasitemia atingir 3% a 8% com células eritrocíticas humanas O+. 20 μl de meio de rastreamento são dispensados em placas de ensaio de 384 cavidades. Uma placa contendo células eritrocíticas e parasitas é incluída para calcular a linha basal e uma outra placa de células eritrocíticas é incluída para calcular o valor de fundo ("background"). 50 nl de compostos da invenção (em DMSO), incluindo controles antimaláricos (cloroquina e artimesinina), são então transferidos para as placas de ensaio. 50 nl de DMSO

são transferidos para as placas de controle da linha basal e do valor de fundo. Em seguida 30 µl de uma suspensão de uma suspensão de células eritrocíticas infectadas com 3D7 *P. falciparum* em meio de rastreamento são dispensados nas placas de ensaio e na placa de controle da linha basal de modo que o hematócrito final é 2,5% com uma parasitemia final de 0,3%. Células eritrocíticas não infectadas são dispensadas na placa de controle do valor de fundo de modo que o hematócrito final é 2,5%. As placas são colocadas em uma incubadora a 37°C por 72 horas em uma atmosfera com baixo teor de oxigênio contendo uma mistura gasosa de 93% de N₂, 4% de CO₂, e 3% de O₂. 10 µl de uma solução 10X de SYBR Green I® em meio RPMI são dispensados nas placas. As placas são vedadas e colocadas em um congelador a -80°C por uma noite para a lise das células sanguíneas vermelhas. As placas são descongeladas, e para coloração ótima, deixadas à temperatura ambiente por uma noite. A intensidade de fluorescência é medida (excitação 497 nm, emissão 520 nm) usando o sistema ACQUEST® (Molecular Devices). A percentagem de inibição, EC₅₀, é calculada para cada composto.

Os compostos da invenção inibem a atividade de PfCDPK1 com uma potência inferior a 10 mM, de preferência inferior a 1 mM, mais preferivelmente inferior a 500 nM, 250 nM, 100 nM e 50 nM no ensaio enzimático e/ou no ensaio de proliferação de parasita. Além disso, os compostos da invenção podem retardar significativamente o aumento na parasitemia e prolongar a sobrevivência em camundongos infectados com o parasita de roedores, *P. yoelii*. Análises morfológicas e transcricionais demonstraram que os parasitas inibidos com um composto da invenção apresentam paralisação do ciclo celular na fase de esquizogonia tardia e são, portanto, úteis no tratamento da malária.

Upstate KinaseProfiler® – Ensaio de ligação de filtro radioenzimático

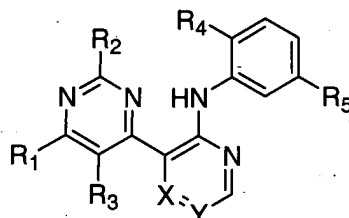
Os compostos da invenção são avaliados quanto a sua capacidade de inibir membros individuais da lista das cinases. Os compostos são testados em duplicatas a uma concentração final de 10 µM seguindo este protocolo geral. Observe que a composição de tampão de cinase e os subs-

tratos variam para as diferentes cinases incluídas na lista do "Upstate KinaseProfiler®". Tampão de cinase (2,5 µl, 10x - contendo MnCl_2 quando necessário), cinase ativa (0,001-0,01 Unidades; 2,5 µl), peptídeo específico ou peptídeo Poli(Glu4-Tyr) (5-500 µM ou 0,01 mg/ml) em tampão de cinase e tampão de cinase (50 µM; 5 µl) são misturados em um eppendorf em gelo. Uma mistura de Mg/ATP (10 µl; 67,5 (ou 33,75) mM de MgCl_2 , 450 (ou 225) µM de ATP e 1 µCi/µl de $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{-ATP}$ (3000Ci/mmol)) é incubada a cerca de 30°C por cerca de 10 minutos. A mistura reacional é colocada (20 µl) em um quadrado de papel de 2cm x 2cm P81 (fosfocelulose, para substratos peptídicos carregados positivamente) ou Whatman No. 1 (para o substrato peptídico Poli (Glu4-Tyr)). Os quadrados do ensaio são lavados 4 vezes, por 5 minutos cada, com 0,75% de ácido fosfórico e lavados uma vez com acetona por 5 minutos. Os quadrados do ensaio são transferidos para um frasco de cintilação, 5 ml de coquetel de cintilação são adicionados e a incorporação de ^{32}P (cpm) ao substrato peptídico é quantificada com um contador de cintilação Beckman. A percentagem de inibição é calculada para cada reação.

Os compostos de fórmula I, na forma livre ou na forma de sal farmaceuticamente aceitável, apresentam propriedades farmacológicas valiosas, por exemplo, como indicado pelos testes in vitro descritos neste pedido. Por exemplo, os compostos de fórmula I apresentam de preferência um IC_{50} na faixa de 1×10^{-10} a 1×10^{-5} M, de preferência inferior a 50 nM para Bcr-Abl do tipo selvagem e mutante. Os compostos de fórmula I, a uma concentração de 10 mM, apresentam de preferência uma percentagem de inibição maior que 50%, de preferência maior que cerca de 70%, contra uma ou mais cinases selecionadas de Abl, Bcr-Abl, Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, $\text{PKC}\alpha$, $\text{SAPK2}\alpha$, Tie2, TrkB e P70S6K. Fica entendido que os exemplos e as modalidades descritos neste relatório são apenas ilustrativos e que várias modificações ou alterações à luz dos mesmos serão sugeridas aos versados na técnica e estão incluídas no espírito e alcance deste pedido e no escopo das reivindicações anexas. Todas as publicações, patentes, e pedidos de patente citados neste relatório estão aqui incorporados a título de referência.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula I:



em que:

- 5 R_1 é selecionado de $-NR_6R_7$ e $-NR_6C(O)R_8$; em que R_6 é selecionado de hidrogênio e C_{1-6} alquila; R_7 é selecionado de hidrogênio, C_{1-6} alquila, $-NR_9R_{10}$, C_{6-10} aril- C_{0-4} alquila, C_{1-10} heteroaril- C_{0-4} alquila, C_{3-12} cicloalquil- C_{0-4} alquila e C_{3-8} heterocicloalquil- C_{0-4} alquila; em que qualquer arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila de R_7 pode ser opcionalmente substituída por 1 a 3 radicais independentemente selecionados de C_{1-6} alquila, C_{1-6} alcóxi, $-QNR_9R_{10}$ e C_{3-8} heterocicloalquil- C_{0-4} alquila; em que Q é selecionado de uma ligação e C_{1-4} alquileno; R_8 é selecionado de hidrogênio e C_{1-6} alquila; R_9 e R_{10} são independentemente selecionados de hidrogênio e C_{1-6} alquila;

- 15 R_2 é selecionado de hidrogênio e C_{1-6} alquila;
 R_3 é selecionado de hidrogênio e C_{1-6} alquila;
 R_4 é selecionado de hidrogênio, halo, C_{1-6} alquila, C_{1-6} alcóxi, C_{1-6} alquila substituída por halogênio e C_{1-6} alcóxi substituído por halogênio;

- 20 R_5 é selecionado de $-C(O)NHR_{11}$ e $-NHC(O)R_{11}$; em que R_{11} é selecionado de C_{6-10} arila e C_{1-10} heteroarila; em que qualquer arila ou heteroarila de R_{11} é opcionalmente substituída por 1 a 3 radicais independentemente selecionados de halo, C_{1-6} alquila, C_{1-6} alcóxi, C_{1-6} alquila substituída por halogênio, C_{1-6} alcóxi substituído por halogênio, di- C_{1-4} alquil-amino- C_{1-6} alcóxi, di- C_{1-4} alquil-amino- C_{1-6} alquil(C_{1-4} alquil)amino, C_{1-10} heteroaril- C_{0-4} alquila, C_{3-8} heterocicloalquil- C_{0-4} alquila e C_{3-8} heterocicloalquil-óxi; em que
25 qualquer substituinte heteroarila ou heterocicloalquila de R_{11} é ainda opcionalmente substituída por 1 a 2 radicais independentemente selecionado de C_{1-6} alquila e hidróxi- C_{1-6} alquila;

X e Y são independentemente selecionados de N e CH; e os

sais farmacêuticamente aceitáveis, hidratos, solvatos e isômeros do mesmo.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que: X é CH e Y é selecionado de CH e N; R₂ é hidrogênio e R₃ é hidrogênio.

3. Composto de acordo com a reivindicação 2, em que: R₁ é selecionado de -NHR₇ e -NHC(O)R₈; em que R₇ é selecionado de: hidrogênio; amino; metila; etila; isopropila; ciclopropila; morfolino-etila; benzila opcionalmente substituída por radicais 1-3 metóxi; piridinila substituída por um grupo selecionado de morfolino-metila, dimetil-amino-etila e dimetil-amino-metila; metil-piperazinil-etila; piperazinil-etila; metil-piperazinil-propila; pirrolidinil-etila; pirrolidinil-metila opcionalmente substituída por etila; piperidinil-metila; piperidinila opcionalmente substituída por metila; e metil-piperazinila; e R₈ é metila.

4. Composto de acordo com a reivindicação 3, em que: R₄ é metila; e R₅ é selecionado de -C(O)NHR₁₁ e -NHC(O)R₁₁; em que R₁₁ é selecionado de fenila, 2-oxopirrolidin-1-ila, 1,3,4-tiadiazolila, piridinila, pirazolila, tienila, isoxazolila e tiazolila; em que o referido fenila, pirazolila, tienila, 2-oxopirrolidin-1-ila, 1,3,4-tiadiazolila, piridinila, isoxazolila ou tiazolila é opcionalmente substituída por 1 a 3 radicais independentemente selecionados de halo, trifluormetila, metil-piperazinila, etil-piperazinila, 2-oxoazetidin-1-ila, morfolino, morfolino-metila, hidróxi-etil-piperazinila, dimetilamino-etil-(metil)amino, dimetilamino-propil-(metil)amino, metil-imidazolila, metila, isopropila, t-butila, metóxi, metil-piperidinil-óxi, metil-piperazinil-metila, etil-piperazinil-metila, etila e ciclopropila.

5. Composto de acordo com a reivindicação 1, selecionado de:
 N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-[4-(2-hidróxi-etil)-piperazin-1-il]-5-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Aminopirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Aminopirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-

ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida{4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil]-amida do ácido; 5-t-Butil-2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico; N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-{3-
 5 [3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(1-metil-piperidin-4-ilóxi)-5-trifluormetil-benzamida; {3-[3-(6-ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil]-amida do ácido 1-t-Butil-5-metil-1H-pirazol-3-carboxílico; {3-[3-(6-ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil]-amida do ácido 5-t-Butil-tiofeno-2-carboxílico; 3-[3-(6-Ciclopropil-
 10 amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluormetil-fenil)-benzamida; 3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-N-[3-(4-metil-imidazol-1-il)-5-trifluormetil-fenil]-benzamida; N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-4-(4-
 15 etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluormetil-benzamida; 4-Cloro-N-{3-[3-(6-ciclopropilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; 4-Cloro-N-(4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; 3-
 20 (4-Metil-imidazol-1-il)-N-(4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-5-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-(1-metil-piperidin-4-ilóxi)-5-trifluormetil-benzamida; 4-(4-Etil-piperazin-1-il)-N-(4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-
 25 benzamida; (4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-amida do ácido 1-t-Butil-5-metil-1H-pirazol-3-carboxílico; (4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-amida do ácido 5-t-Butil-2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico; 4-Metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-N-(3-trifluormetil-fenil)-
 30 benzamida; N-(4-Cloro-3-trifluormetil-fenil)-4-metil-3-{3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-benzamida; 3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluormetil-fenil)-benzamida; 3-[3-(6-Amino-

- pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-N-(4-cloro-3-trifluormetil-fenil)-4-metil-benza-
 mida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-me-
 til-imidazol-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piri-
 din-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-etil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzamida;
 5 N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-4-(4-metil-pipe-
 razin-1-ilmetil)-3-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piri-
 din-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(1-metil-piperidin-4-ilóxi)-5-trifluormetil-benza-
 mida; {3-[3-(6-amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-amida do
 ácido 1-t-Butil-5-metil-1H-pirazol-3-carboxílico; {3-[3-(6-amino-pirimidin-4-il)-
 10 piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-2-metil-2H-pirazol-3-
 carboxílico; {3-[3-(6-amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-ami-
 da do ácido 5-t-Butil-tiofeno-2-carboxílico; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-
 piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-piperazin-1-il-5-trifluormetil-benzamida; N-
 {3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-4-metil-fenil}-3-(4-metil-pipera-
 15 zin-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-{3-[3-(6-Amino-pirimidin-4-il)-piridin-2-
 ilamino]-4-metil-fenil}-3-[4-(2-hidróxi-etil)-piperazin-1-il]-5-trifluormetil-benza-
 mida; 3-[3-(6-Acetilamino-pirimidin-4-il)-piridin-2-ilamino]-N-[4-(4-etil-pipera-
 zin-1-ilmetil)-3-trifluormetil-fenil]-4-metil-benzamida; N-(4-Metil-3-{3-[6-(5-
 morfolin-4-ilmetil-piridin-2-ilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-tri-
 20 fluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{3-[6-(4-morfolin-4-ilmetil-piridin-2-ilami-
 no)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(3-{3-[6-
 (5-Dimetilaminometil-piridin-2-ilamino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-4-metil-
 fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(3-{3-[6-(4-Dimetilaminometil-piridin-2-il-
 amino)-pirimidin-4-il]-piridin-2-ilamino}-4-metil-fenil)-3-trifluormetil-benzamida;
 25 N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluor-
 metil-benzamida; N-(4-Metil-3-{6-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etilamino]-[4,5']bi-
 pirimidinil-4'-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-{6-[3-(4-
 metil-piperazin-1-il)-propilamino]-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino}-fenil)-3-trifluor-
 metil-benzamida; N-(4-Metil-3-{6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-
 30 4'-ilamino}-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Amino-[4,5']bipirimidinil-4'-
 ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-
 [4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluor-

metil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-(4-etil-piperazin-1-il)-5-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-[4-(2-hidróxi-etil)-piperazin-1-il]-5-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Ciclopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-4-(4-etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluormetil-benzamida; 4-Metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-N-(3-trifluormetil-fenil)-benzamida; 4-Metil-3-[6-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etilamino]-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-N-(3-trifluormetil-fenil)-benzamida; 4-Metil-3-[6-(2-piperazin-1-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-N-(3-trifluormetil-fenil)-benzamida; N-[3-(6-Hidrazino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Isopropilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; N-[4-Metil-3-(6-metilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; N-[3-(6-Etilamino-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino)-4-metil-fenil]-3-trifluormetil-benzamida; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 3-t-Butil-isoxazol-5-carboxílico; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-isoxazol-3-carboxílico; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-t-Butil-tiofeno-2-carboxílico; N-(4-t-Butil-tiazol-2-il)-4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-benzamida; N-{4-Metil-3-[6-(2-pirrolidin-1-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-(3-[6-[(1-Etil-pirrolidin-2-ilmetil)-amino]-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-4-metil-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-(4-Metil-3-[6-[(piperidin-4-ilmetil)-amino]-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil)-3-trifluormetil-benzamida; N-{4-Metil-3-[6-(piperidin-4-ilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-{4-Metil-3-[6-(1-metil-piperidin-4-ilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; N-{4-Metil-3-[6-(4-metil-piperazin-1-ilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-3-trifluormetil-benzamida; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimidinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-Ciclopropil-isoxazol-3-carboxílico; {4-metil-3-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-[4,5']bipirimi-

dinil-4'-ilamino]-fenil}-amida do ácido 5-Ciclopropil-2H-pirazol-3-carboxílico;
 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(2-metoxipiridin-4-il)-
 4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(2-
 cloropiridin-4-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-
 5 4-ilamino)-N-(4-(trifluormetil)tiazol-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(3-(6-(metilami-
 no)pirimidin-4-il)piridin-2-ilamino)-N-(2-(3-(dimetilamino)propóxi)-5-(trifluor-
 metil)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(3-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)piridin-2-il-
 amino)-N-(2-(N-(2-(dimetilamino)etil)-N-metilamino)-5-(trifluormetil)fenil)-4-
 metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-
 10 (trifluormetil)-2-(morfolinometil)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)
 pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-t-butil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-4-metilbenza-
 mida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-(trifluormetil)-
 2-(2-oxopirrolidin-1-il)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-
 il)pirimidin-4-ilamino)-N-(2-(N-(2-(dimetilamino)etil)-N-metilamino)-5-(trifluor-
 15 metil)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-
 ilamino)-N-(6-etilpiridin-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-
 4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-t-butil-4-metiltiazol-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-
 (6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(4-t-butiltiazol-2-il)-4-metil-
 benzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(6-(tri-
 20 fluormetil)piridin-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pi-
 rimidin-4-ilamino)-N-(4-(trifluormetil)piridin-2-il)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-
 (metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-4-metil-N-(piridin-4-il)benzami-
 da; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(3-(trifluormetil)-4-
 (2-oxoazetidin-1-il)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-
 25 il)pirimidin-4-ilamino)-4-metil-N-(piridin-2-il)benzamida; 3-(5-(6-(metilamino)
 pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(1-etil-1H-pirazol-4-il)-4-metilbenzamida;
 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-(trifluormetil)-2-
 morfolinofenil)-4-metilbenzamida; N-(2-(3-(dimetilamino)propóxi)-5-(trifluor-
 metil)fenil)-3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-4-metilben-
 30 zamida; 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-(trifluorme-
 til)-2-(2-oxoazetidin-1-il)fenil)-4-metilbenzamida; 3-(5-(6-(metilamino) pirimi-
 din-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(5-(trifluormetil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)-4-

metilbenzamida; e 3-(5-(6-(metilamino)pirimidin-4-il)pirimidin-4-ilamino)-N-(2-(N-(3-(dimetilamino)propil)-N-metilamino)-5-(trifluormetil)fenil)-4-metilbenzamida.

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

- 10 7. Método para tratamento de uma doença em um animal, em que a inibição da atividade de cinase pode inibir ou melhorar a patologia e/ou a sintomatologia da doença, método este que compreende administrar ao animal uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto como definido na reivindicação 1.

8. Método de acordo com a reivindicação 7, em que a cinase é selecionada de Abl, Bcr-Abl, Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, PKC α , SAPK2 α , Tie2, TrkB e P70S6K.

- 15 9. Uso de um composto como definido na reivindicação 1, na produção de um medicamento para tratamento de uma doença em um animal, em que a atividade de cinase de Abl, Bcr-Abl, Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, PKC α , SAPK2 α , Tie2, TrkB e P70S6K contribui para a patologia e/ou a sintomatologia da doença.

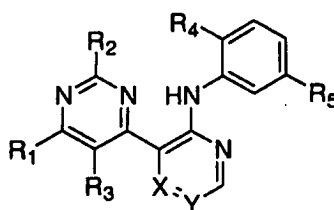
P10707660-5

RESUMO

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

A presente invenção refere-se a uma nova classe de compostos, composições farmacêuticas compreendendo tais compostos e métodos de uso de tais compostos para tratar ou prevenir doenças ou distúrbios associados à atividade anormal ou desregulada de cinase, particularmente doenças ou distúrbios que envolvem a ativação anormal das cinases Abl, Bcr-Abl, Bmx, b-RAF, c-RAF, c-SRC, KDR, CSK, FGFR3, JAK2, Lck, Met, PKC α , SAPK2 α , Tie2, TrkB e P70S6K.

Estes compostos apresentam a seguinte estrutura (fórmula I),



Fórmula I

na qual: R₁ é selecionado de -NR₆R₇ e -NR₆C(O)R₈; no qual R₆ é selecionado a partir de hidrogênio e C₁₋₆alquila; R₇ é selecionado a partir de hidrogênio, C₁₋₆alquila, -NR₉R₁₀, C₆₋₁₀aril-C₀₋₄alquila, C₁₋₁₀heteroaril-C₀₋₄alquila, C₃₋₁₂cicloalquil-C₀₋₄alquila e C₃₋₈heterocicloalquil-C₀₋₄alquila; no qual qualquer arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila de R₇ pode ser opcionalmente substituída por 1 a 3 radicais independentemente selecionados a partir de C₁₋₆alquila, C₁₋₆alcóxi, -QNR₉R₁₀ e C₃₋₈heterocicloalquil-C₀₋₄alquila; no qual Q é selecionado a partir de uma ligação e C₁₋₄alquileno; R₈ é selecionado a partir de hidrogênio e C₁₋₆alquila; R₉ e R₁₀ são independentemente selecionados a partir de hidrogênio e C₁₋₆alquila; R₂ é selecionado a partir de hidrogênio e C₁₋₆alquila; R₃ é selecionado a partir de hidrogênio e C₁₋₆alquila; R₄ é selecionado a partir de hidrogênio, halo, C₁₋₆alquila, C₁₋₆alcóxi, C₁₋₆alquila substituída por halogênio e C₁₋₆alcóxi substituído por halogênio; R₅ é selecionado a partir de -C(O)NHR₁₁ e -NHC(O)R₁₁; no qual R₁₁ é selecionado a partir de C₆₋₁₀arila e C₁₋₁₀heteroarila; na qual qualquer arila ou heteroarila de R₁₁ é opcionalmente substituída por 1 a 3 radicais independentemente

- selecionados a partir de halo, C₁₋₆alquila, C₁₋₆alcóxi, C₁₋₆alquila substituída por halogênio, C₁₋₆alcóxi substituído por halogênio, di-C₁₋₄alquil-amino-C₁₋₆alcóxi, di-C₁₋₄alquil-amino-C₁₋₄alquil(C₁₋₄alquil)amino, C₁₋₁₀heteroaril-C₀₋₄alquila, C₃₋₈heterocicloalquil-C₀₋₄alquila e C₃₋₈heterocicloalquil-óxi; na qual
- 5 qualquer substituinte heteroarila ou heterocicloalquila de R₁₁ é ainda opcionalmente substituída por 1 a 2 radicais independentemente selecionados a partir de C₁₋₆alquila e hidróxi-C₁₋₆alquila; X e Y são independentemente selecionados a partir de N e CH; e os sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos, solvatos, e isômeros dos mesmos.