

(11) Número de Publicação: **PT 2478905 E**

(51) Classificação Internacional:
A61K 31/4709 (2014.01) **A61K 31/496**
(2014.01)
A61P 35/02 (2014.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2008.05.30	(73) Titular(es): WYETH LLC 235 EAST 42ND STREET NEW YORK, NY 10017-5755 US
(30) Prioridade(s): 2007.06.01 US 932650 P	
(43) Data de publicação do pedido: 2012.07.25	(72) Inventor(es): HEWES BECKER US
(45) Data e BPI da concessão: 2014.05.14 134/2014	(74) Mandatário: MANUEL ANTÓNIO DURÃES DA CONCEIÇÃO ROCHA AV LIBERDADE, Nº. 69 - 3º D 1250-148 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **TRATAMENTO DE LEUCEMIA RESISTENTE A IMATINIB UTILIZANDO 4-AMINOQUINOLEÍNA-3-CARBONITRILOS**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO FORNECE COMPOSTOS DE 4- AMINOQUINOLEÍNA 3-CARBONITRILO ÚTEIS PARA O TRATAMENTO DE UM INDIVÍDUO COM UMA LEUCEMIA BCRABL POSITIVA QUE É RESISTENTE A IMATINIB.

RESUMO**“TRATAMENTO DE LEUCEMIA RESISTENTE A IMATINIB UTILIZANDO 4-AMINOQUINOLEÍNA-3-CARBONITRILOS”**

A presente invenção fornece compostos de 4-aminoquinoleína 3-carbonitrilo úteis para o tratamento de um indivíduo com uma leucemia BcrAbl positiva que é resistente a imatinib.

DESCRIÇÃO

“TRATAMENTO DE LEUCEMIA RESISTENTE A IMATINIB UTILIZANDO 4-AMINOQUINOLEÍNA-3-CARBONITRILOS”

CAMPO DA INVENÇÃO

A invenção refere-se ao composto 4-[(2,4-Dicloro-5-metoxi-fenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-1-piperazinil)propoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, para a utilização no tratamento de uma leucemia BcrAbl positiva, em que a leucemia é resistente ao tratamento com imatinib, e em que a leucemia tem uma mutação de ácidos nucleicos associada à resistência no gene *bcrabl* que corresponde a 949T>C.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

O imatinib, que é comercializado com os nomes *Gleevec* e *Glivec*, transformou provavelmente o tratamento de leucemia mieloide crônica ajudando muitos pacientes a alcançar uma taxa de sobrevivência aos 5 anos de quase 90%. Um subconjunto de pacientes que tomam imatinib, que é comercializado com os nomes *Gleevec* e *Glivec*, desenvolve uma resistência ao fármaco, muitas vezes devido às mutações de *bcrabl* na tirosina quinase. O tratamento com imatinib permitiu que os pacientes com leucemia mielógena crônica (LMC) experimentassem uma taxa de sobrevivência aos cinco anos de quase 90 por cento, uma vez que o fármaco bloqueia a proteína tirosina quinase “BcrAbl”, uma proteína anormal que origina a superprodução de leucócitos anormais característica da leucemia. Contudo, muitos pacientes acabaram por desenvolver resistência a este tratamento devido à capacidade das suas células cancerígenas para sofrerem uma mutação e uma adaptação, provocando a reincidência da doença.

A tirosina quinase BcrAbl ativada de forma aberrante (o produto do gene *bcrabl* e o Cromossoma Filadélfia) é

casualmente associada à Leucemia Mielógena Crónica e à Leucemia Linfocítica Aguda. A atividade constitutiva de tirosina quinase de BcrAbl provoca a proliferação e a sobrevivência de células de leucemia mielógena crónica (LMC). A inibição da atividade de tirosina quinase BcrAbl ou de proteínas de sinalização ativadas por BcrAbl em células LMC bloqueia a proliferação e causa a morte de células por apoptose. O inibidor seletivo de quinase Abl, STI-571 (comercializado como Gleevec), é tóxico para as células LMC em cultura, causa a regressão de tumores LMC em ratinhos nude, e é atualmente utilizado para tratar pacientes com LMC. A expressão de BcrAbl nas células estaminais hematopoiéticas provoca transformação e atua antecipadamente na leucemogénese. A inibição desta quinase com STI-571 controla eficazmente a LMC na fase crónica da doença, mas os pacientes num estado mais avançado melhoram frequentemente com a terapêutica STI-571. Os modelos *in vitro* de resistência à STI-571 e espécimes clínicos de pacientes resistentes demonstraram que a sobre-expressão de outras quinases ou a ativação de vias de sinalização distintas é associada à independência de BcrAbl. A inibição da atividade de tirosina quinase de BcrAbl é uma estratégia eficaz para visar a LMC conforme demonstrado pela eficácia clínica de STI-571. Outras moléculas, incluindo quinases da família Src, desempenham um papel na sinalização a jusante a partir de BcrAbl e, como tal, são potenciais alvos terapêuticos para o tratamento da doença resistente a STI-571. As quinases da família Src, incluindo Lyn e Hck, foram implicadas na sinalização a jusante a partir de BcrAbl.

Embora o inibidor seletivo de quinase Abl STI-571 seja eficaz e bem tolerado pela maioria dos pacientes na LMC em estágio crónico, os pacientes em estádios de crises de blastos e acelerados da doença têm tendência para ser menos recetivos. Consequentemente, são necessários agentes alternativos que sejam eficazes na doença em estágio

avançado. A frequência de mutações bcr/abl em pacientes resistentes a LMC aumentou para 90% (Hochhaus *et al. Leukemia* 2004)) de 42% em *Cancer Cell*, Vol 2. (2), agosto de 2002, Páginas 117 a 125. O imatinib foi aprovado como uma terapêutica de primeira linha para os pacientes recentemente diagnosticados com LMC. Contudo, a resistência ao imatinib devido a mutações pontuais no gene bcr/abl está a ser reconhecida como uma barreira na terapêutica de pacientes com LMC. Gore, *Science* 2001; 293(5531):876 a 880 e Lecoutre, *Blood* 2000; 95(5):1758 a 66.

Kantarijian *et al.* demonstraram que o nilotinob não é eficaz contra a LMC quando os pacientes têm a mutação de aminoácidos em BcrAbl T315I *N Engl J Med.* 15 de junho de 2006; 354(24):2594 a 6.

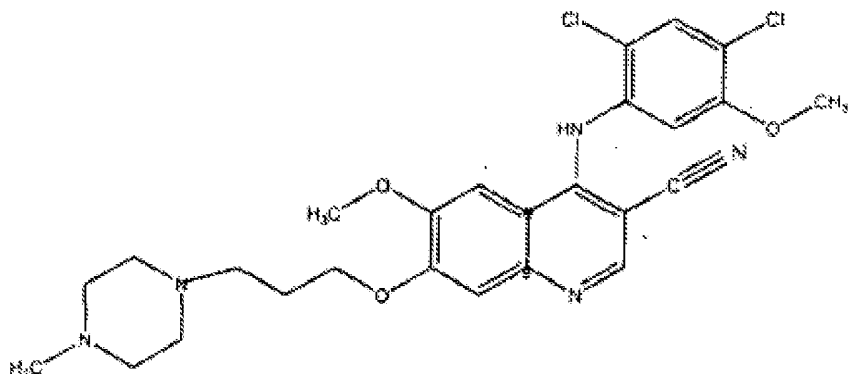
Talpaz *et al.* mostraram que o Dasatinib em Leucemias Cromossoma Filadélfia Positivas Resistentes a Imatinib (*New England J Med.* 2006:354:2531 a 2541) também não tem nenhum efeito contra a mutação T315I. Esta referência demonstrou igualmente que o Dasatinib pode causar toxicidade hematológica e edema.

Branford *et al.* descreveram que as mutações BcrAbl em pacientes com LMC tratados com imatinib são quase sempre acompanhadas por resistência clínica, e as mutações na ansa (*loop*) de ligação de fosfato ATP (ansa P) estão associadas a um mau prognóstico. *Blood*, 1 de julho de 2003, Vol. 102, N.º 1, págs. 276 a 283.

A Patente U.S. n.º 6.297.258 divulga 3-cianoquinoleínas substituídas que são úteis como agentes antineoplásicos e no tratamento da doença renal policística. O Pedido de Patente U.S. n.º 20050101780 divulga métodos de tratamento, prevenção ou inibição de LMC através do fornecimento a um indivíduo de uma quantidade terapêuticamente eficaz de SKI-606.

A Publicação de Patente U.S. n.º 20050101780 divulga especificamente a utilização de um composto com a fórmula

estrutural



para o tratamento de LMC. Este composto é igualmente conhecido como bosutinib ou SKI-606 e tem o nome químico 4-[(2,4-Dicloro-5-metoxi-fenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-1-piperazinil)propoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo.

Soverini *et al.* demonstraram a resistência a dasatinib de pacientes com F317V., *J Clin Oncol.* novembro de 2006 20;24(33):e51 e 2.

Puttini *et al.* mostraram que SKI-606, um novo inibidor Src-Abl, é eficaz na redução de replicação de linhas celulares de LMC resistentes a imatinib com determinadas mutações associadas à resistência a imatinib. *Cancer Res.* 2006; 66(23):1 de dezembro de 2006.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Foi descoberto que um número significativo de pacientes resistentes a imatinib responde favoravelmente ao tratamento com SKI-606 (4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-1-piperazinil)propoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo).

A presente invenção fornece o composto 4-[(2,4-Dicloro-5-metoxi-fenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-1-piperazinil)propoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, para a utilização no tratamento de uma leucemia BcrAbl

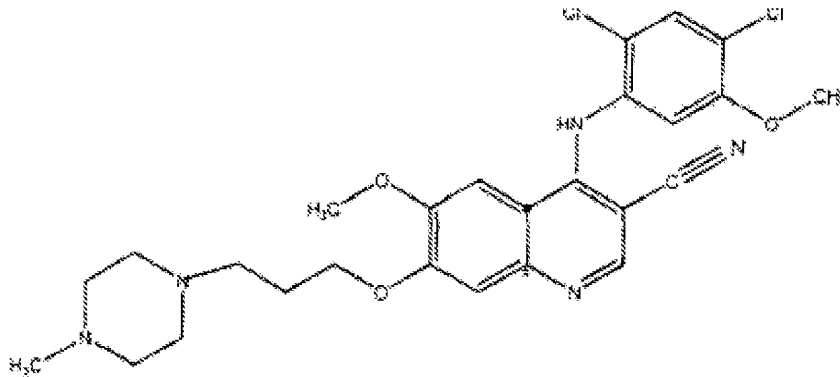
positiva, em que leucemia é resistente ao tratamento com imatinib, e em que a leucemia tem uma mutação de ácidos nucleicos associada à resistência no gene *bcrabl* que corresponde a 949T>C.

SKI-606, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, é doravante referido como "o composto".

Numa forma de realização, a leucemia tem uma mutação de aminoácidos associada à resistência na proteína *bcrabl* que corresponde a F317L.

Numa forma de realização, a leucemia é selecionada a partir de LMC e Leucemia Linfocítica Aguda (LLA).

Numa forma de realização, o composto é administrado numa concentração selecionada entre 100 e 1000 mg, entre 200 e 800 mg, entre 300 e 700 mg, entre 400 e 600 mg e quaisquer intervalos ou frações incluídos nestes limites. Numa forma de realização, o composto é administrado numa concentração entre 400 e 600 mg por dia. Numa forma de realização, o composto é administrado numa concentração de 500 mg por dia.



O SKI-606 tem a fórmula química ilustrada acima.

Noutra forma de realização, a invenção fornece a utilização do composto 4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-1-piperazinil)propoxil]-3-quinoleínacarbonitrilo, ou um sal

farmaceuticamente aceitável do mesmo, para o fabrico de um medicamento para o tratamento de uma leucemia BcrAbl positiva, em que leucemia é resistente ao tratamento com imatinib, e em que a leucemia tem uma mutação de ácidos nucleicos associada à resistência no gene *bcrabl* que corresponde a 949T>C.

Numa forma de realização desta utilização, a leucemia tem uma mutação de aminoácidos associada à resistência na proteína *bcrabl* que corresponde a F317L. O SKI-606 corresponde a bosutinib e tem o nome químico 4-[(2,4-Dicloro-5-metoxi-fenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-1-piperazinil)propoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A Figura 1 ilustra um sumário de respostas hematológicas e respostas citogenéticas a seguir ao tratamento com SKI-606.

A Figura 2 ilustra níveis de expressão do gene *bcrabl*.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Métodos Gerais

Para determinar a resposta ao tratamento, são utilizadas as contagens sanguíneas completas e automatizadas, as contagens diferenciais (com confirmação manual de anormalidades), a morfologia da medula óssea e a citogenética.

A morfologia da medula óssea é utilizada para determinar as contagens de células mieloides imaturas e de blastos, de modo a definir as fases da doença.

A citogenética padrão é utilizada para determinar a presença do cromossoma Filadélfia e a respetiva percentagem de presença na medula. É necessário contar vinte ou mais metáfases para esta determinação. A análise FISH (Fluorescent in situ Hybridization - Hibridação *in situ* Fluorescente) pode ser utilizada para confirmar a presença de produto de fusão BcrAbl.

A Reação em Cadeia da Polimerase da Transcriptase

Reversa (RT-PCR) para o número de cópia BcrAbl é efetuada no sangue periférico.

Conforme aqui utilizado, o termo "leucemia BcrAbl positiva" refere-se a uma leucemia que está associada à expressão do gene *bcrabl*.

Resposta citogenética ao tratamento. Conforme aqui utilizado, uma "resposta citogenética ao tratamento" indica um desaparecimento relativo do cromossoma Filadélfia em indivíduos tratados conforme determinado por uma percentagem de células cromossoma Filadélfia positivas presentes. A resposta pode ser mínima, pequena, parcial ou completa. Uma resposta citogenética "negativa" representa aproximadamente 95,5% de células positivas relativamente ao cromossoma Filadélfia após o tratamento. Uma "resposta mínima" indica aproximadamente 66 a 95% de células positivas relativamente ao cromossoma Filadélfia. Uma resposta citogenética "pequena" indica aproximadamente 36 a 65% de células positivas relativamente ao cromossoma Filadélfia. Uma resposta "parcial" indica 1 a 35% de células positivas relativamente ao cromossoma Filadélfia. Uma resposta completa indica 0% de células positivas relativamente ao cromossoma Filadélfia. Estes números de % positiva baseiam-se na análise de 20 metáfases (por indivíduo?). É possível utilizar um ensaio baseado na hibridação *in situ* fluorescente (FISH) para qualificar a resposta se estiverem disponíveis metáfases insuficientes.

Respostas hematológicas ao tratamento. Conforme aqui utilizado, uma "resposta hematológica ao tratamento" indica a eliminação de células de leucemia observadas microscopicamente no sangue.

O composto pode ser utilizado de acordo com as reivindicações para o tratamento, a prevenção ou a inibição de leucemia resistente a imatinib. Numa forma de realização preferida, o composto é utilizado como parte de uma composição farmacêutica.

Os sais farmacologicamente aceitáveis são os derivados dos ácidos orgânicos e inorgânicos como: acéticos, lácticos, carboxílicos, cítricos, cinâmicos, tartáricos, succínicos, fumáricos, maleicos, malónicos, mandélicos, málicos, oxálicos, propiónicos, clorídricos, bromídricos, fosfóricos, nítricos, sulfúricos, glicólicos, pirúvicos, metanossulfónicos, etanossulfónicos, toluenossulfónicos, salicílicos, benzoicos, e sais aceitáveis conhecidos de forma semelhante.

Os compostos podem ser fornecidos oralmente, por injeção intralesional, intraperitoneal, intramuscular ou intravenosa; infusão; ministração mediada por lipossoma; ministração tópica, nasal, anal, vaginal, sublingual, ureteral, transdérmica, intratecal, ocular ou ótica. Para obter consistência no fornecimento do composto, é preferível que o composto se encontre na forma de uma dose unitária.

As formas de dose unitária adequadas incluem comprimidos, cápsulas e pós em saquetas ou frascos. Essas formas de dose unitária podem conter de 0,1 a 1000 mg de um composto aqui descrito para tratar leucemia resistente a imatinib e, preferencialmente, de 400 a 600 mg. Noutra forma de realização, as formas de dosagem unitária contêm 500 mg do composto.

Numa forma de realização, a dosagem diária é de 400 a 600 mg por dia. Ainda noutra forma de realização, o composto pode ser administrado em formas de dosagem unitária contendo 500 mg.

O composto pode ser administrado oralmente. Esse composto pode ser administrado de 1 a 6 vezes por dia, mais habitualmente de 1 a 4 vezes por dia. A quantidade eficaz será conhecida do perito na técnica; também dependerá da forma do composto. Um perito na técnica pode efetuar habitualmente testes de atividade empíricos para determinar a bioatividade do composto em bioensaios e, deste modo,

determinar a dosagem a administrar.

O composto pode ser formulado com excipientes convencionais, tais como um enchimento, um agente de desintegração, um aglutinante, um lubrificante, um agente aromatizante, um aditivo de cor ou um veículo. O veículo pode ser, por exemplo, um diluente, um aerossol, um veículo tópico, uma solução aquosa, uma solução não aquosa ou um veículo sólido. O veículo pode ser um polímero ou um dentífrico. Nesta invenção, um veículo abrange qualquer um dos veículos normais farmacologicamente aceites, tais como soro fisiológico tamponado com fosfato, soro fisiológico tamponado com acetato, água, emulsões, tais como uma emulsão de óleo/água ou uma emulsão de triglicérido, vários tipos de agentes de humedecimento, comprimidos, comprimidos revestidos e cápsulas.

Quando fornecido oral ou topicamente, esse composto será fornecido a um indivíduo através de ministração em veículos diferentes. Habitualmente, esses veículos contêm excipientes, tais como amido, leite, açúcar, determinados tipos de argila, gelatina, ácido esteárico, talco, óleos ou gorduras vegetais, gomas ou glicóis. O veículo específico necessita de ser selecionado com base no método de ministração desejado, por exemplo, o soro fisiológico tamponado com fosfato (PBS) pode ser utilizado para ministração intravenosa ou sistêmica e as gorduras vegetais, os cremes, os unguentos, as pomadas ou os geles podem ser utilizados para ministração tópica.

O composto pode ser ministrado juntamente com diluentes, conservantes, solubilizantes, emulsionantes, adjuvantes e/ou veículos adequados úteis no tratamento ou na prevenção de neoplasma. Essas composições são líquidas ou formulações liofilizadas ou então secas e incluem diluentes de teor de vários tampões (por exemplo, Tris-HCl, acetato, fosfato), pH e força iônica, aditivos, tais como albuminas ou gelatina para prevenir a absorção nas

superfícies, detergentes (por exemplo, TWEEN 20, TWEEN 80, PLURONIC F68, sais de ácido biliar), agentes de solubilização (por exemplo, glicerol, polietilenoglicerol), antioxidantes (por exemplo, ácido ascórbico, metabissulfito de sódio), conservantes (por exemplo, timerosal, álcool benzílico, parabenos), substâncias de volume ou modificadores de tonicidade (por exemplo, lactose, manitol), ligação covalente de polímeros, tal como polietilenoglicol, complexação com iões metálicos, ou incorporação do composto nas preparações de partículas de hidrogéis ou lipossomas, microemulsões, micelas, vesículas unilamelares ou multilamelares, esferoplastos ou esferoplastos. Essas composições irão influenciar o estado físico, a solubilidade, a estabilidade, a taxa de libertação *in vivo* e a taxa de eliminação *in vivo* do composto ou da composição. A escolha das composições dependerá das propriedades físicas e químicas do composto capaz de tratar ou prevenir um neoplasma.

O composto pode ser ministrado localmente através de uma cápsula que permita uma libertação prolongada do composto durante um período de tempo. As composições de libertação controlada ou prolongada incluem a formulação em depósitos lipofílicos (por exemplo, ácidos gordos, ceras, óleos).

O composto pode ser utilizado como uma substância terapêutica ativa para o tratamento, a prevenção ou a inibição de LMC.

O composto pode ser utilizado num método de tratamento de LMC nos seres humanos, que compreende a administração no indivíduo infetado de uma quantidade eficaz do composto ou de uma composição farmacêutica do mesmo. A dose fornecida a um paciente irá variar dependendo do que é administrado, da finalidade da administração, da forma de administração e afins. Uma "quantidade terapêuticamente eficaz" corresponde a uma quantidade suficiente para curar ou melhorar sintomas

de LMC.

O composto pode ser ministrado sozinho ou em conjunto com outros compostos utilizados para tratar a LMC. Esses compostos incluem GLEEVEC®, hidroxíureia, IFN-alfa, agentes citotóxicos, 17-(Alilamino)-17-demetoxigeldanamicina ou derivados do mesmo, ou wortmanina.

O composto pode ser preparado a partir de: (a) materiais iniciais comercialmente disponíveis, (b) materiais iniciais conhecidos que podem ser preparados conforme descrito nos procedimentos da literatura, ou (c) novos intermediários descritos nos esquemas e procedimentos experimentais aqui apresentados. O composto pode ser preparado de acordo com as vias de síntese divulgadas nas Patentes U.S. n.ºs 6.002.008 e 6.780.996.

As reações são efetuadas num solvente apropriado aos reagentes e materiais utilizados e adequados para a transformação que está a ser realizada. Os peritos na técnica de síntese orgânica compreendem que as várias funcionalidades presentes na molécula têm de ser consistentes com as transformações químicas propostas. Quando não especificado, a ordem das etapas sintéticas, a escolha dos grupos de proteção e as condições de desproteção serão facilmente evidentes para os peritos na técnica. Além disso, em alguns casos, os substituintes nos materiais iniciais podem ser incompatíveis com determinadas condições de reação. As restrições pertinentes para determinados substituintes serão evidentes para um perito na técnica. As reações foram executadas em atmosferas inertes quando apropriado.

A preparação dos compostos foi descrita na literatura, [Boschelli, D. H., et al., *J. Med. Chem.*, 44, 3965 (2001)], Boschelli, D. H., et al., *J. Med. Chem.*, 44, 822 (2001), Boschelli, D. H., et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 13, 3797 (2003), Boschelli, D. H., et al., *J. Med. Chem.*, 47, 1599 (2004) e Ye, F. et al., *221th National Meeting of*

the American Chemical Society, San Diego, Califórnia (abril de 2001)].

O composto pode ser utilizado como uma substância terapêutica ativa para o tratamento, a prevenção ou a inibição de LMC em pacientes que não responderam ao tratamento com imatinib.

A utilização envolve um método de tratamento de LMC em pacientes humanos que não responderam ao tratamento com imatinib, que compreende a administração no indivíduo infectado de uma quantidade eficaz de SK606 (igualmente conhecido como SKI-606 ou bosutinib). O nome químico deste composto é 4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-1-piperazinil)propoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo. A dose fornecida a um paciente irá variar dependendo do que é administrado, da finalidade da administração e da forma de administração.

O composto pode ser ministrado sozinho ou em conjunto com outros compostos utilizados para tratar a LMC. Esses compostos incluem, mas não se limitam a, GLEEVEC®, hidroxiureia, agentes citotóxicos IFN-alfa, 17-(Alilamino)-17-demetoxigeldanamicina ou derivados do mesmo, ou wortmanina.

Os compostos descritos abaixo nos Exemplos 2 a 23 são ou foram preparados a partir de: (a) materiais iniciais comercialmente disponíveis, (b) materiais iniciais conhecidos que podem ser preparados conforme descrito nos procedimentos da literatura, ou (c) novos intermediários descritos nos esquemas e procedimentos experimentais aqui apresentados. Esses compostos podem ser preparados de acordo com as vias de síntese divulgadas nas Patentes U.S. n.ºs 6.002.008 e 6.780.996.

EXEMPLO 1

As mutações conhecidas por estarem associadas à resistência a imatinib encontram-se no gene bcr/abl e são conforme apresentado em seguida, com a posição de

nucleótido e a alteração de nucleótido ilustradas e seguidas pela alteração de aminoácido correspondente ilustrada entre parênteses: 1052T>C (M351T); 1075T>K (F359V); 1187A>M (H396P); 1295T>Y (I432T); 1457T>C (F486S); 730A>G (M244V); 742C>S (L248V); 749G>R (G250E); 757T>C (Y253H); 758A>T (Y253F); 763G>R (E255K); 787A>R (K263E); 817T>A (L273M); 944C>T (T315I); 949T>C (F317L) e 992A>G (N331 S).

As amostras aspiradas de medula óssea foram recolhidas de indivíduos que não responderam ao tratamento com imatinib para a Leucemia Mieloide Crônica, antes da dosagem com SKI-606. O gene bcr/abl de base de referência foi sequenciado e as mutações pontuais foram registadas. Em seguida, os pacientes foram administrados com uma dose de SKI 606 e as melhores respostas Citogenéticas e as respostas Hematológicas confirmadas foram seguidas. A média das doses foi calculada entre 400 mg e 600 mg por paciente por dia. Foi confirmado que o tratamento com SKI-606 resultou em respostas citogenéticas ou hematológicas em pacientes que têm, pelo menos, uma de dezanove mutações pontuais exclusivas do gene bcr/abl. Estas mutações pontuais estão associadas à resistência ao tratamento com imatinib. Os períodos de tratamento variaram entre uma semana e mais de ano.

Os resultados do tratamento em pacientes humanos resistentes a imatinib com mutações conhecidas associadas à resistência a BcrAbl são ilustrados na Tabela 1. Ao todo, 66 pacientes resistentes a imatinib foram tratados com SKI-606 durante períodos que variam entre uma semana e mais de um ano por indivíduo. Destes 66 pacientes, 42 tinham uma ou mais mutações conhecidas por estarem associadas à resistência a imatinib. Além disso, alguns pacientes sem nenhuma das mutações conhecidas associadas à resistência também responderam favoravelmente ao tratamento.

Os seguintes exemplos adicionais 2 a 23 descrevem

compostos que são sintetizados utilizando (a) materiais iniciais comercialmente disponíveis, (b) materiais iniciais conhecidos que podem ser preparados conforme descrito nos procedimentos da literatura, ou (c) novos intermediários descritos nos esquemas e procedimentos experimentais aqui apresentados. Os compostos podem ser preparados de acordo com as vias de síntese divulgadas nas Patentes U.S. n.ºs 6.002.008 e 6.780.996.

QUADRO 1

Mutações	ADN	Proteína	respostas citogenéticas por indivíduos avaliadas	respostas de heme por indivíduos avaliadas	qualquer resposta por total de indivíduos avaliada	melhor resposta citogenética	melhor resposta de heme
1052T>C (M351T)	timidina (T) a citosina (C)	metionina a treonina	3 de 5	3 de 4	4 de 5	2-Ccyr, 1Pcyr	2-Resposta de heme completa 1-Fase acelerada a crônica
1075T>G (F359V)	timidina (T) a guanina (G)	fenilalanina a valina	1 de 1	1 de 2	1 de 2	1-Ccyr	1-Resposta de heme completa
1075T>K (F359[V,F])	timidina a timidina ou guanina	fenilalanina a fenilalanina e valina	1 de 2	2 de 3	2 de 3	1-Micyr	1-Resposta de heme completa 1-Fase de crise de blastos a crônica
1187A>M (H396(H,P)	adenina (A) a A ou C	histidina a histidina e fenilalanina	1 de 1	1 de 1	1 de 1	1-Ccyr	1-Resposta de heme completa
1295T>Y (1432[T,I])	T a T ou C	isoleucina a isoleucina e treonina	0 de 1	1 de 1	1 de 1	Sem Resposta	1-Resposta de heme completa

Mutações	ADN	Proteína	respostas citogenéticas por indivíduos avaliadas	respostas de heme por indivíduos avaliadas	qualquer resposta por total de indivíduos avaliada	melhor resposta citogenética	melhor resposta de heme
1457T>C (F486S)	T a C	fe a serina	1 de 2	1 de 2	1 de 2	1-Ccyr	1-Fase de crise de blastos a crónica
730A>G MUTATION (M244V)	A a G	met a valina	1 de 1	Não Avaliável	1 de 1	1-Ccyr	Não Avaliável
730A>R (M244[M,V])	A a A ou G	met a met e valina	Não Avaliável	1 de 1	1 de 1	Não Avaliável	Fase acelerada a Fase crónica
742C>S (L248[L,V])	C a C ou G	leucina a leu e valina	0 de 1	1 de 1	1 de 1	Sem Resposta	1-Resposta de heme completa
749G>R (G250[E,G])	G a A ou G	glicina a glutamato e glicina	Não Avaliável	1 de 1	1 de 1	Não Avaliável	1-Resposta de heme completa
757T>C (Y253[H,Y])	T a C	tirosina a tirosina e histidina	1 de 1	1 de 1	1 de 1	1-Pcyr	1-Resposta de heme completa
758A>T (Y253F)	A a T	tirosina a fenilalanina	0 de 1	1 de 1	1 de 1	Sem Resposta	1-Resposta de heme completa
763G>R (E255[K,E])	G a A ou G	glutamato a glutamato e lisina	1 de 1	1 de 1	1 de 1	1-Pcyr,	1-Fase de crise de blastos a crónica

Mutações	ADN	Proteína	respostas citogenéticas por indivíduos avaliadas	respostas de heme por indivíduos avaliadas	qualquer resposta por total de indivíduos avaliada	melhor resposta citogenética	melhor resposta de heme
787A>R (K263[K, E])	A a A ou G	Lisina a lisina e glutamato	Não Avaliável	1 de 1	1 de 1	Não Avaliável	1-Resposta de heme completa
817T>A (L273M)	T a A	leucina a metionina	1 de 1	1 de 1	1 de 1	1-Ccyr	1-Resposta de heme completa
944C>T (T315I)	C a T	treonina a isoleucina		1 de 1	1 de 6		1-Resposta de heme completa
944C>Y (T315[T, I])	C a C ou T	treonina a treonina e isoleucina	1 de 1	0 de 1	1 de 1	1-Pcyr	Sem Resposta
949T>C (F317L)	T a C	fe a lisina	1 de 3	3 de 4	3 de 4	1-Micyr	3-Resposta de heme completa
992A>G(N331S)	A a G	asparaginas a serina	1 de 1	Não Avaliável	1 de 1	1-Ccyr	Não Avaliável

Ccyr = Resposta citogenética completa
Pcyr = Resposta citogenética parcial
MiCyr= Resposta citogenética mínima

EXEMPLO 2

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-1-piperazinil)propoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo mp 116 a 120 °C; MS (ES) m/z 530,2, 532,2 (M+1);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 3

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-7-[3-(4-etil-1-piperazinil)propoxi]-6-metoxi-3-quinoleínacarbonitrilo; mp 102 a 104 °C; MS (ES) m/z 544,3, 546,4 (M+1);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 4

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[2-(4-metil-1-piperazinil)etoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo mp 165 a 167 °C; MS (ES) m/z 516,0, 518,2 (M+1);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 5

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-7-[2-(4-etil-1-piperazinil)etoxi]-6-metoxi-3-quinoleínacarbonitrilo mp 101 a 105 °C; MS (ES) m/z 530,4, 532,4 (M+1);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 6

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[(1-metilpiperidin-4-il)metoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo mp 200 a 202 °C, MS 501,3 (M+H)+, Análise de C.sub.25H.sub.26Cl.sub.2N.sub.4O.sub.3-0.8H.sub.2O, Calculado: C, 58,21; H, 5,39; N, 10,86, Encontrado: C, 58,19; H, 5,23; N, 10,67;

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 7

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[2-(1-metilpiperidin-4-il)etoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo mp 190 a 191 °C, MS 515,19 (M+H)+, Análise de C.sub.26H.sub.28Cl.sub.2N.sub.4O.sub.3-1.0 H.sub.2O, Calculado: C, 58,53; H, 5,67; N, 10,50, Encontrado: C, 58,65; H, 5,57; N, 10,34;

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 8

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(1-metilpiperidin-4-il)propoxi]quinoleína-3-carbonitrilo mp 144 a 145 °C; Espectroscopia de massa 529,2 (ES+);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 9

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-7-[(1-etilpiperidin-4-il)metoxi]-6-metoxiquinoleína-3-carbonitrilo mp 192 a 195 °C; Espetroscopia de massa 515,2 (ES+);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 10

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-etoxi-7-[3-(4-metilpiperazin-1-il)propoxi]quinoleína-3-carbonitrilo mp 137 a 138 °C, MS 542,0 (M-H)-, Análise de C.sub.27H.sub.31Cl.sub.2N.sub.5O.sub.3--0.6 H.sub.20, Calculado: C, 58,40; H, 5,84; N, 12,61, Encontrado: C, 58,31; H, 5,71; N, 12,43;

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 11

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-etoxi-7-[(1-metilpiperidin-4-il)metoxi]quinoleína-3-carbonitrilo mp 182 a 186 °C, MS 513,0 (M-H)-, Análise de C.sub.26H.sub.28Cl.sub.2N.sub.4O.sub.3--1.4H.sub.20, Calculado: C, 57,76; H, 5,74; N, 10,36, Encontrado: C, 57,65; H, 5,43; N, 10,15;

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 12

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-etoxi-7-[3-(4-etilpiperazin-1-il)propoxi]quinoleína-3-carbonitrilo mp 127 a 130 °C, MS 558,3 (M+H)+, Análise de C.sub.28H33Cl.sub.2N.sub.5O.sub.3--1.5 H.sub.20, Calculado: C, 57,44; H, 6,20; N, 11,96, Encontrado: C, 57,44; H, 6,24; N, 11,79;

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 13

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-etoxi-7-[3-(1-metilpiperidin-4-il)propoxi]quinoleína-3-carbonitrilo mp 148 a 151 °C, MS 543,2 (M+H)+, Análise de C.sub.28H.sub.32Cl.sub.2N.sub.4O.sub.3--1.8 H.sub.20, Calculado: C, 58,39; H, 6,23; N, 9,73, Encontrado: C, 58,40; H, 6,16; N, 9,64;

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 14

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-etoxi-7-[2-(4-metil-1-piperazinil)etoxi]quinoleína-3-carbonitrilo mp 141

a 143 °C, MS 530,2 (M+H)+, Análise de C.sub.26H.sub.29Cl.sub.2N.sub.50.sub.3, Calculado: C, 58,87; H,

5,51; N, 13,20, Encontrado: C, 58,48; H, 5,45; N, 12,95;

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 15

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-etoxi-7-[2-(1-metilpiperidin-4-il)etoxi]quinoleína-3-carbonitrilo mp 174 a 176 °C, MS 529,1 (M+H)+, Análise de C.sub.27H.sub.30Cl.sub.2N.sub.40.sub.3, Calculado: C, 61,25; H,

5,71; N, 10,58, Encontrado: C, 61,40; H, 5,84; N, 10,35;

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 16

4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-propil-1-piperazinil)propoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo 1 °C; MS (ES) m/z 558,2, 560,2 (M+1);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 17

4-[(2,4-diclorofenil)amino]-6-metoxi-7-[(1-metilpiperidin-4-il)metoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo mp 224 a 225 °C, MS 469,0 (ES-);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 18

6-metoxi-7-[(1-metilpiperidin-4-il)metoxi]-4-[(3,4,5-trimetoxifenil)amino]quinoleína-3-carbonitrilo mp>245 °C; HRMS (M+H)+ calculado 493,24455, encontrado 493,24311;

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 19

4-[(2-cloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[(1-metilpiperidin-4-il)metoxi]quinoleína-3-carbonitrilo mp 106 a 108 °C, MS 467,2 (ES+);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 20

6-metoxi-4-[(5-metoxi-2-metilfenil)amino]-7-[(1-metilpiperidin-4-il)metoxi]quinoleína-3-carbonitrilo mp>250 °C, MS 445,2 (ES-);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 21

4-[(2,4-dimetilfenil)amino]-6-metoxi-7-[(1-metilpiperidin-4-il)metoxi]-3-quinoleína-3-carbonitrilo mp 190 a 191 °C, MS 429,2 (ES-);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 22

6-metoxi-4-[(5-metoxi-2,4-dimetilfenil)amino]-7-[(1-metilpiperidin-4-il)metoxi]quinoleína-3-carbonitrilo mp 160 a 162 °C, MS 461,3 (ES+);

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 23

4-[(2,4-dicloro-5-etoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[(1-metilpiperidin-4-il)metoxi]quinoleína-3-carbonitrilo.

EXEMPLO 24

Um grupo de pacientes humanos que sofre de leucemia BcrAbl positiva e que é resistente ao tratamento com imatinib foi tratado com SKI-606 durante períodos de tempo que variam entre uma semana e mais de um ano.

A Figura 1 ilustra a resposta hematológica e citogenética por parte dos pacientes em número (N) e %, e diferenciada entre leucemia crónica e avançada.

A Figura 2 ilustra a relação mediana de expressão de genes *bcrabl* para *abl* em pacientes resistentes a imatinib em fase crónica tratados com SKI-606.

EXEMPLO 25

O Quadro 2 representa os dados resultantes recolhidos relativamente a respostas adicionais às mutações descritas acima no Quadro 1, bem como respostas e não respostas às mutações *bcrabl* adicionais.

Quadro 2

Mutações	respostas citogenéticas por indivíduos avaliadas	respostas de heme por indivíduos avaliadas	respostas citogenéticas por indivíduos avaliadas de acordo com o Quadro 1	respostas de heme por indivíduos avaliadas de acordo com o Quadro 1
<i>M351 T</i>	4 de 6	5 de 5	3 de 5	3 de 4
<i>F359 V</i>	3 de 4	5 de 5	2 de 3	3 de 5
<i>H396P</i>	1 de 1	1 de 1	1 de 1	1 de 1
<i>I432T</i>	0 de 1	1 de 1	0 de 1	1 de 1
<i>F486S</i>	1 de 2	1 de 2	1 de 2	1 de 2
<i>M244V</i>	4 de 4	4 de 4	1 de 1	1 de 1
<i>L248V</i>	1 de 3	2 de 2	0 de 1	1 de 1

Mutações	respostas citogenéticas por indivíduos avaliadas	respostas de heme por indivíduos avaliadas	respostas citogenéticas por indivíduos avaliadas de acordo com o Quadro 1	respostas de heme por indivíduos avaliadas de acordo com o Quadro 1
G250E	0 de 1	2 de 2	Não Avaliável	1 de 1
Y253{H,F}	3 de 3	3 de 3	1 de 2	2 de 2
E255K	2 de 2	2 de 3	1 de 1	1 de 1
K263E	1 de 1	1 de 1	Não Avaliável	1 de 1
T315I	3 de 3	5 de 9	1 de 1	1 de 2
F317L	1 de 6	7 de 8	1 de 3	3 de 4
N331S	1 de 1	Não Avaliável	1 de 1	Não Avaliável
L384P	0 de 1	0 de 1		
V299L	0 de 1	0 de 1		
E453K	1 de 1	1 de 1		
F359I	1 de 1	1 de 1		
E355G	0 de 1	1 de 1		
G321R	0 de 1	1 de 1		
H396R	0 de 2	1 de 1		
F311L	Não Avaliável	Não Avaliável		
E255V	Não Avaliável	1 de 2		
L273M	1 de 1	1 de 1	1 de 1	1 de 1
T277A	1 de 1	1 de 1		
E286G	1 de 1	1 de 1		
L387V	0 de 1	1 de 1		
Q252H	Não Avaliável	Não Avaliável		
Y230H	0 de 1	1 de 1		

REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

A lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. Não constitui uma parte integrante do documento de patente europeu. Embora a compilação das referências tenha sido feita com grande cuidado, não são de excluir erros ou omissões e o IEP não aceita qualquer responsabilidade a esse respeito.

Documentos de patentes citados na descrição

- US 6297258 B [0008]
- US 20050101780 A [0008] [0009]
- US 6002008 A [0039] [0045] [0049]
- US 6780996 B [0039]
- US 6780996 A [0045] [0049]

Literatura não relacionada com patentes referida na descrição

- **HOCHHAUS et al.** *Leukemia*, 2004 [0004]
- *Cancer Cell*, August 2002, vol. 2 (2), 117-125 [0004]
- **GORE.** *Science*, 2001, vol. 293 (5531), 876-880 [0004]
- **LECOUTRE.** *Blood*, 2000, vol. 95 (5), 1758-66 [0004]
- **KANTARIJIAN et al.** have demonstrated that nilotinob is not effective against CML when patients have the amino acid mutation in BcrAbl T315I. *N Engl J Med.*, 15 June 2006, vol. 354 (24), 2594-6 [0005]
- **TALPAZ et al.** have shown that Dasatinib in Imatinib-Resistant Philadelphia Chromosome-Positive Leukemias. *New England J Med.*, 2006, vol. 354, 2531-2541 [0006]
- ATP phosphate-binding loop (P-loop) are associated with a poor prognosis. *Blood*, 01 July 2003, vol. 102 (1), 276-283 [0007]
- **SOVERINI et al.** demonstrated the resistance to dasatinib of patients with F317V. *J Clin Oncol.*, 20 November 2006, vol. 24 (33), 51-2 [0010]
- **PUTTINI et al.** have shown that SKI-606, a novel Src-Abl

inhibitor is effective at reducing replication of imatinib resistant CML cell lines having certain mutations associated with imatinib resistance. *Cancer Res.*, 01 December 2006, vol. 66 (23 [0011]

- **BOSCHELLI, D. H.** *J. Med. Chem.*, 2001, vol. 44, 3965 [0041]
- **BOSCHELLI, D. H. et al.** *J Med. Chem.*, 2001, vol. 44, 822 [0041]
- **BOSCHELLI, D. H. et al.** *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003, vol. 13, 3797 [0041]
- **BOSCHELLI, D. H.** *J. Med. Chem.*, 2004, vol. 47, 1599 [0041]
- **YE, F.** *221th National Meeting of the American Chemical Society, San Diego, Calif.*, April 2001 [0041]

REIVINDICAÇÕES

1. O composto 4-[(2,4-Dicloro-5-metoxi-fenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-1-piperazinil)propoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo, ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, para a utilização no tratamento de uma leucemia BcrAbl positiva, em que a leucemia é resistente ao tratamento com imatinib, e em que a leucemia tem uma mutação de ácidos nucleicos associada à resistência no gene bcrabl que corresponde a 949T>C.
2. O composto de acordo com a reivindicação 1, em que a leucemia tem uma mutação de aminoácidos associada à resistência na proteína bcrabl que corresponde a F317L.
3. O composto para a utilização de acordo com a reivindicação 1 ou a reivindicação 2, em que a leucemia é Leucemia Mielógena Crônica.
4. O composto para a utilização de acordo com a reivindicação 1 ou a reivindicação 2, em que a leucemia é Leucemia Linfocítica Aguda.
5. O composto para a utilização de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, em que o composto é administrado num indivíduo em conjunto com um ou mais outros compostos utilizados para tratar uma leucemia BcrAbl positiva.
6. O composto para a utilização de acordo com a reivindicação 5, em que o um ou mais compostos incluem STI-571.

7. A utilização do composto 4-[(2,4-Dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metil-1-piperazinil)propoxi]-3-quinoleínacarbonitrilo, ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, para o fabrico de um medicamento para o tratamento de uma leucemia BcrAbl positiva, em que a leucemia é resistente ao tratamento com imatinib, e em que a leucemia tem uma mutação de ácidos nucleicos associada à resistência no gene bcrabl que corresponde a 949T>C.

8. A utilização de acordo com a reivindicação 7, em que a leucemia tem uma mutação de ácidos nucleicos associada à resistência na proteína bcrabl que corresponde a F317L.

9. A utilização de acordo com a reivindicação 7 ou a reivindicação 8, em que a leucemia é Leucemia Mielógena Crónica.

10. A utilização de acordo com a reivindicação 7 ou a reivindicação 8, em que a leucemia é Leucemia Linfocítica Aguda.

11. A utilização de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 a 10, em que o composto é administrado num indivíduo em conjunto com um ou mais outros compostos utilizados para tratar uma leucemia BcrAbl positiva.

12. A utilização da combinação de acordo com a reivindicação 11, em que o um ou mais compostos incluem STI-571.

Resposta à Terapia: Pacientes sem Exposição Anterior ao Fármaco*

Resposta	LMC Crônica		Avançada	
	N (%)		N (%)	
Resposta hematológica				
Avaliável	36	9		
CHR	33 (92)	7 (78)		
CHR + NEI + MR	33 (92)	8 (89)		

Resposta citogenética	
Avaliável	31
Completa	10 (32)
Parcial	3 (10)
Principal	13 (42)

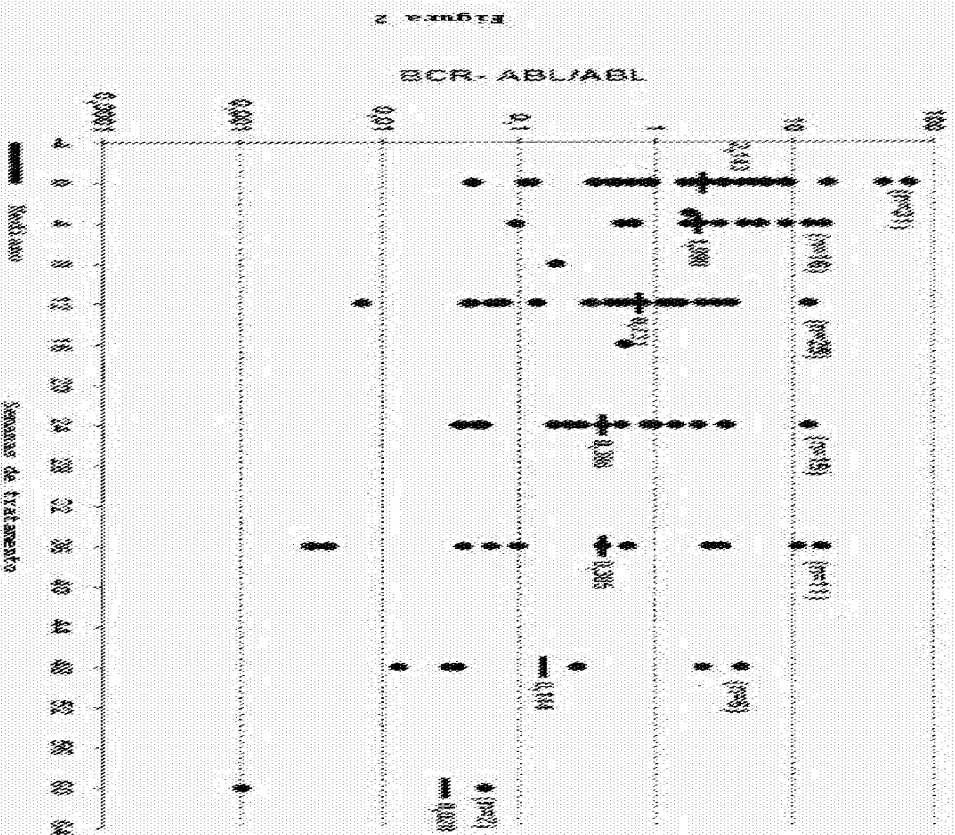
	5
	1 (17)
	2 (40)
	3 (60)

*Os pacientes não tiveram nenhuma exposição anterior a inibidores quíase para além de imatinib.

†Os pacientes avaliáveis relativamente à resposta citogenética principal ou completa (ou seja, resposta citogenética de base de referência de resposta parcial ou pior e < 1 avaliação pós-base de referência de resposta citogenética).

Pacientes Resistentes a Imatinib em Fase Crónica

Resposta Molecular



Nota: apenas os pacientes com uma perda de resposta clínica/serológica principal no teste(s) estão incluídos no gráfico