

SÍNTESES E PROPRIEDADES DE FÁRMACOS INIBIDORES DA TIROSINA QUINASE BCR-ABL, UTILIZADOS NO TRATAMENTO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Liviane D. de Azevedo,^{a,b,#} Mônica M. Bastos,^{a,b,#} Andressa Paula de Oliveira^{a,c,‡} e Núbia Boechat^{a,b,*#}

^aDepartamento de Síntese de Fármacos, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, Farmanguinhos - Fiocruz, Manguinhos, 21041-250 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

^bCentro de Ciências da Saúde, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Bloco J, Ilha do Fundão, 21941-902 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

^cAssociação Brasileira de Ensino Universitário, ABEU – Centro Universitário, Rua Itaiara, 301, 261 13-400 Belford Roxo – RJ, Brasil

Recebido em 05/10/2016; aceito em 10/01/2017; publicado na web em 09/03/2017

Revisão

SYNTHESES AND PROPERTIES OF DRUGS INHIBITORS OF BCR-ABL TYROSINE KINASE, USED IN THE TREATMENT OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA. The chronic myeloid leukemia (CML) is characterized by presence of the Philadelphia chromosome (Ph), originated from the translocation between chromosomes 9 and 22. This chromosome generates an abnormal protein tyrosine kinase which is responsible for tumor cell proliferation. The emergence of tyrosine kinase inhibitors (TKIs) has transformed the treatment of CML and imatinib being the first representative of this class. Although treatment with imatinib has reached surprising results, approximately 30% of patients exhibited resistance, especially in later stages of the disease. This fact stimulated the development of novel BCR-ABL enzyme inhibitors drugs classified as tyrosine kinase inhibitors (TKIs) of second and third generations. The TKIs have different chemical functions in their structure, and the knowledge of synthetic methods for preparation of these compounds can be a powerful tool for the development of new derivatives. The five approved BCR-ABL Tyrosine Kinase inhibitors (TKI) used in Chronic Myeloid Leukemia (CML) are reviewed aiming the main synthetic routes, highlighting the advantages and disadvantages associated with them.

Keywords: chronic myeloid leukemia; tyrosine kinase inhibitors; imatinib mesylate.

INTRODUÇÃO

Câncer ou neoplasia maligna é um termo genérico para denominar um grande grupo de doenças que tem em comum o crescimento desordenado das células. Sua principal característica é a multiplicação rápida de células anormais, que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo, sendo esse processo conhecido como metástase.¹

As neoplasias estão incluídas em um grupo chamado de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) que são doenças multifatoriais que ocorrem ao longo da vida e apresentam longa duração. Os principais fatores de risco associados às DCNTs são tabagismo, consumo nocivo de álcool, inatividade física e alimentação não saudável. Com relação aos determinantes sociais para a ocorrência destas doenças podem ser citados: o sexo, a genética e a idade.² Os tipos de câncer com maior ocorrência de óbitos na população mundial estão descritos na Tabela 1.

O câncer é uma das principais causas de morte do mundo, e aproximadamente 30% das mortes são devido a quatro principais fatores de risco: alto índice de massa corporal, redução da ingestão de frutas e legumes, falta de atividade física, elevado consumo de tabaco e de álcool.³ No Brasil, as previsões para 2016 apontam para uma ocorrência de aproximadamente 600 mil novos casos.⁴

Leucemia

O termo leucemia origina-se do grego e significa sangue branco.⁵ É uma neoplasia que tem como característica o acúmulo de células

Tabela 1. Tipos de câncer com maior ocorrência de óbitos no mundo

Tipos de Câncer	Ocorrência
Pulmão	1,82 milhões/ano
Mama	1,67 mil/ano
Colo retal	1,36 mil/ano
Próstata	1,09 mil/ano
Estômago	951 mil/ano
Fígado	782 mil/ano
Útero	527 mil/ano
Esôfago	455 mil/ano
Bexiga	429 mil/ano
Leucemias	321 mil/ano

jovens anormais na medula óssea que substituem as células sanguíneas normais.⁶ No Brasil, para 2016, estima-se um número de óbitos de 10.070, sendo 5.540 homens e 4.530 mulheres.³

A leucemia é classificada de acordo com o tipo de célula acometida e com a velocidade de progressão da doença.⁷ Se as células afetadas forem linfóides, linfócitos ou tecido linfoide em formação é denominada leucemia linfoide. Quando o alvo são as células mieloides (células que mais tarde se transformam em eritrócitos, leucócitos e megacariócitos) é denominada leucemia mieloide.⁶ De acordo com a progressão da doença ela pode ser classificada em crônica ou aguda. Na fase crônica as células ainda conseguem realizar as funções dos glóbulos brancos, replicando-se mais lentamente, e podendo funcionar por um período mais longo. Algumas formas de leucemia crônica não apresentam sintomas iniciais, não podendo ser diagnosticadas durante anos. A fase aguda inicia-se depois que alguns glóbulos brancos

*e-mail: boechat@far.fiocruz.br

[#]Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Química Medicinal – P-GFQM

[‡]Programa de Bolsas Institucionais – PROBIN

perdem ou danificam a sua sequência de ácidos desoxirribonucleicos (DNA) permanecendo imaturos. Estes são conhecidos como células blásticas, que ainda mantêm a sua capacidade para se multiplicar. Estas células não morrem como as normais e, ao se acumularem, interferem no funcionamento de órgãos vitais. Além disso, não realizam as suas funções, pois se multiplicam mais rápido que o normal, piorando a doença em curto espaço de tempo. As leucemias agudas requerem um tratamento rápido e agressivo.

Assim, as leucemias podem ser classificadas em quatro tipos mais comuns: Leucemia Linfóide Crônica (LLC), comum em adultos com mais de 55 anos; Leucemia Linfóide Aguda (LLA), prevalente em crianças (2-5 anos); Leucemia Mieloide Crônica (LMC), que acomete principalmente adultos do sexo masculino e Leucemia Mieloide Aguda (LMA), que é comum em adultos e crianças.⁶

Leucemia Mieloide Crônica (LMC)

A LCM foi descrita pela primeira vez em 1845, por John Hughes Bennet.⁸ No final de 1960, os pesquisadores Nowell e Hungerford, da Universidade da Pensilvânia, identificaram um cromossomo anormal presente nas células leucêmicas humanas.⁹ Este cromossomo, chamado de Philadelphia (Ph), é resultado da translocação entre os braços do cromossomo 9 e 22, sendo encontrado em 95% dos pacientes com LMC.^{10,11}

O cromossomo Ph gera uma proteína híbrida BCR-ABL que apresenta atividade enzimática anormal da tirosina quinase, responsável pela patogênese da doença.¹² Em condições normais a tirosina quinase regula diversas atividades fundamentais como o ciclo celular, proliferação, diferenciação, mobilidade e a sobrevivência ou morte celular.¹³

Na fisiopatologia, o oncogene BCR-ABL é responsável pela ativação da proteína tirosina quinase. Ao se ligar com o trifosfato de adenosina (ATP) esta proteína transfere fosfato para resíduos de tirosina em proteínas específicas. Estas, após fosforilações, realizam todas as atividades fundamentais de uma tirosina quinase de modo anormal levando à ocorrência de LMC.¹¹ Desta forma, o bloqueio da ligação entre a proteína e o ATP é essencial para a interrupção de todas as etapas subsequentes. A descoberta deste mecanismo foi fundamental para o desenvolvimento de uma terapia alvo para o tratamento de pacientes com LMC.¹⁴

Terapia da LMC e seu histórico

O histórico dos tratamentos empregados para a LMC mostra que os primeiros compostos testados foram a quinina (Figura 1) e o ferro, porém, o uso destas substâncias não apresentou nenhum resultado.

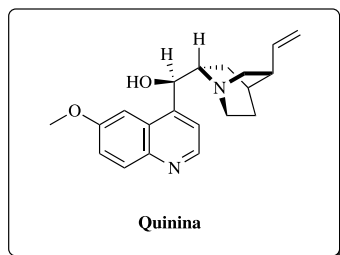


Figura 1. Estrutura química da quinina

Em 1865, o médico alemão Lissauer administrou baixas doses de arsênio combinadas com iodo e cloreto de potássio (KCl) em uma paciente. Esse tratamento provocou a diminuição do tamanho do baço, do número de células brancas e a melhora da anemia, restaurando a sensação de bem-estar.⁹

Em 1878, Cutler e Bradford estudaram os efeitos do arsênio no hemograma e na doença. Eles realizaram a contagem total dos glóbulos brancos e vermelhos do sangue e descobriram que a administração desta associação, conhecida como solução de Fowler, causava a diminuição progressiva do número de glóbulos vermelhos e brancos do sangue.¹⁵ Mesmo assim, esta solução, independentemente de sua toxicidade, continuou sendo utilizada para o tratamento da LMC até a introdução da radioterapia, em 1903.⁹

Em 1903, Nicholas Senn observou que o uso de irradiação por raios-X provocava rápida diminuição no baço e redução no número de leucócitos. Isto porque os raios-X impediam a replicação celular e causavam a morte das células, promovendo a melhora no hemograma e no bem-estar do paciente.¹⁶ Os benefícios desta terapia foram tão evidentes que, pela primeira vez, o termo “remissão” passou a ser utilizado. Contudo, o uso de raios-X não aumentou a sobrevida dos pacientes que na época era de até três anos.¹⁷

Outra medida terapêutica utilizada foi a esplenectomia, que consiste na remoção cirúrgica, completa ou parcial, do baço. As primeiras tentativas de esplenectomia datam de 1863, e a maior parte dos pacientes submetidos a esta intervenção encontrava-se em estágios avançados da doença.¹⁸ Em 1879, Gowers afirmou que a esplenectomia era invariavelmente fatal; contudo, a cirurgia era realizada apenas para dar maior conforto aos pacientes. Posteriormente, alguns médicos recomendaram a esplenectomia após o tratamento com radioterapia.⁹

O primeiro agente antineoplásico utilizado no tratamento de LMC foi a mostarda nitrogenada (mecloretamina) (Figura 2). Desenvolvida em 1947, demonstrou que quando administrada por via intravenosa causava diminuição significativa no número de leucócitos. Embora a melhora clínica fosse evidente, não havia aumento da sobrevida dos pacientes.¹⁹

Em 1952, foi introduzido na terapia o primeiro fármaco – bussulfano (Figura 2) - que produziu remissão hematológica em 42%, gerando sobrevida na fase crônica de até 3,8 anos. Ele apresentou maior seletividade para o tecido hematopoiético, particularmente nas séries granulocíticas, embora os ensaios clínicos mostrassem que era tóxico para o epitélio germinal e para os pulmões. Após vários estudos utilizando diferentes dosagens do bussulfano, verificou-se que ele era capaz de controlar as manifestações da LMC de modo mais eficiente que a radioterapia, especialmente porque poderia ser administrado por via oral. No entanto, seu uso foi suspenso devido aos graves efeitos adversos, tais como mielossupressão prolongada, fibrose pulmonar, mielofibrose e endomiocardiofibrose.²⁰

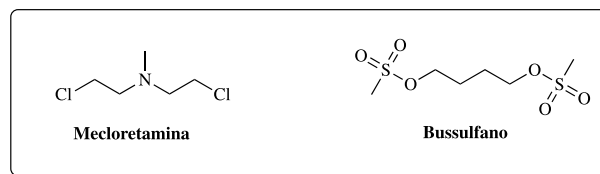


Figura 2. Estruturas químicas da mecloretamina e do bussulfano

A hidroxiuréia foi outro fármaco que se destacou devido aos excelentes resultados alcançados (Figura 3). Seu uso clínico como fármaco de primeira escolha teve início em 1972, devido à resposta hematológica completa de até 80%, e sobrevida média de 4,7 anos na fase crônica. Seu mecanismo consiste na interrupção da síntese de DNA, através da inibição da enzima ribonucleotídeo-redutase.²¹ Quando comparado com o bussulfano, a hidroxiuréia mostrou-se menos tóxica; no entanto, ambas as terapias não produziram remissão citogenética ou prevenção da progressão da doença para fase blástica.²²

No início dos anos 80, o interferon alfa foi empregado e promoveu a remissão citogenética parcial, que consiste na redução do número de

cromossomos Ph. Além disso, o uso do interferon alfa foi essencial para mostrar sua capacidade de aumentar a sobrevida do paciente.^{23,24} Por não ser um tratamento curativo, os pacientes que apresentavam remissão citogenética eram mantidos na terapia, com doses de interferon por três vezes na semana, resultando em uma sobrevida de 5,5 anos.²² Segundo Kantarjian, dos 274 pacientes tratados diariamente com interferon alfa, 80% alcançaram remissão hematológica completa (RHC) e 58% remissão citogenética completa (RCC), com sobrevida média de 7,4 anos.^{24,25} No entanto, as reações adversas levaram ao abandono do tratamento em cerca de 20% dos casos.²⁶ Diversos fármacos foram testados em associação com o interferon alfa.^{24,25} Com a hidroxiuréia observou-se aumento significativo da sobrevida dos pacientes, quando comparado ao uso da hidroxiuréia como monoterapia. Adicionalmente, foi alcançada remissão hematológica completa em 59% dos casos e 12% de remissão citogenética completa.²² A associação com a citarabina (Figura 3) aumentou a sobrevida em 86%, quando comparada aos pacientes que mantiveram o uso de interferon alfa em monoterapia. Entretanto, a inclusão deste fármaco na politerapia aumentou a toxicidade do tratamento.²⁷

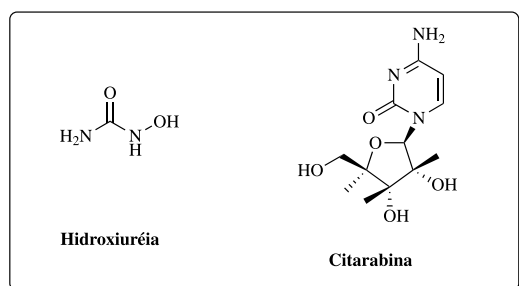


Figura 3. Estruturas químicas da hidroxiuréia e da citarabina

O transplante de célula tronco hematopoética (TCTH) – efetivo no tratamento da LMC por ser capaz de produzir resposta curativa – começou a ser utilizado em 1986; porém a idade dos pacientes – maior que 60 anos em 55% dos casos – e a falta de doadores compatíveis tornam essa modalidade terapêutica restrita.²⁸

Nos últimos anos foi observada uma revolução no tratamento da LMC com o surgimento de uma nova classe de inibidores de tirosina quinase (ITQ).²⁹ Atualmente, estão disponíveis cinco ITQs: imatinibe, dasatinibe, nilotinibe, bosutinibe e ponatinibe. Uma ilustração do mecanismo de inibição da enzima tirosina quinase BCR-ABL pelos ITQs está descrita na Figura 4.

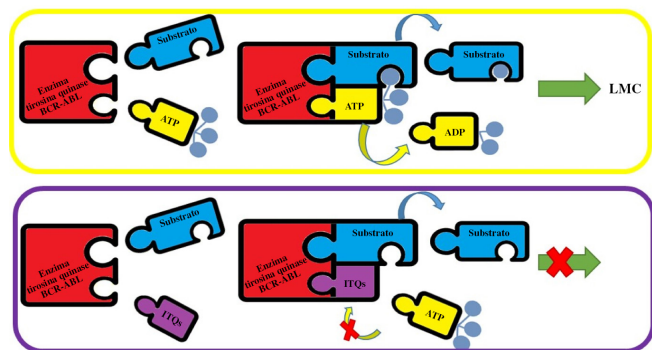


Figura 4. Mecanismo de inibição da enzima tirosina quinase BCR-ABL

O primeiro inibidor específico da tirosina quinase, a tirfostina (1), foi descrito em 1988 por Yaish & colaboradores.³⁰ Posteriormente, alguns estudos demonstraram que o esqueleto fenilaminopirimidina (FAP) (2) apresentava elevado potencial para inibir, de forma não específica, a quinase^{31,32} (Figura 5).

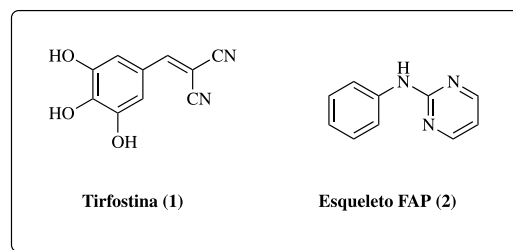


Figura 5. Estruturas químicas da tirfostina (1) e do esqueleto fenilaminopirimidina (FAP) (2)

Em 1993, Druker e colaboradores sintetizaram e testaram uma série de moléculas contendo o esqueleto FAP,³³ dentre elas o imatinibe, que revelou ser capaz de eliminar de forma seletiva as células da LMC.³⁴ Com o avanço dos testes clínicos, este fármaco passou a ser considerado como um “milagre”. Estatísticas demonstraram que quase 100% dos pacientes tratados com o mesilato de imatinibe alcançavam a remissão total da doença.³⁵

O mesilato de imatinibe (Glivec®) marcou o início da era dos “tinibes”,³⁶ embora posteriormente, alguns pacientes apresentassem resistência a ele. Este fato mostrou a necessidade de se desenvolver novos fármacos desta classe, surgindo então os inibidores de segunda e terceira gerações, os quais atuam em mais de uma quinase sendo chamados inibidores “multi-quinases”.

Inibidores de Tirosina Quinase

Considerando-se a relevância desta classe terapêutica e visando dar suporte aos futuros estudos de novos inibidores, este trabalho teve como objetivo revisar a literatura dos ITQs utilizados na terapêutica da LMC, bem como mostrar as principais rotas sintéticas para as suas obtenções.

A primeira geração de ITQs é representada pelo imatinibe, a segunda pelo dasatinibe e nilotinibe e a terceira pelo bosutinibe e ponatinibe³⁷ (Figura 6).

Imatinibe

O mesilato de imatinibe (STI571) – desenvolvido pela indústria suíça Novartis e aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 2001³⁸ – é um inibidor competitivo do sítio do ATP na enzima BCR-ABL, bloqueando sua atividade tirosina quinase ao impedir que o substrato seja fosforilado. Este bloqueio previne a transdução de sinais de energia necessários para a proliferação celular e apoptose. Além disso, o imatinibe inibe a proliferação das células de diferentes linhagens da LMC e das células progenitoras hematopoéticas.³⁹

O imatinibe é administrado por via oral com doses entre 300 e 800 mg/dia. Pode ser utilizado na terapêutica de pacientes na fase aguda e na fase acelerada. No entanto, os melhores resultados são observados em pacientes recém-diagnosticados com a doença.⁴⁰

Este fármaco tem uma rápida absorção (duas horas) quando administrado em altas doses, e sua biodisponibilidade é de 98%. Seu metabolismo é hepático, sendo realizado pela enzima citocromo P450 - isoforma CYP3A4 - e em menor extensão por outras isoformas. O objetivo do tratamento com imatinibe é encontrar uma resposta hematológica completa, alcançando como resultados uma contagem de leucócitos menor que $10 \times 10^9/L$, contagem de plaquetas menor de $450 \times 10^9/L$ e ausência de células imaturas como mielócitos, promielócitos ou mieloblásticas no sangue periférico. Além disso, espera-se a eliminação dos sintomas da doença como, por exemplo a esplenomegalia.⁴¹

Embora o tratamento da LMC com imatinibe tenha alcançado

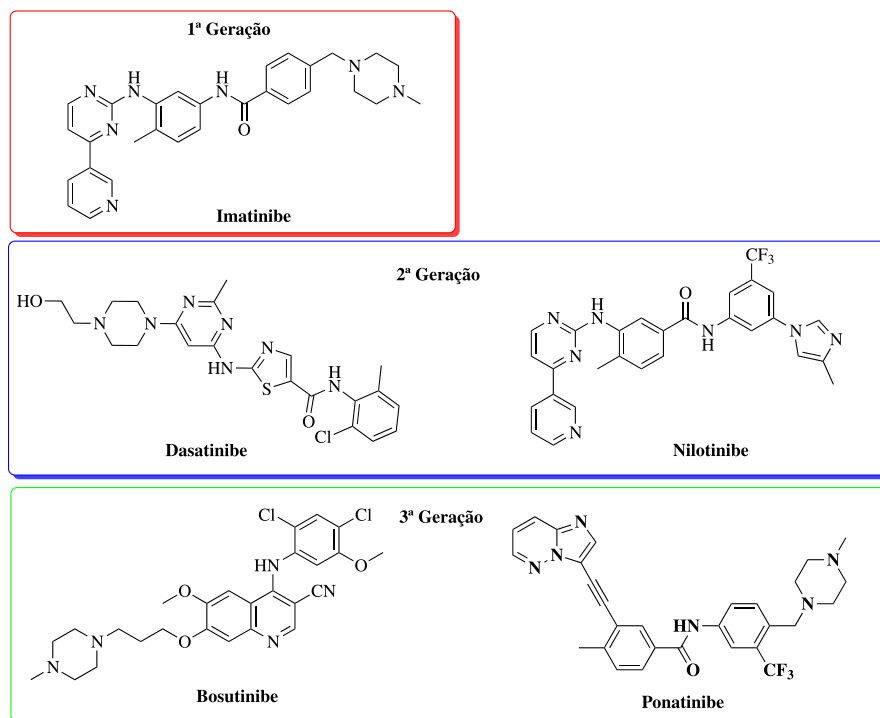


Figura 6. Inibidores de tirosina quinase de primeira, segunda e terceira geração

resultados fantásticos, aproximadamente 20 a 30% dos pacientes têm apresentado resistência.⁴² A resistência pode ser primária, quando desde o início o paciente não apresenta resposta alguma, ou pode ser resistência secundária, quando o paciente diminui ou não alcança mais resultados ao longo do tratamento.⁴³

Os mecanismos de resistência podem ser explicados através das mutações no domínio quinase da proteína BCR-ABL, amplificação genética e super expressão do gene BCR-ABL, alteração da expressão de proteínas transmembranares de influxo e de efluxo e alterações na regulação de mecanismos de transdução de sinal.⁴⁴ A mutação no domínio quinase BCR-ABL - denominada de T315I - é a mais temida, visto que somente o ponatinibe pode ser utilizado para tratar esta resistência.^{45,46}

Síntese do imatinibe

O primeiro processo para a obtenção do imatinibe é uma síntese convergente entre os intermediários **4** e **7**, e foi descrito por Zimmermann e colaboradores.⁴⁷ Neste trabalho, as principais limitações para a sua produção industrial são o uso da cianamida para a obtenção do derivado de guanidina **4**, a necessidade de três etapas reacionais e o uso do sódio para a síntese do intermediário **7**, que atualmente pode ser obtido em uma única etapa. Os rendimentos de todas as etapas desta rota sintética não foram descritos no documento original.

Recentemente, Boechat e colaboradores realizaram modificações na metodologia original.⁴⁸ As principais vantagens deste método foram a obtenção do intermediário **7** em uma única etapa, e redução do grupo nitro do intermediário **5** para **6** através do sistema Fe/NH₄Cl, em etanol e água, evitando assim o uso do Pd/C (Esquema 1). Após a avaliação experimental deste processo, verificou-se que a metodologia sintética é capaz de produzir o imatinibe em bom rendimento global e dentro das especificações farmacopéicas.

Posteriormente, os grupos de pesquisa de Kompella⁴⁹ e Szakacs⁵⁰ propuseram melhorias na rota sintética descrita por Zimmermann e colaboradores, que permitiram a obtenção do imatinibe em bom rendimento global.

Em 2003, Loiseleur e colaboradores propuseram uma rota alternativa para a obtenção deste fármaco.⁵¹ Os autores evitaram o uso

da cianamida; no entanto, foi empregado o trimetilalumínio, que é altamente inflamável, e um catalisador à base de paládio (Pd), para a penúltima e última etapa sintética, respectivamente (Esquema 2). Estas condições reacionais não viabilizaram a aplicabilidade desta rota sintética em escala industrial. O rendimento da penúltima etapa não foi descrito.

Em outra metodologia, descrita em 2007, o imatinibe pôde ser obtido a partir de uma síntese em fase sólida⁵² (Esquema 3). A maior vantagem deste método foi o uso de micro-ondas, que permitiu a redução dos tempos reacionais e aumento dos rendimentos. Apesar dos benefícios do processo, é remota a possibilidade de um “scale-up”, visto que o método tem baixa aplicabilidade industrial e não há rendimentos descritos para todas as etapas. Além disso, vários reagentes perigosos foram empregados, tais como cloreto de mercúrio (HgCl₂) e fenilsilano (PhSiH₃).

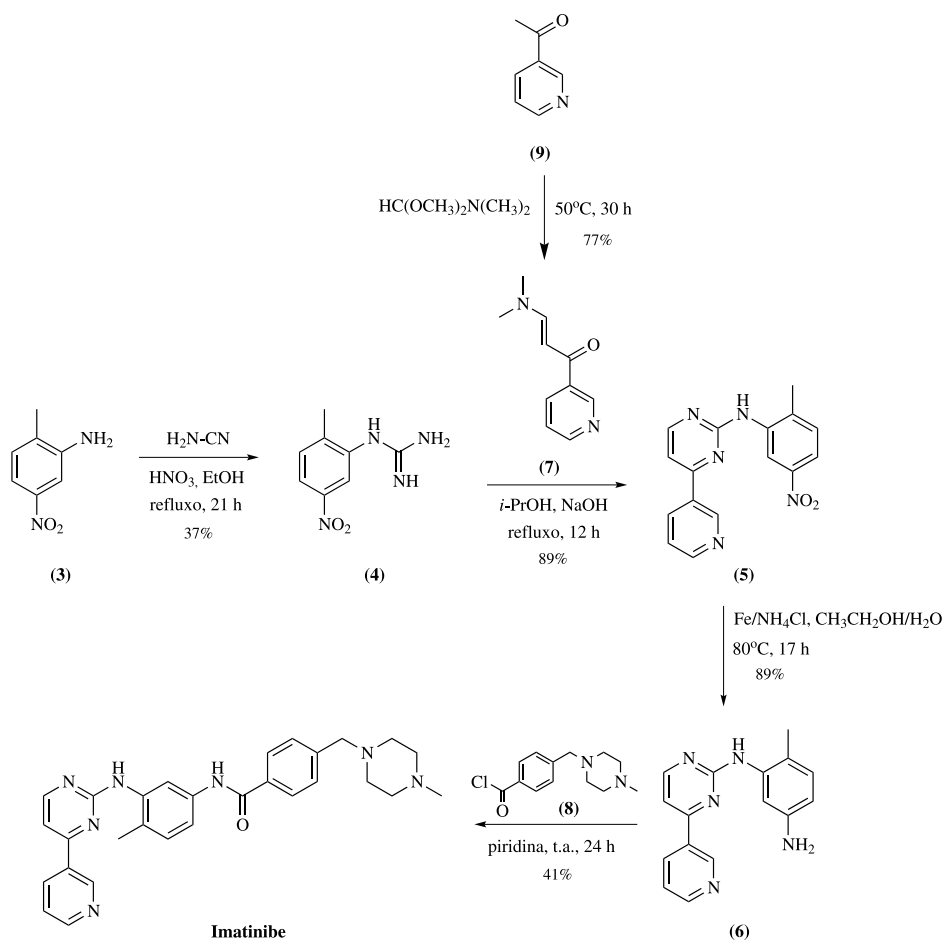
Em 2008, Liu e colaboradores⁵³ descreveram um processo com grande potencial para aumento de escala, visto que as condições reacionais eram mais simples para o uso industrial (Esquema 4).

A empresa Tianjin Weijie Technology patenteou um processo de obtenção do imatinibe em quatro etapas e com bom rendimento global (32%).⁵⁴ Nesta metodologia, a amida **21** foi utilizada como material de partida (Esquema 5).

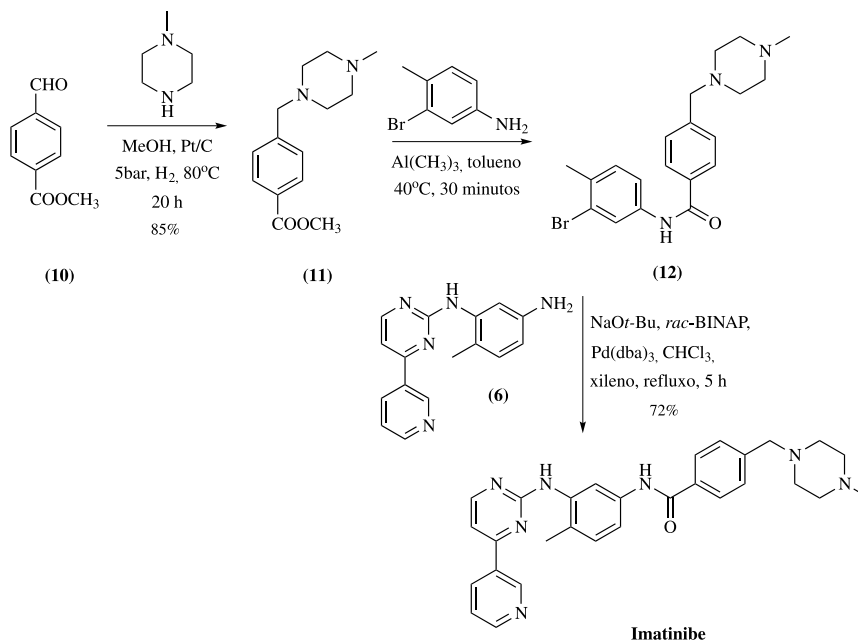
O uso da cianamida foi evitado na metodologia proposta por Wehrstedt e colaboradores. Contudo, como não há descrição do rendimento da terceira etapa, e foi necessário o uso de purificação por coluna cromatográfica para a obtenção do intermediário **5** em alto grau de pureza, este método tornou-se menos suscetível à aplicação na escala industrial⁵⁵ (Esquema 6).

A conversão do imatinibe para mesilato é descrita através da reação entre o imatinibe e o ácido metanossulfônico, na presença de carvão ativo e metanol, à temperatura ambiente.⁵⁶⁻⁶⁴

Devido à importância do imatinibe no cenário mundial e por ele não estar mais sob patente, nos últimos anos inúmeras metodologias têm sido descritas para a sua obtenção.⁵⁶⁻⁶⁴ Todas visam melhorar o rendimento global do processo e baseiam-se nos métodos já descritos anteriormente.



Esquema 1. Metodologia de síntese original para a obtenção do imatinibe aperfeiçoada por Boechat e colaboradores



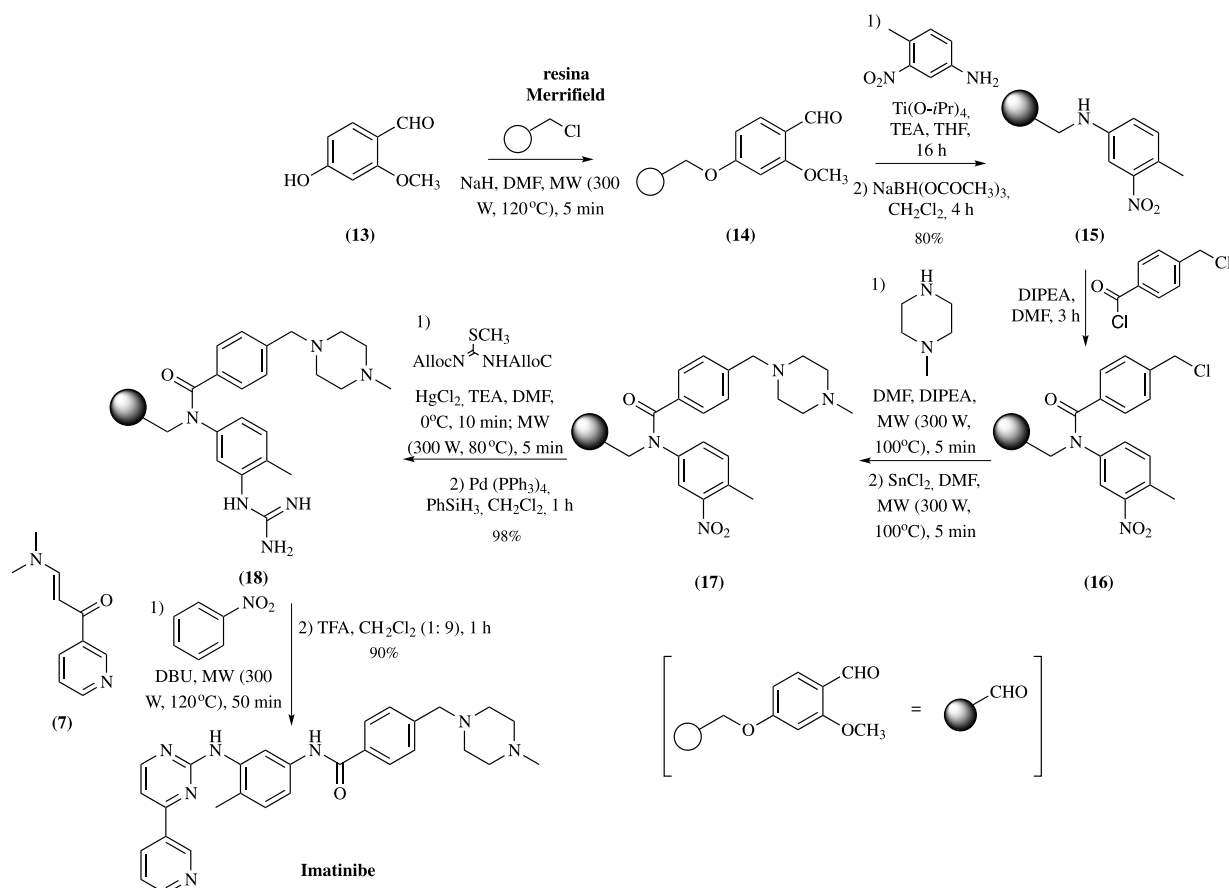
Esquema 2. Síntese descrita por Loiseleur e colaboradores para a obtenção do imatinibe

Dasatinibe

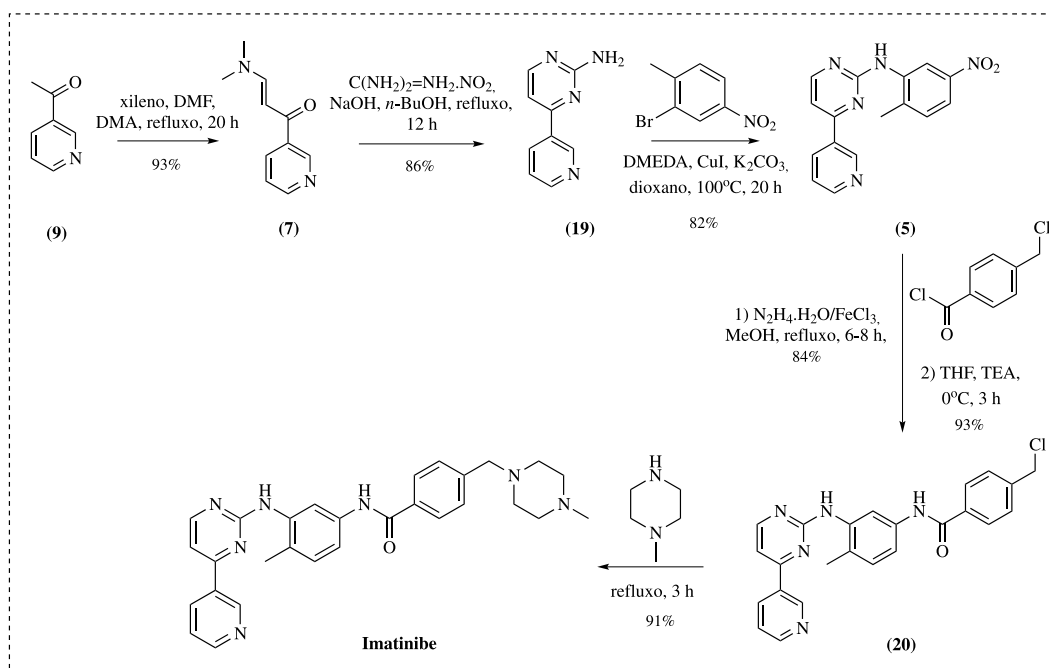
O dasatinibe (BMS-354825 - Sprycel®) - comercializado pela Bristol-Myers Squibb (BMS) - e aprovado pelo FDA em 2006⁶⁵ - é um inibidor da forma ativa e inativa da enzima BCR-ABL, além de

inibir outras quinases, tais como a família SRC, que é uma tirosina quinase intracelular, que está envolvida em processos como o crescimento celular.⁶⁶

O dasatinibe é utilizado na terapia de pacientes em fase crônica com dose inicial de 100 mg/dia, inferior ao imatinibe, que necessita



Esquema 3. Síntese em fase sólida para a obtenção do imatinibe

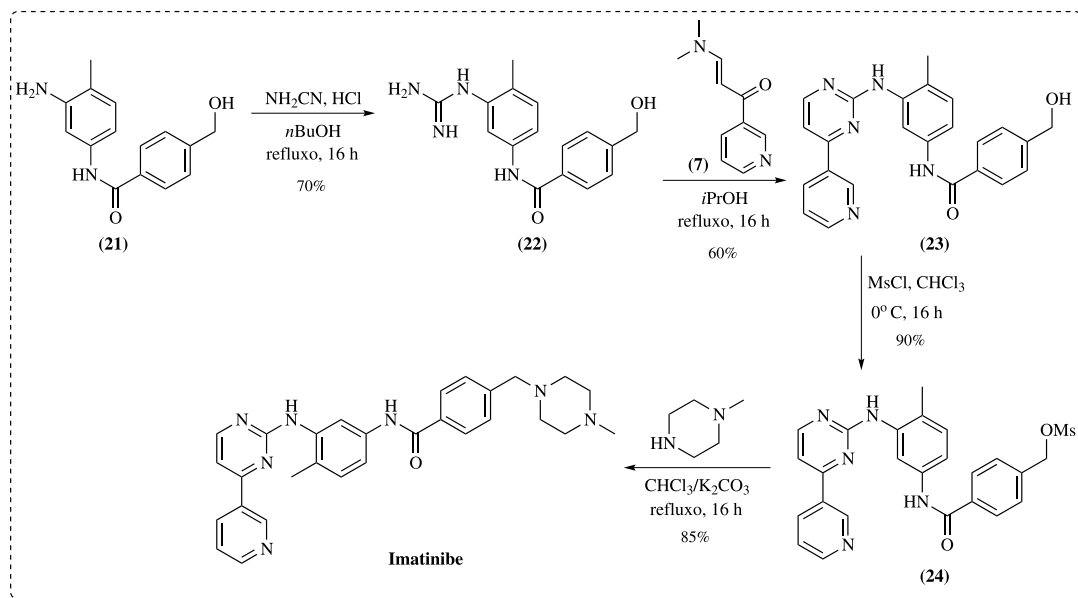


Esquema 4. Metodologia sintética para a obtenção do imatinibe descrita por Liu e colaboradores

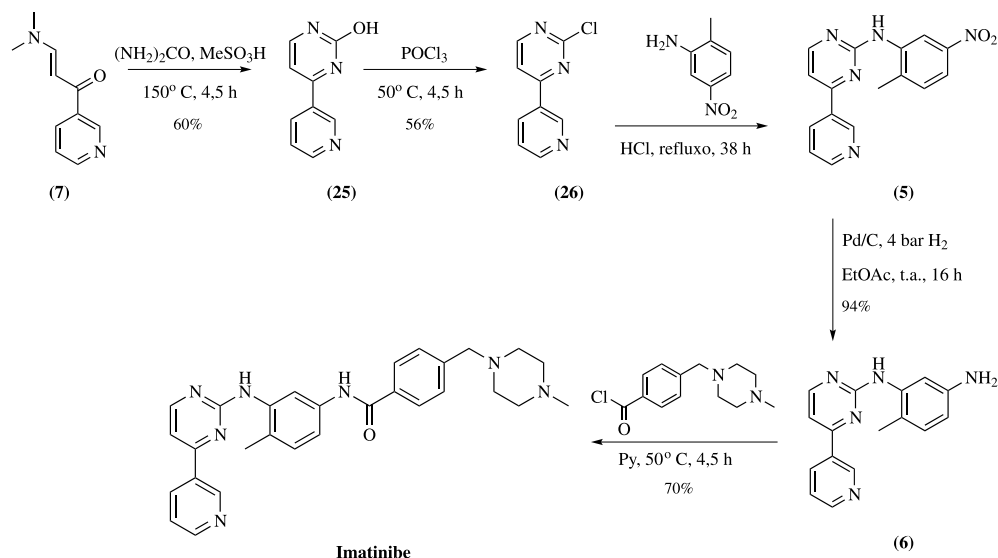
de doses entre 300 e 800 mg/dia.⁴⁰ Pacientes em fase aguda ou crise blástica utilizam doses de 70 mg duas vezes ao dia.⁶⁷ Seu tempo de meia vida é de 3 a 5 horas, sendo metabolizado pela enzima 3A4 do citocromo P450 e eliminado principalmente pelas fezes (85%).⁶⁸

Devido à habilidade em inibir a proliferação da maioria das

células mutantes resistentes ao imatinibe, o dasatinibe mostrou ser uma boa alternativa para o tratamento de pacientes que não apresentam boa resposta ao imatinibe. No entanto, uma alta toxicidade deste fármaco foi observada em pacientes nas fases mais avançadas da doença devido às elevadas doses utilizadas na terapia.^{69,70}



Esquema 5. Metodologia sintética para a obtenção do imatinibe descrita pela Tianjin Weijie Technology



Esquema 6. Síntese do composto imatinibe via S_NAr no núcleo pirimidina 26

Síntese do dasatinibe

A rota sintética original para a obtenção do dasatinibe, descrita pela Bristol-Myers Squibb (BMS), consiste de três etapas reacionais a partir da reação entre o aminotiazol **27** e a 2-cloro-6-metilnilina (**28**), formando a amida **29**. Posteriormente, **29** foi tratada com excesso de hidreto de sódio e o ânion gerado foi usado na reação com a pirimidina **30**. A última etapa foi realizada através da reação de substituição nucleofílica aromática entre o derivado **31** e a piperazina **32**, e o rendimento reacional não foi descrito⁷¹⁻⁷⁴ (Esquema 7).

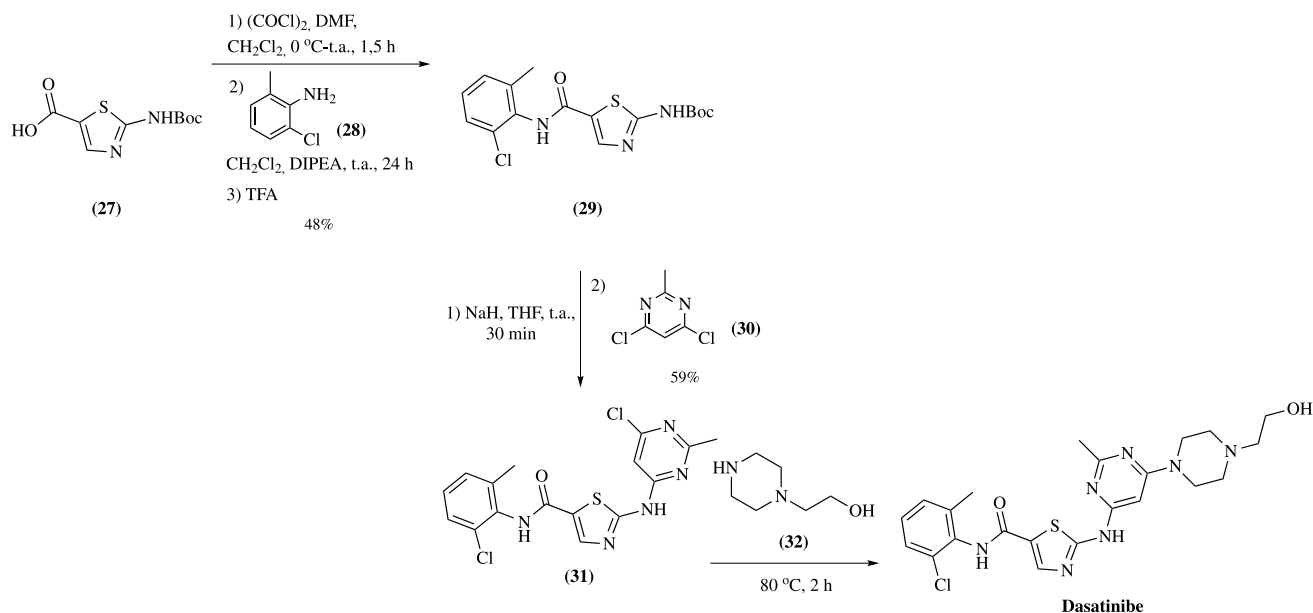
A metodologia para a obtenção do amino tiazol **27** (Esquema 8) foi descrita em 2006 por cientistas da BMS envolvidos na síntese do dasatinibe e, portanto, não está relatada na patente original.^{75,76}

Em 2006, a BMS descreveu uma outra rota sintética para a síntese do dasatinibe, que foi preparado em escala de multigramas com rendimento global de 61% (Esquema 9). A metodologia teve início com a desprotonação do 2-cloro tiazol (**35**), seguida da adição do ânion ao isocianato **36**. Posteriormente, o intermediário **37** foi tratado com o 1-(clorometil)-4-metoxi-benzo (**38**) para a formação do derivado **39** em 95% de rendimento. Este foi submetido à uma reação de

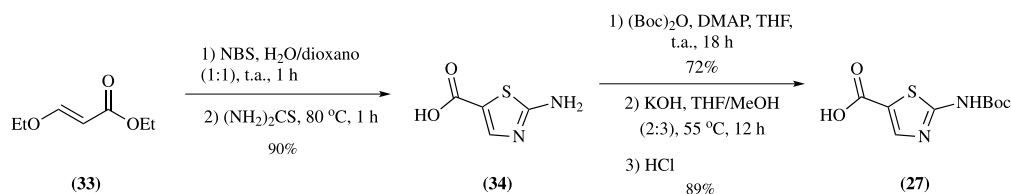
substituição nucleofílica aromática para a formação do intermediário **41**, que após desproteção levou à formação do composto **42** em 99% de rendimento. A etapa final desta rota consistiu na reação entre a piperazina **32** e o intermediário **42** para a formação do dasatinibe. Apesar de ser um método eficiente, a maior limitação do processo é a dificuldade na síntese do material de partida **35**, que é obtido através da cloração direta do tiazol, com a formação de regioisômeros, necessitando de purificação para uso.^{75,76}

Em outra metodologia, a preparação do dasatinibe foi realizada através de uma síntese convergente onde a formação do anel tiazólico ocorre nas últimas etapas da rota (Esquema 10). A reação inicia-se com a obtenção da enona **48**, a partir de uma adição à carbonila no substrato **47**. Em seguida, ocorre a formação do intermediário tiazólico **49** em 71% de rendimento. Este foi tratado com a piperazina **32** para a formação do fármaco com bom rendimento global.^{77,78}

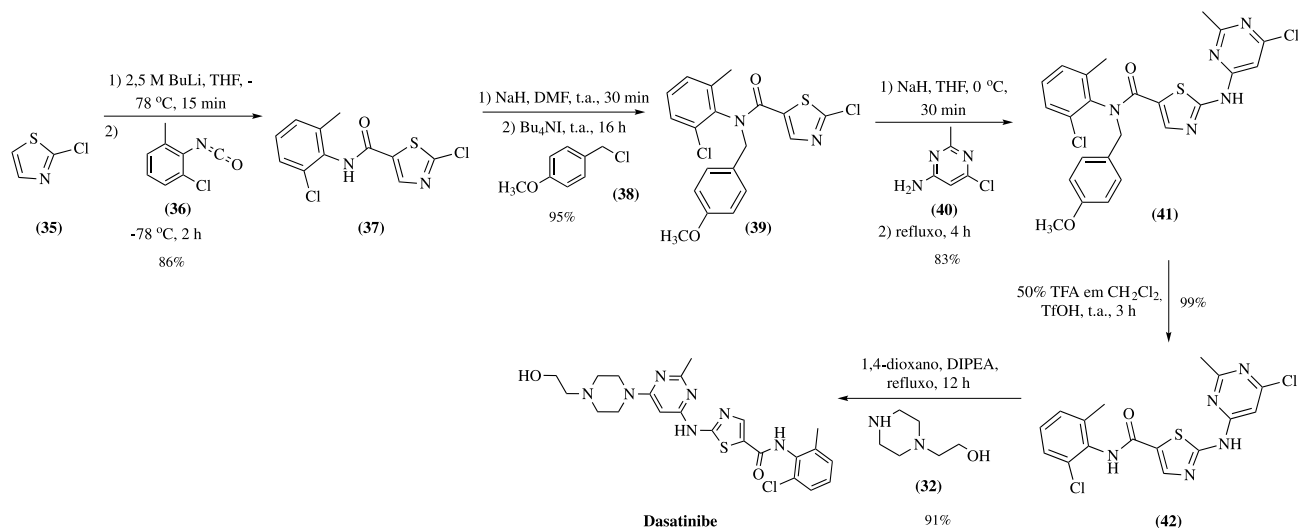
Uma outra rota sintética com poucas etapas reacionais foi proposta para a preparação deste fármaco. Este processo inicia-se com uma reação de substituição nucleofílica aromática na 4,6-dicloro-2-metil-pirimidina (**30**) formando **50**, que após acoplamento de



Esquema 7. Rota sintética original para a síntese do dasatinibe descrita pela BMS



Esquema 8. Preparação do carboxilato 27 utilizado como material de partida na rota sintética original para a síntese do dasatinibe



Esquema 9. Síntese do dasatinibe descrita pela BMS a partir do 2-clorotiazol (35)

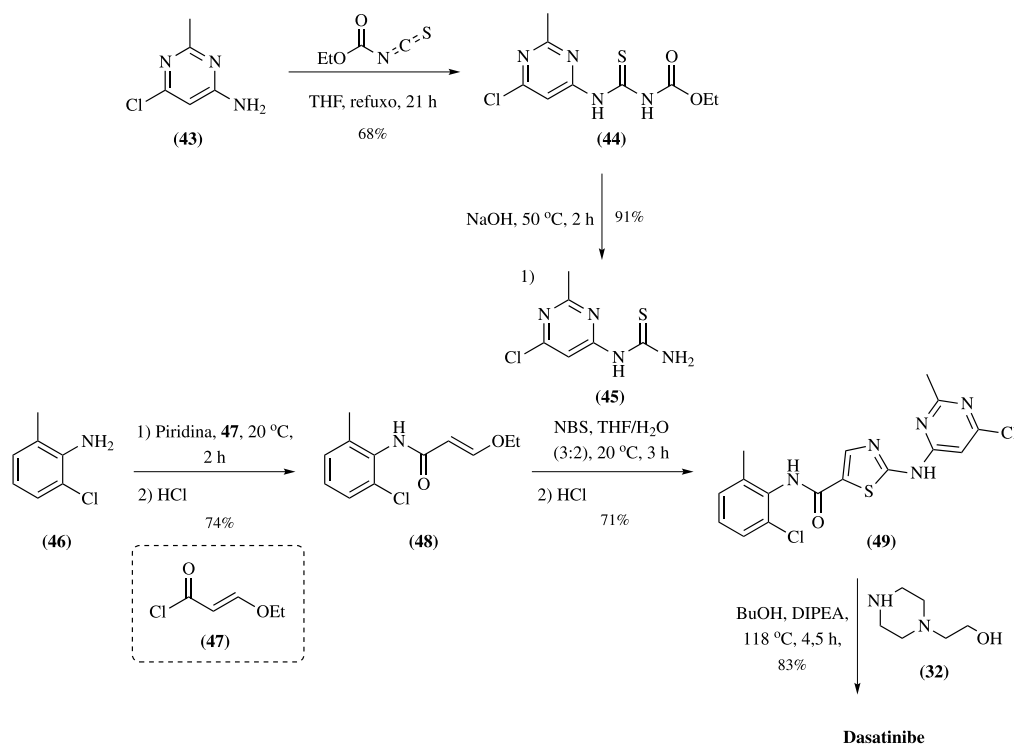
Buchwald-Hartwig com **51** levou à formação do dasatinibe em 80% de rendimento global⁷⁸ (Esquema 11).

Em 2010, a empresa de Bio-engenharia Nanjing Cavendish descreveu duas metodologias para a preparação do dasatinibe.⁷⁹ Na primeira, o dasatinibe foi preparado em quatro etapas, partindo da 4,6-dicloro-2-metil-pirimidina (**30**). O segundo método utilizou como materiais de partida a 4-amino-6-bromo-2-metil-pirimidina (**56**) e o 2-clorotiazol-5-carboxilato de metila (**57**) (Esquema 12). Neste processo, a primeira etapa consistiu de uma reação de substituição nucleofílica aromática no intermediário **57**. Posteriormente, o derivado **58** foi submetido à uma hidrólise do éster fornecendo

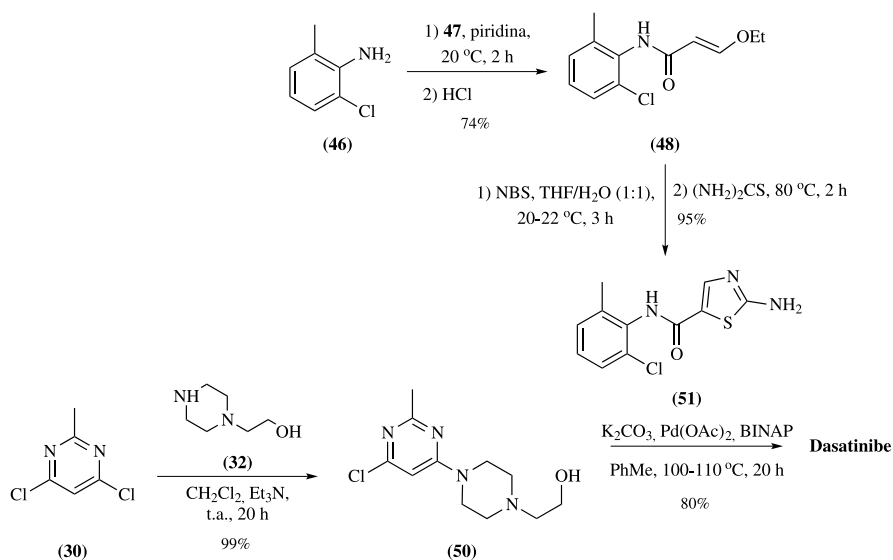
o composto **59** em 78% de rendimento. O rendimento global do método foi de 42%.

Nilotinibe

O nilotinibe (AMN107 - Tasigna®) - desenvolvido pela Novartis e aprovado em 2007 pelo FDA – é utilizado em pacientes adultos com LMC, em fase crônica ou acelerada, resistentes ou intolerantes ao imatinibe. É estruturalmente semelhante ao imatinibe e foi descoberto a partir de um planejamento racional que objetivava melhor afinidade e especificidade de ligação contra BCR-ABL em relação ao imatinibe.^{80,81}



Esquema 10. Preparação do dasatinibe através de uma síntese convergente entre **45** e **48**



Esquema 11. Preparação do dasatinibe através do acoplamento de Buchwald-Hartwig de um aminotiazole **51** e uma pirimidina **50**

Apresenta atividade contra a maioria das mutações resistentes ao imatinibe, com exceção domínio de mutação T315I do gene BCR-ABL, que permaneceu insensível. Além disso, inibe o receptor de tirosina quinase e marcador tumoral (c-Kit) e o receptor do fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGFR).^{80,82}

A dose usual do tratamento é de 200 mg duas vezes ao dia. O pico de concentração plasmática é alcançado três horas após a ingestão oral. Os principais metabólitos encontrados são produtos de oxidação e hidroxilação, que ocorrem na fase I do metabolismo hepático. Seus metabólitos são inativos e a principal via de eliminação é pelas fezes. As reações adversas mais relatadas pelos pacientes foram erupção cutânea, prurido, náusea, fadiga, dor de cabeça, dor abdominal, constipação e diarreia.⁸³

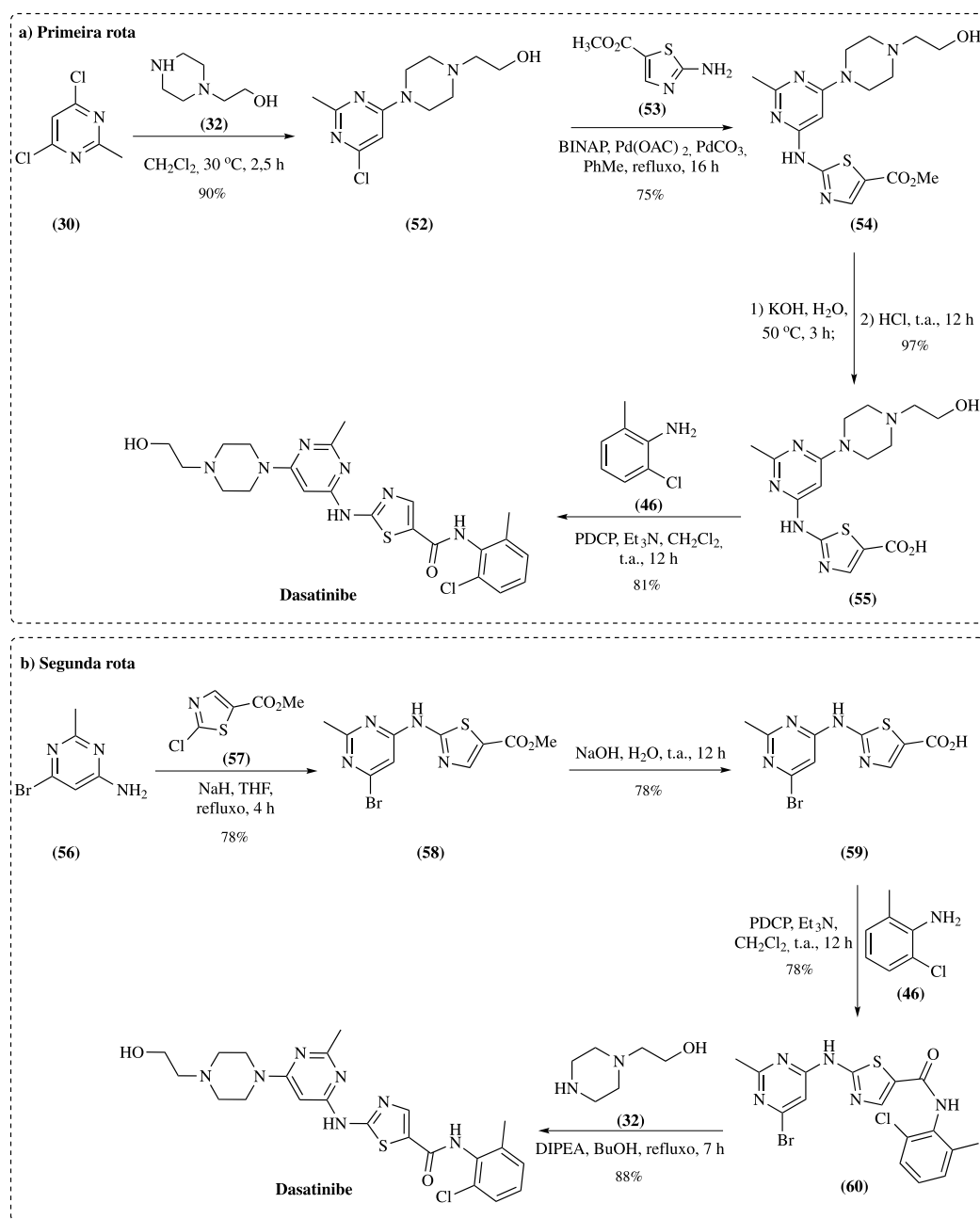
Pacientes em fase crônica apresentaram uma resposta hematológica de 62%, sendo 41% completa; enquanto na fase aguda a resposta

hematológica foi de 44% e 22% a completa. Com relação à resposta citogenética, observou-se um índice de 42% e 12%, respectivamente, nos dois grupos.⁸⁴

Recentemente, Hochhaus e colaboradores publicaram um estudo comparativo entre a incidência de mutações em pacientes que fizeram uso do nilotinibe ou imatinibe. Os resultados mostraram que pacientes tratados com nilotinibe apresentaram menor número de mutações BCR-ABL do que pacientes tratados com imatinibe.⁸⁵

Síntese do nilotinibe

Em 2004, foi depositada pela Novartis a primeira patente para a obtenção do nilotinibe sem conter nenhum dado de rendimento reacional. O método consiste em uma síntese convergente entre os intermediários **64** e **65**. A obtenção de **64** consiste na formação do sal da guanidina **62**, seguida de uma reação de condensação com a



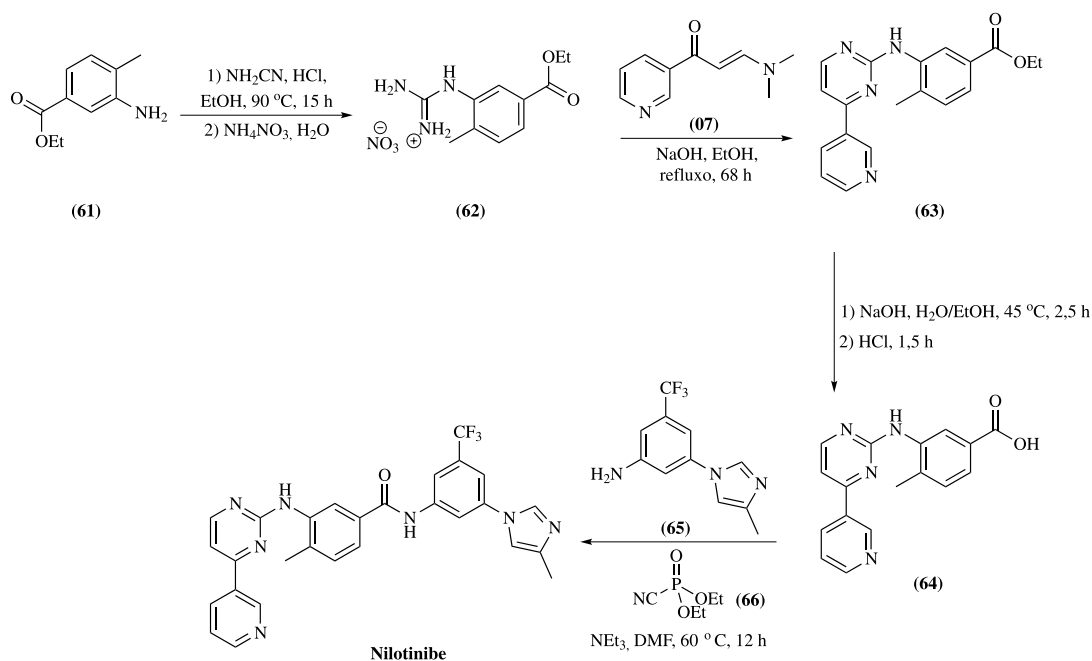
Esquema 12. Rotas sintéticas descritas pela empresa de Bio-engenharia Nanjing Cavendish para a obtenção do dasatinibe

enaminona **07** levando à formação da pirimidina **63**. Posteriormente, o grupo éster de **63** foi hidrolisado para o ácido carboxílico correspondente **64** e acoplado com anilina **65**, utilizando fosforocianidato de dietila (**66**) como reagente de acoplamento (Esquema 13). Nesta patente também foi descrita a metodologia de preparação da anilina **65** através de uma rota com quatro etapas reacionais.⁸⁶ Contudo, em 2006, a Novartis descreveu quatro diferentes rotas sintéticas para a obtenção do derivado **65** com rendimentos globais variando entre 18 e 53%.⁸⁷

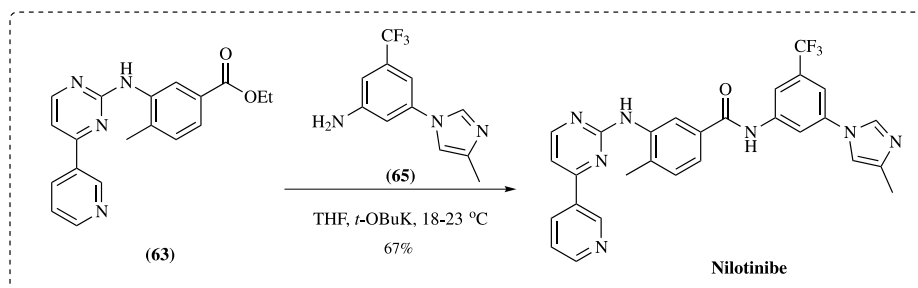
Estudos posteriores mostraram que o nilotinibe poderia ser sintetizado através da condensação direta da anilina **65** com éster metílico **63** (Esquema 14). A reação foi realizada à temperatura ambiente, na presença de *tert*-butóxido de potássio, levando à formação do produto final em 67% de rendimento isolado. Este método oferece vantagens, tais como a eliminação da etapa de hidrólise e a necessidade de ativação do ácido **64** para a formação do nilotinibe. Estas mudanças favorecem a preparação do fármaco

em escala industrial e diminuem o custo, além de eliminar o uso de reagentes de acoplamento, que são relativamente caros e dificultam a purificação.⁸⁸

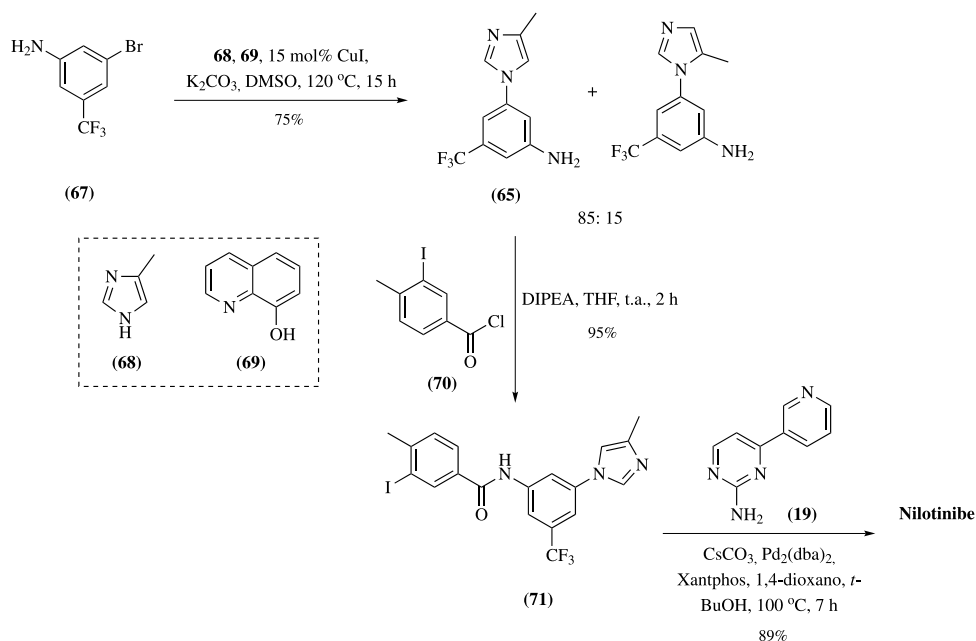
Uma rota sintética mais simples foi desenvolvida por pesquisadores da Ariad Pharmaceuticals (Esquema 15). Esta metodologia inicia-se com o acoplamento do 4(5)-metilimidazole (**68**) com a 3-bromo-5-trifluorometilanilina (**67**), levando à formação da mistura de anilinas **65** como regioisômeros na proporção de 85: 15. Neste processo, a combinação do quelante 8-hidroxiquinolina (**69**) e iodeto de cobre facilitou a reação de acoplamento, ocorrendo a formação do produto com rendimentos razoáveis. A separação e purificação dos isômeros **65** pôde ser obtida através de cromatografia em coluna e recristalização, respectivamente. Na etapa posterior, foi realizada a reação entre a anilina **65** com o cloreto de ácido **70**, ocorrendo a formação do derivado **71** em 95% de rendimento. A etapa final consiste em um acoplamento de Buchwald que permite a obtenção do nilotinibe em 89% de rendimento.⁸⁹



Esquema 13. Síntese convergente do nilotinibe descrita pela Novartis, através da reação entre o intermediário **64** e a anilina **65**



Esquema 14. Obtenção do nilotinibe através da reação entre os intermediários **63** e **65**

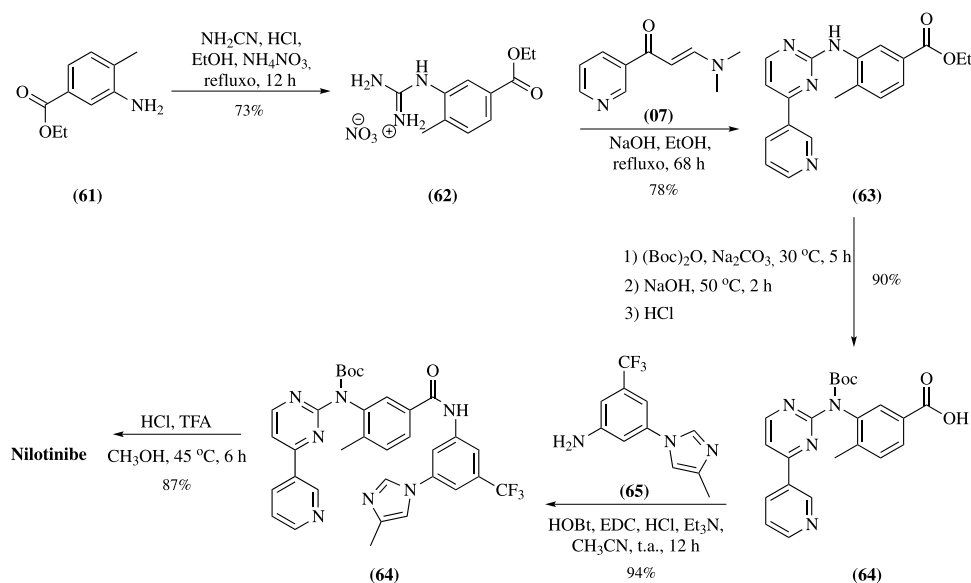


Esquema 15. Síntese do nilotinibe a partir da anilina **67** desenvolvida pela Ariad Pharmaceuticals

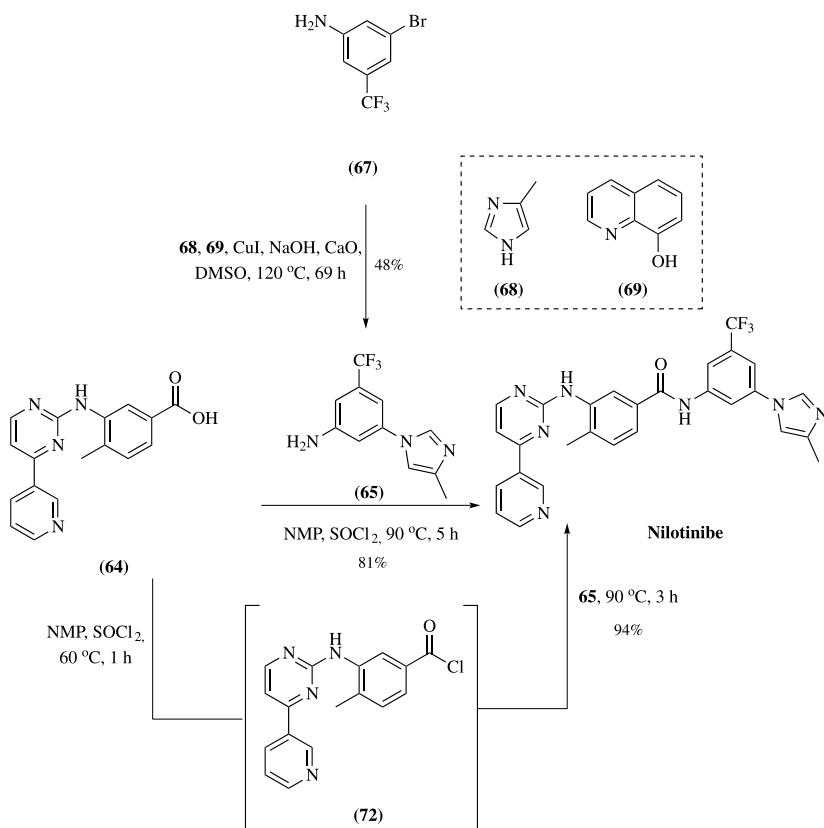
Em 2009, Chen e colaboradores descreveram um processo de obtenção do nilotinibe que utiliza condições semelhantes à síntese original.⁸⁶ No entanto, a amina em **63** foi protegida com carbamato de *tert*-butil (Boc) antes da hidrólise do éster. Isto permitiu o acoplamento do intermediário **64** com a anilina **65** em excelente rendimento⁹⁰ (Esquema 16).

Posteriormente, a Teva Pharmaceuticals patenteou uma reação de acoplamento catalisada por cobre, para gerar o intermediário chave anilina **65** (Esquema 17). A metodologia desenvolvida melhorou a regioselectividade e o isômero-1,5 foi detectado como uma impureza

com 0,13% de rendimento. O processo utilizou a 8-hidroxiquinolina (**69**) como quelante, iodeto de cobre e uma mistura de óxido de cálcio e hidróxido de sódio. A reação foi aquecida à 120 °C por 69 horas, e o produto final foi purificado por precipitação utilizando uma mistura de acetato de etila/éter de petróleo. A segunda etapa consistiu na reação entre o intermediário **65** com o cloreto de ácido **72**, obtido *in situ*, levando à formação do nilotinibe em 81% de rendimento.⁹¹ Rendimentos mais elevados (94%) foram observados quando o cloreto de ácido **72** foi isolado e, em seguida, acoplado com a anilina **65** (Esquema 17).



Esquema 16. Preparação do nilotinibe utilizando a proteção de amina em **63** com Boc para a melhoria do rendimento do processo



Esquema 17. Método de preparação do nilotinibe desenvolvido pela Teva Pharmaceuticals

Um método alternativo também descrito pela Teva Pharmaceuticals inicia-se com a preparação do cloreto de ácido **72**, seguido de uma reação de acoplamento utilizando THF como solvente, *N,N*-Diisopropiletilamina (DIPEA) como base, na presença de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) como um co-catalisador. A etapa final para a formação do nilotinibe consiste em outro acoplamento entre os derivados **73** e **68**, utilizando iodeto de cobre, **69** e 1,8-diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-eno (DBU), à 120 °C por 48 horas (Esquema 18). O baixo rendimento reacional desta etapa (44%) foi devido às perdas durante a filtração sob celite, utilizada para a purificação do produto.⁹¹

Em 2012, Buchwald e colaboradores descreveram um outro processo que consiste no acoplamento do 4(5)-metilimidazole (**68**) com o 3-(trifluorometil)-5-bromoanilina (**67**), levando à formação regioselectiva do intermediário **65** em 90% de rendimento. Este excelente resultado foi atribuído ao uso do Pd como catalisador. Este tipo de catálise também foi empregada com sucesso para a preparação do derivado **63**, utilizado na última etapa da síntese do fármaco. Contudo, uma das principais limitações desta metodologia é a necessidade de remoção dos resíduos do metal no produto final⁹² (Esquema 19).

Bosutinibe

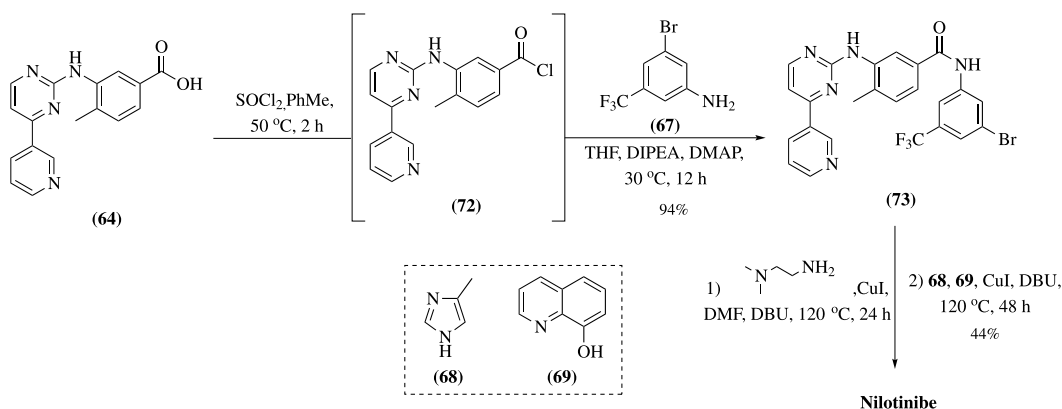
O bosutinibe (SKI606 - Bosulif®) - comercializado pela Pfizer e aprovado pelo FDA, em setembro de 2012 – é utilizado em pacientes em fase crônica, acelerada ou blástica com cromossomo Ph positivo, resistentes ou intolerantes ao imatinibe.⁹³

Assim como o dasatinibe, o bosutinibe é um duplo inibidor ativo contra SCR e BCR-ABL (inibe a maioria das células resistentes ao imatinibe, exceto a T315I), que não apresenta atividade inibitória contra o c-Kit ou PDGFR.⁹⁴ Possui um padrão de inibição semelhante ao imatinibe, contudo utiliza menores doses para atingir seu efeito. Acredita-se que devido à similaridade do padrão de inibição, ambos os fármacos compartilham de um mecanismo comum de inibição.⁹⁵

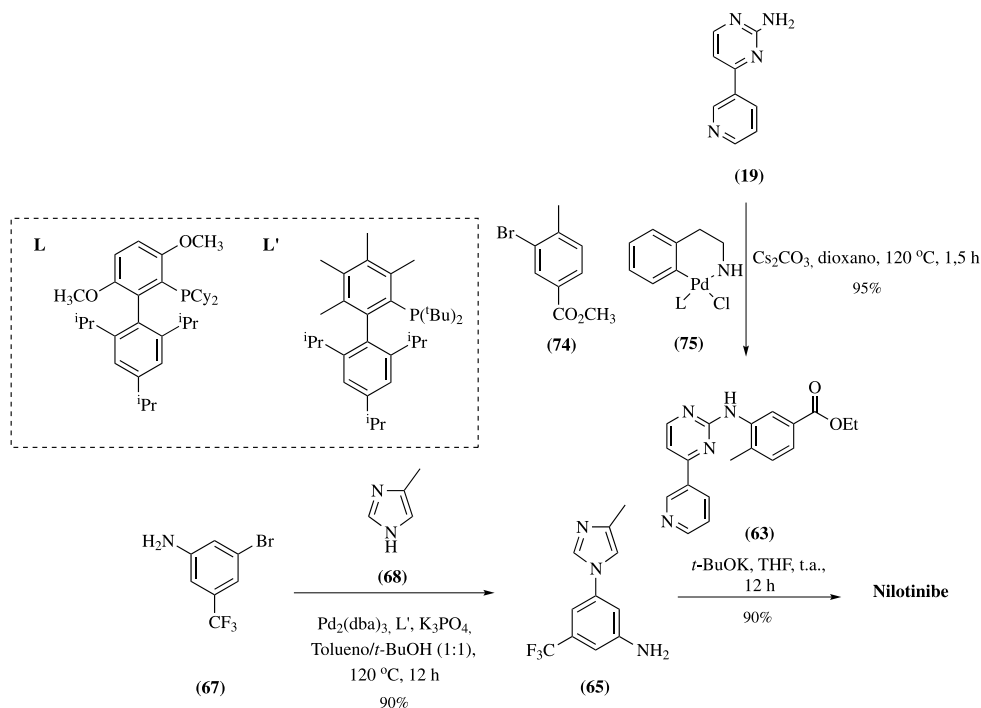
A dosagem indicada é de 500 mg ao dia, sendo necessária a ingestão acompanhada de um alimento. Entre 4 a 6 horas, o medicamento atinge o seu pico plasmático, sendo metabolizado principalmente pelo CYP3A4. Os seus metabólitos não são ativos e a sua eliminação é pelas fezes.⁹⁶

Síntese do bosutinibe

Os métodos descritos na literatura para a síntese do bosutinibe



Esquema 18. Metodologia de síntese do nilotinibe em três etapas reacionais, desenvolvida pela Teva Pharmaceuticals



Esquema 19. Metodologia descrita por Buchwald e colaboradores para a síntese do intermediário **63** e do nilotinibe

apresentam algumas desvantagens, tais como baixos rendimentos, alto custo dos reagentes e elevados tempos reacionais. A metodologia proposta por Boschelli e colaboradores consiste num processo de seis etapas cuja aplicabilidade foi limitada devido ao rendimento global de 8,3%.⁹⁷ A primeira etapa consiste em uma reação de alquilação da hidroxila, seguida da nitração e posterior redução do grupo nitro em **77** para formar **78**. Para a obtenção de **79**, inicialmente ocorreu a formação da amidina, seguido da ciclização do anel. Na quarta etapa, o oxicloreto de fósforo (POCl₃) foi utilizado como reagente numa reação de cloração. Após uma substituição nucleofílica aromática em **80**, seguida de uma substituição nucleofílica bimolecular em **81**, o bosutinibe foi obtido com elevado grau de pureza⁹⁷ (Esquema 20).

O método proposto por Sutherland e colaboradores é composto por cinco etapas e apresenta rendimento global de 32%. É considerado um processo eficiente, mesmo que alguns reagentes possuam elevado custo e algumas etapas apresentem longos tempos reacionais, configurando limitações importantes⁹⁸ (Esquema 21).

A síntese do bosutinibe com maior potencial para aplicação em escala industrial foi descrita em 2010 por Yin e colaboradores⁹⁹ (Esquema 22). Esta metodologia inicia-se com o ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzóico (**88**), que foi esterificado e alquilado com 1-bromo-3-cloropropano, levando à formação do intermediário **89**. A nitração seguida da redução do grupo nitro no derivado **89** permitiu a formação do composto **78**, o qual foi condensado com 3,3-dietoxipropionitrila, ciclizado e clorado para a obtenção do derivado 4-cloroquinolina

80. Este, após reação de substituição nucleofílica aromática com a 2,4-dicloro-5-metoxianilina formou o derivado **81**, que finalmente reagiu com a *N*-metilpiperazina para obter o bosutinibe.

Ponatinibe

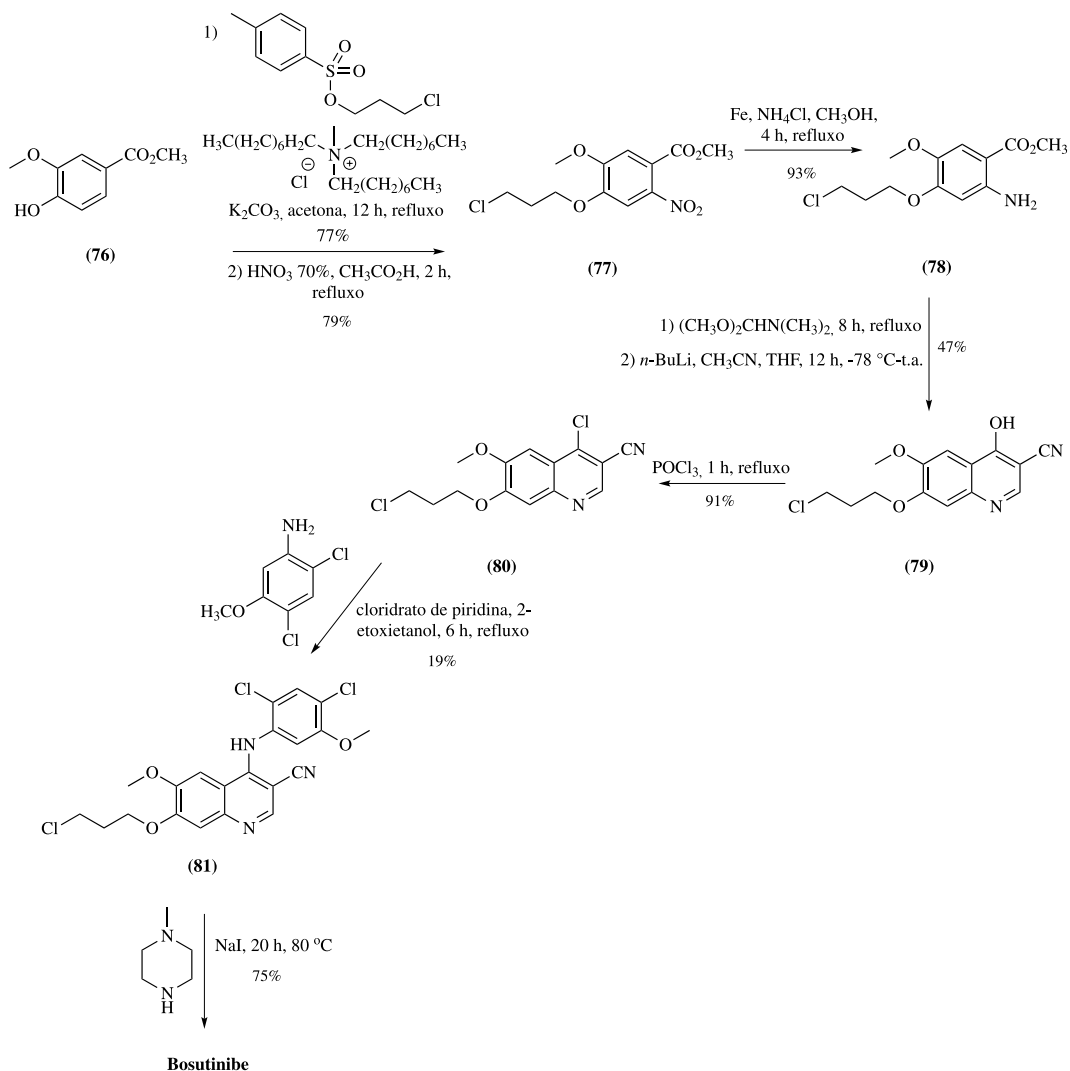
Em 14 de dezembro de 2012 o FDA concedeu aprovação acelerada para ponatinibe (AP24534 - Iclusig®). Desenvolvido pela Ariad Pharmaceuticals, é indicado para o tratamento de pacientes adultos com fase crônica, fase acelerada ou blástica de LMC, que são resistentes ou intolerantes às terapias anteriores com quaisquer inibidores de tirosina quinase.¹⁰⁰

A aprovação acelerada foi baseada nos resultados de um estudo multicêntrico internacional. Os ensaios clínicos com 449 pacientes resistentes ou intolerantes ao tratamento com inibidores da tirosina quinase mostraram que ele inibe a mutação T315I.¹⁰¹

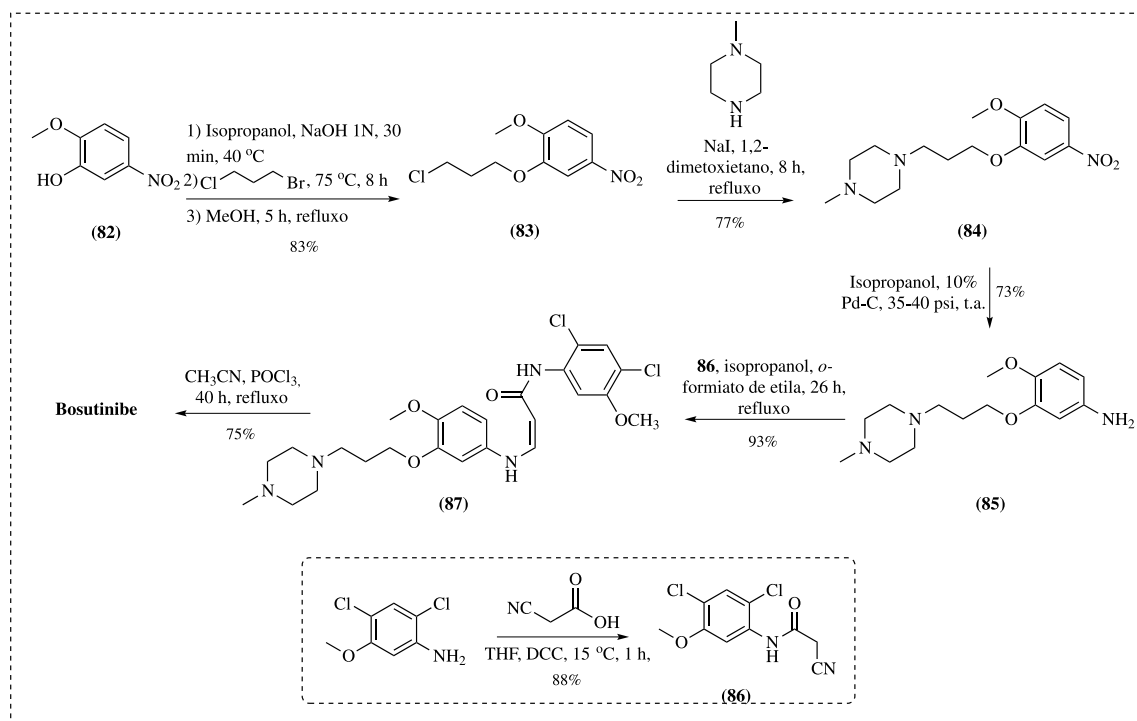
A dose recomendada e a posologia para ponatinibe é de 45 mg uma vez ao dia. Os efeitos colaterais mais comuns relatados no ensaio clínico incluem hipertensão, erupção cutânea, dor abdominal, fadiga, dor de cabeça, pele seca, constipação, febre, dor nas articulações e náuseas. No entanto, também foram observados casos de trombose arterial e hepatotoxicidade.¹⁰⁰

Síntese do ponatinibe

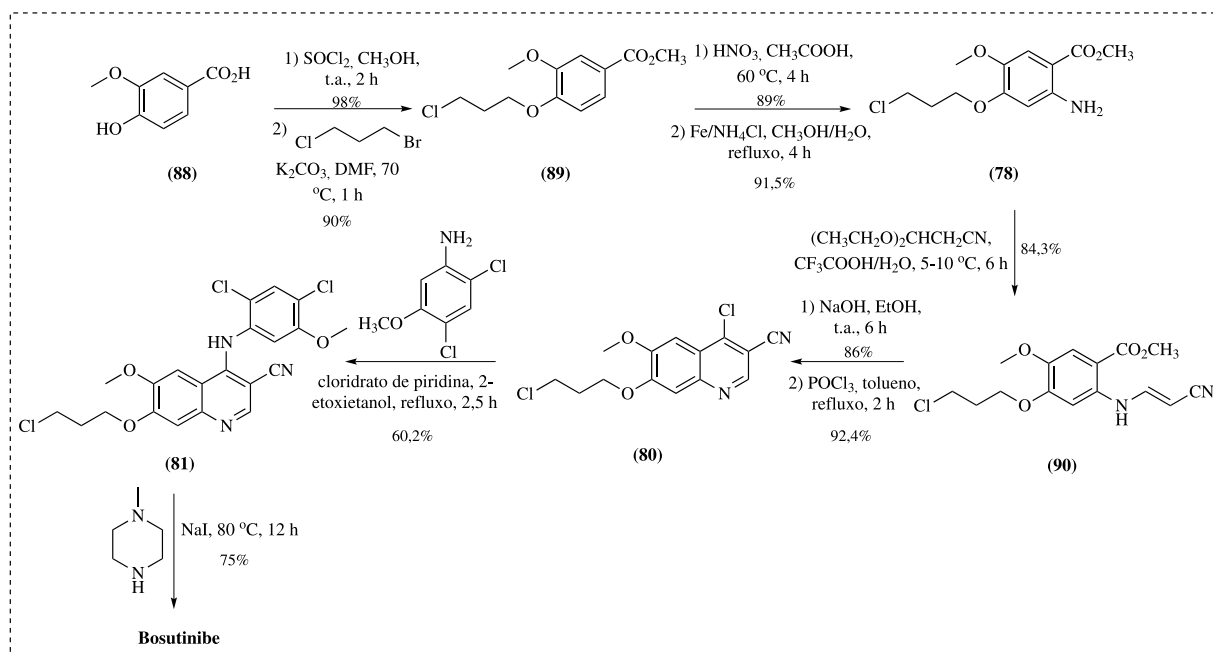
A primeira síntese do ponatinibe, descrita por Zou e colaboradores,



Esquema 20. Metodologia com seis etapas reacionais para a síntese do bosutinibe descrita por Boschelli e colaboradores



Esquema 21. Processo de síntese do bosutinibe com cinco etapas e rendimento global de 32%, descrito por Sutherland e colaboradores



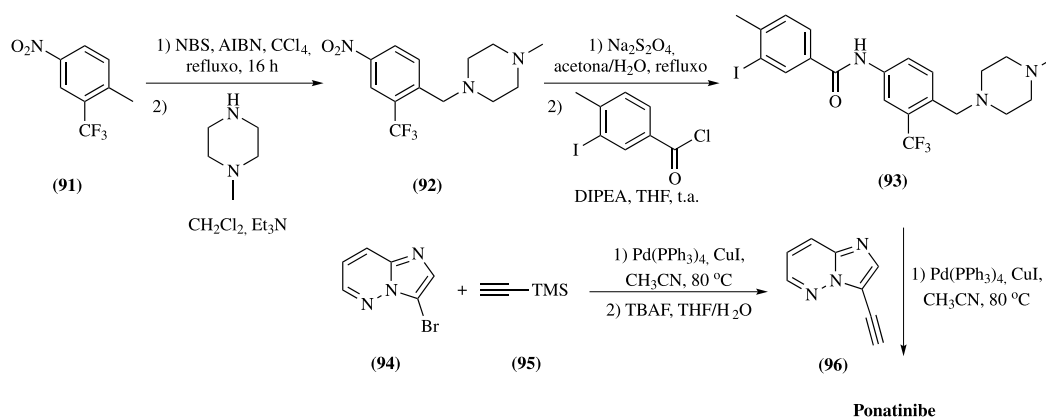
Esquema 22. Síntese descrita em 2010 para obtenção do bosutinibe em escala industrial com cinco etapas

consiste num processo convergente e simples que realiza dois acoplamentos de Sonogashira para a introdução de uma ligação tripla entre dois ligantes.¹⁰² Para a preparação do primeiro ligante **93** foi realizada a reação entre o 2-trifluorometil-4-nitrotolueno (**91**), o *N*-bromosuccinimida (NBS) e a *N*-metilpiperazina para a formação do intermediário **92**. A redução do grupo nitro em **92**, seguido do acoplamento com cloreto de 3-iodo-4-metilbenzoila, permitiu a síntese do intermediário **93**. A segunda porção molecular **96** foi obtida a partir da reação com PdCl₂(PPh₃)₂ ou Pd(PPh₃)₄, CuI em acetonitrila, a 80 °C; e este, após o acoplamento de Sonogashira com **93**, levou à formação do ponatinibe¹⁰² (Esquema 23). Neste trabalho,

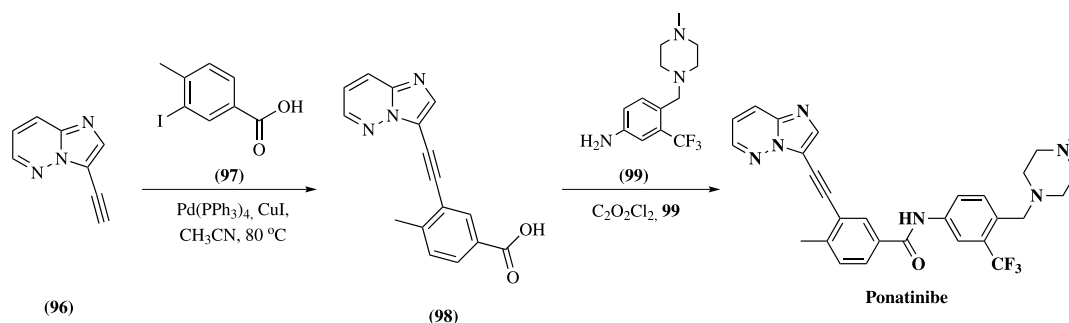
os rendimentos reacionais não foram descritos.

Em outra abordagem, os autores propuseram realizar o acoplamento de Sonogashira no início da síntese (Esquema 24). Esta metodologia inicia-se com a preparação do intermediário **98** através da reação entre **96** e o ácido 3-iodo-4-metilbenzóico (**97**).¹⁰² Os rendimentos das etapas não foram descritos.

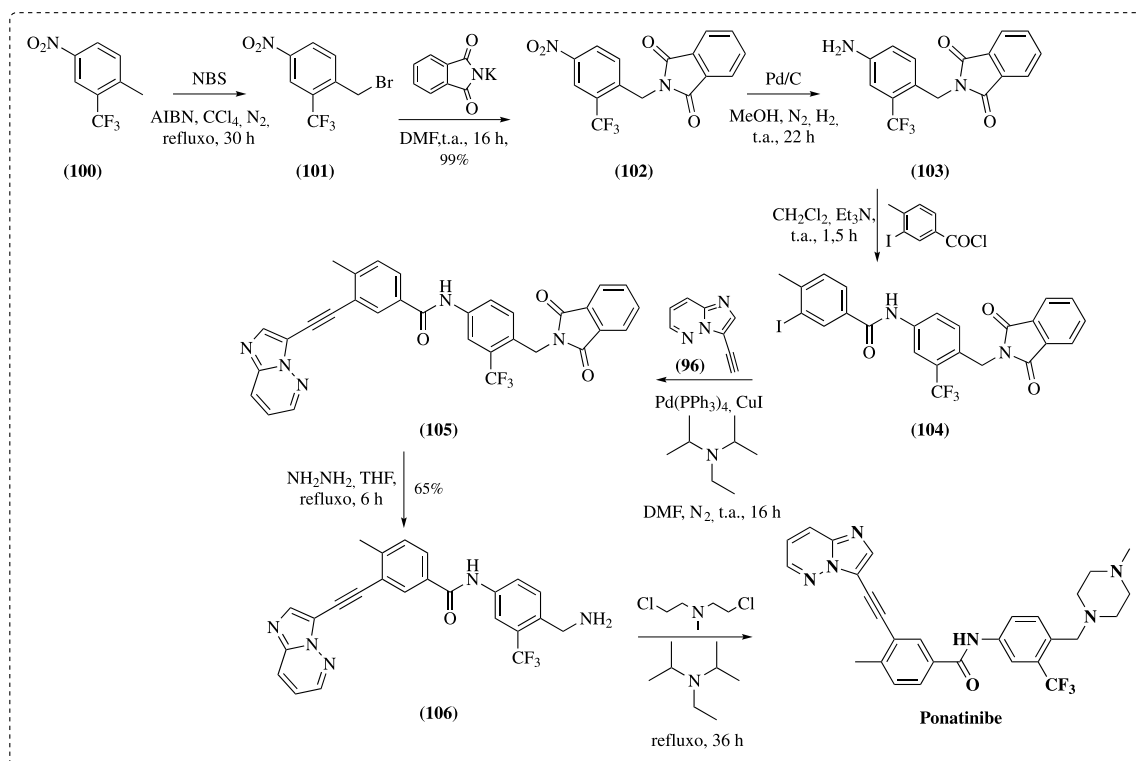
Em 2014, Kovi e colaboradores descreveram uma metodologia sintética para a preparação do ponatinibe em sete etapas¹⁰³ (Esquema 25). Segundo os autores, este método foi capaz de reduzir drasticamente a complexidade do processo quando comparado aos anteriores. Inicialmente, o 1-metil-2-trifluorometil-4-nitrobenzeno



Esquema 23. Primeira metodologia de síntese do ponatinibe descrita por Zou e colaboradores



Esquema 24. Rota sintética para a preparação do ponatinibe, que realiza o acoplamento de Sonogashira no início da síntese

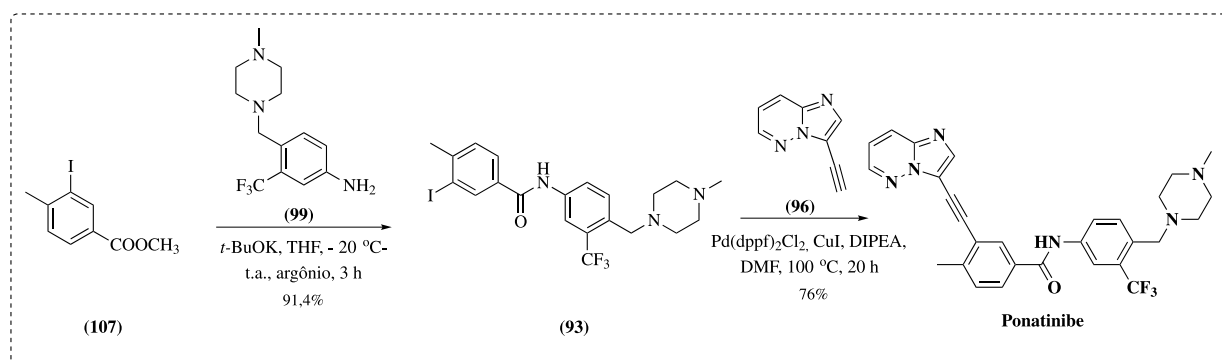


Esquema 25. Metodologia descrita por Kovi e colaboradores para a preparação do ponatinibe em sete etapas reacionais

(100) reagiu com NBS, para a formação do intermediário 101. Este, após reação com ftalimida de potássio seguida de redução catalítica, levou à formação do composto 103. Posteriormente, foram realizadas mais quatro etapas reacionais para a formação do ponatinibe. Os rendimentos reacionais de algumas das etapas não foram descritos.

Outra metodologia para a preparação do ponatinibe foi descrita

por Ding e colaboradores. Neste trabalho, o composto pôde ser sintetizado através de uma rota sintética em duas etapas. A primeira consiste em uma reação de adição à carbonila levando à formação do intermediário 93 em 91% de rendimento. Este, após ser submetido a uma reação de acoplamento de Sonogashira, permitiu a formação do ponatinibe¹⁰⁴ (Esquema 26).



Esquema 26. Rota sintética descrita por Ding e colaboradores para a preparação do ponatinibe

CONCLUSÕES

O imatinibe foi o primeiro representante da classe dos inibidores de tirosina quinase BCR-ABL utilizado no tratamento da LMC. Atualmente, não há mais nenhuma patente que impeça a produção desta substância, e com isso, inúmeras metodologias de síntese encontram-se descritas. Todos os métodos visam diminuir o custo de produção com objetivo de reduzir o valor final do medicamento.

Para o dasatinibe e nilotinibe, ITQs de segunda geração, há um menor número de rotas sintéticas. Contudo, pode-se observar que nos últimos anos muitos grupos investiram na pesquisa de novos processos de preparação destas substâncias devido à proximidade de expiração de suas patentes. Um dos grandes benefícios dos ITQs de segunda geração é a redução das doses necessárias para tratar o paciente.

Com relação à terceira geração, bosutinibe e ponatinibe, o número de metodologias sintéticas é muito inferior, pois eles foram recentemente aprovados pelo FDA (ambos em 2012).

Finalmente, pode-se dizer que o emprego dos ITQs e a descoberta do mesilato de imatinibe revolucionaram o tratamento da LMC. No entanto, ainda existe a necessidade de desenvolver novos análogos que tenham a capacidade de inibir as formas mutantes resistentes aos fármacos de primeira, segunda e terceira gerações. Outra importante necessidade é o uso de fármacos que apresentem baixa ou nenhuma toxicidade, visto que eles são de uso contínuo. Para isto, é importante o conhecimento dos métodos de obtenção dos intermediários e ITQs visando a síntese de novos derivados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES, FAPERJ e ao CNPq pelas bolsas e auxílios financeiros aos projetos desenvolvidos no Laboratório de Síntese de Fármacos de Farmanguinhos.

REFERÊNCIAS

1. <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/cancer/site/oquee>, acessada em Janeiro de 2017.
2. <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/671-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/doencas-cronicas-nao-transmissiveis/14125-vigilancia-das-doencas-cronicas-nao-transmissiveis>, acessada em Janeiro de 2017.
3. <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/>, acessada em Janeiro de 2017.
4. http://globocan.iarc.fr/Pages/bar_dev_sel.aspx, acessada em Janeiro de 2017.
5. Contran, R.; Kumar, V.; Collins, T.; *Patologia Estrutural e Funcional*, 6ª ed., Guanabara: Koogan, 2000.
6. <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia>, acessada em Janeiro de 2017.
7. Fauci, A. S.; Braunwald, E.; Kasper, D. L.; Hauser, S. L.; Longo, D. L.; Jameson, J. L.; Loscalzo, J.; *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed., McGraw-Hill: New York, 2008.
8. Joske, D. J.; *Med. J. Aust.* **2008**, *1*, 277.
9. Geary, C. G.; *British J. Haematol.* **2000**, *110*, 2.
10. Nowell, P. C.; Hungerford, D. A.; *J. Natl. Cancer Inst.* **1961**, *27*, 1013.
11. Druker, B. J.; Sawyers, C. L.; Kantarjian, H.; Resta, D. J.; Reese, S. F.; Ford, J. M.; Capdeville, R.; Talpaz, M.; *N. Engl. J. Med.* **2001**, *344*, 1038.
12. Daley, G. Q.; Van Etten, R. A.; Baltimore, D.; *Science* **1990**, *247*, 824.
13. Baselga, J.; *Science* **2006**, *312*, 1175.
14. Farderl, S.; Kantarjian, H. M.; Talpaz, M.; O'Brien, S.; *Semin. Oncol.* **2000**, *27*, 578.
15. Cutler, E. G.; Bradford, E. H.; *Am. J. Med. Sci.* **1878**, *75*, 74.
16. Senn, N.; *Med. Records New York* **1903**, *64*, 281.
17. Hoffman, W. J.; Craver, L. F.; *J. Am. Med. Assoc.* **1931**, *97*, 836.
18. Bryant, T.; *Guy's Hosp. Rep.* **1866**, *12*, 444.
19. Wintrobe, M. M.; *Ann. Intern. Med.* **1947**, *27*, 529.
20. Osarogiagbon, U. R.; McGlave, P. B.; *Curr. Opin. Hematol.* **1999**, *6*, 241.
21. Guimaraes, J. R. Q.; *Manual de Oncologia*, 2ª ed., BBS: São Paulo, 2006.
22. Hehlmann, R.; Heimpel, H.; Hasford, J.; Kolb, H. J.; Pralle, H.; Hossfeld, D. K.; Queisser, W.; Löffler, H.; Hochhaus, A.; Heinze, B.; *Blood* **1993**, *82*, 398.
23. Talpaz, M.; *Semin. Hematol.* **2001**, *38*, 22.
24. Kantarjian, H.; O'Brien, S.; Cortes, J.; Shan, J.; Giles, F.; Garcia-Manero, G.; Verstovsek, S.; Faderl, S.; Rios, M. B.; Talpaz, M.; *Cancer* **2003**, *98*, 1430.
25. Kantarjian, H. M.; *J. Clin. Oncol.* **1992**, *10*, 772.
26. Hahn, E. A.; Glendenning, G. A.; *Semin Hematol.* **2003**, *40*, 31.
27. Guilhot, F.; Chastang, C.; Michallet, M.; *N. Engl. J. Med.* **1997**, *337*, 223.
28. Gratwohl, A.; Hermans, J.; Niederwieser, D.; Frassoni, F.; Arcese, W.; Gahrton, G.; Bandini, G.; Carreras, E.; Vernant, J. P.; Bosi, A.; *Bone Marrow Transplant.* **1993**, *12*, 509.
29. Romeiro, N. C.; Avila, C. M.; *Rev. Virtual Quim.* **2010**, *2*, 59.
30. Yaish, P.; Gazit, A.; Gilon, C.; Levitzki, A.; *Science* **1988**, *242*, 933.
31. Druker, B. J.; Lydon, N. B. *Clin. Invest.* **2000**, *105*, 3.
32. Choi, H. G.; Sim, T.; Gray, N.; Zhou, W.; Chang, J. W.; Zhang, J.; Weisberg, E.; *WO 144909* **2010**. (CA 154:64811)
33. Capdeville, R.; Buchdunger, E.; Zimmermann, J.; Matter, A.; *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 493.
34. Goldman, J. M.; *Lancet* **2000**, *355*, 1031.
35. Hunter, T.; *J. Clin. Invest.* **2007**, *117*, 2036.
36. Lima, L. M.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 1456.
37. Quintás-Cardama, A.; Kantarjian, H.; Cortes, J.; *Semin. Hematol.* **2010**, *47*, 371.
38. Pinto, A. C.; Barreiro, E. J.; *Quim. Nova* **2013**, *36*, 1557; Barreiro, E. J.; Pinto, A. C.; *Rev. Virtual Quim.* **2013**, *5*, 1059.

39. Savage, D. G.; Antman, K. H.; *N. Engl. J. Med.* **2002**, *346*, 683.
40. O'Brien, S. G.; Guilhot, F.; Larson, R. A.; Gathmann, I.; Baccarani, M.; Cervantes, F.; Cornelissen, J. J.; Fischer, T.; Hochhaus, A.; Hughes, T.; *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 994.
41. Moen, M. D.; Mckeage, K.; Plosker, G. L.; Siddiqui, M. A.; *Drugs* **2007**, *67*, 299.
42. Apperley, J. F.; *Lancet Oncol.* **2007**, *8*, 1018.
43. Mahon, F. X.; Deininger, M. W. N.; Schultheis, B.; Chabrol, J.; Reiffers, J.; Goldman, J. M.; Melo, J. V.; *Blood* **2000**, *96*, 1070.
44. Silva, V. P. N.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Nova de Lisboa, Portugal, 2011.
45. Gorre, M. E.; Mohammed, M.; Ellwood, K.; Hsu, N.; Paquette, R.; Rao, P. N.; Sawyers, C. L.; *Science* **2001**, *293*, 876.
46. Melo, J. V.; Chuah, C.; *Cancer Lett.* **2007**, *249*, 121.
47. a) Zimmermann, J.; *EP0564409* **1993**. (CA120:107056); Zimmermann, J.; *US5521184* **1996**. (CA125:114681)
48. Boechat, N.; Bastos, M. M.; Duarte, S. L.; Costa, J. C. S.; Mafra, J. C. M.; Daniel, L. C. C.; *Rev. Virtual Quím.* **2013**, *5*, 222.
49. Kompella, A.; Bhujanga, A. K. S. R.; Venkaiah, N. C.; Srinivas, R.; *WO04108699* **2004**. (CA142:56339)
50. Szakács, Z.; Béni, S.; Varga, Z.; Orfi, L.; Kéri, G.; Noszál, B.; *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 249.
51. Loiseleur, O.; Kaufmann, D.; Abel, S.; Buerger, H. M.; Meisenbach, M.; Schmitz, B.; Sedelmeier, G.; *WO03066613* **2003**. (CA139:180080)
52. Leonetti, F.; Capaldi, C.; Carotti, A.; *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3455.
53. Liu, Y. F.; Wang, C. L.; Bai, Y. J.; Han, N.; Jiao, J. P.; Qi, X. L.; *Org. Process Res. Dev.* **2008**, *12*, 490.
54. Han, P.; Lin, D.; Ma, C.; Peng, X.; Song, H.; Sun, Z.; Yang, M.; *CN101735197* **2010**. (CA153:116266)
55. Wehrstedt, K. D.; Wildner, W.; Güthner, T.; Holzrichter, K.; Mertschenk, B.; Ulrich, A.; *J. Hazard. Mater.* **2009**, *170*, 829.
56. Pathi, S. L.; Kankan, R. N.; Puppala, R.; *IN20110617* **2011**. (CA162:365447)
57. Lee, J. J.; Kang, S. G.; Jang, S. J.; *KR2015010142* **2015**. (CA162:272978)
58. Xu, H.; Zhang, Z.; Wang, W.; *CN104230885* **2014**. (CA162:137895)
59. Xu, X.; Min, T.; Shi, W.; *Yaoxue Shijian Zazhi* **2014**, *32*, 290.
60. Gruza, H.; Mirek, S.; Jezewski, A.; Wrzosek, A.; *PL215042 B1* **2013**. (CA161:628850)
61. Liu, Z.; Yang, K.; Yu, L.; Wu, L.; Guo, X.; Chen, Z.; *Huaxue Shiji* **2014**, *36*, 574.
62. Xu, M.; He, L.; Guo, F.; *CN103664874* **2014**. (CA160:515640)
63. Zhao, C.; Li, X.; Wang, X.; *CN103588754* **2014**. (CA160:356375)
64. Fors, B. P.; Watson, D. A.; Biscoe, M. R.; Buchwald, S. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13552.
65. Cortes, J.; Rousselot, P.; Kim, D.; Ritchie, E.; Hamerschlak, N.; Coutre, S.; Hochhaus, A.; Guilhot, F.; Saglio, G.; Apperley, J.; Ottmann, O.; Shah, N.; Erben, P.; Branford, S.; Agarwal, P.; Gollerkeri, A.; Baccarani, M.; *Blood* **2007**, *109*, 3207.
66. O'Hare, T.; Walters, D. K.; Stoffregen, E. P.; Jia, T.; Manley, P. W.; Mestan, J.; Cowan-Jacob, S. W.; Lee, F. Y.; Heinrich, M. C.; Deininger, M. W. N.; Druker, B. J.; *Cancer Res.* **2005**, *65*, 4500; O'Hare, T.; *Cancer Cell* **2009**, *16*, 401.
67. Quintas-Cardama, A.; Kantarjian, H.; O'Brien, S.; Borthakur, G.; Bruzzi, J.; Munden, R.; Cortes, J.; *J. Clin. Oncol.* **2007**, *25*, 3908.
68. <http://www.medicinanet.com.br/bula/4806/sprycel.htm>, acessada em Janeiro de 2017.
69. Tokarski, J. S.; Newitt, J. A.; Chang, C. Y. J.; Cheng, J. D.; Wittekind, M.; Kiefer, S. E.; Kish, K.; Lee, F. Y. F.; Borzilleri, R.; Lombardo, L. J.; Xie, D.; Zhang, Y.; Klei, H. E.; *Cancer Res.* **2006**, *66*, 5790.
70. Delamain, M. T.; Conchon, M.; *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* **2008**, *30*, 37.
71. Das, J.; Padmanabha, R.; Chen, P.; Norris, D. J.; Doweiko, A. M. P.; Barrish, J.; Wityak, J.; Louis, L. J.; Lee, F. Y. F.; *WO04085388* **2004**. (CA140:253556)
72. Das, J.; Padmanabha, R.; Chen, P.; Norris, D. J.; Doweiko, A. M. P.; Barrish, J. C.; Wityak, J.; *US pat. 04007302* **2004**. (CA140:253556)
73. Das, J.; Padmanabha, R.; Chen, P.; Norris, D. J.; Doweiko, A. M. P.; Barrish, J. C.; Wityak, J.; Lombardo, J. J.; Lee, F. Y. F.; *US pat. 040054186* **2004**. (CA140:253556)
74. Barrish, J. C.; Wityak, J.; Das, J.; Chen, P.; Norris, D. J.; Shieven, G.; *US pat. 050288303* **2005**. (CA133:321878)
75. Lombardo, L. J.; Lee, F. Y.; Chen, P.; Norris, D.; Barrish, J. C.; Behnia, K.; Castaneda, S.; Cornelius, L. A. M.; Das, J.; Doweiko, A. M.; Fairchild, C.; Hunt, J. T.; Inigo, I.; Johnston, K.; Kamath, A.; Kan, D.; Klei, H.; Marathe, P.; Pang, S.; Peterson, R.; Pitt, S.; Schieven, G. L.; Schmidt, R. J.; Tokarski, J.; Wen, M. L.; Wityak, J.; Borzilleri, R. M.; *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6658.
76. Das, J.; Chen, P.; Norris, D.; Padmanabha, R.; Lin, J.; Moquin, R. V.; Shen, Cook, L. S.; Doweiko, A. M.; Pitt, S.; Pang, S.; Shen, D. R.; Fang, Q.; de Fex, H. F.; McIntyre, K. W.; Shuster, D. J.; Gillooly, K. M.; Behnia, K.; Schieven, G. L.; Wityak, J.; Barrish, J. C.; *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6819.
77. Chen, B. C.; Zhao, R.; Wang, B.; *WO05076990* **2005**. (CA143:211902)
78. Chen, B. C.; Droghini, R.; Lajeunesse, J.; Dimarco, J. D.; Galella, M.; Chidambaram, R.; *WO05077945* **2005**. (CA143:248376)
79. Hou, W.; Xu, Y.; Yan, R.; Yang, H.; *CN101812060* **2010**. (CA153:406452)
80. Weisberg, E.; Manley, P. W.; Breitenstein, W.; Brügggen, J.; Cowan-Jacob, S. W.; Ray, A.; Huntly, B.; Fabbro, D.; Fendrich, G.; Hall-Meyers, E.; Kung, A. L.; Mestan, J.; Daley, G. Q.; Callahan, L.; Catley, L.; Cavazza, C.; Azam, M.; Neuberger, D.; Wright, R. D.; Gilliland, D. G.; Griffin, J. D.; *Cancer Cell.* **2005**, *7*, 129.
81. <http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/fda-nilotinib>, acessada em Janeiro de 2017.
82. Deininger, M. W.; *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 4027.
83. Lipton, J. H.; Pasic, I.; *Leuk. Res.* **2017**, *55*, 65.
84. Le Coutre, P.; Ottmann, O. G.; Giles, F.; Kim, D. W.; Cortes, J.; Gattermann, N.; Apperley, J. F.; Larson, R. A.; Abruzzese, E.; O'Brien, S. G.; Kuliczowski, K.; Hochhaus, A.; Mahon, F. X.; Saglio, G.; Gobbi, M.; Kwong, Y. L.; Baccarani, M.; Hughes, T.; Martinelli, G.; Radich, J. P.; Zheng, M.; Shou, Y.; Kantarjian, H.; *Blood* **2008**, *111*, 1834.
85. Hochhaus, A.; Saglio, G.; Larson, R. A.; Kim, D. W.; Etienne, G.; Rosti, G.; De Souza, C.; Kurokawa, M.; Kalaycio, M. E.; Hoenekopp, A.; Fan, X.; Shou, Y.; Kantarjian, H. M.; Hughes, T. P.; *Blood* **2013**, *121*, 3703.
86. Breitenstein, W.; Furet, P.; Jacob, S.; Manley, P. W.; *WO04005281* **2004**. (CA140:77161)
87. Abel, S.; Acemoglu, M.; Erb, B.; Krell, C.; Sclafani, J.; Meisenbach, M.; Prashad, M.; Sheih, W. C.; Xue, S.; *WO06135640* **2006**. (CA146:81866)
88. McKenna, J.; Shieh, W. C.; *WO06135641* **2006**. (CA146:81883)
89. Huang, W. S.; Shakespeare, W.; *Synthesis* **2007**, 2121.
90. Chen, Y.; Wang, L.; Zhou, H.; Wang, C.; *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi* **2009**, *40*, 401.
91. Wang, Y.; Li, J.; Kansal, V. K.; Zhu, J.; Lifshitz-Liron, R.; Mistry, D.; Vasoya, S. L.; Ariyamuthu, S.; Piraski, G.; He, X.; *WO10009402* **2010**. (CA152:192145)
92. Buchwald, S. L.; Ueda, S.; Su, M.; *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 700.
93. <http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm318203.htm>, acessada em Janeiro de 2017.
94. Puttini, M.; Coluccia, A. M.; Boschelli, F.; Cleris, L.; Marchesi, E.; Donella-Deana, A.; Ahmed, S.; Redaelli, S.; Piazza, R.; Magistroni, V.; Andreoni, F.; Scapozza, L.; Formelli, F.; Gambacorti-Passerini, C.; *Cancer Res.* **2006**, *66*, 11314.
95. Remsing Rix, L. L.; Rix, U.; Colinge, J.; Hantschel, O.; Bennett, K. L.; Stranzl, T.; Mueller, A.; Baumgartner, C.; Valent, P.; Augustin, M.; Till, J. H.; Superti-Furga, G.; *Leukemia* **2009**, *23*, 477.

96. <http://www.pfizer.com/products/#bosulif>, acessada em Janeiro de 2017.
97. Boschelli, D. H.; Ye, F.; Wang, Y. D.; Dutia, M.; Johnson, S. L.; Wu, B.; Miller, K.; Powell, D. W.; Yaczko, D.; Young, M.; Tischler, M.; Arndt, K.; Discafani, C.; Etienne, C.; Gibbons, J.; Grod, J.; Lucas, J.; Weber, J. M.; Boschelli, F.; *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3965.
98. Sutherland, K. W.; Feigelson, G. B.; Boschelli, D. H.; Blum, D. M.; Strong, H. L.; *US pat. 0043537* **2005**. (CA142:261413)
99. Yin, X. J.; Xu, G. H.; Sun, X.; Peng, Y.; Ji, X.; Jiang K.; Li, F.; *Molecules* **2010**, *15*, 4261.
100. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/203469lbl.pdf, acessada em Janeiro de 2017.
101. Leonetti, F.; Stefanachi, A.; Nicolotti, O.; Catto, M.; Pisani, L.; Cellamare, S.; Carotti, A.; *Curr. Med. Chem.* **2011**, *18*, 2943.
102. Zou, D.; Huang, W. S.; Thomas, R. M.; Romero, J. A. C.; Qi, J.; Wang, Y.; Zhu, X.; Shakespeare, W.C.; Sundaramoorthi, R.; Metcalf, C.A. III; Dalgarno, D. C.; Sawyer, T. K. *WO 075869* **2007**. (CA147:143466)
103. Kovi, R.; Kannapan, J.; Thakor, S. F.; Patel, R. A.; *US pat. 0343282* **2014**. (CA161:769806)
104. Ren, X.; Pan, P.; Zhang, Z.; Wang, D.; Lu, X.; Li, Y.; Wen, D.; Long, H.; Luo, J.; Feng, Y.; Zhuang, X.; Zhang, F.; Liu, J.; Leng, F.; Lang, X.; Bai, Y.; She, M.; Tu, Z.; Pan, J.; Ding, K.; *J. Med. Chem.* **2012**, *56*, 879.