



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

(21) **PI0615788-2 A2**

(22) Data de Depósito: 08/09/2006
(43) Data da Publicação: 24/05/2011
(RPI 2107)



(51) *Int.Cl.:*
C07D 471/00 2006.01

(54) Título: **DERIVADOS DE AMIDA E CARBAMATO DE N-{2-[4-AMINO (ETOXIMETIL)-1H-IMIDAZO [4,5-c] QUINOLIN-1-IL]-1,1-DIMETILETIL} METANOSSULFONAMIDA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA DESTES E SEUS USOS**

(30) Prioridade Unionista: 09/09/2005 US 60/715.950

(73) Titular(es): COLEY PHARMACEUTICAL GROUP, INC.

(72) Inventor(es): Bryon A. Merrill, Shri Niwas, Tushar A. Kshirsagar

(74) Procurador(es): NELLIE ANNE DANIEL SHORES

(86) Pedido Internacional: PCT US2006035179 de 08/09/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/030775 de 15/03/2007

(57) Resumo: DERIVADOS DE AMIDA E CARBAMATO DE N-{2-[4-AMINO-2- (ETOXIMETIL)-1H-IMIDAZO[4,5-c] QUINOLIN-1-IL]-1, 1-DIMETILETIL}METANOSSULFONAMIDA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA DESTES E SEUS USOS. São revelados derivados de amida e carbamato de N-{2- [4-amino-2- (etoximetil) -1H-imidazo [4, 5-c] quinolin-1-il]- 1,1-dimetiletil}metanossulfonamida composições farmacêuticas contendo esses compostos, métodos de preparação desses compostos, e métodos para o uso desses compostos na modulação do sistema imune, para indução de biossíntese de citocina em animais e no tratamento de doenças incluindo doenças virais e neoplásicas.

"DERIVADOS DE AMIDA E CARBAMATO DE N-{2-[4-AMINO-2-(ETOXIMETIL)-1H-IMIDAZO[4,5-c]QUINOLIN-1-IL]-1,1-DIMETILETIL}METANOSSULFONAMIDA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA DESTES E SEUS USOS"

5 REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

A presente invenção reivindica prioridade ao Pedido Provisório U.S. No. de Série 60/715.950, depositado em 9 de setembro de 2005, o qual está aqui incorporado por referência.

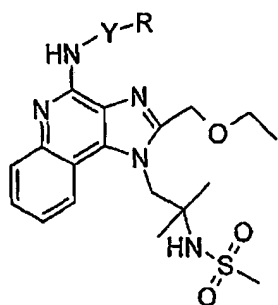
10 ANTECEDENTES

Descobriu-se que certos compostos 1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-amina, quinolin-4-amina, tetraidroquinolin-4-amina, naftiridin-4-amina, e tetraidronaftiridin-4-amina substituídos, como também certos compostos de tiazolo e oxazolo análogos, são úteis como modificadores de resposta imunes (IRMs), os tornando úteis no tratamento de uma variedade de distúrbios.

Continua a haver interesse em e uma necessidade de compostos, a administração dos quais pode dar origem a modulação da resposta imune, por indução de biossíntese de citocina ou outros mecanismos.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Descobriu-se agora que certos derivados de carbamato e amida de N-{2-[4-amino-2-(etoximetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]-1,1-dimetiletil}metanossulfonamida dão origem a indução de biossíntese de citocina. A presente invenção fornece tais compostos, que é da seguinte Fórmula I:



I

Onde R e I são como definido abaixo; e sais farmacologicamente aceitáveis destes. Os compostos ou sais das Fórmulas I são úteis devido à sua capacidade para dar origem a modulação de biossíntese de citocina (por exemplo, induzir a biossíntese ou produção de um ou mais citocinas) e de outra maneira realiza modulação da resposta imune quando administrada em animais. Esta fabrica os compostos úteis no tratamento de uma variedade de condições, tal como doenças virais e doenças neoplásicas, que são responsivos a tal alteração na resposta imune.

A presente invenção também fornece composições farmacêuticas contendo os compostos da Fórmula I e métodos de induzir biossíntese de citocina em células animais, tratando uma doença viral em um animal, e/ou tratando uma doença neoplásicas em um animal administrando-se ao animal ou mais compostos da Fórmula I, sais farmacologicamente aceitáveis destes ou administrando ao animal uma composição farmacêutica contendo um ou mais compostos da Fórmula I, e/ou sais farmacologicamente aceitáveis destes.

Em outro aspecto, a invenção fornece métodos de sintetizar os compostos da Fórmula I.

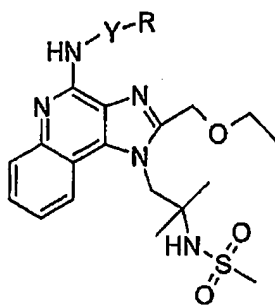
Como empregado aqui, "um", "uma", "o", "pelo menos um", e "um ou mais" são empregados alternadamente.

Os termos "compreendendo" e variações destes não têm um significado limitando onde estes termos apresentam-se na descrição e reivindicações.

O sumário acima da presente invenção não é pretendido a descreve cada modalidade descrita ou cada implementação da presente invenção. A descrição que segue mais modalidades ilustrativas particularmente exemplifica. A orientação também é fornecida aqui por listas de exemplos, que podem ser empregadas em várias combinações. Em cada exemplo, a lista recitada serve somente como um grupo representativo e não deve ser interpretada como uma lista exclusiva.

15 DESCRIÇÃO DETALHADA DAS MODALIDADES ILUSTRATIVAS DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece compostos da seguinte Fórmula I:

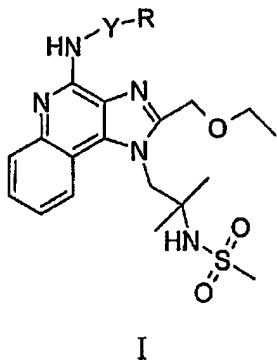


I

Onde R e I são como definido abaixo; e sais farmacologicamente aceitáveis destes.

20 Em uma modalidade, a presente invenção fornece um

composto da seguinte Fórmula I:



Onde:

I é selecionado do grupo consistindo em -C(O)- e -C(O)-O-; e

5 R é selecionado do grupo consistindo em alquila, arila, arilaquilalquilenila, heteroarila, heteroarilaquilenila, heterociclila, e heterociclilalquilenila; onde arila e arilalquilenila são substituídos ou não substituídos por um ou mais substituintes selecionados do grupo consistindo em
10 alquila, alcóxi, arila, e halógeno; e onde o átomo em heterociclila ligado a I é um átomo de carbono;

ou um sal farmaceuticamente aceitável destes.

Para qualquer dos compostos apresentados aqui, cada um das seguintes variáveis (por exemplo, R e I) em
15 qualquer destas modalidades pode ser combinada com qualquer uma ou mais das outras variações em qualquer dessas modalidades e associadas com a Fórmula I, como deve ser entendido por alguém versado na técnica. Cada uma das combinações resultantes de variáveis é uma modalidade da presente invenção.

20 Com certeza as modalidades, por exemplo, da Fórmu-

la I, I é selecionado do grupo consistindo em -C(O)- e -C(O)-O- .

Com certeza as modalidades, por exemplo, da Fórmula I, I é -C(O)- .

5 Com certeza as modalidades, por exemplo, da Fórmula I, I é -C(O)-O- .

Com certeza as modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades acima da Fórmula I, R é selecionado do grupo consistindo em alquila, arila, arilalquilenila, heteroarila, 10 heteroarilalquilenila, heterociclila, e heterocicllilalquilenila; onde aril e arilalquilenila são substituídas ou não substituídas por um ou mais substituintes selecionados do grupo consistindo em alquila, alcóxi, arila, e halógeno; e onde o átomo em heterociclila ligado a I é um átomo de carbono. 15

Com certeza as modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades acima da Fórmula I, R é alquila, arila, ou arilalquilenila. Com certeza destas modalidades, R é C_{1-10} alquila. Com certeza destas modalidades, R é C_{1-5} alquila. 20 Com certeza destas modalidades, R é selecionado do grupo consistindo em metila, etila, *n*-propila, isopropila, *n*-butila, isobutila, e terc-butila.

Com certeza as modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades acima da Fórmula I, onde não excluir, R é 25 arila. Com certeza destas modalidades, R é fenila.

Com certeza as modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades da Fórmula I, onde não excluir, R é arilalquilenila. Com certeza destas modalidades, R é benzila.

Com certeza as modalidades, a presente invenção fornece uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapeuticamente efetiva de um composto ou sal de qualquer uma das modalidades acima da Fórmula I, e veículo
5 farmaceuticamente aceitável.

Com certeza as modalidades, a presente invenção fornece um método de biossíntese de citocina induzir em um animal compreendendo administrar uma quantidade efetiva de um composto ou sal de qualquer uma das modalidades acima da
10 Fórmula I, ou uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapeuticamente efetiva de um composto ou sal de qualquer uma das modalidades acima da Fórmula I, para o animal.

Com certeza as modalidades, a presente invenção fornece um método de tratar uma doença viral em um animal administrando uma quantidade terapeuticamente efetiva de um composto ou sal de qualquer uma das modalidades acima da
15 Fórmula I, ou uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapeuticamente efetiva de um composto ou sal de qualquer uma das modalidades acima da Fórmula I, para o animal.
20

Com certeza as modalidades, a presente invenção fornece um método de tratar uma doença neoplásicas em um animal compreendendo administrando uma quantidade terapêuticamente efetiva de um composto ou sal de qualquer uma das
25 modalidades acima da Fórmula I, ou uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapeuticamente efetiva de um composto ou sal de qualquer uma das modalidades acima

da Fórmula I, para o animal.

Como aqui empregado, os termos "alquila" e o prefixo "alq-" são incluídos de ambos grupos de cadeias ramificadas e cadeias lineares e de grupos cíclicos, por exemplo, 5 cicloalquila e cicloalquenila. Exceto de outra maneira especificada, estes grupos contêm de 1 a 20 átomos de carbono. Em algumas modalidades, estes grupos têm um total de até 10 átomos de carbono, até 8 átomos de carbono, até 6 átomos de carbono, ou até 4 átomos de carbono. Os grupos cíclicos podem 10 ser monocíclicos ou policíclicos e preferivelmente tem de 3 a 10 de anéis de átomos de carbono. Os grupos cíclicos exemplares incluem ciclopropila, ciclopropilmetila, ciclobutila, ciclobutilmetila, ciclopentila, ciclopentilmetila, cicloexila, cicloexilmetila, adamantila, e substituído e 15 nila não substituído, norbornial, e norbornenila.

Exceto de outra maneira especificado, "alquilenos", é as formas divalente dos grupos "alquila" acima definido. O termo "alquilenila" é empregado quando "alquilenos" é substituído. Por exemplo, um grupo de arilalquilenila compreende 20 de uma porção de "alquilenos" no qual um grupo de arila é ligado.

O termo "arila" como empregado aqui inclui anéis aromáticos de carbocíclico ou sistemas de anéis. Os exemplos de grupos de arila incluem fenila, naftila, bifenila, 25 fluorenila e indenila.

Exceto de outra maneira indicado, o termo "heteroátomo" se refere aos átomos O, S, ou N.

O termo "heteroarila" inclui anéis aromáticos ou

sistemas de anéis que contêm pelo menos um anel de heteroátomo (por exemplo, O, S, N). Em algumas modalidades, o termo "heteroarila" inclui um sistema de anel ou anel que contém 2 a 12 átomos de carbono, anéis de 1 a 3, heteroátomos de 1 a 4, e O, S, e/ou N como os heteroátomos. Os grupos de heteroarila adequados incluem furila, tienila, piridila, quinolinila, isoquinolinila, indolila, isoindolila, triazolila, pirrolila, tetrazolila, imidazolila, pirazolila, oxazolila, tiazolila, benzofuranila, benzotiofenila, carbazolila, benzoxazolila, pirimidinila, benzimidazolila, quinoxalila, benzotiazolila, naftirridinila, isoxazolila, isotiazolila, purinila, quinazolinila, pirazinila, 1-oxidopiridila, piridazinila, triazinila, tetrazinila, oxadiazolila, tiadiazolila, e assim por diante.

O termo "heterociclila" inclui sistemas de anel ou anéis não aromáticos que contêm pelo menos um anel de heteroátomo (por exemplo, O, S, N) e inclui todos os derivados saturados e não saturados parcialmente dos grupos de heteroarila mencionado acima. Em algumas modalidades, o termo "heterociclila" inclui um sistema de anel ou anel que contém 2 a 12 átomos de carbono, 1 a 3 anéis, 1 a 4 heteroátomos, e O, S, e N como o heteroátomos. Os grupos de heterociclila exemplares incluem pirrolidinila, tetraidrofuranila, morfolinila, tiomorfolinila, 1,1-dioxotiomorfolinila, piperidini-la, piperazinila, tiazolidinila, imidazolidinila, isotiazolidinila, tetraidropiranila, quinuclidinila, homopiperidini-la (azepanila), 1,4-oxazepanila, homopiperazinila (diazepanila), 1,3-dioxolanila, aziridinila, azetidini-la, diidroiso-

quinolina-(1H)-il, octaidroisoquinolina-(1H)-il, diidroquinolina-(2/f)-il, octaidroquinolina-(2if)-il, diidro-1H-imidazolila, 3-azabíciclo[3,2,2]non-3-il, e o outros. O termo "heterociclila" inclui sistemas de anéis heterocíclico
 5 bicílico e tricíclico. Tais sistemas de anel incluem anéis fundidos e/ou em ponte e anéis de espiro. Os anéis fundidos podem incluir, além de um anel saturado parcialmente ou saturado, um anel aromático, por exemplo, um anel de benzeno. Os anéis de espiro incluem dois anéis unidos por um átomo de
 10 espiro e três anéis unidos por dois átomos de espiro.

Quando "heterociclila" contem um átomo de nitrogênio, o ponto de ligação do grupo de heterociclila pode ser o átomo de nitrogênio exceto de outra maneira especificado.

A invenção é incluída nos compostos descritos aqui
 15 (incluindo intermediários) em qualquer das suas formas farmacêuticamente aceitáveis, incluindo isômeros (por exemplo, diastereômeros e enantiômeros), sais, solvatos, polimorfos, e outros. Em particular, se um composto é opcionalmente ativo, a invenção especificamente inclui cada dos compostos
 20 enantiômeros bem como misturas racêmicas e escalêmicas dos enantiômeros. Deve ser entendido que o termo "composto" inclui qualquer ou todas tais formas, se explicitamente especificado ou não (embora às vezes, "sais" são explicitamente especificados).

25 PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS

Os compostos da invenção podem ser sintetizados por rotinas sintéticas que incluem processos análogos àqueles bem conhecidos na técnica químicas, particularmente le-

vando em consideração a descrição contida aqui. Os reagentes estão são geralmente disponíveis de fontes comerciais tal como Aldrich Chemicals (Milwaukee, Wisconsin, USA) ou são facilmente preparados empregando métodos bem conhecidos por aqueles versados na técnica (por exemplo, preparado por métodos geralmente descritos em Louis F. Fieser e Mary Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, v. 1-19, Wiley, New York, (1967-1999 ed.); Alan R. Katritsky, Otto Meth-Cohn, Charles W. Rees, *Comprehensive Organic Functional Group Transformations*, v 1-6, Pergamon Press, Oxford, England, (1995); Barry M. Trost e Ian Fleming, *Comprehensive Organic Synthesis*, v. 1-8, Pergamon Press, Oxford, England, (1991); ou *Beilsteins Handbuch der organischen Chemie*, 4, Aufl. Ed. Springer- Verlag, Berlin, Germany, incluindo suplementos (também disponível pelo banco de dados on-line Beilstein)).

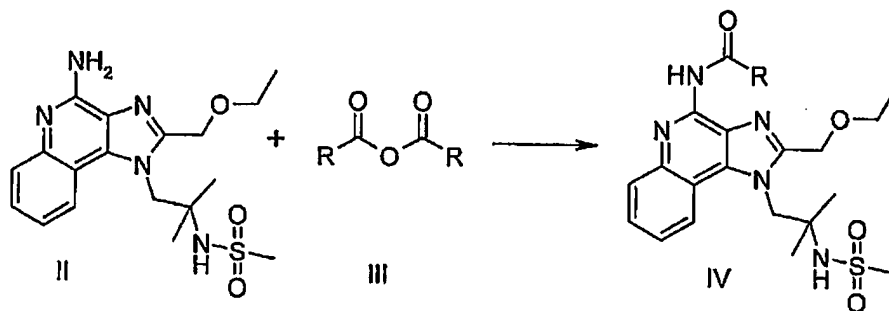
Para propósitos ilustrativos, os esquemas de reação descritos abaixo fornecem rotinas potenciais para sintetizar os compostos da presente invenção. Para descrição mais detalhada das etapas de reação individuais, veja a seção de EXEMPLOS abaixo. Aqueles versados na técnica apreciarão que outras rotinas sintéticas podem ser empregadas para sintetizar os compostos da invenção.

Os métodos e técnicas convencionais de separação e purificação podem ser empregados para isolar compostos da invenção, como também vários, sais farmaceuticamente aceitáveis deste. Tais técnicas podem incluir, por exemplo, todos os tipos de cromatografia (cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), cromatografia de coluna empregando absor-

ventes comuns tal como sílica gel, e cromatografia em camada fina), recristalização, e técnicas de extração diferenciais (isto é, líquido-líquido).

Os compostos da invenção podem ser preparados de acordo com o Esquema de Reação I no qual R é como definido acima. No Esquema de Reação I o 1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4- amina da Fórmula II é reagido com um anidrido ácido da Fórmula III para fornecer uma N-(1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-il)amida da Fórmula IV que é um subgênero da Fórmula I. A reação é realizada combinando-se o 1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina da Fórmula II com um anidrido ácido da Fórmula III em um solvente adequado tal como N,N-dimetilformamida opcionalmente na presença de uma base tal como trietilamina. A reação pode ser realizada em temperatura ambiente e o produto ou um sal farmaceuticamente aceitável pode ser isolado empregando métodos convencionais. O 1H-imidazo[4,5 - c]quinolin-4-amina da Fórmula II é conhecido e pode ser preparado empregando métodos sintéticos conhecidos, veja U.S. 6.677.349 e os documentos citados aqui.

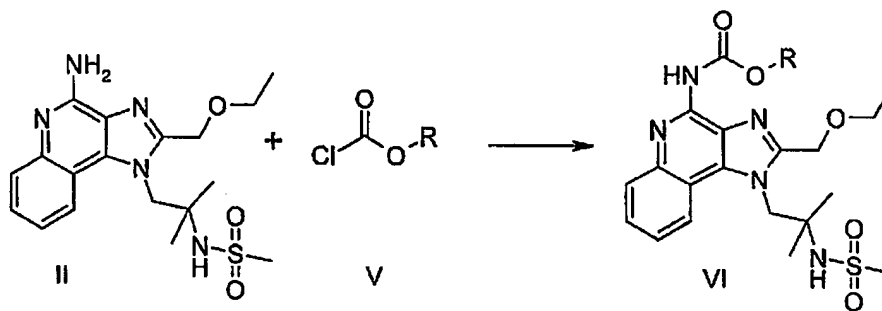
Esquema de reação I



Os compostos da invenção podem estar preparados de

acordo com Esquema de Reação II em que R é como definido acima. No Esquema de Reação II o 1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina da Fórmula II é reagido com um cloroformato da Fórmula V para fornecer um 1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-ilcarbamato da Fórmula VI que é um subgênero da Fórmula I. A reação é realizada adicionando-se um cloroformato da Fórmula V de um modo controlado a uma suspensão ou solução do 1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina da Fórmula II em um solvente adequado tal como diclorometano na presença de uma base tal como trietilamina. A adição pode ser realizada a uma temperatura sub-ambiente, tal como por exemplo 0°C. O produto ou um sal farmacêuticamente aceitável deste pode ser isolado usando métodos convencionais.

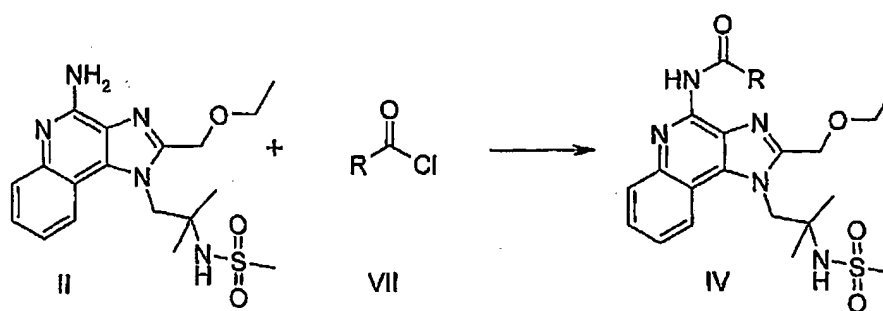
Esquema de reação II



Os compostos da invenção podem ser preparados de acordo com Esquema de Reação III em que R é como definido acima. No Esquema de Reação III o 1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amine da Fórmula II é reagido com um cloreto ácido da Fórmula VII para fornecer um N-(1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-il)amida da Fórmula IV que é um subgênero da Fórmula I. A reação é realizada combinando-se o 1H-

imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina da Fórmula II com um cloreto ácido da Fórmula VII em um solvente adequado tal como diclorometano ou *N,N*-dimetilformamida na presença de uma base tal como trietilamina. A reação pode ser realizada a temperatura ambiente e o produto ou um sal farmaceuticamente aceitável deste pode ser isolado empregando os métodos convencionais.

Esquema de reação III



Composições Farmacêuticas e Atividade Biológica

As composições Farmacêuticas da invenção contêm uma quantidade terapeuticamente efetiva de um composto ou sal descrito acima em combinação com um veículo farmaceuticamente aceitável.

Os termos "uma quantidade terapeuticamente efetiva" e "quantidade efetiva" significam uma quantidade do composto ou sal suficiente para induzir um efeito terapêutico ou profilático, tal como indução de citocina, imunomodulação, atividade antitumor, e/ou atividade antiviral. A quantidade exata de composto ou sal usada em uma composição farmacêutica da invenção variará de acordo com os fatores conhecidos por aqueles de experiência na técnica, tal como a

natureza física e química do composto ou sal, a natureza do veículo, e o regime de dosagem pretendido.

Em algumas modalidades, as composições da invenção conterão pró-droga ou ingrediente ativo suficiente para fornecer uma dose de cerca de 100 nanogramas por quilograma (ng/kg) a cerca de 50 miligramas por quilograma (mg/kg), preferivelmente cerca de 10 microgramas por quilograma (µg/kg) a cerca de 5 mg/kg, do composto ou sal ao indivíduo.

Em outras modalidades, as composições da invenção conterão pró-droga ou ingrediente ativo suficiente para fornecer uma dose de, por exemplo, cerca de 0,01 mg/m² a cerca de 5,0 mg/m², computou de acordo com o método de Dubois, no qual a área de superfície de corpo de um indivíduo (m²) é computada usando o peso de corpo do indivíduo: m² = (peso kg⁴²⁵ x altura cm⁰⁷²⁵) x 0,007184, embora em algumas modalidades os métodos possam ser realizados administrando-se um composto ou sal ou composição em uma dose fora desta faixa. Em algumas destas modalidades, o método inclui administrar o composto suficiente para fornecer uma dose de cerca de 0,1 mg/m² a cerca de 2,0 mg/m² ao indivíduo, por exemplo, uma dose de cerca de 0,4 mg/m² a cerca de 1,2 mg/m².

Uma variedade de formas de dosagem pode ser usada, tal como comprimidos, pastilhas, cápsulas, formulações parenterais, xaropes, cremes, ungüentos, formulações aerosóis, emplastros transdérmicos, emplastros transmucosais e outros. Estas formas de dosagem podem ser preparadas com veículos e aditivos farmacêuticamente aceitáveis convencionais que usam métodos convencionais, que geralmente incluem

a etapa de trazer o ingrediente ativo em associação com o veículo.

Os compostos ou sais da invenção podem ser administrados como o único agente terapêutico no regime de tratamento, ou os compostos ou sais descritos aqui podem ser administrados em combinação com um outro ou com outros agentes ativos, incluindo modificadores de resposta imune adicionais, antivirótico, antibióticos, anticorpos, proteínas, peptídeos, oligonucleotídeos, etc.

Os compostos ou sais da invenção foram mostrados induzir a produção de certas citocinas em experiências realizadas de acordo com os testes apresentados abaixo. Estes resultados indicam que os compostos ou sais são úteis para modular a resposta imune de vários modos diferentes, tornando-os úteis no tratamento de uma variedade de distúrbios.

As citocinas cuja produção pode ser induzida pela administração de compostos ou sais da invenção geralmente incluem interferon- α (IFN- α) e fator- α de necrose de tumor (TNF- α) como também certas interleucinas (IL). As citocinas cuja biossíntese pode ser induzida por compostos ou sais da invenção incluem IFN- α , TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10 e IL-12, e uma variedade de outras citocinas. Entre outros efeitos, estas e outras citocinas podem inibir a produção de vírus e crescimento de célula de tumor, tornando os compostos ou sais úteis no tratamento de doenças virais e doenças neoplásicas. Conseqüentemente, a invenção fornece um método de induzir biossíntese de citocina em um animal compreendendo administrar uma quantidade efetiva de um composto ou sal da

invenção ao animal. O animal ao o composto ou sal é administrado para indução de biossíntese de citocina pode ter uma doença como descrito *infra*, por exemplo, uma doença viral ou uma doença neoplásicas, e administração do composto ou sal pode fornecer tratamento terapêutico. Alternativa-
mente, o composto ou sal pode ser administrado ao animal antes do animal adquirir a doença de forma que a administração do composto ou sal possa fornecer um tratamento profilático.

Além da capacidade de induzir a produção de citocinas, os compostos ou sais descritos aqui podem afetar outros aspectos da resposta imune inata. Por exemplo, a atividade da célula exterminadora natural pode ser estimulada, um efeito que pode ser devido à indução de citocina. Os compostos ou sais também podem ativar os macrófagos, que sucessivamente estimulam a secreção de óxido nítrico e a produção de citocinas adicionais. Além disso, os compostos ou sais podem causar proliferação e diferenciação de B-linfócitos.

Os compostos ou sais descritos aqui também podem ter um efeito na resposta imune adquirida. Por exemplo, a produção da citocina IFN- γ tipo 1 T auxiliar (T_H1) pode ser induzida indiretamente e a produção das citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 tipo 2 T auxiliares (T_H2) pode ser inibida na administração dos compostos ou sais.

Quer para profilaxia ou tratamento terapêutico de uma doença, e que para efetuar imunidade inata ou adquirida, o composto ou sal ou composição pode ser administrado sozinho ou em combinação com um ou mais componentes ativos como

em, por exemplo, um adjuvante de vacina. Quando administrado com outros componentes, o composto ou sal ou composição e outro componente ou componentes podem ser administrados separadamente; juntos porém independentemente tal como em uma
5 solução; ou juntos e associados com um outro tal como (a) covalentemente ligado ou (b) não covalentemente associado, por exemplo, em uma suspensão coloidal.

As condições para que os compostos ou sais ou composições identificados aqui possam ser usados como tratamen-
10 tos incluem, porém não estão limitadas a:

(a) doenças virais tal como, por exemplo, doenças resultantes de infecção por um adenovírus, um herpesvírus (por exemplo, HSV-I, HSV-II, CMV, ou VZV), a poxvírus (por exemplo, um ortopoxvírus tal como varíola ou vacínia, ou molusco contagioso), um picornavírus (por exemplo, rinovírus ou enterovírus), um ortomixovírus (por exemplo, influenzavírus), um paramixovírus (por exemplo, parainfluenzavírus, vírus da caxumba, vírus de sarampo, e vírus sincicial respiratório (RSV)), a coronavírus (por exemplo, SARS), um papovavírus (por exemplo, papilomavírus, tal como aqueles que causam verrugas genitais, verrugas comuns, ou verrugas plantares), a hepadnavírus (por exemplo, vírus da hepatite B), um flavivírus (por exemplo, vírus da hepatite C ou vírus da Dengue), ou um retrovírus (por exemplo, um lentivírus, tal
20 como HIV);

(b) doenças bacterianas tal como, por exemplo, doenças que são o resultado de infecção através de bactérias de, por exemplo, o gênero *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmo-*

nela, Estafilococo, Shigella, Listeria, Aerobacter, Helicobacter, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, [0064] Estreptococo, Clamídia, Micoplasma, Pneumococcus, Neisseria, Clostridium, Bacilo, Corinebacterium, Micobactéria, Campilobacter, 5 Vibrião, Serratia, Providencia, Chromobacterium, Brucella, Iersinia, Haemophilus, ou Bordetella;

(c) outras doenças infecciosas, tal como clamídia, doenças fúngicas que incluem, porém não estão limitadas a candidíase, aspergilose, histoplasmosse, meningites criptocócica, ou doenças parasitárias que incluem, porém não estão 10 limitadas a malária, pneumonia de *Pneumocystis carinii*, leishmaniose, criptosporidiose, toxoplasmose, e infecção de tripanossoma;

(d) doenças neoplásicas, tal como neoplasias intraepiteliais, displasia cervical, ceratose actínica, carcinoma de células basais, carcinoma de célula escamosa, carcinoma de célula renal, a sarcoma de Kaposi, melanoma, leucemias que incluem, porém não estão limitados a, leucemia mielóide aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielóide 20 crônica, leucemia linfocítica crônica, mieloma múltiplo, linfoma de Hodgkin, linfoma de não Hodgkin, linfoma de célula T cutâneo, linfoma de célula B, e leucemia de célula pilosa, e outros cânceres;

(e) doenças atópicas mediadas por T_H2 , tal como 25 eczema ou dermatite atópica, eosinofilia, asma, alergia, rinite alérgica, e síndrome de Ommen;

(f) certas doenças auto-imunes tal como lúpus eritematoso sistêmico, trombocitaemia essencial, esclerose múltipla;

tipla, lúpus discóide, alopecia em áreas; e

(g) doenças associadas com reparo de ferida tal como, por exemplo, inibição de formação de quelóide e outros tipos de cicatrizes (por exemplo, realçando a cicatrização da ferida, incluindo feridas crônicas).

Adicionalmente, um composto ou sal identificado aqui pode ser útil como um adjuvante de vacina para uso junto com qualquer material que eleve a resposta imune mediada por célula e/ou humoral, tal como, por exemplo, imunógenos viróticos, bacterianos, ou parasitários do fígado; protozoário derivado de tumor, viral inativo, imunógenos fúngicos ou bacterianos derivados de organismo; toxóides; toxinas; auto-antígenos; polissacarídeos; proteínas; glicoproteínas; peptídeos; vacinas celulares; vacinas de DNA; vacinas autólogas; proteínas recombinantes; e outros, para uso com relação a, por exemplo, BCG, cólera, pestilência, febre tifóide, hepatite A, hepatite B, hepatite C, gripe A, gripe B, parainfluenza, pólio, raivas, sarampo, caxumbas, rubéola, febre amarela, tétano, difteria, bacilo da influenza b, tuberculose, vacinas meningocócicas e pneumocócicas, adenovírus, HIV, catapora, citomegalovírus, dengue, leucemia felina, pestilência de ave, HSV-I e HSV-2, cólera de porco, encefalite japonesa, vírus sincicial respiratório, rotavírus, vírus de papiloma, febre amarela, e Doença de Alzheimer.

Os compostos ou sais identificados aqui podem ser particularmente úteis em indivíduos que têm a função imune comprometida. Por exemplo, os compostos ou sais podem ser usados para tratar as infecções e tumores oportunistas que

ocorre após a supressão de imunidade mediada por célula em, por exemplo, pacientes de transplante, pacientes de câncer e pacientes de HIV.

Desse modo, uma ou mais das doenças ou tipos de
5 doenças anteriores, por exemplo, uma doença viral ou uma doença neoplásica, podem ser tratadas em um animal em necessidade disto (tendo a doença) administrando uma quantidade terapêuticamente efetiva de um composto ou sal da invenção ao animal.

10 Um animal também pode ser vacinado administrando-se uma quantidade efetiva de um composto ou sal descrito aqui, como um adjuvante de vacina. Em uma modalidade, é fornecido um método para vacinar um animal compreendendo administrar uma quantidade efetiva de um composto ou sal descrito
15 to aqui ao animal como um adjuvante de vacina.

Uma quantidade de um composto ou sal efetivo para induzir biossíntese de citocina é uma quantidade suficiente para fazer com que um ou mais tipos de célula, tal como monócitos, macrófagos, células dendríticas e células B, produzam uma quantidade de uma ou mais citocinas tal como, por
20 exemplo, IFN- α , TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10 e IL-12, que seja aumentada (induzida) acima de um nível anterior de tais citocinas. A quantidade precisa variará de acordo com fatores conhecidos na técnica porém é esperado ser uma dose de cerca
25 de 100 ng/kg a cerca de 50 mg/kg, preferivelmente cerca de 10 μ g/kg a cerca de 5 mg/kg. Em outras modalidades, a quantidade é esperada ser uma dose de, por exemplo, cerca de 0,01 mg/m² a cerca de 5,0 mg/m², (computado de acordo com o

método de Dubois como descrito acima) embora em algumas modalidades a indução ou inibição de biossíntese de citocina pudesse ser realizada administrando-se um composto ou sal em uma dose fora desta faixa. Em algumas destas modalidades, o
5 método inclui administrar composto ou sal ou composição suficiente para fornecer uma dose de cerca de 0,1 mg/m a cerca de 2,0 mg/m ao indivíduo, por exemplo, uma dose de cerca de 0,4 mg/m² a cerca de 1,2 mg/m².

A invenção também fornece um método para tratar
10 uma infecção viral em um animal e um método para tratar uma doença neoplásica em um animal incluindo administrar uma quantidade efetiva de um composto ou sal da invenção ao animal. Uma quantidade efetiva para tratar ou inibir uma infecção viral é uma quantidade que causará uma redução em uma
15 ou mais das manifestações de infecção viral, tal como lesões virais, carga viral, taxa de produção, e mortalidade de vírus quando comparado a animais de controle sem tratamento. A quantidade precisa que é efetiva para tal tratamento variará de acordo com fatores conhecidos na técnica, porém é esperada ser uma dose de cerca de 100 ng/kg a cerca de 50
20 mg/kg, preferivelmente cerca de 10 µg/kg a cerca 5 mg/kg. Uma quantidade de um composto ou sal, efetiva para tratar uma condição neoplásica é uma quantidade que causará uma redução no tamanho de tumor ou no número de focos de tumor.
25 Novamente, a quantidade precisa variará de acordo com fatores conhecidos na técnica, porém é esperada ser uma dose de cerca de 100 ng/kg a cerca de 50 mg/kg, preferivelmente cerca de 10 µg/kg a cerca de 5 mg/kg. Em outras modalidades, a

quantidade é esperada ser uma dose de, por exemplo, de cerca 0,01 mg/m² a cerca de 5,0 mg/m², (computado de acordo com o método de Dubois como descrito acima) embora em algumas modalidades qualquer um destes métodos possa ser realizado administrando-se um composto ou sal em uma dose fora desta faixa. Em algumas destas modalidades, o método inclui administrar composto ou sal suficiente para fornecer uma dose de cerca de 0,1 mg/m a cerca de 2,0 mg/m para o indivíduo, por exemplo, uma dose de cerca de 0,4 mg/m² a cerca de 1,2 mg/m².

Desse modo, uma ou mais das doenças ou tipos de doenças anteriores, por exemplo, uma doença viral ou uma doença neoplásicas, podem ser tratadas em um animal em necessidade deste (tendo a doença) administrando-se uma quantidade de terapeuticamente efetiva de um composto ou sal da Fórmula I, quaisquer das modalidades descritas aqui, ou uma combinação destes ao animal. Um animal também pode ser vacinado administrando-se uma quantidade efetiva de um composto ou sal da Fórmula I, quaisquer das modalidades descritas aqui, ou uma combinação destes ao animal como um adjuvante de vacina. Em uma modalidade, é fornecido um método para vacinar um animal compreendendo administrar uma quantidade efetiva de um composto ou sal descrito aqui ao animal como um adjuvante de vacina.

Os métodos da invenção podem ser realizados em qualquer indivíduo adequado. Os indivíduos adequados incluem porém não estão limitados aos animais tal como porém não limitados a humanos, primatas não humanos, roedores, cachor-

ros, gatos, cavalos, porcos, ovelhas, cabras, ou vacas.

Além das formulações e usos especificamente descritos aqui, outras formulações, usos, e dispositivos de administração adequados para os compostos da presente invenção são descritos em, por exemplo, Publicações Internacionais Nos. WO 03/077944 e WO 02/036592, Patente U.S. No. 6.245.776, e Publicações U.S. Nos. 2003/0139364, 2003/185835, 2004/0258698, 2004/0265351, 2004/076633, e 2005/0009858.

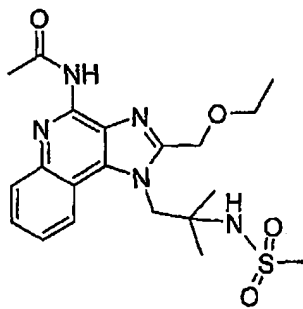
Os objetivos e vantagens desta invenção são também ilustrados pelos seguintes exemplos, porém os materiais e quantidades particulares destes recitados nestes exemplos, como também outras condições e detalhes, não deveriam ser interpretados para indevidamente limitar esta invenção.

EXEMPLOS

Nos exemplos abaixo a cromatografia *flash* automatizada foi realizada empregando um sistema COMBIFLASH (um produto de purificação *flash* de alto desempenho automatizado disponibilizado por Teledine Isco, Inc., Lincoln, Nebraska, USA) ou um sistema HORIZONTE HPFC (um produto de purificação *flash* de alto desempenho automatizado disponibilizado por Biotage, Inc, Charlottesville, Virgínia, USA). O eluente usado para cada purificação é determinado no exemplo. Em algumas separações cromatográficas, a mistura de solvente 80/18/2 v/v/v clorofórmio/metanol/hidróxido de amônio concentrado (CMA) foi usada como o componente polar do eluente. Nestas separações, CMA foi misturado com clorofórmio na relação indicada.

Exemplo 1

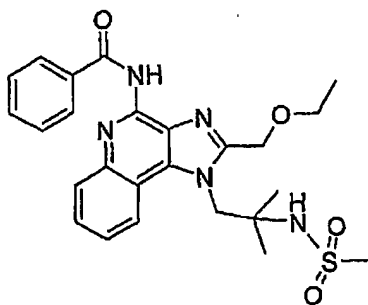
N-(2-Etoximetil-1-{2-metil-2-
[(metilsulfonil) amino]propil}-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-
il)acetamida



- 5 Cloreto de acetila (150 μ L, 1,1 equivalente (eq))
foi adicionado N-{2-[4-amino-2-etoximetil-1*H*-imidazo[4,5-
c]quinolin-1-il]-1,1-dimetiletil}metanossulfonamida (750 mg,
1 eq) em uma mistura de trietilamina (401 μ L, 1,5 eq) e N,N-
dimetilformamida (DMF) (5 mL) e a solução resultante foi
10 agitada a temperatura ambiente. Após 2 horas, o anidrido
acético (1 mL) foi adicionado. A mistura de reação foi agi-
tada a temperatura ambiente durante 1 hora e em seguida con-
centrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado a-
través de cromatografia *flash* automatizada (sílica gel eluí-
15 da com um gradiente de 0-10% de metanol em diclorometano que
contém 1% de hidróxido de amônio) para fornecer 278 mg de N-
(2-etoximetil-1-{2-metil-2-[(metilsulfonil) amino]propil}-1*H*-
imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-il)acetamida como um pó branco, mp
75-76°C. Análise calculada para C₂₀H₂₇N₅O₄S
20 •0,40 H₂O: C, 54,50; H, 6,36; N, 15,89. Encontra-
do: C, 54,70; H, 6,10; N, 15,58.

Exemplo 2

N-(2-Etoximetil-1-{2-metil-2-
[(metilsulfonil)amino]propil}-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-
il)benzamida

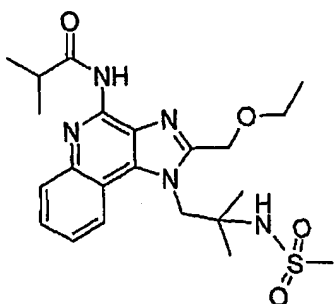


5 Anidrido benzóico (636 mg, 1,1 eq) foi adicionado
a *N*-{2-[4-amino-2-etoximetil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-
il]-1,1-dimetiletil}metanossulfonamida (1 g, 1 eq) em uma
mistura de trietilamina (533 μ L, 1,5 eq) e DMF (5 mL) e a
solução resultante foi agitada a temperatura ambiente. Após
10 4 horas anidrido benzóico adicional (cerca de 0,1 eq) foi
adicionado e a mistura de reação foi agitada durante a noi-
te. A mistura de reação foi diluída com água (cerca de 40
mL). A suspensão resultante foi ajustada a pH 7 com bicar-
bonato de sódio saturado aquoso, e então foi extraída com
15 acetato de etila e diclorometano. Os orgânicos combinados
foram concentrados sob pressão reduzida. O resíduo foi pu-
rificado através de cromatografia *flash* automatizada (sílica
gel eluída com um gradiente de 0-10% de metanol em dicloro-
metano contendo 1% de hidróxido de amônio) para fornecer 894
20 mg de *N*-(2-etoximetil-1-{2-metil-2-
[(metilsulfonil)amino]propil}-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-

il)benzamida como um pó branco, ponto de fusão 80-83°C. Análise Calculada para $C_{25}H_{29}N_5O_4S \cdot 0,60 CH_4O$: C, 59,73; H, 6,15; N, 13,06. Encontrado: C, 59,44; H, 5,75; N, 13,69.

Exemplo 3

5 N-(2-Etoximetil-1-{2-metil-2-
[(metilsulfonil)amino]propil}-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-
il)-2-metilpropanamida



Anidrido isobutírico (459 μ L, 1 eq) foi adicionado a N-{2-[4-amino-2-etoximetil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]-1,1-dimetiletil}metanossulfonamida (1,08 g, 1 eq) em DMF
10 (3 mL) e a solução resultante foi agitada a temperatura ambiente. Após 4 horas, o anidrido isobutírico adicional (cerca de 0,5 eq) foi adicionado e a mistura de reação foi agitada durante a noite. A mistura de reação foi diluída
15 com éter de dietil (cerca de 25 mL), agitada durante 15 minutos, e em seguida concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi diluído com água (cerca de 30 mL) e em seguida extraído com acetato de etila. A camada orgânica foi lavada com água, secada em sulfato de magnésio, filtrada, e em seguida
20 concentrada sob pressão reduzida para fornecer um óleo. O óleo foi purificado através de cromatografia *flash*

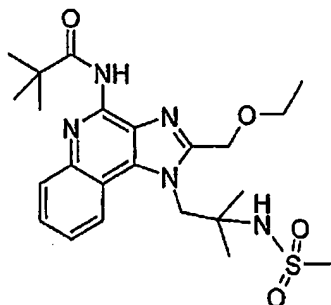
automatizado (sílica gel eluída com um gradiente de 0-10% de metanol em diclorometano que contém 1% de hidróxido de amônio) para fornecer 0,77 g de um pó amarelo. Este material foi secado sob vácuo a 60°C durante a noite para fornecer N-

5 (2-etoximetil-1-(2-metil-2-[(metilsulfonil)amino]propil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-il)-2-metilpropanamida como um pó amarelo, ponto de fusão 67-70°C. Análise Calculada para $C_{22}H_{31}N_5O_4S \cdot 0,60 H_2O$: C, 55,94; H, 6,87; N, 14,83. Encontrado: C, 55,70; H, 6,57; N, 14,49.

10

Exemplo 4

N-(2-(Etoximetil)-1-(2-metil-2-[(metilsulfonil)amino]propil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-il)-2,2-dimetilpropanamida



15

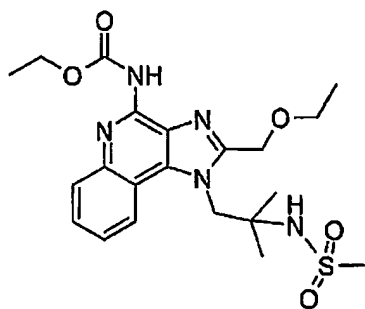
Anidrido de trimetilacético (564 μ L, 1 eq) foi adicionado a N-{2-[4-amino-2-etoximetil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]-1,1-dimetiletil}metanossulfonamida (1,08 g, 1 eq) em DMF (3 mL) e a solução resultante foi agitada a temperatura ambiente. Após 4 horas, o anidrido triemetilacético adicional (cerca de 0,5 eq) foi adicionado e a mistura de

20 reação foi agitada durante a noite. A mistura de reação foi diluída com éter de dietila (cerca de 25 mL), agitada duran-

te 15 minutos, e em seguida concentrada sob pressão reduzi-
da. O resíduo foi diluído com água (cerca de 30 mL) e em
seguida extraído com acetato de etila. A camada orgânica
foi lavada com água, secada em sulfato de magnésio, filtra-
da, e em seguida concentrada sob pressão reduzida para for-
necer um sólido amarelo. O sólido foi purificado através de
cromatografia *flash* automatizada (sílica gel eluída com um
gradiente de 0-10% de metanol em diclorometano que contém 1%
de hidróxido de amônio) para fornecer 0,89 g de um pó amare-
lo. Este material foi secado sob vácuo a 60°C durante a
noite para fornecer N-(2-(etoximetil)-1-{2-metil-2-
[(metilsulfonil)amino]propil}-1*H*-imidazo [4,5-*c*]quinolin-4-
il)-2,2-dimetilpropanamida como um pó amarelo, ponto de fu-
são 85-89°C. Análise Calculada para $C_{23}H_{33}N_5O_4S \cdot 0,50 H_2O$:
C, 57,00; H, 7,07; N, 14,45. Encontrado: C, 57,34; H, 6,89;
N, 14,24.

Exemplo 5

2-Etoximetil-1-{2-metil-2-
[(metilsulfonil)amino]propil}-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-
ilcarbamato de Etila



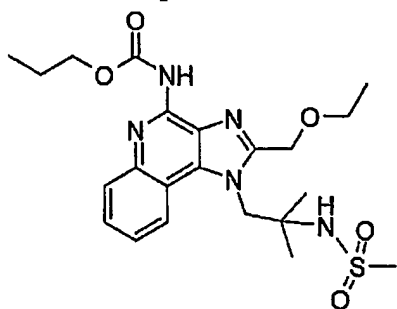
Trietilamina (2,67 mL, 5 eq) foi adicionado a uma

suspensão esfriada (banho de gelo/água) de N-{2-[4-amino-2-etoximetil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]-1,1-dimetiletil}metanossulfonamida (1,5 g, 1 eq) em diclorometano (150 mL). Uma solução de cloroformato de etila (1,37 g, 3,3 eq) em diclorometano (5 mL) foi adicionada em gotas para produzir uma solução clara. A mistura de reação foi permitida chegar à temperatura ambiente com agitação durante 24 horas. A mistura de reação foi lavada consecutivamente com água (150 mL), 4% de carbonato de sódio (150 mL), água (150 mL), e salmoura (150 mL). A camada orgânica foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado através de cromatografia *flash* automatizada (sílica gel eluída com um gradiente linear de 0-20% de CMA em clorofórmio, 1500 mL) seguido por recristalização de éter de dietila para fornecer 1,25 g de 2-etoximetil-1-{2-metil-2-[(metilsulfonil)amino]propil}-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-ilcarbamato de etila como um pó branco, ponto de fusão 163-165°C. Análise Calculada para $C_{21}H_{29}N_5O_5S$: C, 54,41; H, 6,31; N, 15,11. Encontrado: C, 54,52; H, 6,43; N, 14,91.

20

Exemplo 6

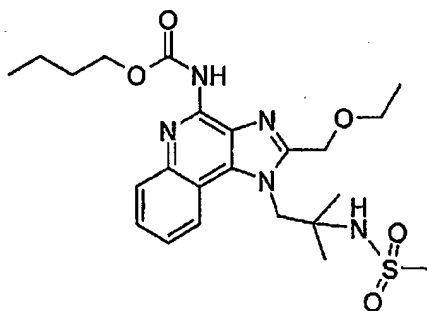
2-Etoximetil-1-{2-metil-2-[(metilsulfonil)amino]propil}-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-ilcarbamato de Propila



Trietilamina (2,67 mL, 5 eq) foi adicionado a uma suspensão esfriada (banho de gelo/água) de N-{2-[4-amino-2-etoximetil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]-1,1-dimetiletil}metanossulfonamida (1,5 g, 1 eq) em diclorometano (150 mL). Uma solução de cloroformato de propila (1,55 g, 3,3 eq) em diclorometano (5 mL) foi adicionada em gotas para produzir uma solução clara. A mistura de reação foi permitida vir chegar a temperatura ambiente com agitação durante 24 horas. A mistura de reação foi lavada consecutivamente com água (150 mL), 4% de carbonato de sódio (150 mL), água (150 mL), e salmoura (150 mL). A camada orgânica foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado através de cromatografia *flash* automatizada (sílica gel eluída com um gradiente linear de 0-20% de CMA em clorofórmio, 1500 mL) seguido por recristalização de éter de dietila para fornecer 1,23 g de 2-etoximetil-1-{2-metil-2-[(metilsulfonil)amino]propil}-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-ilcarbarnato de propila como um pó branco, ponto de fusão 177-179°C. Análise Calculada para C₂₂H₃₁N₅O₅S: C, 55,33; H, 6,54; N, 14,66. Encontrado: C, 55,41; H, 6,47; N, 14,45.

Exemplo 7

2-Etoximetil-1-{2-metil-2-[(metilsulfonil)amino]propil}-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-ilcarbaniato de Butila

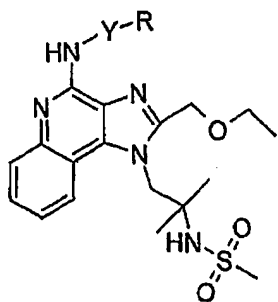


Trietilamina (2,67 mL, 5 eq) foi adicionado a uma suspensão esfriada (banho de gelo/água) de N-{2-[4-amino-2-etoximetil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]-1,1-dimetiletil}metanossulfonamida (1,5 g, 1 eq) em diclorometano (150 mL). Uma solução de cloroformato de butila (1,73 g, 3,3 eq) em diclorometano (5 mL) foi adicionada em gotas para produzir uma solução clara. A mistura de reação foi permitida chegar à temperatura ambiente com agitação durante 24 horas. A mistura de reação foi lavada consecutivamente com água (150 mL), 4% de carbonato de sódio (150 mL), água (150 mL), e salmoura (150 mL). A camada orgânica foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado através de cromatografia *flash* automatizada (sílica gel eluída com um gradiente linear de 0-20% de CMA em clorofórmio, 1500 mL) seguido por recristalização de éter de dietila para fornecer 1,23 g de 2-etoximetil-1-{2-metil-2-[(metilsulfonil)amino]propil}-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-ilcarbamato de propil como um pó branco, ponto de fusão 125-127°C. Análise calculada para C₂₃H₃₃N₅O₅S: C 56,19; H, 6,77; N 14,25. Encontrado: C 56,35; H, 6,65; N, 14,24.

Compostos Exemplares

Certos compostos exemplares, incluindo alguns da-

queles descritos acima nos Exemplos, têm a seguinte Fórmula Ia, e um substituinte I e R mostrados na seguinte tabela, onde cada linha da tabela é comparada com a Fórmula Ia para representar uma modalidade específica da invenção.



Ia

Y	R
-C(O)-	Metila
-C(O)-	Etila
-C(O)-	n-propila
-C(O)-	Isopropila
-C(O)-	n-butila
-C(O)-	Isobutila
-C(O)-	Terc-butila
-C(O)-	Fenila
-C(O)-O-	Benzila
-C(O)-O-	Metila
-C(O)-O-	Etila
-C(O)-O-	n-propila
-C(O)-O-	Isopropila
-C(O)-O-	n-butila
-C(O)-O-	Isobutila

-C(O)-O-	Terc-butila
-C(O)-O-	Fenila
-C(O)-O-	Benzila

Descobriu-se que os compostos da invenção provocam modulação de biossíntese de citocina como mostrado por níveis aumentados de interferon α e/ou fator α de necrose de tumor em células humanas quando testados usando o método
5 descrito abaixo.

INDUÇÃO DE CITOCINA EM CÉLULAS HUMANAS

Um sistema de célula do sangue humana *in vitro* é usado para avaliar a indução de citocina. A atividade é com base na medição de interferon (α) e fator de necrose de tu-
10 mor (α) (IFN- α e TNF- α , respectivamente) segregados em meios de cultura como descrito por Testerman e outros, em "Cytokine Induction by the Immunomodulators Imiquimod and S-27609", Journal of Leukocyte Biology, 58, 365-372 (Setembro, 1995).

Preparação de Célula de Sangue para Cultura

15 O sangue total de doadores humanos saudáveis é coletado através de venipunção em seringas ou tubos *vacutainer* que contêm EDTA. As células mononucleares do sangue periférico (PBMC) são separadas do sangue total por centrifugação de gradiente de densidade usando HISTOPAQUE-1077 (Sigma, St.
20 Louis, MO) ou Ficoll-Paque Plus (Amersham Biosciences Piscataway, NJ). O sangue é diluído 1:1 com a Salina Tamponada por Fosfato de Dulbecco (DPBS) ou a Solução de Sal Equilibrada de Hank (HBSS). Alternativamente, o sangue total é colocado em tubos fritos de centrífuga de Accuspin (Sigma)

ou LeucoSep (Greiner Bio-um, Inc., Longwood, FL) contendo meio de gradiente de densidade. A camada de PBMC é coletada e lavada duas vezes com DPBS ou HBSS e novamente suspensa a 4×10^6 de células/mL em RPMI completo. A suspensão de PBMC é adicionada a placas de cultura de tecido estéreis de fundo plano de 96 cavidades que contêm um volume igual de meio completo de RPMI que contem o composto de teste.

Preparação do Composto

Os compostos são solubilizados em sulfóxido de dimetila (DMSO). A concentração de DMSO não deveria exceder uma concentração final de 1% para adição às cavidades de cultura. Os compostos geralmente são testados em concentrações que variam de 30-0,014 μ M. Os controles incluem amostras de célula com meios somente, amostras de célula com DMSO somente (nenhum composto), e amostras de célula com composto de referência.

Incubação

A solução do composto de teste é adicionada em 60 μ M a primeira cavidade contendo RPMI completo e diluições de 3 vezes consecutivas são feitas nas cavidades. A suspensão de PBMC é adicionada então as cavidades em um volume igual, levando-se as concentrações de composto de teste à faixa desejada (normalmente 30-0,014 μ M). A concentração final de suspensão de PBMC é 2×10^6 células/mL. As placas são cobertas com tampas de plástico estéreis, misturadas suavemente e então incubadas durante 18 a 24 horas a 37°C em uma atmosfera de gás carbônico de 5%.

Separação

Seguinte a incubação as placas são centrifugadas durante 10 minutos a 1000 rpm (aproximadamente 200 x g) a 4°C. O sobrenadante de cultura livre de célula é removido e transferido para tubos de polipropileno estéreis. As amostras são mantidas a -30 a -70°C até a análise. As amostras são analisadas quanto à IFN- α por ELISA e quanto à TNF- α por Ensaio de IGEN/BioVeris.

Análise de Interferon (α) e Fator de Necrose de Tumor (α)

10 A concentração de IFN- α é determinada com um ELISA sanduíche colorimétrico de multi-subtipo humano (Número de Catálogo 41105) de PBL Biomedical Laboratories, Piscataway, NJ. Os resultados são expressos em pg/mL.

A concentração de TNF- α é determinada através de 15 Imunoensaio de ORIGEN M-Séries e lido em um analisador IGEN M-8 de Bio Veris Corporation, antigamente conhecido como IGEN International, Gaithersburg, MD. O imunoensaio usa um par de anticorpos de detecção e captura de TNF- α humano e (Números do Catálogo AHC3419 e AHC3712) de Biosource International, Camarillo, CA. Os resultados são expressos em 20 pg/mL.

Análise e Dados do Ensaio

No total, os dados produzidos do ensaio consistem em valores de concentração de TNF- α e IFN- α (γ -eixo) como 25 uma função de concentração do composto (x -eixo).

A análise dos dados tem duas etapas. Primeiro, o maior do DMSO médio (cavidades de controle de DMSO) ou a base experimental (normalmente 20 pg/mL para IFN- α e 40 pg/mL

para TNF- α) é subtraído de cada leitura. Se qualquer valor negativo resulta de subtração de base, a leitura é reportada como "*", e é notado como não confiantemente detectável. Em cálculos e estatísticas subseqüentes, "*", é tratado como um
5 zero. Segundo, todos os valores subtraídos da base são multiplicados por uma única relação de ajuste para diminuir a variabilidade de experimento para experimento. A relação de ajuste é a área do composto de referência na nova experiência dividida pela área esperada do composto de referência
10 com base nas 61 experiências passadas (leituras não ajustadas). Isto resulta no escalamento da leitura (γ -eixo) para novos dados sem mudar a forma da curva de resposta à dose. O composto de referência empregado é hidrato de 2-[4-amino-2-etoximetil-6,7,8,9-tetraidro- α,α -dimetil-1*H*-imidazo[4,5-
15 c]quinolin-1-il]etanol (Patente U.S. No. 5.352.784; Exemplo 91) e a área esperada é a soma dos valores de dose média das 61 Experiências Passadas.

A concentração efetiva mínima é calculada com base nos resultados ajustados pela referência, subtraídos da base,
20 se, para uma determinada experiência e composto. A concentração efetiva mínima (μ molar) é a mais baixo das concentrações de composto testadas que induz uma resposta sobre uma concentração de citocina fixa para a citocina testada (normalmente 20 pg/mL para IFN- α e 40 pg/mL para TNF- α). A res-
25 posta máxima é a quantidade máxima de citocina (pg/ml) produzida na resposta à dose.

INDUÇÃO DE CITOCINA EM CÉLULAS HUMANAS

(Avaliação de Alta Produção)

O método de teste de INDUÇÃO DE CITOCINA EM CÉLULAS HUMANAS descrito acima foi modificado como segue para avaliação de Alta produção.

Preparação de Célula de Sangue para Cultura

5 O sangue total de doadores humanos saudáveis é coletado através de venipunção em tubo ou seringas vacutainer que contêm EDTA. As células mononucleares do sangue periférico (PBMC) são separadas do sangue total por centrifugação de gradiente de densidade que usa HISTOPAQUE-1077 (Sigma,
10 St. Louis, MO) ou Ficoll-Paque Plus (Amersham Biosciences Piscatawai, NJ). O sangue total é colocado em tubos fritos de cetrífuga Accuspin (Sigma) ou LeucoSep (Greiner Bio-um, Inc., Longwood, FL) contendo meio de gradiente de densidade. A camada de PBMC é coletada e lavada duas vezes com DPBS ou
15 HBSS e novamente suspensa em 4×10^6 de células/mL em RPMI completo (2 vezes a densidade de célula final). A suspensão de PBMC é adicionada às placas de cultura de tecido estéreis de base plana de 96 cavidades.

Preparação de Composto

20 Os compostos são solubilizados em sulfóxidos de dimetila (DMSO). Os compostos geralmente são testados em concentrações que variam de 30-0,014 μ M. Os controles incluem amostras de célula com meios somente, amostras de célula com DMSO somente (nenhum composto), e amostras de célula
25 la com um composto de referência hidrato de 2-[4-amino-2-etoximetil-6,7,8,9-tetraidro- α,α -dimetil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]etanol (Patente U.S. No. 5.352.784; Exemplo 91) em cada placa. A solução do composto de teste é adicio-

nada em 7,5 mM à primeira cavidade de uma placa de dosagem e diluições de 3 vezes consecutivas são feitas para as 7 concentrações subseqüentes em DMSO. Os meios de RPMI completos são então adicionados às diluições de composto de teste para
5 alcançar uma concentração de composto final 2 mais elevada (60-0,028 μ M) do que a faixa de concentração testada final.

Incubação

A solução do composto é então adicionada às cavidades que contêm a suspensão de PBMC que levam as concentra-
10 ções de composto de teste à faixa desejada (normalmente 30-0,014 μ M) e a concentração de DMSO a 0,4%. A concentração final de suspensão de PBMC é 2×10^6 células/mL. As placas são cobertas com tampas de plástico estéreis, misturadas suavemente e em seguida incubadas durante 18 a 24 horas a 37°C
15 em uma atmosfera de gás carbônico a 5%.

Separação

Seguinte a incubação as placas são centrifugadas durante 10 minutos a 1000 rpm (aproximadamente 200 g) a 4°C. As placas de 96 cavidades 4-plex Human Panel MSD MULTI-SPOT
20 são pré-cobertas com os anticorpos de captura apropriados por MesoScale Discovery, Inc. (MSD, Gaithersburg, MD). Os sobrenadantes de cultura livres de célula são removidos e transferidos para as placas de MSD. As amostras frescas são tipicamente testadas, embora elas possam ser mantidas de -30
25 a -70°C até análise.

Análise de Interferon- α e Fator- α de Necrose de Tumor

As placas MSD MULTI-SPOT contêm em cada cavidade

anticorpos de captura para TNF- α humano e IFN- α humano que foram pré-cobertos em manchas específicas. Cada cavidade contém quatro manchas: uma mancha de anticorpo de captura de TNF- α humano (MSD), uma mancha de anticorpo de captura de IFN- α humano (PBL Biomedical Laboratories, Piscataway, NJ), e duas manchas de albumina de soro bovino inativas. O par de anticorpos de detecção e captura de TNF- α humano é de Mesoscale Discovery. O anticorpo de multi-subtipo de IFN- α humano (PBL Biomedical Laboratories) captura todos os subtipos de IFN- α exceto IFN- α F (IFNA21). Padrões consistem em TNF- α humano recombinante (R&D Systems, Minneapolis, MN) e IFN- α (PBL Biomedical Laboratories). As amostras e padrões separados são adicionados na hora da análise a cada placa de MSD. Dois anticorpos de detecção de IFN- α humano (Cat. Nos. 21112 & 21100, PBL) são usados em uma relação de dois para um (peso: peso) para mutuamente determinar as concentrações de IFN- α . Os anticorpos de detecção específicos de citocina são rotulados com o reagente SULFO-TAG (MSD). Após a adição dos anticorpos de detecção rotulados SULFO-TAG às cavidades, cada nível eletroquimioluminescente é lido empregando MSD's SECTOR HTS READER. Os resultados são expressos em pg/mL sob o cálculo com padrões de citocina conhecidos.

Análise e Dados do Ensaio

No total, a produção de dados do ensaio consiste em valores de concentração de TNF- α ou IFN- α (γ -eixo) como uma função da concentração do composto (x -eixo).

Uma graduação em placa é realizada em uma determinada experiência apontada na redução da variabilidade de

placa para placa associada na mesma experiência. Primeiro, o maior do DMSO médio (cavidades de controle de DMSO) ou a base experimental (normalmente 20 pg/mL para IFN- α e 40 pg/mL para TNF- α) é subtraído de cada leitura. Os valores de negativo que podem resultar da subtração de base são ajustados para zero. Cada placa dentro de uma determinada experiência tem um composto de referência que serve como um controle. Este controle é usado para calcular uma área esperada média sob a curva por todas as placas no ensaio. Um fator de graduação em placa é calculado para cada placa como uma relação da área do composto de referência na placa particular para a área esperada média para a experiência inteira. Os dados de cada placa são então multiplicados pelo fator de graduação em placa para todas as placas. Somente os dados das placas portando um fator de graduação dentre 0,5 e 2,0 (para ambas as citocinas IFN- α , TNF- α) são reportados. Os dados de placas com fatores de graduação fora do intervalo supracitado são novamente testados até que eles portem fatores de graduação dentro do intervalo supracitado. O método acima produz uma graduação dos y-valores sem alterar a forma da curva. O composto de referência usado é hidrato de 2-[4-amino-2-etoximetil-6,7,8,9-tetraidro- α,α -dimetil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]etanol (Patente U.S. No. 5.352.784; Exemplo 91). A área esperada média é área média através de todas as placas que fazem parte de uma determinada experiência.

Uma segunda graduação também pode ser realizada para reduzir a variabilidade entre experiências (através de

múltiplas experiências). Todos os valores subtraídos da base são multiplicados por uma única relação de ajuste para diminuir a variabilidade experiência para experiência. A relação de ajuste é a área do composto de referência na experiência nova dividida pela área esperada do composto de referência com base em uma média de experiências prévias (leituras não ajustadas). Isto resulta na graduação da leitura (y-eixo) para novos dados sem alterar a forma da curva de resposta à dose. O composto de referência usado é hidrato de 2-[4-amino-2-etoximetil-6,7,8,9-tetraidro- α,α -dimetil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-1-il]etanol (Patente U.S. No. 5.352.784; Exemplo 91) e a área esperada é a soma dos valores de dose médios de uma média de experiências prévias.

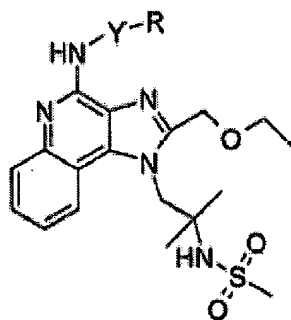
A concentração efetiva mínima é calculada com base nos resultados ajustados pela referência subtraídos da base, para uma determinada experiência e composto. A concentração efetiva mínima (μ molar) é a mais baixa das concentrações de composto testadas que induzem uma resposta sobre uma concentração de citocina fixa para o citocina testada (normalmente 20 pg/mL para IFN- α e 40 pg/mL para TNF- α). A resposta máxima é a quantidade máxima de citocina (pg/ml) produzida na resposta à dose.

As descrições completas das patentes, documentos de patentes, e publicações citadas aqui são incorporadas por referência em sua totalidade como se cada fosse individualmente incorporado. Várias modificações e alterações para esta invenção serão evidentes para aqueles de experiência na técnica sem afastar-se do escopo e espírito desta invenção.

Deveria ser entendido que esta invenção não é pretendida ser indevidamente limitada pelas modalidades e exemplos ilustrativos apresentados aqui e que tais exemplos e modalidades são apresentados por via de exemplo, somente com o escopo da
5 invenção, pretendido ser limitado somente pelas reivindicações apresentadas aqui como segue.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto, **CARACTERIZADO** pelo fato de ter a fórmula I



I

5 em que:

Y é selecionado a partir do grupo que consiste de -C(O)- e -C(O)-O-;

R é selecionado a partir do grupo que consiste de alquila, arila, arilalquilenila, heteroarila, heteroarilalquilenila, heterociclila, e heterociclilalquilenila; onde
10 arila e arilalquilenila são não substituídas ou substituídas por um ou mais substituintes selecionados a partir do grupo que consiste de alquila, alcóxi, arila, e halogênio; e em
15 bono;

ou um sal farmaceuticamente aceitável deste.

2. Composto ou sal, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de Y ser -C(O)-.

3. Composto ou sal, de acordo com a reivindicação
20 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de Y ser -C(O)-O-.

4. Composto ou sal, de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de R ser alquila, arila, ou arilalquilenila.

5 4. Composto ou sal, de acordo com a reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de R ser alquila C_{1-10} .

6. Composto ou sal, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de R ser alquila C_{1-5} .

7. Composto ou sal, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADO** pelo fato de R ser selecionado a partir do grupo que consiste de metila, etila, n-propila, isopropila, n-butila, isobutila e t-butila.

8. Composto ou sal, de acordo com a reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de R ser arila.

15 8. Composto ou sal, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de R ser fenila.

10. Composto ou sal, de acordo com a reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de R ser arilalquilenila.

11. Composto ou sal, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo fato de R ser benzila.

20 12. Composição farmacêutica, **CARACTERIZADA** pelo fato de compreender uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto ou sal conforme definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 11 e um veículo farmaceuticamente aceitável.

25 13. Uso do composto ou sal conforme definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 11 ou da composição farmacêutica conforme definida na reivindicação 12,

CARACTERIZADO por ser na preparação de um medicamento para induzir a biossíntese de citocina em um animal.

14. Uso do composto ou sal conforme definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 11 ou da composição farmacêutica conforme definida na reivindicação 12, **CARACTERIZADO** por ser na preparação de um medicamento para o tratamento de uma doença viral em um animal.

15. Uso do composto ou sal conforme definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 11 ou da composição farmacêutica conforme definida na reivindicação 12, **CARACTERIZADO** por ser na preparação de um medicamento para o tratamento de uma doença neoplásica em um animal.

PI0615788-2

RESUMO

"DERIVADOS DE AMIDA E CARBAMATO DE N-{2-[4-AMINO-
2- (ETOXIMETIL)-1H-IMIDAZO[4,5-c]QUINOLIN-1-IL]-1,1-
DIMETILETIL}METANOSSULFONAMIDA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA
5 DESTES E SEUS USOS"

São revelados derivados de amida e carbamato de N-
{2-[4-amino-2-(etoximetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]-
1,1-dimetiletil}metanossulfonamida, composições farmacêuti-
cas contendo esses compostos, métodos de preparação desses
10 compostos, e métodos para o uso desses compostos na modula-
ção do sistema imune, para indução de biossíntese de citoci-
na em animais e no tratamento de doenças incluindo doenças
virais e neoplásicas.