

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2008.05.02**

(30) Prioridade(s): **2007.06.01 DE**  
**102007025717**

(43) Data de publicação do pedido: **2010.02.17**

(45) Data e BPI da concessão: **2011.07.06**  
**194/2011**

(73) Titular(es):

**MERCK PATENT GMBH**  
**FRANKFURTER STRASSE 250, 64293**  
**DARMSTADT ALEMANHA**

**DE**

(72) Inventor(es):

**DIETER DORSCH**  
**OLIVER SCHADT**  
**FRANK STIEBER**  
**ANDREE BLAUKAT**

**DE**

**DE**

**DE**

**DE**

(74) Mandatário:

**MARIA SILVINA VIEIRA PEREIRA FERREIRA**  
**RUA CASTILHO, N.º 50, 5º - ANDAR 1269-163 LISBOA**

**PT**

(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE ARIL-ÉTER-PIRIDAZINONA**

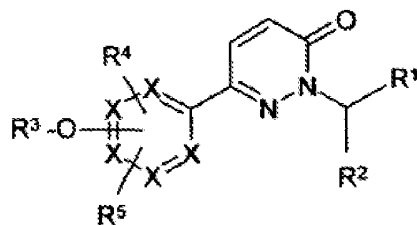
(57) Resumo:

COMPOSTOS DE FÓRMULA (I), EM QUE R1, R2, R3, R4, R5 E X TÊM OS SIGNIFICADOS ATRIBUÍDOS NA REIVINDICAÇÃO 1, SÃO INIBIDORES DE TIROSINA CINASE, EM PARTICULAR DA CINASE MET E, ENTRE OUTRAS COISAS, PODEM SER UTILIZADOS PARA O TRATAMENTO DE TUMORES.

## RESUMO

### "DERIVADOS DE ARIL-ÉTER-PIRIDAZINONA"

Compostos de fórmula (I), em que  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  e X têm os significados atribuídos na reivindicação 1, são inibidores de tirosina cinase, em particular da cinase Met e, entre outras coisas, podem ser utilizados para o tratamento de tumores.



(I)

## **DESCRIÇÃO**

### **"DERIVADOS DE ARIL-ÉTER-PIRIDAZINONA"**

#### **ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

A invenção teve o objectivo de encontrar novos compostos com propriedades úteis, em especial compostos que podem ser utilizados para o fabrico de medicamentos.

A presente invenção refere-se a compostos e à utilização de compostos, nos quais a inibição, regulação e/ou modulação da transdução de sinal que cinases, em especial de tirosina cinases e/ou serina/treonina cinases desempenha um papel; além disso composições farmacêuticas, as quais contêm estes compostos, assim como a utilização dos compostos para o tratamento doenças relacionadas com cinases.

A presente invenção refere-se especialmente a compostos e a utilização de compostos, nos quais a inibição, regulação e/ou modulação da transdução de sinal da cinase Met desempenha um papel.

Um dos principais mecanismos, através do qual a regulação celular actua é através da transdução de sinais extracelulares através da membrana, que por sua vez modulam vias de sinalização bioquímicas na célula. A fosforilação de proteínas representa uma forma pela qual os sinais intracelulares se propagam de molécula em molécula, o que por fim resulta numa resposta por parte da célula. Estas cascatas de transdução de sinal são altamente reguladas e sobrepõem-se frequentemente, como demonstra a existência de muitas proteínas cinases assim como fosfatases. A fosforilação de proteínas ocorre predominantemente em resíduos serina, treonina ou tirosina, e as proteínas

cinases foram classificadas de acordo com a sua especificidade relativamente ao local de fosforilação, ou seja, serina/treonina cinases e tirosina cinases. Uma vez que a fosforilação é um processo tão comum em células, e os fenótipos das células são influenciados em grande parte pela actividade destas vias de sinalização, acredita-se actualmente que uma variedade de estados de doença e/ou doenças é devida a activação anormal ou mutações funcionais nos componentes moleculares de cascatas de cinases. Por conseguinte, foi dada considerável atenção à caracterização destas proteínas e compostos, os quais são apropriados para a modulação da sua actividade (artigo de revisão, ver: Weinstein-Oppenheim et al. *Pharma. & Therap.*, 2000, 88, 229-279).

A função do receptor da tirosina cinase Met na oncogénese humana, assim como a possibilidade da activação de Met dependente da inibição de HGF (factor de crescimento de hepatócitos) foi descrita por S. Berthou et al. em *Oncogene*, Vol. 23, N°. 31, páginas 5387-5393 (2004). O inibidor SU11274 aqui descrito, um composto pirrol-indolina é potencialmente adequado para o tratamento de cancro.

Um outro inibidor de cinase Met para terapia de cancro é descrito por J. G. Christensen et al. em *Cancer Res.* 2003, 63(21), 7345-55. H. Hov et al. em *Clinical Cancer Research* Vol. 10, 6686-6694 (2004) descreve um outro inibidor de tirosina cinase para o tratamento de cancro. O composto PHA-665752, um derivado de indol, é dirigido contra o receptor de HGF c-Met. Aqui é ainda descrito que HGF e Met contribuem substancialmente para o processo maligno de diferentes formas de cancro, como por exemplo mieloma múltiplo.

A síntese de pequenos compostos os quais inibem, regulam e/ou modulam especificamente a transdução de sinal das tirosina cinases e/ou serina/treonina cinases, em especial da cinase Met, é portanto desejável e um objectivo da presente invenção.

Foi descoberto que os compostos de acordo com a invenção e os seus sais são bem tolerados e possuem propriedades farmacológicas úteis.

Por um lado, a presente invenção refere-se a compostos de fórmula I, os quais inibem, regulam e/ou modulam a transdução de sinal da cinase Met, composições que contêm estes compostos, assim como processos para a sua utilização no tratamento de doenças e padecimentos relacionados com a cinase Met, como angiogénese, cancro, formação, crescimento e expansão de tumores, arteriosclerose, doenças dos olhos, como por exemplo, degeneração da mácula relacionada com a idade, neovascularização coroidal e retinopatia diabética, doenças inflamatórias, artrite, trombose, fibrose, glomerulonefrite, neurodegeneração, psoríase, reestenose, cicatrização de feridas, rejeição de transplantes, doenças metabólicas e do sistema imune, também doenças auto-imunes, cirrose, diabetes e doenças dos vasos sanguíneos, aqui também instabilidade e permeabilidade, e afins, em mamíferos.

Tumores sólidos, em especial tumores com crescimento rápido, podem ser tratados com inibidores de cinase Met. Incluídos nestes tumores sólidos estão leucemias monocíticas, carcinoma cerebral, urogenital, do sistema linfático, gástrico, da laringe e do pulmão; neste último estão incluídos adenocarcinoma do pulmão e carcinoma de células pequenas do pulmão.

A presente invenção dirige-se a processos para a regulação, modulação ou inibição da cinase Met, para a prevenção ou tratamento de doenças relacionadas com actividade desregulada ou alterada da cinase Met. Em especial, os compostos de fórmula I também podem ser utilizados para o tratamento de certas formas de cancro. Adicionalmente, os compostos de fórmula I podem ser utilizados para fornecer efeitos aditivos ou sinérgicos a determinadas quimioterapias oncológicas conhecidas, e/ou podem ser utilizados para restaurar a eficácia de certas quimioterapias e radioterapias existentes para o tratamento de cancro.

Adicionalmente, os compostos de fórmula I podem ser utilizados para o isolamento e para o estudo da actividade ou expressão da cinase Met. Para além disso, também são apropriados especialmente para a utilização em processos de diagnóstico de doenças relacionadas com actividade desregulada ou alterada da cinase Met.

Pode ser demonstrado que os compostos de acordo com a invenção apresentam um efeito anti-proliferativo *in vivo* num modelo tumoral de xenotransplantação. Os compostos de acordo com a invenção são administrados a um doente com uma doença hiperproliferativa, por exemplo, para a inibição do crescimento de tumores, para a redução da inflamação que acompanha uma doença linfoproliferativa, para a inibição da rejeição de transplantes ou alterações neurológicas devidas a reparação de tecidos, etc. Os presentes compostos são úteis para fins profiláticos ou terapêuticos. Tal como aqui utilizado, a expressão "tratamento" será utilizada como referência tanto à prevenção da doença, quanto ao tratamento de condições pré-existentes. A prevenção da

proliferação é atingida através da administração dos compostos de acordo com a invenção antes da doença se desenvolver significativamente, por exemplo, prevenção do crescimento tumoral, prevenção do crescimento de metástases, a redução de reestenose relacionada com cirurgia cardiovascular, etc. Como alternativa, os compostos são utilizados como tratamento para doenças crónicas, através da estabilização ou melhoramento dos sintomas clínicos dos doentes.

O hospedeiro ou doente pode pertencer a qualquer espécie de mamíferos, por exemplo, uma espécie de primatas, em especial o homem; roedores, incluindo ratos, ratazanas e hamsters; coelhos; cavalos; gado; cães; gatos; etc. Modelos animais são interessantes para ensaios experimentais, uma vez que estão disponíveis como modelo para o tratamento de doenças em humanos.

A susceptibilidade de uma determinada célula ao tratamento com os compostos de acordo com a invenção pode ser determinada através de testes in vitro. Tipicamente, uma cultura das células é combinada com um composto de acordo com a invenção em diferentes concentrações durante um período de tempo, o qual é suficiente para permitir que os agentes activos induzam morte celular ou inibam migração, habitualmente entre cerca de uma hora e uma semana. Para o teste in vitro podem ser utilizadas células cultivadas a partir de uma amostra de biopsia. As células viáveis que restam após o tratamento são então contadas.

A dose varia dependendo do composto específico utilizado, da doença específica, do estado do doente, etc. Tipicamente, uma dose terapêutica é suficiente para reduzir a população de células indesejadas no tecido alvo, enquanto

é mantida a vitalidade do doente. O tratamento continua, em geral, até se atingir uma redução significativa, por exemplo, pelo menos uma redução de cerca de 50% na quantidade de células, e pode continuar até que não se consiga encontrar mais células indesejáveis no corpo.

Para a identificação de uma via de transdução de sinal e para a detecção de interacções entre diferentes vias de transdução de sinal, foram desenvolvidos, por diferentes investigadores, modelos ou sistemas de modelos adequados, por exemplo, modelos de cultura de células (por exemplo, Khwaja et al., EMBO, 1997, 16, 2783-93) e modelos de animais transgénicos (por exemplo, White et al., Oncogene, 2001, 20, 7064-7072). Para o estudo de passos específicos da cascada de transdução de sinal, podem ser utilizados compostos que interagem com os componentes desta, para modular o sinal (por exemplo, Stephens et al., Biochemical J., 2000, 351, 95-105). Os compostos de acordo com a invenção também podem ser utilizados como reagentes para testar vias de transdução de sinal dependentes de cinases em modelos animais e/ou de cultura celular, ou nas condições clínicas conhecidas referidas no presente pedido de patente.

A medição da actividade de cinases é uma técnica bem conhecida do perito na especialidade. Sistemas de teste genéricos para a determinação da actividade de cinases com substratos, por exemplo, histona (por exemplo, Alessi et al., FEBS Lett. 1996, 399, 3, páginas 333-338), ou com a proteína mielina básica, estão descritos na literatura (por exemplo, Campos-González, R. e Glenney, Jr., J. R. 1992, J. Biol. Chem. 276, página 14535).



Encontram-se disponíveis diferentes sistemas de ensaio para a identificação de inibidores de cinase. No ensaio Scintillation-Proximity (Sorg et al., J. of Biomolecular Screening, 2002, 7, 11-19) e no ensaio FlashPlate, é medida a fosforilação radioactiva de uma proteína ou péptido como substrato, com  $\gamma$ ATP. Na presença de um composto inibidor não é detectado qualquer sinal radioactivo, ou é detectado um sinal reduzido. Adicionalmente, também podem ser utilizadas como processos de ensaio as tecnologias Homogeneous Time-resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer (HTR-FRET) e polarização de fluorescência (FP) (Sills et al., J. of Biomolecular Screening, 2002, 191-214).

Outros processos de ensaio ELISA não radioactivos utilizam anticorpos específicos para proteínas fosforiladas (Phospho-AK). O anticorpo fosfo liga-se apenas a substratos fosforilados. Esta ligação é então detectada com um segundo anticorpo anti-ovelha conjugado com peroxidase, através de quimioluminescência (Ross et al., 2002, Biochem. J.).

Existem muitas doenças associadas com uma falha na regulação da proliferação celular e da morte celular (apoptose). As condições de interesse incluem as seguintes doenças, não estando porém limitadas às mesmas. Os compostos de acordo com a invenção são úteis para o tratamento de uma série de condições diferentes, nas quais ocorre a proliferação e/ou a migração de células de músculo liso e/ou células inflamatórias na camada íntima dos vasos sanguíneos, resultando numa circulação sanguínea deficiente nestes vasos, por exemplo, em lesões oclusivas da neoíntima. Exemplos de doenças vasculares oclusivas resultantes de interesse, relacionadas com enxertos, são aterosclerose, doenças vascular coronária após

transplantação, estenose de enxerto venoso, reestenose peri-anastomótica após prótese, reestenose após angioplastia ou após a colocação de um stent.

### ESTADO DA TÉCNICA

São descritas na WO 03/037349 A1 dihidropiridazinonas para o combate ao cancro.

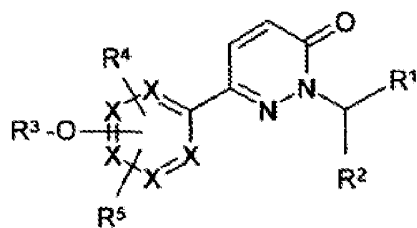
Outras piridazinonas para o tratamento de doenças do sistema imune, doenças isquémicas e inflamatórias são conhecidas a partir das EP 1 043 317 A1 e EP 1 061 077 A1.

Na EP 0 738 716 A2 e EP 0 711 759 B1 são descritas outras dihidropiridazinonas e piridazinonas que actuam como fungicidas e insecticidas. Outras piridazinonas são descritas como agentes cardiotónicos na US 4,397,854.

Na JP 57-95964 são divulgadas outras piridazinonas.

### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A invenção refere-se a compostos de fórmula I



I

em que significam

R¹ Ar¹ ou Het¹,

R² H ou A,

R³ Alk-Y ou Het³,

A alquilo linear ou ramificado com 1-8 átomos C,  
em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F  
e/ou Cl,

Alk alquilenos linear ou ramificado com 1-8 átomos C,

	em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F, Cl e/ou Br,
Ar <sup>1</sup>	fenil substituído simplesmente por NR <sup>2</sup> COOA ou OCON(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> ,
Het <sup>1</sup>	um heterociclo saturado ou aromático com um ou dois anéis, com 1 a 3 átomos N e/ou átomos O, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A, NH <sub>2</sub> , OR <sup>2</sup> e/ou =O (carbonilo),
Het <sup>3</sup>	um heterociclo saturado com um ou dois anéis, com 1 a 3 átomos N e/ou átomos O, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A e/ou =O (carbonilo),
Het <sup>2</sup>	um heterociclo saturado com um anel, com 1 a 2 átomos N e/ou átomos O, o qual pode ser ou uma ou duas vezes substituído por A e/ou =O (carbonilo),
R <sup>4</sup> , R <sup>5</sup>	independentemente um do outro H ou Hal,
X	CH,
Y	Het <sup>2</sup> , N(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> , NR <sup>2</sup> [C(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> ] <sub>n</sub> N(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> ou C(=O)N(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> , em que um grupo NH pode ser substituído por N-COOA ou N-COA
n	1, 2, 3 ou 4

assim como os seus solvatos, sais, tautómeros e estereoisómeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções.

Objectos da invenção são também as formas opticamente activas (estereoisómeros), os enantiómeros, os racematos, os diastereoisómeros, assim como os hidratos e solvatos destes compostos. Como solvatos dos compostos entende-se depósitos de moléculas de solventes inertes nos compostos, os quais se formam devido à sua atracção mútua. Solvatos são, por exemplo, mono ou dihidratos ou alcóxidos.

Como derivados farmaceuticamente utilizáveis entende-se por exemplo, os sais dos compostos de acordo com a invenção, assim como os denominados compostos pró-fármaco.

Como derivados pró-fármaco entende-se compostos de fórmula I modificados com, por exemplo, grupos alquilo ou acilo, açúcares ou oligopeptídeos, os quais são rapidamente clivados no organismo na forma dos compostos de acordo com a invenção.

Aqui também estão incluídos derivados de polímeros biodegradáveis dos compostos de acordo com a invenção, tal como descrito, por exemplo, em Int. J. Pharm. 115, 61-67 (1995).

A expressão "quantidade eficaz" significa a quantidade de um medicamento ou um agente activo farmacêutico, o qual causa uma resposta clínica num tecido, sistema, animal ou homem, e o qual é pesquisado por um investigador ou médico.

Além disso, a expressão "quantidade terapeuticamente eficaz" significa uma quantidade, a qual, em comparação com um outro indivíduo que não tenha recebido esta quantidade, tem as seguintes consequências:

um melhor tratamento, cura, prevenção ou eliminação de uma doença, de uma síndrome, de um estado de doença, de um padecimento, uma perturbação ou de efeitos secundários, ou também a redução do avanço de uma doença, um padecimento ou uma perturbação.

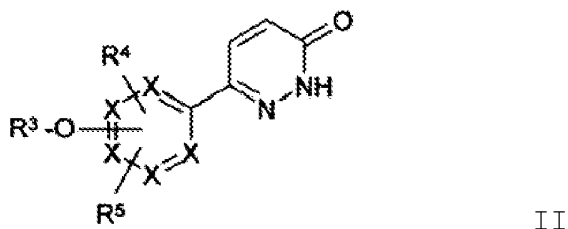
A expressão "quantidade terapeuticamente eficaz" inclui também as quantidades que são eficazes para aumentar a função fisiológica normal.

Objecto da invenção é também a utilização de misturas dos compostos de fórmula I, por exemplo, misturas de dois diastereoisómeros, por exemplo nas proporções 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 1:100 ou 1:1000.

De forma especialmente preferida, trata-se aqui de misturas de compostos estereoisómeros.

Objectos da invenção são os compostos de fórmula I e os seus sais, assim como um processo para o fabrico de compostos de fórmula I, de acordo com as reivindicações 1-11, assim como os seus sais, solvatos, tautómeros e estereoisómeros utilizáveis farmaceuticamente, em que se reage

a) um composto de fórmula II



em que  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  e X têm os significados atribuídos na reivindicação 1

com um composto de fórmula III



em que  $R^1$  e  $R^2$  têm os significados atribuídos na reivindicação 1 e

L significa Cl, Br, I ou um grupo OH livre ou reactivo funcionalmente modificado,

ou

b) um radical  $R^1$  e/ou  $R^2$  é modificado num outro  $R^1$  e/ou  $R^2$ , no qual se transforma um grupo amino ou hidroxil em acilo, alquilo ou éter,

ou

c) em que se liberta de um dos seus derivados funcionais através de tratamento com um agente que pode sofrer solvólise ou hidrogenólise,

e/ou

uma base ou ácido de fórmula I é modificado num dos seus sais.

Neste documento os radicais  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  e X têm o significado atribuído na fórmula I, a menos que claramente indicado em contrário.

A expressão "carbamoilo" significa "aminocarbonilo" e vice-versa.

A significa alquilo, é não ramificado (linear) ou ramificado e tem 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 átomos C. A significa preferencialmente metilo; além disso, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec.-butilo ou tert.-butilo; ainda também pentilo, 1-, 2- ou 3-metilbutilo, 1,1-, 1,2- ou 2,2-dimetilpropilo, 1-etilpropilo, hexilo, 1-, 2-, 3- ou 4-metilpentilo, 1,1-, 1,2-, 1,3-, 2,2-, 2,3- ou 3,3-dimetilbutilo, 1- ou 2-etilbutilo, 1-etil-1-metilpropilo, 1-etil-2-metilpropilo, 1,1,2- ou 1,2,2-trimetilpropilo, mais preferencialmente, por exemplo, trifluorometilo.

A significa muito especialmente alquilo com 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 átomos C, preferencialmente metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec.-butilo, tert.-butilo, pentilo, hexilo, trifluorometilo, pentafluoroetilo ou 1,1,1-trifluoroetilo.

Alquilo cíclico (cicloalquilo) significa preferencialmente ciclopropilo, ciclobutilo, cilopentilo, ciclohexilo ou cicloheptilo.

Alk significa preferencialmente alquileno linear ou ramificado com 1-6 átomos C, em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por OH, F, Cl e/ou Br, como por exemplo, metileno, etileno, propileno, butileno.

Ar<sup>1</sup> significa muito preferencialmente fenilo, o qual é substituído na posição 3 por NR<sup>2</sup>COOA ou OCON(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, preferindo-se especialmente NHCOOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.

Het<sup>1</sup> e Het<sup>3</sup> significam, cada um independentemente do outro, independentemente de outras substituições, por exemplo, 2- ou 3-furilo ou 3-tienilo, 1-, 2- ou 3-pirrolilo, 1-, 2-, 4- ou 5-imidazolilo, 1-, 3-, 4- ou 5-pirazolilo, 2-, 4- ou 5-oxazolilo, 3-, 4- ou 5-isoxazolilo, 2-, 4- ou 5-tiazolilo, 3-, 4- ou 5-isotiazolilo, 2-, 3- ou 4-piridilo, 2-, 4-, 5- ou 6-pirimidinilo, adicionalmente preferido 1,2,3-triazol-1-, -4- ou -5-ilo, 1,2,4-triazol-1-, -3- ou 5-ilo, 1- ou 5-tetrazolilo, 1,2,3-oxadiazol-4- ou -5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3- ou -5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2- ou -5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3- ou -5-ilo, 1,2,3-tiadiazol-4- ou -5-ilo, 3- ou 4-piridazinilo, pirazinilo, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- ou 7-indolilo, 4- ou 5-isoindolilo, indazolilo, 1-, 2-, 4- ou 5-benzimidazolilo, 1-, 3-, 4-, 5-, 6- ou 7-benzopirazolilo, 2-, 4-, 5-, 6- ou 7-benzoxazolilo, 3-, 4-, 5-, 6- ou 7-benzisoxazolilo, 2-, 4-, 5-, 6- ou 7-benzotiazololo, 2-, 4-, 5-, 6- ou 7-benzisotiazolilo, 4-, 5-, 6- ou 7-benz-2,1,3-oxadiazolilo, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- ou 8-quinolilo, 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- ou 8-isoquinolilo, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- ou 8-cinolinilo, 2-, 4-, 5-, 6-, 7- ou 8-quinazolinilo, 5- ou 6-quinoxalinilo, 2-,

3-, 5-, 6-, 7- ou 8-2H-benzo[1,4]oxazinilo, ainda preferido 1,3-benzodioxol-5-ilo, 1,4-benzodioxan-6-ilo, 2,1,3-benzotiadiazol-4- ou -5-ilo, 2,1,3-benzoxadiazol-5-ilo ou dibenzofuranilo.

Os radicais heterocíclicos também podem ser parcialmente ou totalmente hidratados.

Independentemente de outras substituições adicionais, Het<sup>1</sup> e Het<sup>3</sup> também podem significar, por exemplo, 2,3-dihidro-2-, -3-, -4- ou -5-furilo, 2,5-dihidro-2-, -3-, -4- ou 5-furilo, tetrahidro-2- ou -3-furilo, 1,3-dioxolan-4-ilo, tetrahidro-2- ou -3-tienilo, 2,3-dihidro-1-, -2-, -3-, -4- ou -5-pirrolilo, 2,5-dihidro-1-, -2-, -3-, 4- ou -5-pirrolilo, 1-, 2- ou 3-pirrolidinilo, tetrahidro-1-, -2- ou 4 -imidazolilo, 2,3-dihidro-1-, -2-, -3-, -4- ou -5-pirazolilo, tetrahidro-1-, -3- ou -4-pirazolilo, 1,4-dihidro-1-, -2-, -3- ou -4-piridilo, 1,2,3,4-tetrahidro-1-, -2-, -3-, -4-, -5- ou -6-piridilo, 1-, 2-, 3- ou 4-piperidinilo, 2-, 3- ou 4-morfolinilo, tetrahidro-2-, -3- ou -4-piranilo, 1,4-dioxanilo, 1,3-dioxan-2-, -4- ou -5-ilo, hexahidro-1-, -3- ou -4-piridazinilo, hexahidro-1-, -2-, 4 - ou -5-pirimidinilo, 1-, 2- ou 3-piperazinilo, 1,2,3,4-tetrahidro-1-, -2-, -3-, -4-, -5-, -6-, -7- ou -8-quinolilo, 1,2,3,4-tetrahidro-1-, -2-, -3-, -4-, -5-, -6-, -7- ou -8-isoquinolilo, 2-, 3-, 5-, 6-, 7- ou 8- 3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazinilo, ainda preferido 2,3-metilendioxifenilo, 3,4-metilendioxifenilo, 2,3-etilendioxifenilo, 3,4-etilendioxifenilo, 3,4-(difluormetilenodioxi)fenilo, 2,3-dihidrobenzofuran-5- ou 6-il, 2,3-(2-oxo-metilenodioxi)-fenilo ou também 3,4-dihidro-2H-1,5-benzodioxepin-6- ou -7-ilo, além disso preferido 2,3-dihidrobenzofuranilo, 2,3-dihidro-2-oxo-furanilo, 3,4-dihidro-2-oxo-1 H-5-quinazolinilo, 2,3-



dihidro-benzoxazolilo, 2-oxo-2,3-dihidro-benzoxazolilo, 2,3-dihidro-benzimidazolilo, 1,3-dihidroindol, 2-oxo-1,3-dihidro-indol ou 2-oxo-2,3-dihidro-benzimidazolilo.

Numa outra forma de realização, Het<sup>1</sup> significa preferencialmente um heterociclo com um ou dois anéis, insaturado ou aromático, com 1 a 3 átomos N e/ou O, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A, NH<sub>2</sub>, OR<sup>2</sup> e/ou =O (carbonilo).

Het<sup>1</sup> significa muito preferencialmente, 1,3-dihidro-benzimidazolilo, benzoxazolilo, indazolilo, benzimidazolilo, quinolinilo, dihidroindolilo ou indolilo não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A, NH<sub>2</sub>, OR<sup>2</sup> e/ou =O (carbonilo).

Het<sup>3</sup> significa preferencialmente um heterociclo com um ou dois anéis, saturado, com 1 a 3 átomos N e/ou O, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A e/ou =O (carbonilo).

Het<sup>3</sup> significa muito preferencialmente piperidinilo, pirrolidinilo, piperazinilo ou morfolinilo, os quais podem ser substituído uma ou duas vezes por A e/ou =O (carbonilo).

Het<sup>2</sup> significa preferencialmente um heterociclo com um anel, saturado, com 1 a 2 átomos N e/ou O, o qual pode ser substituído uma ou duas vezes por A e/ou =O (carbonilo).

Het<sup>2</sup> significa muito preferencialmente piperidinilo, pirrolidinilo, piperazinilo ou morfolinilo, o qual pode ser substituído uma ou duas vezes por A e/ou =O (carbonilo).

Y significa preferencialmente  $\text{Het}^2$ ,  $\text{N}(\text{R}^2)_2$ ,  $\text{NR}^2[\text{C}(\text{R}^2)_2]_n\text{N}(\text{R}^2)_2$  ou  $\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^2)_2$ , em que um grupo NH pode ser substituído por N-COOA ou N-COA.

$\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$  significam preferencialmente, cada um independentemente um do outro, H ou Hal.

$\text{R}^2$  significa preferencialmente H, metilo, etilo, propilo ou isopropilo.

Hal significa preferencialmente F, Cl, ou Br, mas também I, muito preferencialmente F ou Cl.

É válido para toda a invenção que todos os radicais, como por exemplo, X, A ou  $\text{R}^2$ , que ocorrem várias vezes, podem ser iguais ou diferentes, ou seja, são independentes uns dos outros.

Os compostos de fórmula I podem ter um ou mais centros quirais, e por isso existir em diferentes formas estequiométricas. A fórmula I inclui todas estas formas.

Assim, são objectos da invenção em especial aqueles compostos de fórmula I, nos quais pelo menos um dos radicais referidos tem um dos significados preferidos anteriormente mencionados. Alguns grupos preferidos de compostos podem ser representados através das seguintes fórmulas parciais Ia a In, as quais correspondem à fórmula I e em que os radicais não referidos mais detalhadamente têm o significado atribuído pela fórmula I, em que

em Ia A significa alquilo não ramificado ou ramificado com 1-8 átomos C,

- em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F e/ou Cl;
- em Ib Alk significa alquilenos não ramificados ou ramificados com 1-8 átomos C, em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F, Cl e/ou Br;
- em Ic Ar<sup>1</sup> significa fenilo simplesmente substituído por NR<sup>2</sup>COOA ou OCON(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>;
- em Id Het<sup>1</sup> significa um heterociclo com um ou dois anéis, insaturado ou aromático, com 1 a 3 átomos N e/ou O, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A, NH<sub>2</sub>, OR<sup>2</sup> e/ou =O (carbonilo);
- em Ie Het<sup>1</sup> significa 1,3-dihidro-benzimidazolilo, benzoxazolilo, indazolilo, benzimidazolilo, quinolinilo, dihidroindolilo ou indolilo não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A, NH<sub>2</sub>, OR<sup>2</sup> e/ou =O (carbonilo);
- em If Het<sup>3</sup> significa um heterociclo com um ou dois anéis, saturado, com 1 a 3 átomos N e/ou O, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A, e/ou =O (carbonilo);
- em Ig Het<sup>3</sup> significa piperidinilo, pirrolidinilo, piperazinilo ou morfolinilo, o qual pode ser substituído uma ou duas vezes por A, e/ou =O (carbonilo);
- em Ih Het<sup>2</sup> significa um heterociclo com um anel, saturado, com 1 a 2 átomos N e/ou O, o qual pode ser substituído uma ou duas vezes por A, e/ou =O (carbonilo);
- em Ii Het<sup>2</sup> significa piperidinilo, pirrolidinilo, piperazinilo ou morfolinilo, o qual pode ser substituído uma ou duas vezes por A, e/ou =O (carbonilo);

- em Ij  $R^4, R^5$  significam H ou Hal, cada um independentemente um do outro;
- em Ik X significa CH;
- em Il Y significa  $Het^2$ ,  $N(R^2)_2$ ,  $NR^2[C(R^2)_2]_nN(R^2)_2$  ou  $C(=O)N(R^2)_2$ , em que um grupo NH pode ser substituído por N-COOA ou N-COA.
- em Im  $R^1$  significa  $Ar^1$  ou  $Het^1$ ,  
 $R^2$  significa H ou A,  
 $R^3$  significa Alk-Y ou  $Het^3$ ,  
A significa alquilo não ramificado ou ramificado com 1-8 átomos C em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F e/ou Cl,  
Alk significa alquilenos não ramificados ou ramificados com 1-8 átomos C em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F, Cl e/ou Br,  
 $Ar^1$  significa fenilo simplesmente substituído por  $NR^2COOA$  ou  $OCN(R^2)_2$ ;  
 $Het^1$  significa um heterociclo com um ou dois anéis, insaturado ou aromático, com 1 a 3 átomos N e/ou O, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A,  $NH_2$ ,  $OR^2$  e/ou  $=O$  (carbonilo);  
 $Het^3$  significa um heterociclo com um ou dois anéis, saturado, com 1 a 3 átomos N e/ou O, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A, e/ou  $=O$  (carbonilo);  
 $Het^2$  significa um heterociclo com um anel, saturado, com 1 a 2 átomos N e/ou O, o qual pode ser substituído uma ou duas vezes por A, e/ou  $=O$  (carbonilo);  
 $R^4, R^5$  significam H ou Hal, cada um independentemente um do outro;

X	significa CH;
Y	significa Het <sup>2</sup> , N(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> , NR <sup>2</sup> [C(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> ] <sub>n</sub> N(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> ou C(=O)N(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> , em que um grupo NH pode ser substituído por N-COOA ou N-COA.
n	significa 1, 2, 3 ou 4;
em In R <sup>1</sup>	significa Ar <sup>1</sup> ou Het <sup>1</sup> ,
R <sup>2</sup>	significa H ou A,
R <sup>3</sup>	significa Alk-Y ou Het <sup>3</sup> ,
A	significa alquilo não ramificado ou ramificado com 1-8 átomos C em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F e/ou Cl,
Alk	significa alquilenos não ramificados ou ramificados com 1-8 átomos C em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F, Cl e/ou Br,
Ar <sup>1</sup>	significa fenilo simplesmente substituído por NR <sup>2</sup> COOA ou OCON(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> ,
Het <sup>1</sup>	significa 1,3-dihidro-benzimidazolilo, benzoxazolilo, indazolilo, benzimidazolilo, quinolinilo, dihidroindolilo ou indolilo, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A, NH <sub>2</sub> , OR <sup>2</sup> e/ou =O (carbonilo),
Het <sup>3</sup>	significa piperidinilo, pirrolidinilo, piperazinilo ou morfolinilo, o qual pode ser substituído uma ou duas vezes por A, e/ou =O (carbonilo),
Het <sup>2</sup>	significa piperidinilo, pirrolidinilo, piperazinilo ou morfolinilo, o qual pode ser substituído uma ou duas vezes por A, e/ou =O (carbonilo),
R <sup>4</sup> , R <sup>5</sup>	significam H ou Hal, cada um independentemente um do outro;

- X        significa CH;
- Y        significa  $\text{Het}^2$ ,  $\text{NQ}(\text{R}^2)_2$ ,  $\text{NR}^2[\text{C}(\text{R}^2)_2]_n\text{N}(\text{R}^2)_2$  ou  $\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^2)_2$ , em que um grupo NH pode ser substituído por N-COOA ou N-COA.
- n        significa 1, 2, 3 ou 4;

assim como os seus sais, solvatos, tautómeros e estereoisómeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções.

Os compostos de fórmula I, assim como as matérias-primas para o seu fabrico, podem além disso ser preparados segundo métodos conhecidos, tal como descrito na literatura (por exemplo, nos trabalhos de referência, tais como Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart), a saber, sob condições de reacção, as quais são conhecidas e apropriadas para as reacções referidas. Aqui também é possível fazer uso de variantes em si conhecidas, não mencionadas aqui em detalhe.

Os compostos de partida das fórmulas II e III são, em regra, conhecidos. Caso sejam novos, eles podem ser produzidos através de métodos conhecidos.

As piridazinonas de fórmula II utilizadas são, caso não possam ser obtidas comercialmente, em geral, produzidas de acordo com W. J. Coates, A. McKillop, Synthesis, 1993, 334-342.

Os compostos de fórmula I podem ser obtidos preferencialmente fazendo reagir um composto de fórmula II com um composto de fórmula III.

Nos compostos de fórmula III, L significa preferencialmente Cl, Br, I ou um grupo OH livre ou reactivo funcionalmente

modificado, como por exemplo, um éster activado, uma imidazolidina ou alquilsulfoniloxi com 1-6 átomos C (preferencialmente metilsulfoniloxi ou trifluorometilsulfoniloxi) ou arilsulfoniloxi com 6-10 átomos C (preferencialmente fenil- ou p-tolilsulfoniloxi).

A reacção ocorre, em regra, na presença de um agente de ligação a ácido, de preferência uma base orgânica, como DIPEA, trietilamina, dimetilamina, piridina ou quinolina.

Pode também ser benéfica a adição de um hidróxido, carbonato ou bicarbonato de metal alcalino ou alcalino-terroso, ou qualquer outro sal de um ácido fraco de metal alcalino ou alcalino-terroso, especialmente potássio, sódio, cálcio ou cézio.

O tempo de reacção corresponde a, dependendo das condições utilizadas, entre alguns minutos e 14 dias; a temperatura de reacção corresponde a entre -30°C e 140°C, normalmente entre -10°C e 90°C, em especial entre cerca de 0°C e cerca de 70°C.

Como solventes inertes, são apropriados, por exemplo, hidrocarbonetos como hexano, éter de petróleo, benzeno, tolueno ou xileno; hidrocarbonetos clorados, como por exemplo tricloroetileno, 1,2-dicloroetano, tetracloreto de carbono, clorofórmio ou diclorometano; álcoois como metanol, etanol, isopropanol, n-propanol, n-butanol ou tert.-butanol; éteres como dietiléter, diisopropiléter, tetrahidrofurano (THF) ou dioxano; glicol éter como etilenoglicolmonometil- ou -monoetiléter (metilglicol ou etilglicol), etilenoglicoldimetiléter (Diglyme); cetonas como acetona ou butanona; amidas como acetamida, dimetilacetamida ou dimetilformamida (DMF); nitrilos, como

acetonitrilo; sulfóxidos, como dimetilsulfóxido (DMSO); dissulfeto de carbono; ácidos carboxílicos como ácido fórmico ou ácido acético; compostos nitro, como nitrometano ou nitrobenzeno; éster, como acetato de etilo, ou misturas dos solventes citados.

Especialmente preferido é acetonitrilo, diclorometano e/ou DMF.

É ainda possível modificar um composto de fórmula I num outro composto de fórmula I, para o que se modifica um radical  $R^1$  e/ou  $R^3$  num outro radical  $R^1$  e/ou  $R^3$ , em que se transforma um grupo amino ou hidroxil em acilo, alquilo ou éter.

Adicionalmente, também é possível alquilar grupos amino livres, de forma convencional, com um cloreto ou anidrido de ácido ou com um halogeneto de alquilo não substituído ou substituído, de forma expediente com um solvente inerte como diclorometano ou THF e/ou na presença de uma base como trietilamina ou piridina, a temperaturas entre  $-60$  e  $+30^{\circ}\text{C}$ .

Os compostos de fórmula I podem, além disso, ser obtidos de forma que se liberta dos seus derivados funcionais através de solvólise ou através de hidrogenólise.

Compostos de partida preferidos para a solvólise ou hidrogenólise são aqueles que no lugar de um ou mais grupos amino e/ou hidroxil, contêm grupos amino e/ou hidroxil protegidos correspondentes, por exemplo aqueles que, no lugar de um átomo H o qual se encontra ligado a um átomo N, possuem um grupo de protecção amino, por exemplo, aqueles que correspondem à fórmula I, mas no lugar de um grupo  $\text{NH}_2$ ,



contêm um grupo  $\text{NHR}'$  (em que  $\text{R}'$  significa um grupo de protecção amino, por exemplo, BOC ou CBZ).

Além disso, são preferidos compostos de partida, os quais no lugar do átomo H de um grupo hidroxil, contêm um grupo de protecção hidroxil, por exemplo, aqueles que correspondem à fórmula I, mas no lugar de um grupo hidroxifenil, contêm um grupo  $\text{R}''\text{O-fenil}$  (em que  $\text{R}''$  significa grupo de protecção hidroxil).

Também podem estar presentes vários - iguais ou diferentes - grupos amino e/ou hidroxil protegidos na molécula do material de partida. Caso os grupos de protecção presentes sejam diferentes, estes podem ser em muitos casos selectivamente modificados.

A expressão "grupo de protecção amino" é geralmente conhecida e refere-se a grupos, os quais são apropriados para proteger de reacção química um grupo amino (para bloquear), mas que são facilmente removíveis desde que a reacção química desejada seja realizada em outro local da molécula. Exemplos típicos destes grupos são especialmente grupos acilo, arilo, aralcoximetil ou aralquilo. Uma vez que os grupos de protecção amino são removidos após a reacção desejada (ou série de reacções), o seu tipo e tamanho não são em geral críticos; contudo, são preferidos grupos com 1-20, em especial com 1-8 átomos C. A expressão "grupo acilo" deve ser considerada, em relação ao presente processo, no sentido mais amplo. Ele inclui grupos acilo, assim como especialmente grupos alcóxicarbonil, arilóxicarbonil e especialmente aralcoxicarbonil derivados de ácidos carboxílicos ou ácidos sulfónicos alifáticos, aralifáticos, aromáticos ou heterocíclicos. Exemplos de grupos acilo deste tipo são alcanóil, como

acetilo, propionilo, butirilo; aralcanoilo como fenilacetilo; aroilo como benzoilo ou toluilo; ariloxialcanoilo como POA; alcóxicarbonilo como metóxicarbonilo, etóxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetóxicarbonilo, BOC, 2-iodetóxicarbonilo; aralquiloxicarbonilo como CBZ ("carbобензоxi"), 4-metóxiбензилоxicarbonilo, FMOC; arilsulfonilo como Mtr, Pbf ou Pmc. Grupos de protecção amino preferidos são BOC e Mtr, ainda CBZ, Fmoc, benzilo e acetilo.

A expressão "grupo de protecção hidróxi" é igualmente em geral conhecida e refere-se a grupos que são apropriados para proteger de reacção química um grupo hidróxi, mas que são facilmente removíveis desde que a reacção química desejada seja realizada em outro local da molécula. Exemplos típicos destes grupos são os grupos arilo, aralquilo ou acilo, mas também grupos alquilo, não substituídos ou substituídos anteriormente referidos. Uma vez que os grupos de protecção hidróxi são removidos após a reacção desejada (ou série de reacções), o seu tipo e tamanho não são em geral críticos; contudo, são preferidos grupos com 1-20, em especial com 1-10 átomos C. Exemplos de grupos de protecção hidróxi são, entre outros, tert.-butoxicarbonilo, benzilo, p-nitrobenzoilo, p-toluenosulfonilo, tert.-butilo e acetilo, em que benzilo e tert.-butilo são especialmente preferidos. Os grupos COOH no ácido aspártico e ácido glutâmico são preferencialmente protegidos na forma dos seus tert.-butilésteres (por exemplo, Asp(OBut)).

A libertação dos compostos de fórmula I dos seus derivados funcionais ocorre - dependendo do grupo de protecção utilizado - por exemplo, com ácidos fortes, de forma apropriada com TFA ou ácido perclórico, mas também com

outros ácidos inorgânicos fortes, como ácidos de sais ou ácido sulfúrico; ácidos carboxílicos orgânicos fortes como ácido tricloroacético ou ácidos sulfónicos, como ácido benzenossulfónico ou p-toluenossulfónico. A presença de um solvente inerte adicional é possível, mas nem sempre exigido. Como solvente inerte são preferencialmente apropriados solventes orgânicos, por exemplo, ácidos carboxílicos como ácido acético, éteres como tetrahidrofurano ou dioxano, amidas como DMF, hidrocarbonetos halogenados como diclorometano, ainda também álcoois como metanol, etanol ou isopropanol, assim como água. Adicionalmente são consideradas misturas dos solventes anteriormente referidos. TFA é preferencialmente utilizado em excesso sem a adição de um solvente adicional, ácidos perclóricos na forma de uma mistura de ácido acético e ácido perclórico a 70%, na proporção de 9:1. As temperaturas de reacção para a separação encontram-se, de forma conveniente, entre cerca de 0 e cerca de 50°C, preferencialmente trabalha-se entre os 15 e os 30°C (temperatura ambiente).

Os grupos BOC, OBut, Pbf, Pmc e Mtr podem ser modificados, por exemplo, preferencialmente com TFA em diclorometano ou com cerca de 3 a 5n HCl em dioxano a 15-30°C, os grupos FMOC com uma solução de dimetilamina, dietilamina ou piperidina a cerca de 5 a 50% em DMF, a 15-30°C.

O grupo tritilo é utilizado para a protecção dos aminoácidos histidina, asparagina, glutamina e cisteína. A separação decorre, dependendo do produto final desejado, com TFA / 10% tiofenol, em que o grupo tritilo é separado de todos os aminoácidos referidos; na utilização de TFA / anisol ou TFA / tioanisol, o grupo tritilo é separado de His, Asn, Gln, mas permanece nas cadeias laterais de Cys. O

grupo Pbf (pentametilbenzofuranilo) é utilizado para a protecção de Arg. A separação decorre por exemplo com TFA e diclorometano.

Grupos de protecção removíveis por hidrogenólise (por exemplo, CBZ ou benzilo) podem ser separados, por exemplo, através de tratamento com hidrogénio na presença de um catalisador (por exemplo, um catalisador de um metal precioso, como paládio, de forma conveniente, num suporte como por exemplo carvão). Como solventes são apropriados os solventes anteriormente citados, em especial, por exemplo, álcoois como metanol ou etanol, ou amidas como DMF. A hidrogenólise é geralmente realizada a temperaturas entre cerca de 0 e 100°C, e pressões entre cerca de 1 e 200 bar, preferencialmente a 20-30°C e 1-10 bar. Uma hidrogenólise dos grupos CBZ ocorre, por exemplo, em 5 a 10% Pd/C em metanol, ou com formiato de amónio (em vez de hidrogénio) em Pd/C em metanol/DMF a 20-30°C.

### **Sais farmacêuticos e outras formas**

Os compostos de acordo com a invenção podem ser utilizados na sua forma não salina final. Por outro lado, a presente invenção inclui também a utilização destes compostos na forma dos seus sais farmacêuticamente aceitáveis, os quais podem ser obtidos a partir de diversos ácidos e bases orgânicos e inorgânicos, de acordo com métodos conhecidos. Formas de sais farmacêuticamente aceitáveis de compostos de fórmula I são em grande parte obtidas de forma convencional. Desde que o composto de fórmula I contenha um grupo ácido carboxílico, é possível obter um dos seus sais adequados, de forma que se procede à reacção do composto com uma base adequada, no sal de adição básica correspondente. Estas bases são, por exemplo, hidróxidos de metais alcalinos, incluindo hidróxido de potássio,

hidróxido de sódio e hidróxido de lítio; hidróxidos de metais alcalino-terrosos, como hidróxido de bário e hidróxido de cálcio; alcoolatos de metais alcalinos, como por exemplo metanolato de potássio e propanolato de sódio; assim como diferentes bases orgânicas, como piperidina, dietanolamina e N-metilglutamina. Os sais de alumínio dos compostos de fórmula I são também exemplos. Em determinados compostos de fórmula I podem formar-se sais de adição ácida, de forma que se trata estes compostos com ácidos orgânicos e inorgânicos farmaceuticamente aceitáveis, por exemplo, haletos de hidrogénio como cloreto de hidrogénio, brometo de hidrogénio ou iodeto de hidrogénio, outros ácidos minerais e os seus sais respectivos como sulfato, nitrato ou fosfato e afins, assim como sulfonatos de alquilo e monoarilo, como etanossulfonato, toluenossulfonato e benzenossulfonato, assim como outros ácidos orgânicos e os seus sais correspondentes, como acetato, trifluoroacetato, tartarato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato, ascorbato e afins. Assim, são considerados sais de adição ácida farmaceuticamente aceitáveis de compostos de fórmula I os seguintes: acetato, adipato, alginato, arginato, aspartato, benzoato, benzolsulfonato (besylat), bissulfato, bissulfito, brometo, butirato, canforato, canforassulfonato, caprilato, cloreto, clorobenzoato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dihidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, etanossulfonato, fumarato, galacterato (de ácido múcico), galacturonato, glucoheptanoato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, hemissuccinato, hemissulfato, heptanoato, hexanoato, hipurato, cloreto de hidrogénio, brometo de hidrogénio, iodeto de hidrogénio, 2-hidroxietanossulfonato, iodeto, isetionato, isobutirato, lactato, lactobionato, malato, maleato, malonato, mandelato, metafosfato, metanossulfonato, metilbenzoato,

monohidrogenofosfato, 2-naftalinossulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, oleato, pamoato, pectinato, persulfato, fenilacetato, 3-fenilpropionato, fosfato, fosfonato, ftalato, o que não representa contudo qualquer limitação.

Adicionalmente, são considerados sais de bases dos compostos de acordo com a invenção sais de alumínio, amónio, cálcio, cobre, ferro (III), ferro (II), lítio, magnésio, manganésio (III), manganésio (II), potássio, sódio e zinco, o que não deve representar contudo qualquer limitação. Entre os sais acima mencionados, preferidos são amónio; os sais de metais alcalinos sódio e potássio, assim como sais de metais alcalino-terrosos cálcio e magnésio. Como sais dos compostos de fórmula I, os quais são derivados de bases orgânicas não tóxicas farmacologicamente aceitáveis, são considerados sais de amins primárias, secundárias e terciárias, amins substituídas, incluindo também amins substituídas de ocorrência natural, amins cíclicas assim como resinas de permuta iónica básicas, como por exemplo arginina, betaína, cafeína, cloroprocaína, colina, N,N'-dibenziletilenodiamina (benzatina), diciclohexilamina, dietanolamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilenodiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lidocaína, lisina, meglumina, N-metil-D-glucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purina, teobromina, trietanolamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina assim como tris-(hidroximetil)-metilamina (trometamina), o que não deve representar contudo qualquer limitação.

Compostos da presente invenção, os quais contêm grupos básicos contendo azoto, podem ser quaternizados com agentes

como (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)halogenetos de alquilo, como por exemplo, cloreto, brometo e iodeto de metilo, de etilo, de isopropilo e tert.-butilo; di(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)sulfatos de alquilo, como por exemplo, sulfato de dimetilo, de dietilo e de diamilo; (C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>)halogenetos de alquilo, como por exemplo, cloreto, brometo e iodeto de decilo, dodecilo, laurilo, miristilo e estearilo; assim como aril-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)halogenetos de alquilo, como por exemplo, cloreto de benzilo e brometo de fenetilo. Com estes sais podem ser obtidos compostos de acordo com a invenção não só aquosos, como também oleosos.

Juntamente com os sais farmacêuticos anteriormente referidos, os quais são preferidos, juntam-se ainda acetato, trifluoroacetato, besilato, citrato, fumarato, gluconato, hemissuccinato, hipurato, cloreto de hidrogénio, brometo de hidrogénio, isetionato, mandelato, meglumina, nitrato, oleato, fosfonato, pivalato, fosfato de sódio, estearato, sulfato, sulfossalicilato, tartarato, tiomalato, tosilato e trometamina, o que não deve representar contudo qualquer limitação.

Especialmente preferidos são cloreto de hidrogénio, cloreto de dihidrogénio, brometo de hidrogénio, maleato, mesilato, fosfato, sulfato e succinato.

Os sais de adição ácida dos compostos de fórmula I básicos são produzidos, de forma que se coloca a forma básica livre em contacto com uma quantidade suficiente dos ácidos desejados, e assim se prepara o sal de forma convencional. A base livre pode ser regenerada de forma convencional, colocando a forma salina em contacto com uma base e isolando a base livre. As formas de base livres distinguem-se, de certo modo, das suas formas salinas correspondentes no que diz respeito a determinadas propriedades físicas,

como solubilidade em solventes polares. No contexto da invenção, os sais correspondem contudo às suas formas de base livres respectivas.

Como mencionado, os sais de adição básica farmacologicamente aceitáveis dos compostos de fórmula I são formados com metais ou aminas, como metais alcalinos e metais alcalino-terrosos, ou aminas orgânicas. Metais preferidos são sódio, potássio, magnésio e cálcio. Aminas orgânicas preferidas são N,N'-dibenziletilenodiamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilenodiamina, N-metil-D-glucamina e procaina.

Os sais de adição básica dos compostos ácidos de acordo com a invenção são preparados de forma que se coloca em contacto a forma ácida livre com uma quantidade suficiente da base desejada, em que o sal é obtido de forma convencional. O ácido livre pode ser regenerado de forma convencional, colocando em contacto a forma salina com um ácido, e isolando o ácido livre. As formas ácidas livres distinguem-se de certo modo das suas formas salina correspondentes, no que diz respeito a determinadas propriedades físicas, como solubilidade em solventes polares; no contexto da invenção, os sais correspondem contudo às suas formas de base livres respectivas.

Caso um composto de acordo com a invenção contenha mais do que um grupo, o qual pode formar estes sais farmacologicamente aceitáveis, então a invenção inclui sais múltiplos. Exemplos de sais múltiplos típicos são, por exemplo, bitartarato, diacetato, difumarato, dimeglumina, difosfato, dissódio e cloreto de trihidrogénio, o que não deve representar contudo qualquer limitação.



Relativamente ao que foi dito anteriormente, a expressão "sal farmaceuticamente aceitável" deve ser compreendida, neste contexto, como um agente, o qual contém um composto de fórmula I na forma de um dos seus sais, em especial quando esta forma salina confere propriedades farmacocinéticas melhoradas ao agente, em comparação com a forma livre ou uma outra qualquer forma salina do agente. A forma salina farmaceuticamente aceitável do agente também pode conferir uma propriedade farmacocinética desejada ao agente, a qual ele não possuía anteriormente, e pode até influenciar de forma positiva a farmacodinâmica deste agente relativamente à sua actividade terapêutica.

Objecto da invenção são ainda medicamentos que contêm pelo menos um composto de fórmula I e/ou os seus derivados, solvatos e estereoisómeros farmaceuticamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções, assim como transportadores e/ou adjuvantes eventuais.

As formulações farmacêuticas podem ser administradas na forma de unidades de dosagem, as quais contêm uma determinada quantidade de agente. Uma destas unidades pode, por exemplo, conter 0,5 mg a 1 g, de preferência 1 mg a 700 g, muito preferencialmente 5 mg a 100 mg, de um composto de acordo com a invenção, dependendo do estado de doença a tratar, da via de administração e da idade, peso e estado do doente; ou as formulações farmacêuticas podem ser administradas, na forma de unidades de dosagem, as quais contêm uma determinada quantidade de agente por unidade de dosagem. Formulações de unidades de dosagem preferidas são aquelas que contêm uma dose diária ou dose parcial, tal como acima descrito, ou uma fracção respectiva desta de um agente. Adicionalmente, estas formulações farmacêuticas

podem ser preparadas através de um processo geralmente conhecido da área farmacêutica.

As formulações farmacêuticas podem ser administradas através de qualquer via adequada, por exemplo, por via oral (incluindo bucal ou sublingual), rectal, nasal, tópica (incluindo bucal, sublingual ou transdérmica), vaginal ou parenteral (incluindo subcutânea, intramuscular, intravenosa ou intradérmica). Estas formulações podem ser preparadas através de processos conhecidos na área farmacêutica, nos quais, por exemplo, o agente é misturado com o ou os transportadores ou adjuvantes.

Na administração oral, formulações farmacêuticas adequadas podem ser administradas como unidades separadas, como por exemplo, cápsulas ou comprimidos; pós ou granulados; soluções ou suspensões em líquidos aquosos e não aquosos; espuma comestível ou mousses alimentares; ou emulsões líquidas óleo em água ou água em óleo.

Assim, por exemplo, no caso de administração oral na forma de um comprimido ou cápsula, o componente activo pode ser combinado com um transportador inerte, oral, não tóxico e farmacêuticamente aceitável, como por exemplo, etanol, glicerina, água, entre outros. Os pós são produzidos, de forma que o composto seja finamente dividido num tamanho apropriado, e misturado com um transportador farmacêutico finamente dividido de forma semelhante, como por exemplo, um hidrato de carbono comestível, como por exemplo, amido ou manitol. Um agente aromatizante, conservante, de dispersão e corante pode também eventualmente estar presente.

Cápsulas são fabricadas, as quais são cheias com uma mistura de pós produzida como anteriormente descrito e gelatina. Lubrificantes como por exemplo ácido silícico, talco, estearato de magnésio, estearato de cálcio ou polietilenoglicol altamente dispersáveis em forma sólida podem ser adicionados à mistura de pós antes do processo de enchimento. Um desintegrante ou solubilizante, como por exemplo, ágar-ágar, carbonato de cálcio ou carbonato de sódio, pode igualmente ser adicionado, para melhorar a disponibilidade do medicamento após a ingestão da cápsula.

Além disso, caso desejado ou necessário, podem ser adicionados à mistura agentes ligantes, lubrificantes e desintegrantes, assim como corantes adequados. Exemplos de agentes ligantes adequados são amido, gelatina, açúcar natural, como por exemplo, glicose ou beta-lactose, materiais doces do milho, gomas naturais e sintéticas, como por exemplo, acácia, tragacanto ou alginato de sódio, carboximetilcelulose, polietilenoglicol, ceras, entre outros. Aos lubrificantes utilizados nestas formas de dosagem pertencem oleato de sódio, estearato de sódio, estearato de magnésio, benzoato de sódio, acetato de sódio, cloreto de sódio, entre outros. Aos desintegrantes pertencem, sem estar limitado a, amido, metilcelulose, ágar-ágar, bentonite, goma xantana, entre outros. Os comprimidos são formulados de forma que, por exemplo, uma mistura de pós é fabricada, granulada ou prensada a seco, um lubrificante e um desintegrante são adicionados e o preparado é prensado em comprimidos. Uma mistura de pós é fabricada, de forma que, um composto finamente dividido de forma adequada é misturado com um agente de diluição ou uma base, como anteriormente descrito, e eventualmente com um agente ligante, como por exemplo, carboximetilcelulose, um alginato, gelatina ou polivinilpirrolidona, um

desacelerador de solução, como por exemplo, parafina, um acelerador de reabsorção, como por exemplo, um sal quaternário e/ou um agente de absorção, como por exemplo bentonite, caulino ou fosfato de dicálcio. A mistura de pós pode ser granulada, em que esta é reticulada conjuntamente com um agente ligante, como por exemplo, xarope, pasta de amido, mucilagem, ou soluções de materiais celulósicos ou poliméricos, é humedecida e prensada através de um crivo. Como alternativa para a granulação, pode deixar-se passar a mistura de pós através de uma máquina de comprimidos, embora se possam originar partículas de forma irregular, as quais são quebradas no granulado. Os granulados podem ser oleados por intermédio da adição de ácido esteárico, um sal estearato, talco ou óleo mineral, para reduzir a formação de aderência nos moldes dos comprimidos. A mistura oleada é então prensada em comprimidos. Os compostos de acordo com a invenção também podem ser combinados com um transportador inerte livre, e depois directamente prensados em comprimidos, sem a realização de passos de granulação ou de prensagem a seco. Pode estar presente uma camada de protecção transparente ou não transparente, composta por uma selagem de goma laca, uma camada de açúcar ou material polimérico e uma camada brilhante de cera. A estes revestimentos podem ser adicionados corantes, para ser possível distinguir entre diferentes unidades de dosagem.

Líquidos orais, como por exemplo soluções, xaropes e elixires, podem ser fabricados na forma de unidades de dosagem, de forma que uma dada quantidade contenha uma dada quantidade de composto. Os xaropes podem ser fabricados, de forma que o composto é dissolvido numa solução aquosa com aroma adequado, enquanto os elixires são fabricados pela utilização de um veículo alcoólico não tóxico. As suspensões podem ser formuladas através da dispersão do

composto num veículo não tóxico. Também podem eventualmente ser adicionados solubilizantes e emulsionantes, como por exemplo, álcoois de isoestearilo e éter de polioxietilenossorbitol etoxilados, conservantes, aditivos de sabor, como por exemplo óleo de menta ou compostos doces naturais ou sacarina, ou outros compostos doces artificiais, entre outros.

As formulações de unidades de dosagem para a administração oral podem eventualmente ser encapsuladas em microcápsulas. A formulação também pode ser obtida, de forma que a libertação é prolongada ou retardada, como por exemplo através de revestimento ou incorporação de material na forma de partículas em polímeros, ceras, entre outros.

Os compostos de fórmula I, assim como sais e solvatos também podem ser administrados na forma de sistemas de entrega por lipossomas, como por exemplo, pequenas vesículas unilamelares, grandes vesículas unilamelares e vesículas multilamelares. Os lipossomas podem ser formados por diferentes fosfolípidos, como por exemplo, colesterina, estearilamina ou fosfatildicolinas.

Os compostos de fórmula I, assim como os sais e solvatos também podem ser adicionados, com a utilização de anticorpos monoclonais como transportadores individuais, aos quais as moléculas de composto estão acopladas. Os compostos também podem ser acoplados a polímeros solúveis como transportadores orientados de medicamentos. Estes polímeros podem compreender polivinilpirrolidona, copolímeros de pirano, polihidroxipropilmetacrilamidafeol, polihidroxietilaspirtamidafeol ou poliegtilenoxidopolilisina, substituídos com resíduos palmitoilo. Adicionalmente, os compostos podem ser

acoplados a uma classe de polímeros biodegradáveis, os quais são apropriados para a obtenção de uma libertação controlada de uma droga, por exemplo, ácido poliláctico, poliepsilon-caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoéster, poliacetato, polidihidroxipirano, policianoacrilato e copolímeros em bloco reticulados ou alifáticos de hidrogéis.

As formulações farmacêuticas adequadas para administração transdérmica podem ser aplicadas na forma de emplastos independentes para um contacto mais prolongado e próximo com a epiderme do receptor. Deste modo, o agente pode por exemplo ser transferido do emplastro por intermédio de iontoforese, tal como descrito em geral em *Pharmaceutical Research*, 3(6), 318 (1986).

Os compostos farmacêuticos de administração tópica podem ser formulados na forma de pomadas, cremes, suspensões, loções, pós, soluções, pastas, géis, sprays, aerossóis ou óleos.

Para tratamentos dos olhos ou outros tecidos externos, como por exemplo boca e pele, as formulações são aplicadas preferencialmente como pomada ou creme. No caso de formulações para uma pomada, o agente pode ser utilizado com uma base de creme parafinada ou miscível em água. Como alternativa, o agente pode ser formulado num creme com uma base de creme óleo em água ou uma base água em óleo.

Às formulações farmacêuticas apropriadas para a aplicação tópica nos olhos pertencem gotas para os olhos, em que o agente é ressuspendido num transportador adequado, em especial num solvente aquoso.

As formulações farmacêuticas apropriadas para aplicação tópica na boca incluem losangos, pastilhas e desinfectantes bucais.

As formulações farmacêuticas apropriadas para aplicação rectal podem ser administradas na forma de supositórios ou enemas.

As formulações farmacêuticas apropriadas para aplicação nasal, nas quais a substância transportadora é um sólido, contêm um pó grosseiro com um tamanho de partícula por exemplo na gama de 20-500 micrómetros, o qual é tomado e administrado do mesmo modo que é feito com o tabaco de inalar, ou seja por intermédio da inalação rápida pelas narinas, através de um recipiente com o pó colocado junto ao nariz. Formulações adequadas para aplicação como spray nasal ou gotas nasais com um líquido como substância transportadora incluem soluções de agente activo em água ou óleo.

As formulações farmacêuticas apropriadas para administração por inalação incluem pós ou névoas de partículas finas, os quais podem ser obtidos por diferentes tipos de dispensadores de dose com aerossóis sob pressão, nebulizadores ou insufladores.

As formulações farmacêuticas apropriadas para administração vaginal podem ser administradas como formulações de pessários, tampões, cremes, géis, pastas, espumas ou sprays.

Às formulações farmacêuticas apropriadas para administração parenteral pertencem soluções de injeção aquosas e não aquosas, as quais contêm antioxidantes, tampões,

bacteriostáticos e solutos, através dos quais, a formulação é tornada isotónica com o sangue do indivíduo a ser tratado; assim como suspensões estéreis aquosas e não aquosas que possam conter agentes suspensores. As formulações podem ser administradas em recipientes de dose única ou doses múltiplas, por exemplo, ampolas e frascos selados, e podem ser armazenadas em estado congelado a seco (liofilizado), para que seja possível a adição de veículo de transporte estéril, por exemplo, água para fins de injeção, apenas imediatamente antes da utilização. Soluções e suspensões de injeção preparadas de acordo com receitas podem ser preparadas a partir de pós, granulados e comprimidos estéreis.

É evidente que as formulações podem conter outros agentes comuns no campo da especialidade, no que diz respeito ao tipo específico de formulação, para além dos componentes especialmente mencionados; assim, as formulações apropriadas para administração oral podem, por exemplo, conter aromatizantes.

Uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de fórmula I depende de uma série de factores, incluindo por exemplo, a idade e sexo do animal, o estado de doença exacto do indivíduo que necessita de tratamento, assim como o grau de gravidade, natureza da formulação, assim como a via de administração, e é determinada em última instância pelo médico ou veterinário responsável pelo tratamento. Em todo o caso, uma quantidade eficaz de um composto de acordo com a invenção para o tratamento de crescimento neoplásico, por exemplo, carcinoma do cólon e recto ou da mama, situa-se em geral entre 0,1 e 100 mg/kg de peso corporal do receptor (mamífero), por dia, e em especial tipicamente entre 1 e 10 mg/kg de peso corporal por dia. Assim, para um



mamífero adulto com um peso de 70 kg, a quantidade real por dia seria normalmente de 70 a 700 mg, em que esta dose pode ser administrada como dose única diária ou como normalmente, numa série de doses parciais (como por exemplo, duas, três, quatro, cinco ou seis) por dia, de modo que a dose total seja igual. Uma quantidade eficaz de um sal ou solvato ou um derivado funcional dos mesmos, pode ser determinada *per se* como parte da quantidade eficaz do composto de acordo com a invenção. Pode supor-se que doses semelhantes são adequadas para o tratamento dos outros estados de doença anteriormente referidos.

Objecto da invenção são ainda medicamentos que contêm pelo menos um composto de fórmula I e/ou os seus solvatos e estereoisómeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções, e pelo menos um fármaco adicional.

Objecto da invenção é também um conjunto (kit), constituído por embalagens separadas de

- (a) uma quantidade eficaz de um composto de fórmula I e/ou os seus solvatos e estereoisómeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções,
- e
- (b) uma quantidade eficaz de um fármaco adicional.

O conjunto contém recipientes adequados, como por exemplo caixas ou cartões, frascos, sacos ou ampolas individuais. O conjunto pode, por exemplo, conter ampolas separadas, nas quais existe uma quantidade eficaz de um composto de fórmula I e/ou os seus solvatos e estereoisómeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções,

e uma quantidade eficaz de um fármaco adicional dissolvido ou na forma liofilizada.

### **UTILIZAÇÃO**

Os compostos presentes são adequados para utilização como agentes farmacêuticos para mamíferos, em especial o homem, para o tratamento de doenças relacionadas com tirosina cinases. Exemplos destas doenças incluem a proliferação de tumores, a formação patológica de vasos sanguíneos (ou angiogénese), a qual leva ao crescimento de tumores sólidos, a formação de vasos nos olhos (retinopatia diabética, degeneração da mácula associada à idade e afins), assim como inflamações (psoríase, artrite reumatóide e afins).

A presente invenção compreende a utilização dos compostos de fórmula I e/ou os seus sais e solvatos fisiologicamente aceitáveis, para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou prevenção de cancro. Carcinomas preferenciais para tratamento pertencem ao grupo dos carcinomas cerebrais, tracto urogenital, sistema linfático, estômago, laringe e pulmão. Um outro grupo de formas de cancro inclui leucemias monocíticas, adenocarcinoma do pulmão, carcinoma de células pequenas do pulmão, pâncreas, glioblastoma e carcinoma da mama. A utilização de acordo com a invenção também inclui igualmente os compostos de acordo com a invenção de acordo com a reivindicação 1 e/ou os seus sais e solvatos fisiologicamente aceitáveis, para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou prevenção de uma doença, na qual a angiogénese está envolvida.

Uma doença deste tipo, na qual a angiogénese está envolvida, é uma doença dos olhos, como vascularização da

retina, retinopatia diabética, degeneração da mácula associada à idade e afins.

A utilização de compostos de fórmula I e/ou os seus sais e solvatos fisiologicamente aceitáveis para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou prevenção de doenças inflamatórias, cai também no âmbito da presente invenção. Como exemplos de doenças inflamatórias podem nomear-se artrite reumatóide, psoríase, dermatite de contacto, tipo tardio de reacção de ultra-sensibilidade e afins.

Igualmente incluída está a utilização dos compostos de fórmula I e/ou os seus sais e solvatos fisiologicamente aceitáveis para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou prevenção de uma doença associada a tirosina cinases ou um padecimento associado a tirosina cinases, num mamífero, em que se administra uma quantidade terapeuticamente eficaz a um mamífero doente, o qual necessita de um tratamento. A quantidade terapeuticamente eficaz depende da doença em questão e pode ser determinada pelo perito na especialidade sem grandes despesas.

A presente invenção inclui também a utilização de compostos de fórmula I e/ou os seus sais e solvatos fisiologicamente aceitáveis, para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou prevenção de vascularização da retina.

Processos para o tratamento ou prevenção de doenças dos olhos, como retinopatia diabética e degeneração da mácula associada à idade, são igualmente uma parte da invenção. A utilização para o tratamento ou prevenção de doenças inflamatórias como artrite reumatóide, psoríase, dermatite de contacto e tipo tardio de reacção de ultra-sensibilidade, assim como o tratamento ou prevenção de

patologias dos ossos do grupo compreendendo osteossarcoma, osteoartrite e raquitismo, cai também no âmbito da presente invenção.

A expressão "doença ou padecimento associados a tirosina cinases" refere-se a estados patológicos que são dependentes da actividade de uma ou mais tirosina cinases. As tirosina cinases participam directamente ou indirectamente em vias de transdução de sinal de diversas actividades celulares, de entre as quais, proliferação, adesão e migração, assim como diferenciação. As doenças que estão associadas com a actividade de tirosina cinases incluem a proliferação de células tumorais, a formação patológica de vasos sanguíneos, a qual permite o crescimento de tumores sólidos, angiogénese nos olhos (retinopatia diabética, degeneração da mácula associada à idade e afins), assim como inflamações (psoríase, artrite reumatóide e afins).

Os compostos de fórmula I podem ser administrados a doentes para o tratamento de cancro, em especial de tumores sólidos de crescimento rápido.

Objecto da invenção é, portanto, a utilização de compostos de fórmula I, assim como os seus solvatos e estereoisómeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, para o fabrico de um medicamento para o tratamento de doenças, em que a doença é um tumor sólido.

O tumor sólido é preferencialmente seleccionado do grupo consistindo em tumores dos pulmões, de células escamosas, da bexiga, do estômago, dos rins, da cabeça e pescoço, do esófago, do útero, da tireóide, do intestino, do fígado, do

cérebro, da próstata, do tracto urogenital, do sistema linfático, do estômago e/ou da laringe.

O tumor sólido é ainda preferencialmente seleccionado do grupo consistindo em adenocarcinoma do pulmão, carcinoma de células pequenas do pulmão, cancro do pâncreas, glioblastoma, carcinoma do cólon e recto e carcinoma da mama.

Ainda preferido é a utilização para o tratamento de um tumor do sangue e sistema imune, preferencialmente para o tratamento de um tumor seleccionado do grupo consistindo em leucemias mielóides agudas, leucemias mielóides crónicas, leucemias linfóides agudas, e/ou leucemias linfóides crónicas.

Os compostos de fórmula I divulgados podem ser administrados em conjunto com outros agentes terapêuticos, incluindo agentes anti-tumorais. Como aqui utilizado, a expressão "agentes anti-tumorais" denota agentes que são administrados a doentes com cancro, para o tratamento do mesmo.

O tratamento anti-cancro aqui definido pode ser utilizado como terapia única ou incluir, em adição ao composto da presente invenção, operações convencionais ou radioterapias ou quimioterapias. Um exemplo de quimioterapia pode compreender uma ou mais das seguintes categorias de agentes anti-tumorais:

(i) agentes anti-proliferativos / anti-neoplásicos / que danificam o ADN, e combinações dos mesmos, tal como utilizado em medicina oncológica; exemplos incluem agentes de alquilação (como por exemplo cisplatina, carboplatina, ciclofosfamida, mostarda nitrogenada, melfalano,

clorambucil, bussulfane e nitrosourea); antimetabolitos (como por exemplo, anti-folatos, como fluoropirimidina, como 5-fluorouracilo e tegafur, raltitrexed, metotrexato, citosina arabinosido, hidroxiureia e gemcitabina); antibióticos anti-tumorais (por exemplo, antraciclinas, como adriamicina, bleomicina, doxorubina, daunomicina, epirubicina, idarubicina, mitomicina-C, dactinomicina e mitramicina); agentes antimitóticos (como por exemplo, vinca-alcalóides, como vincristina, vinblastina, vindesina e vinorelbina, e taxóides, como taxol e taxoter); inibidores de topoisomerase (como por exemplo, epipodofilotoxinas, como etoposido e teniposido, amsacrina, topotecan, irinotecan e camptotecina) e agentes de diferenciação celular (como por exemplo, ácido all-trans-retinóico, ácido 13-cis-retinóico e fenretinida);

(ii) agentes citostáticos, como anti-estrogénios (por exemplo, tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno e iodoxifeno), agentes antagonistas do receptor de estrogénio (como por exemplo fulvestrant), anti-androgénios (por exemplo, bicalutamida, flutamida, nilutamida e acetato de ciproterona), antagonistas de LHRH ou agonistas de LHRH (como por exemplo goserelina, leuprorelina e buserelina), progesteronas (como por exemplo acetato de megestrol), inibidores de aromatase (como por exemplo, anastrozol, letrozol, vorazol e exemestrano) e inibidores da 5 $\alpha$ -reductase, como finasterida;

(iii) agentes que inibem a invasão de células cancerígenas (como por exemplo, inibidores de metaloproteínases, como marimastat e inibidores da função do receptor do activador de plasminogénio-urocinase);

(iv) inibidores da função de factores de crescimento, incluem por exemplo anticorpos inibidores de factores de crescimento, anticorpos contra receptores de factores de crescimento (por exemplo, os anticorpos anti-erbb2

trastuzumab [Herceptin<sup>TM</sup>] e os anticorpos anti-erbB1 cetuximab [C225]), inibidores de farnesiltransferase, inibidores de tirosina cinase e inibidores de serina/treonina cinase, como por exemplo inibidores da família do factor de crescimento epidérmico (como por exemplo, inibidores das tirosina cinases da família do EGFR, como N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)-quinazolin-4-amina (Gefitinib, AZD1839), N-(3-etinilfenil)-6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-amina (Erlotinib, OSI-774) e 6-acrilamido-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (CI1033)), como por exemplo, inibidores da família dos factores de crescimento derivados das plaquetas e como por exemplo inibidores da família dos factores de crescimento de hepatócitos;

(v) agentes anti-angiogénicos, como por exemplo os que inibem a acção do factor de crescimento endotelial vascular (como por exemplo, o anticorpo contra o factor de crescimento de células endoteliais vasculares bevacizumab [Avastin<sup>TM</sup>], compostos, os quais são divulgados nos pedidos de patente internacional publicados WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 e WO 98/13354), e compostos, os quais actuam através de outros mecanismos (como por exemplo linomide, inibidores da função da integrina- $\alpha v \beta 3$  e angiostatina);

(vi) agentes que afectam a angiogénese, como combretastatina A4 e os compostos divulgados nos pedidos de patente internacional WO 99/02166, WO 00/40529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 e WO 02/08213.

(vii) terapias antisense, como por exemplo as que são dirigidas para os alvos anteriormente enumerados, como ISIS 2503, um antisense anti-Ras;

(viii) abordagens de terapia genética incluindo, por exemplo, abordagens para a substituição de genes alterados,

como p53 alterado, ou BRCA1 ou BRCA2 alterados, abordagens de GDEPT (terapia por gene-directed enzyme pro-drug), as quais utilizam citosina-desaminases, timidina cinases ou uma enzima nitroreductase bacteriana, assim como abordagens para o aumento da tolerância dos doentes a quimioterapia ou radioterapia, como terapia de resistência a drogas múltiplas; e

(ix) abordagens de imunoterapia, incluindo por exemplo, abordagens ex vivo e in vivo para o aumento da imunogenicidade de células tumorais de doentes, como transfecção com citocinas, como interleucina 2, interleucina 4 ou factor de estimulação de colónias de granulócitos-macrófagos; abordagens para a diminuição de anergia de células T; abordagens incluindo a utilização de células imunológicas transfectadas, como por exemplo, células dendríticas transfectadas com citocina; abordagens incluindo a utilização de linhas celulares transfectadas com citocina; e abordagens incluindo a utilização de anticorpos anti-idiopáticos.

De forma preferida mas não limitativa, os medicamentos da Tabela 1 seguinte são combinados com os compostos de fórmula I.

Tabela 1		
Agentes de alquilação	ciclofosfamida bussulfane ifosfamida melfalano hexametilmelanina tiotepa clorambucil dacarbazina carmustina	lomustina procarbazina altretamina estramustina fosfato mecloretenamina estreptozocina temozolomida semustina
Agentes de platina	cisplatina oxaliplatina spiroplatina carboxiftalatoplatina	carboplatina ZD-0473 (AnorMED) laboplatina (Aeterna) satraplatina (Johnson



	tetraplatina ormiplatina iproplatino	Matthey) BBR-3464 (Hoffmann-La- Roche) SM-11355 (Sumitomo) AP-5280 (Access)
Antimetabolitos	azacitidina gemcitabina capecitabina 5-Fluoruracilo floxuridina 2-clorodesoxiadenosina 6-mercaptapurina 6-tioguanina citarabina 2-fluorodesoxicitidina metotrexato idatrexato	tomudex trimetrexato desoxicoformicina fludarabina pentostatina raltitrexed hidroxiiureia decitabina (SuperGen) clofarabina (Bioenvision) irofulveno (MGI Pharma) DMDC (Hoffmann-La Roche) etinilcitidina (Taiho)
Inibidores de topoisomerasas	amsacrina epirubicina etoposido teniposido ou mitoxantrona irinotecan (CPT-11) 7-etil-10- hidroxicamptotecina topotecan dexrazoxanet (Topo Target) pixantrona (Novuspharma) Análogo de rebecamicina (Exelixis) BBR-3576 (Novuspharma)	rubitecan (SuperGen) mesilato de exatecan (Daiichi) quinamed (ChemGenex) gimatecan (Sigma-Tau) diflomotecan (Beaufour- Ipsen) TAS-103 (Taiho) elsamitrucina (Spectrum) J-107088 (Merck & Co) BNP-1350 (BioNumerik) CKD-602 (Chong Kun Dang) KW-2170 (Kyowa Hakko)
Antibióticos anti-tumorais	dactinomicina (actinomicina D) doxorubicina (adriamicina) deoxirubicina valrubicina daunorubicina (daunomicina) epirubicina terarubicina idarubicina rubidazona plicamicina porfiomicina cianomorfolino- doxorubicina	amonafida azonafida antrapirazol oxantrazol lozoxantrona Sulfato de bleomicina (Blenoxan) ácido de bleomicina bleomicina A bleomicina B mitomicina C MEN-10755 (Menarini) GPX-100 (Gem Pharmaceuticals)

	mitoxantrona (Novantron)	
Agentes antimitóticos	paclitaxel docetaxel colquicina vinblastina vincristina vinorelbina vindesina dolastatina 10 (NCI) rizoxina (Fujisawa) mivobulina (Warner-Lambert) cemadotina (BASF) RPR 109881A (Aventis) TXD 258 (Aventis) epotilona B (Novartis) T900607 (Tularik) T138067 (Tularik) criptoficina 52 (Eli Lilly) vinflunina (Fabre) auristatina (Teikoku Hormone) BMS 247550 (BMS) BMS 184476 (BMS) BMS 188797 (BMS) taxoprexin (Protarga)	SB 408075 (GlaxoSmithKline) E7010 (Abbott) PG-TXL (Cell Therapeutics) IDN 5109 (Bayer) A 105972 (Abbott) A 204197 (Abbott) IU 223651 (BASF) D 24851 (ASTA Medica) ER-86526 (Eisai) combretastina A4 (BMS) isohomohalicondrin-B (PharmaMar) ZD 6126 (AstraZeneca) PEG-Paclitaxel (Enzon) AZ10992 (Asahi) IDN-5109 (Indena) AVBL (Prescient NeuroPharma) Azaepotilon B (BMS) BNP-7787 (BioNumerik) CA-4-Pró-droga (OXiGENE) Dolastatina-10 (Nrh) CA-4 (OXiGENE)
Inibidores de aromatase	aminoglutetimida letrozol anastrozol formestano	exemestano atamestano (BioMedicines) YM-511 (Yamanouchi)
Inibidores de timidilato sintase	pemetrexed (Eli Lilly) ZD-9331 (BTG)	nolatrexed (Eximias) CoFactor™ (BioKeys)
Antagonistas de ADN	trabectedina (PharmaMar) glufosfamida (Baxter International) Albumina + 32P (Isotope Solutions) timectacina (NewBiotocs) edotreotida (Novartis)	mafosfamida (Baxter International) apaziquone (Spectrum Pharmaceuticals) O6-benzilguanina (Paligent)
Inibidores de farnesil transferases	arglabina (NuOncology Labs) ionafarnib (Schering-Plough) BAY-43-9006 (Bayer)	tipifarnib (Johnson & Johnson) Perilil álcool (DOR BioPharma)

Inibidores de bomba	CBT-1 (CBA Pharma) tariquidar (Xenova) MS-209 (Schering AG)	trihidrocloreto de Zosuquidar (Eli Lilly) dicitrato de biricodar (Vertex)
Inibidores de histona acetiltransferase	tacedinalina (Pfizer) SAHA (Aton Pharma) MS-275 (Schering AG)	pivaloiloiloximetilbutirato (Titan) péptido Depsina (Fujisawa)
Inibidores de metaloproteinases inibidores de ribonucleosídeo reductase	neovastat (Aeterna Laboratories) marimastat (British Biotech) maltolato de gálio (Titan) triapina (Vion)	CMT-3 (CollaGenex) BMS-275291 (Celltech) tezacitabina (Aventis) Didox (Molecules for Health)
Agonistas / antagonistas de TNF-alfa	virulizin (Lorus Therapeutics) CDC-394 (Celgene)	revimid (Celgene)
Antagonistas do receptor endotelina A	atrasentan (Abbot) ZD-4054 (AstraZeneca)	YM-598 (Yamanouchi)
Antagonistas de receptor de ácido retinóico	fenretinida (Johnson & Johnson) LGD-1550 (Ligand)	alitretinoína (Ligand)
Moduladores imunológicos	interferão oncofago (Antigenics) GMK (Progenics) vacina contra adenocarcinoma (Biomira) CTP-37 (AVI BioPharma) JRX-2 (Immuno-Rx) PEP-005 (Peplin Biotech) vacina sincrovax (CTL Immuno) vacina contra melanona (CTL Immuno) vacina contra P21-RAS (GemVax)	Terapia de dexosoma (Anosys) Pentrix (Australian Cancer Technology) JSF-154 (Tragen) vacina contra cancro (Intercell) norelina (Biostar) BLP-25 (Biomira) MGV (Progenics) !3-Aletin (Dovetail) CLL-Thera (Vasogen)
Agentes hormonais e anti-hormonais	estrogénio estrogénio conjugado etinilestradiol clorotrianiseno idenestrol caproato de hidroxiprogesterona	prednisona metilprednisolona prednisolona aminoglutetimida leuprolid goserelina leuporelina

	medroxiprogesterona testosterona propionato de testosterona fluoximesterona metiltestosterona dietilestilbestrol megestrol tamoxifeno toremofin dexametasona	bicalutamida flutamida octreotida nilutamida milotan P-04 (Novogen) 2-metoxiestradiol (EntreMed) arzoifeno (Eli Lilly)
Agentes fotodinâmicos	talaporfina (Light Sciences) Thelarux (Theratechnologies) gadolinio de motexafina (Pharmacyclics)	Pd-bacteriofeoforbide (Yeda) texafirina de lutécio (Pharmacyclics) hipericina
Inibidores de tirosina cinase	imatinib (Novartis) leflunomida (Sugen/Pharmacia) ZDI839 (AstraZeneca) erlotinib (Oncogene Science) canertinib (Pfizer) esqualamina (Genaera) SU5416 (Pharmacia) SU6668 (Pharmacia) ZD4190 (AstraZeneca) ZD6474 (AstraZeneca) vatalanibe (Novartis) PKI166 (Novartis) GW2016 (GlaxoSmithKline) EKB-509 (Wyeth) EKB-569 (Wyeth)	Kahalid F (PharmaMar) CEP-701 (Cephalon) CEP-751 (Cephalon) MLN518 (Millenium) PKC412 (Novartis) fenoxodiol O trastuzumab (Genentech) C225 (ImClone) Rhu-Mab (Genentech) MDX-H210 (Medarex) 2C4 (Genentech) MDX-447 (Medarex) ABX-EGF (Abgenix) IMC-1C11 (ImClone)
Vários agentes	SR-27897 (inibidor CCK- A, Sanofi-Synthelabo) tocladesina (agonista AMP cíclico, Ribapharm) alvocidib (inibidor CDK, Aventis) CV-247 (inibidor COX-2, Ivy Medical) P54 (inibidor COX-2, Phytopharm) CapCell™ (estimulante CYP450, Bavarian Nordic) GCS-100 (antagonista gal3, GlycoGenesis) G17DT - imunogénio	BCX-177 (inibidor PNP, BioCryst) ranpirnase (estimulante ribonuclease, Alfacell) galarubicina (inibidor síntese de ARN, Dong-A) tirapazamina (agente de redução, SRI International) N-acetilcisteína (agente de redução, Zambon) R-flurbiprofeno (inibidor NK-kappaB, Encore) 3CPA (inibidor NK-kappaB, Active Biotech)

<p>(inibidor gastrina, Aphton)</p> <p>efaproxiral (oxigenador, Allos Therapeutics)</p> <p>PI-88 (inibidor heparanase, Progen)</p> <p>tesmilifeno (antagonista histamina, YM BioSciences)</p> <p>histamina (agonista receptor histamina H2, Maxim)</p> <p>tiazofurina (inibidor IMPDH, Ribapharm)</p> <p>cilengitida (antagonista integrina, Merck KGaA)</p> <p>SR-31747 (antagonista IL-1, Sanofi Synthelabo)</p> <p>CCI-779 (inibidor cinase mTOR, Wyeth)</p> <p>exisulinde (inibidor PDE-V, Cell Pathways)</p> <p>CP-461 (inibidor PDE-V, Cell Pathways)</p> <p>AG-2037 (inibidor GART, Pfizer)</p> <p>WX-UK1 (inibidor activador plasminogénico, Willex)</p> <p>PBI-1402 (estimulante PMN, ProMetic LifeSciences)</p> <p>bortezomib (inibidor proteossoma, Millenium)</p> <p>SRL-172 (estimulante células T, SR Pharma)</p> <p>TLK-286 (inibidor glutational-S-transferase, Telik)</p> <p>PT-100 (agonista factor de crescimento, Point Therapeutics)</p> <p>midostaurina (inibidor PKC, Novartis)</p> <p>briostatina-1 (estimulante PKC, GPC Biotech)</p> <p>CDA-II (promotor apoptose, Everlife)</p> <p>SDX-101 (promotor apoptose, Salmedix)</p>	<p>seocalcitol (agonista receptor vitamina D, Leo)</p> <p>131-I-TM-601 (antagonista ADN, TransMolecular)</p> <p>eflornitina (inibidor ODC, ILEX Oncology)</p> <p>ácido minodróico (inibidor osteoclastos, Yamanouchi)</p> <p>indisulam (estimulante p53, Eisai)</p> <p>aplidin (inibidor PPT, PharmaMar)</p> <p>rituximab (anticorpo CD20, Genentech)</p> <p>gemtuzumab (anticorpo CD33, Wyeth Ayerst)</p> <p>PG2 (fortalecedor hematopoiese, Pharmagenesis)</p> <p>Immunol™ (elixir oral triclosano, Endo)</p> <p>triacetiluridina (pró-droga uridina, Wellstat)</p> <p>SN-4071 (agente sarcoma, Signature BioScience)</p> <p>TransMID-107™ (imunotoxina, KS, Biomedix)</p> <p>PCK-3145 (promotor apoptose, Procyon)</p> <p>doranidazol (promotor apoptose, Pola)</p> <p>CHS-828 (agente citotóxico, Leo)</p> <p>ácido trans-retinóico (diferenciador, NIH)</p> <p>MX6 (promotor apoptose, MAXIA)</p> <p>apomina (promotor apoptose, ILEX Oncology)</p> <p>urocidina (promotor apoptose, Bioniche)</p> <p>Ro-31-7453 (promotor apoptose, La Roche)</p> <p>brostalicina (promotor apoptose, Pharmacia)</p>
--	--

	ceflatonina (promotor apoptose, ChemGenex)	
--	--	--

Um tratamento conjunto deste tipo pode ser alcançado com o auxílio de dosagens simultâneas, consecutivas ou separadas dos componentes individuais. Estes produtos de combinação usam os compostos de acordo com a invenção.

## **ENSAIOS**

Os compostos de fórmula I descritos nos Exemplos foram testados nos ensaios a seguir descritos, e foi observado que eles apresentam uma actividade inibidora de cinases. Ensaios adicionais são conhecidos a partir da literatura, e podem ser facilmente realizados pelo perito na especialidade (ver, por exemplo, Dhanabal et al., Cancer Res. 59:189-197; Xin et al., J. Biol. Chem. 274:9116-9121; Sheu et al., Anticancer Res. 18:4435-4441; Ausprunk et al., Dev. Biol. 38:237-248; Gimbrone et al., J. Natl. Cancer Inst. 52:413-427; Nicosia et al., In Vitro 18:538-549).

### **Medição da actividade da cinase Met**

A cinase Met é expressa, de acordo com as indicações do fabricante (Met, activa, Upstate, N°. catálogo 14-526), para fim de expressão de proteína em células de insecto (Sf21; *S. frugiperda*), e de purificação subsequente por cromatografia de afinidade, na forma de uma proteína humana recombinante "N-terminal 6His-tagged", num vector de expressão de Baculovirus.

Para a medição da actividade de cinase, podem referir-se diferentes sistemas de medição disponíveis. Nos métodos Scintillation-Proximity (Sorg et al., J. of Biomolecular Screening, 2002, 7, 11-19), processo de Flash-Plate ou teste de ligação a filtro, é medida a fosforilação radioactiva de uma proteína ou péptido como substrato, com

ATP marcado radioativamente ( $^{32}\text{P}$ -ATP,  $^{33}\text{P}$ -ATP). Na presença de um composto inibitório, é observado um sinal radioactivo reduzido, ou não é observado qualquer sinal. Adicionalmente, podem ser utilizadas as tecnologias Homogeneous Time-resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer (HTR-FRET) e polarização de fluorescência (FP) como processos de ensaio (Sills et al., J. of Biomolecular Screening, 2002, 191-214).

Outros processos de ensaio ELISA não radioactivos utilizam anticorpos específicos para proteínas fosforiladas (Phospho-AK). O anticorpo fosfo liga-se apenas a substratos fosforilados. Esta ligação é detectada através de quimioluminescência, usando um segundo anticorpo conjugado com peroxidase (Ross et al., 2002, Biochem. J.).

#### **Processo Flashplate (cinase Met):**

Como placa de teste, podem usar-se placas de microtitulação de 96 poços Flashplate, da marca Perkin Elmer (Nº. cat. SMP200). Para esta placa de ensaio são pipetados os componentes da reacção de cinase a seguir descritos. A cinase Met e o substrato poli Ala-Glu-Lys-Tyr, (pAGLT, 6:2:5:1) são incubados com ATP marcado com  $^{33}\text{P}$ , na presença e na ausência da substância de teste, num volume total de 100  $\mu\text{L}$ , à temperatura ambiente, durante 3 h. A reacção é parada com 150  $\mu\text{L}$  de uma solução 60 mM de EDTA. Após incubação por mais 30 minutos à temperatura ambiente, os sobrenadantes são removidos e os poços são lavados 3 vezes com 200  $\mu\text{L}$  de uma solução 0,9% de NaCl. A medição da radioactividade ligada realiza-se por intermédio de um aparelho de cintilação (Topcount NXT, empresa Perkin-Elmer).

Como valor total é utilizada a reacção cinase na ausência de inibidor. Este deve corresponder a cerca de 6000-9000 cpm. Como valor zero, é utilizada staurosporina numa concentração final de 0,1 mM. A determinação do valor de inibição (IC50) segue-se, com a utilização do programa RS1\_MTS().

Condições de reacção de cinase por poço:

30 µL de tampão de ensaio

10 µL de substância a testar, em tampão de ensaio com 10% DMSO

10 µL de ATP (concentração final 1 µM frio, 0,35 µCi <sup>33</sup>P-ATP)

50 µL de mistura cinase Met/substrato em tampão de ensaio;  
(10 ng de enzima/poço, 50 ng de pAGLT/poço)

Soluções utilizadas:

- tampão de ensaio:

50 mM HEPES

3 mM cloreto de magnésio

3 µM ortovanadato de sódio

3 mM cloreto de manganésio (II)

1 mM ditiotreitol (DTT)

pH=7,5 (ajustado com hidróxido de sódio)

- solução de paragem:

60 mM titriplex III (EDTA)

- <sup>33</sup>P-ATP: Perkin-Elmer;

- cinase Met: Upstate, N°. cat. 14-526, stock 1 µg/10µL; actividade específica 954 U/mg;

- Poli-Ala-Glu-Lys-Tyr, 6:2:5:1, Sigma, N°. cat. P1152.

### **Testes in vivo (FIG. 1/1)**



**Procedimento experimental:** ratinhos Balb/C fêmeas (criador: Charles River Wiga) foram recebidos com 5 semanas de idade. Foram aclimatizados nas nossas condições de manutenção durante 7 dias. Seguidamente, cada ratinho foi injectado subcutaneamente com 4 milhões de células TPR-Met/NIH3T3 em 100  $\mu$ L de PBS (sem  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{Mg}^{++}$ ), na região da pélvis. 5 dias depois, os animais foram randomizados em 3 grupos, de forma que cada grupo de 9 ratinhos continha um tamanho médio de tumor de 110  $\mu$ L (intervalo 55 - 165). Ao grupo controlo foram administrados 100  $\mu$ L de veículo (0,25% metilcelulose / 100 mM de tampão acetato, pH 5,5); ao grupo de tratamento, foram administrados 200 mg/kg de "A56" ou "A91", dissolvidos em veículo (volume igualmente de 100  $\mu$ L / ratinho), em ambos os casos por gavagem. 9 dias depois, os controlos tinham um volume médio de 1530  $\mu$ L e a experiência foi terminada.

**Medição do volume dos tumores:** o comprimento (L) e largura (B) foram medidos com uma craveira, e o volume do tumor foi calculado pela fórmula  $L \times B \times B / 2$ .

**Condições de manutenção:** cada 4 ou 5 animais por jaula, alimentação com ração comercial para ratinhos (empresa Sniff).

Os compostos "A56" e "A91" apresentam uma actividade anti-tumoral convincente.

Em todo o documento, todas as temperaturas são dadas em  $^{\circ}\text{C}$ . Nos Exemplos seguintes, "processamento habitual" significa: adiciona-se, se necessário, água; ajusta-se, se necessário e dependendo da constituição do produto final, o pH para valores entre 2 e 10; extrai-se com etilacetato ou

diclorometano; separa-se, seca-se a fase orgânica em sulfato de sódio, evapora-se e purifica-se por cromatografia em sílica gel e/ou através de cristalização. Valores de Rf na sílica gel; fase móvel: etilacetato/metanol 9:1.

Espectrometria de massa (MS):

EI (impacto de electrões)  $M^+$

FAB (Fast Atom Bombardment)  $(M+H)^+$

ESI (ionização por electrospray)  $(M+H)^+$

APCI-MS (atmospheric pressure chemical ionization - mass spectrometry)  $(M+H)^+$

Espectrometria de massa (MS):

EI (impacto de electrões)  $M^+$

FAB (Fast Atom Bombardment)  $(M+H)^+$

ESI (ionização por electrospray)  $(M+H)^+$

APCI-MS (atmospheric pressure chemical ionization - mass spectrometry)  $(M+H)^+$

### **Métodos de HPLC:**

**Método A:** gradiente: 4,5 min/ Fl.: 3 mL/min 99:01 - 0:100

Água + 0,1% (vol) TFA : Acetonitrilo + 0,1% (vol) TFA

0,0 até 0,5 min: 99:01

0,5 até 3,5 min: 99:01 ---> 0:100

3,5 até 4,5 min: 0:100

Coluna: Chromolith SpeedROD RP18e 50-4,6

Comprimento de onda: 220 nm

**Método B:** gradiente: 4,2 min/ fluxo: 2 mL/min 99:01 - 0:100

Água + 0,1% (vol) TFA : Acetonitrilo + 0,1% (vol) TFA

0,0 até 0,2 min: 99:01

0,2 até 3,8 min: 99:01 ---> 0:100

3,8 até 4,2 min: 0:100

Coluna: Chromolith Performance RP18e; 100 mm de comprimento

Diâmetro interno: 3 mm

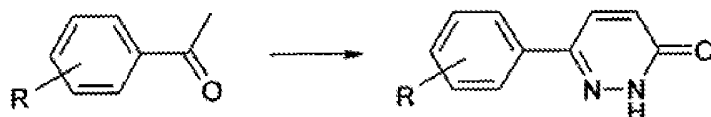
Comprimento de onda: 220 nm

Tempo de retenção em minutos [min].

### **Exemplos**

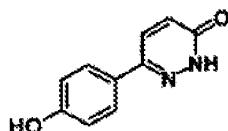
Preparação dos compostos de partida

#### **Procedimentos gerais do trabalho 1 (AAV 1):**



1 equivalente da acetofenona é misturado com 1-1,2 equivalentes de ácido glioxílico e ácido acético (2 equivalentes), e agitado durante 3-24 h a 95°C. A mistura de reacção é arrefecida, misturada com água (3-5 mL por g de acetofenona), neutralizada com solução de amoníaco a 25%, com arrefecimento em gelo, e misturada com 1 equivalente de hidróxido de hidrazina. É agitada sob condições de refluxo durante 3 h, em que se forma um precipitado polpudo, de forma que em alguns casos é necessária a adição de água. Após o arrefecimento, o precipitado é extraído, lavado com água e seco.

#### **6-(4-hidroxi-fenil)-2H-piridazin-3-ona**

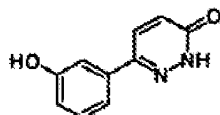


50 g de 4-hidroxiacetofenona são transformados em piridazinona, de acordo com AAV 1.

Rendimento: 41,8 g, ESI 211; Rt = 1,95 min (método A).

A substância é subsequentemente transformada sem purificação adicional.

6-(3-hidroxi-fenil)-2H-piridazin-3-ona

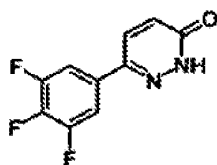


15 g de 3-hidroxiacetofenona são transformados em piridazinona, de acordo com AAV 1.

Rendimento: 11,1 g, ESI 211; Rt = 1,99 min (método A).

A substância é subsequentemente transformada sem purificação adicional.

6-(3,4,5-trifluoro-fenil)-2H-piridazin-3-ona

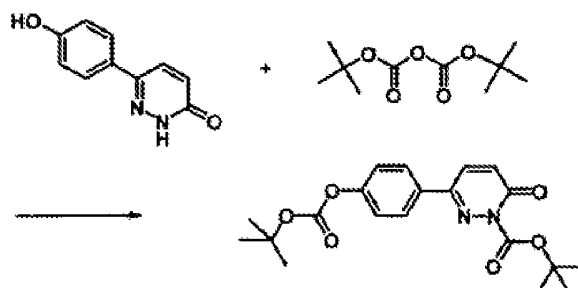


20 g de 3,4,5-trifluoroacetofenona são transformados em piridazinona, de acordo com AAV 1.

Rendimento: 12,9 g, ESI 227; Rt = 2,44 min (método B).

A substância é subsequentemente transformada sem purificação adicional.

tert.-butiléster de ácido 3-(4-tert.-butoxicarboniloxi-fenil)-6-oxo-6H-piridazin-1-carboxílico

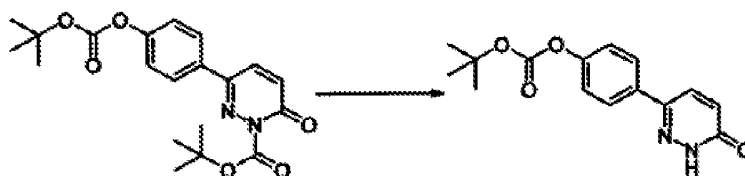


10 g (53 mmol) de 6-(4-hidroxi-fenil)-2H-piridazin-3-ona são dissolvidos em 25 mL de acetonitrilo, e misturados com 19 g (58,5 mmol) de carbonato de cálcio e 12,8 g (58,5 mmol) de Di-tert.-butildicarbonato. O produto de reacção é agitado drante 20 h à temperatura ambiente. Seguidamente, são adicionados mais 3,5 g (16 mmol) de Di-tert.-butildicarbonato a 10 mL de acetonitrilo e novamente agitado durante 20 h à temperatura ambiente. A mistura de reacção é concentrada e o sedimento é dissolvido em 80 mL de DMF. A mistura de reacção é agitada durante 20 h, à temperatura ambiente. Seguidamente, mais 13 g (59,6 mmol) de Di-tert.-butildicarbonato são adicionados a 40 mL de dioxano. 20 h depois, a mistura de reacção é evaporada até secar, o sedimento é dissolvido em etilacetato e solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio. A fase aquosa é supersaturada com cloreto de sódio, a fase orgânica é separada, e a fase aquosa é novamente extraída com etilacetato. As fases orgânicas juntas são lavadas com HCl 1 N e solução saturada de cloreto de sódio, secas em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e evaporadas.

Rendimento: 16,4 g, ESI 289 (M-Boc+H); Rt = 3,19 min (método A).

O produto é subsequentemente transformado sem purificação adicional.

**tert.-butiléster-4-(6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-3-il)-  
feniléster de ácido carboxílico**

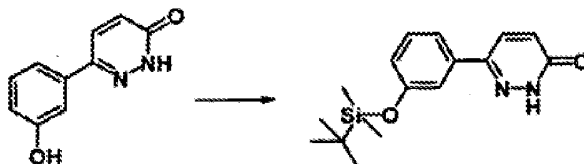


9,4 g (24,2 mmol) de tert.-butiéster de ácido 3-(4-tert.-butoxicarboniloxi-fenil)-6-oxo-6H-piridazin-1-carboxílico e

17,9 g (48,4 mmol) de iodeto de N-tetrabutílamónio são colocados em refluxo em 70 mL de acetona, durante 72 h. O solvente é evaporado e o sedimento é misturado com 70 mL de etanol. A mistura de reacção é colocada em refluxo por mais 24 h. O solvente é destilado e o sedimento é purificado por cromatografia de coluna em sílica gel.

Rendimento: 5,0 g (sólido beije), ESI 289; Rt = 2,67 min (método A).

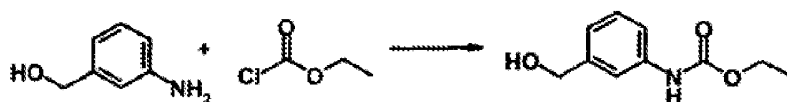
**6-[3-(tert.-butil-dimetil-silaniloxi)-fenil]-2H-piridazin-3-ona**



11,1 g (59 mmol) de 6-(3-hidroxi-fenil)-2H-piridazin-3-ona são dissolvidos em 100 mL de DMF, misturados com 19,7 mL (142 mmol) de trietilamina e 11,6 g (77 mmol) de TBDMS-Cl, e agitados durante 20 h à temperatura ambiente. A mistura de reacção foi misturada com água e extraída 3 x com etilacetato. As fases orgânicas juntas são lavadas com água, secas em sulfato de sódio e concentradas para formar o sedimento.

Rendimento: 17 g (óleo castanho), ESI 303; Rt = 3,21 min (método A).

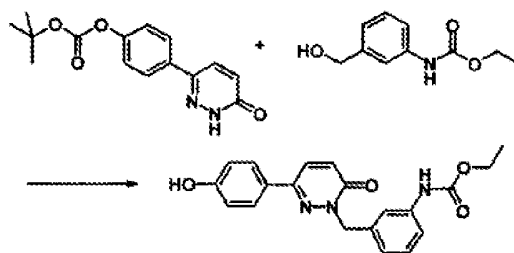
**Etiléster de ácido (3-hidroximetil-fenil)-carbamínico**



50 g (406 mmol) de 3-aminobenzilálcool são ressuspensos em 750 mL de diclorometano, em atmosfera de azoto, e agitados durante 30 min à temperatura ambiente, e

seguidamente arrefecidos para 0°C. São adicionados lentamente gota a gota 49 g (452 mmol) de cloroformiato de etilo. Após a adição, a mistura de reacção é agitada durante 20 h e depois lentamente aquecida até a temperatura ambiente. A suspensão formada é misturada com 300 mL de solução de carbonato de potássio a 1 M (formação de gás!). A fase orgânica é separada, a fase aquosa é extraída com 200 mL de diclorometano, as fases orgânicas juntas são lavadas com solução saturada de cloreto de sódio, secas em sulfato de sódio, e o solvente é destilado. Rendimento: 67,7 g, óleo que cristaliza num sólido de cor beije; ESI 196; Rt = 1,98 min (método B).

**Etiléster de ácido {3-[3-(4-hidroxi-fenil)-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil]-fenil}-carbamínico**



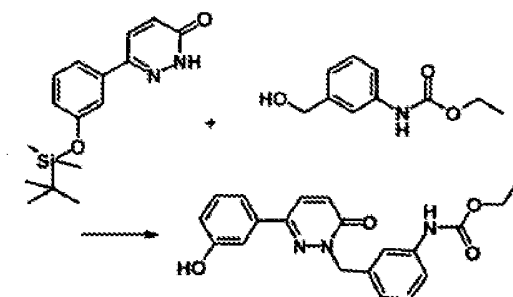
5 g (17,3 mmol) de tert.-butiléster-4-(6-oxo-1,6-dihidropiridazin-3-il)-feniléster de ácido carboxílico, 5,08 g (26 mmol) de etiléster de ácido (3-hidroximetil-fenil)-carbamínico e 6,8 g (26 mmol) de trifenilfosfina são dissolvidos em 400 mL de THF. A solução amarela é arrefecida em atmosfera de azoto até 0°C, 4,1 mL (26 mmol) de dietilazodicarboxilato são adicionados lentamente gota a gota, e a mistura de reacção é agitada durante 20 h à temperatura ambiente. A suspensão amarela é concentrada até se formar um sedimento. O sedimento é dissolvido em 300 mL de diclorometano e adicionado a 40 mL de ácido trifluoroacético. A mistura de reacção é agitada durante 20 h à temperatura ambiente, evaporada até ao sedimento, e o óleo duro é misturado com 100 mL de água, 200 mL de NaOH 1N

e 100 mL de etilacetato. Assim, forma-se um precipitado, que é extraído, lavado com água e seco em vácuo.

Rendimento: 6,4 g de sólido amarelo; ESI 366; Rt = 2,56 min (método A).

O produto é subsequentemente transformado sem purificação adicional.

**Etiléster de ácido {3-[3-(3-hidroxi-fenil)-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil]-fenil}-carbamínico**



17 g (56,2 mmol) de 6-[3-(tert.-butil-dimetil-silaniloxi)-fenil]-2H-piridazin-3-ona, 11 g (56,2 mmol) de etiléster de ácido (3-hidroximetil-fenil)-carbamínico e 14,7 g (56 mmol) de trifenilfosfina são dissolvidos em 100 mL de DMF e 400 mL de THF. A solução amarela é arrefecida em atmosfera de azoto até 0°C e 4,1 mL (26 mmol) de dietilazodicarboxilato são adicionados lentamente gota a gota, e a mistura de reacção é agitada durante 20 h à temperatura ambiente. A suspensão amarela é concentrada até se formar um sedimento. O sedimento é adicionado a água e extraído com etilacetato, seco em sulfato de sódio e o solvente é destilado. O sedimento é agitado com isopropanol durante 15 h, o precipitado formado é extraído e lavado com isopropanol. O sedimento é seco em vácuo (6,8 g), misturado com 150 mL de THF e 5 g (61 mmol) de fluoreto de tetrametilamónio. A mistura é agitada durante a noite, à temperatura ambiente. O sedimento é dissolvido em etilacetato e adicionado a água. Forma-se um sólido, o qual é extraído e descartado. A fase orgânica é separada da fase

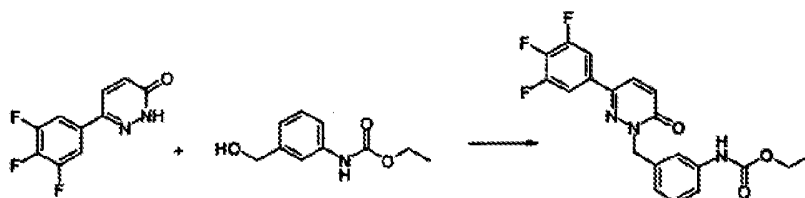


aquosa. A fase orgânica é novamente lavada com solução saturada de cloreto de sódio, seca em sulfato de sódio e concentrada até se formar o sedimento.

Rendimento: 4,2 g, sólido beije; ESI 366; Rt = 2,59 min (método A).

A substância é subsequentemente transformada sem purificação adicional.

**Etiléster de ácido {3-[6-oxo-3-(3,4,5-trifluoro-fenil)-6H-piridazin-1-ilmetil]-fenil}-carbamínico**

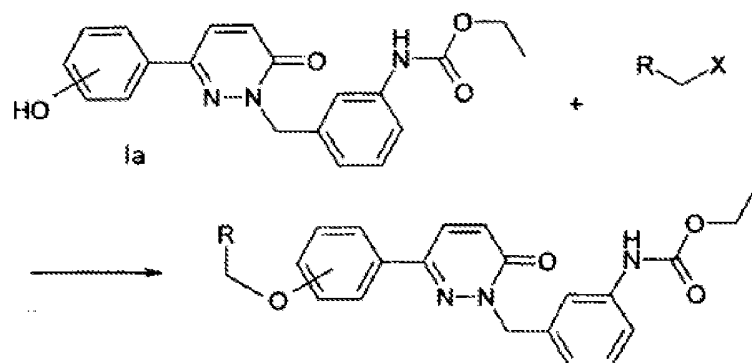


3 g (13,3 mmol) de 6-(3,4,5-trifluoro-fenil)-2H-piridazin-3-ona, 2,6 g (13,3 mmol) de etiléster de ácido (3-hidroximetil-fenil)-carbamínico e 4,2 g (15,9 mmol) de trifenilfosfina são dissolvidos em 30 mL de THF. A solução amarela é arrefecida em atmosfera de azoto até 0°C, e 2,7 mL (17,2 mmol) de dietilazodicarboxilato são adicionados lentamente gota a gota, e a mistura de reacção é agitada durante 72 h à temperatura ambiente. A suspensão amarela é concentrada até se formar um sedimento. O sedimento é adicionado a 200 mL de isopropanol e agitado durante 15 h. Forma-se um precipitado, o qual é extraído e lavado com isopropanol, e seco em vácuo.

Rendimento: 3,8 g, sólido de cor beije; ESI 404; Rt = 3,18 min (método B).

O produto é subsequentemente transformado sem purificação adicional.

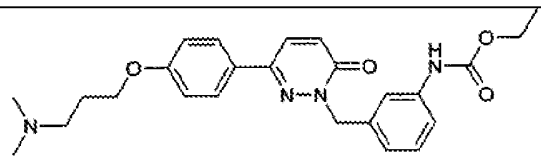
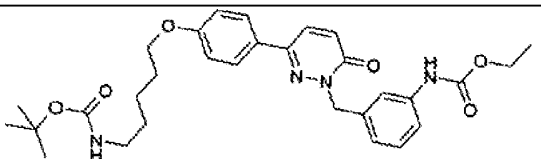
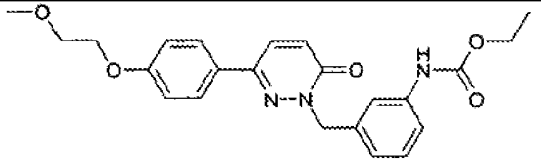
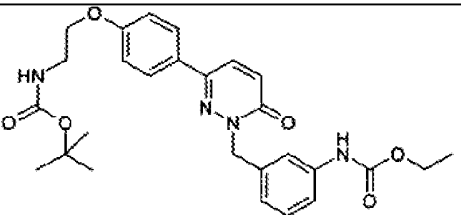
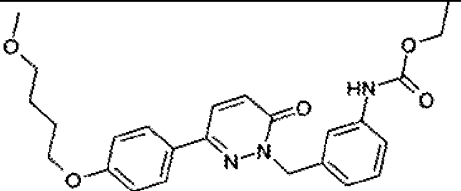
**Procedimentos gerais do trabalho 2:**

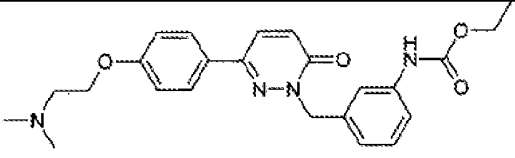
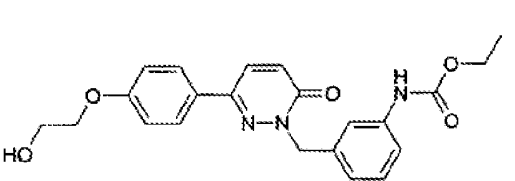
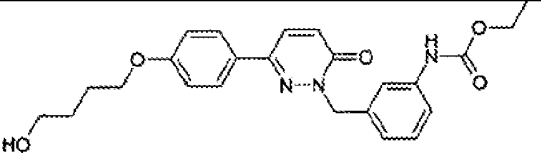
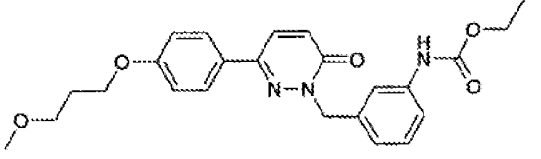


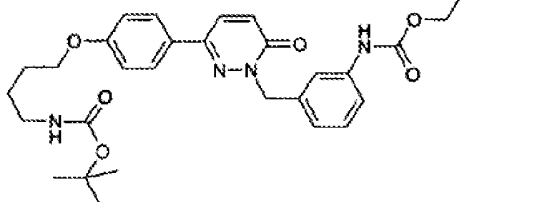
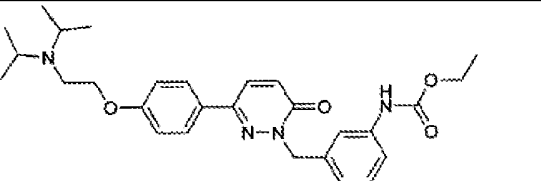
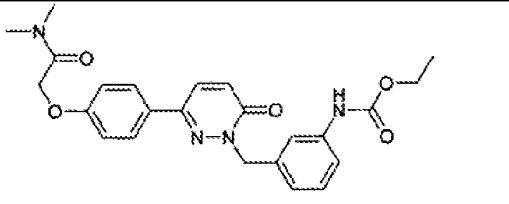
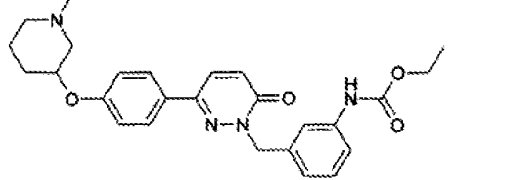
1 equivalente do fenol 1a é misturado com 1 - 2 equivalentes de brometo de alquilo ou cloreto de alquilo e 2,5 equivalentes de carbonato de cálcio em DMF (3-10 mL por mmol de fenol), e agitado durante 15-72 h à temperatura ambiente. Seguidamente, é filtrado e o filtrado é directamente purificado por HPLC preparativa. As fracções purificadas são juntas e liofilizadas.

Assim, são produzidos os seguintes compostos

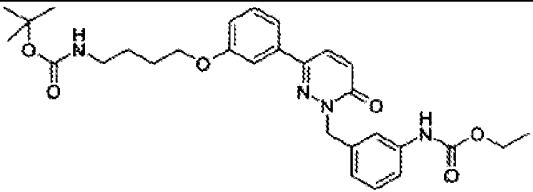
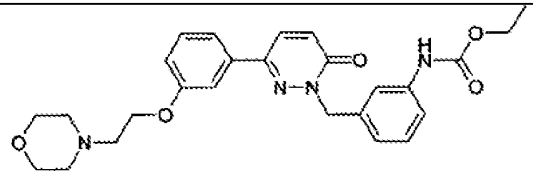
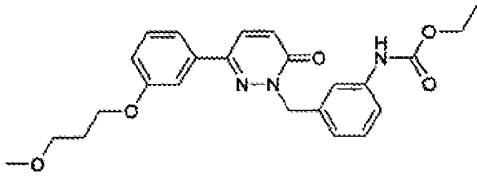
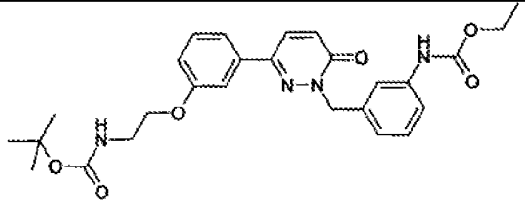
Nº.	Estrutura e/ou Nome	ESI	HPLC
"A1"	<p>etiléster de ácido (3-{3-[4-(2-morfolin-4-il-etoxi)-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-fenil)-carbamínico, trifluoroacetato</p>	479	2,37 (A)
<sup>1</sup> H-NMR (d <sub>6</sub> -DMSO): δ [ppm] = 9,971 (1H, b), 9,584 (1H, s), 8,046 (1H, d), 7,879 (2H, d), 7,477 (1H, s), 7,364 (1H, d), 7,231 (1H, t), 7,117 (2H, d), 7,075 (1H, d), 6,961 (1H, d), 5,258 (2H, s), 4,414 (2H, t), 4,094 (2H, q), 3,15-4,05 (10H, m), 1,218 (3H, t).			
"A2"	<p>etiléster de ácido (3-{3-[4-(3-hidroxi-propoxi)-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-fenil)-carbamínico</p>	424	2,51 (A)

<sup>1</sup> H-NMR (d <sub>6</sub> -DMSO): δ [ppm] = 9,584 (1H, b), 8,027 (1H, d), 7,827 (2H, d), 7,456 (1H, s), 7,375 (1H, d), 7,232 (1H, t), 7,037 (3H, m), 6,968 (1H, d), 5,250 (2H, s), 4,532 (1H, b), 4,049 (4H, m), 3,563 (2H, m), 1,875 (2H, m), 1,216 (3H, t).			
"A3"	 <p>etiléster de ácido (3-{3-[4-(3-dimetilamino-propoxi)-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-fenil)-carbamínico, trifluoroacetato</p>	451	2,40 (A)
<sup>1</sup> H-NMR (d <sub>6</sub> -DMSO): δ [ppm] = 9,595 (1H, s), 9,363 (1H, b), 8,046 (1H, d), 7,863 (2H, d), 7,482 (1H, s), 7,380 (1H, d), 7,243 (1H, t), 7,03-7,11 (3H, m), 6,971 (1H, d), 5,265 (2H, s), 4,108 (4H, m), 3,274 (2H, m), 2,838 (6H, d), 2,133 (2H, m), 1,218 (3H, t).			
"A4"	 <p>etiléster de ácido (3-{3-[4-(5-tert.-butoxicarbonilamino-pentiloxi)-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-fenil)-carbamínico</p>	551	3,20 (A)
"A5"	 <p>etiléster de ácido (3-{3-[4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-fenil)-carbamínico</p>	424	2,81 (A)
"A6"		509	3,00 (A)
"A7"		452	3,04 (A)

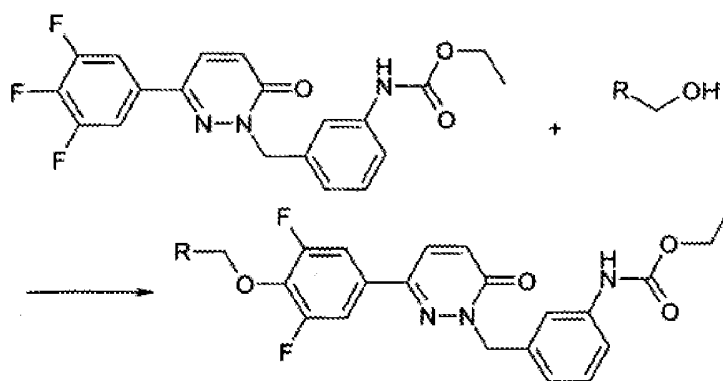
"A8"	 trifluoroacetato	437	2,25 (B)
"A9"		410	2,74 (B)
"A10"		438	2,76 (B)
"A11"		438	3,11 (B)

"A12"		536	3,30 (B)
"A13"	 trifluoroacetato	493	2,47 (B)
"A14"		451	2,59 (B)
"A15"		477	2,39 (B)



			
"A24"	 trifluoroacetato	479	2,33 (B)
"A25"		438	3,08 (B)
"A26"		409 (M-BOC+H)	3,17 (B)

### Procedimentos gerais do trabalho 3:



2 equivalentes de álcool são dissolvidos em DMF (10 mL por mmol de álcool), e misturados com 3 equivalentes de NaH em óleo de parafina, em atmosfera de azoto, e agitados à temperatura ambiente. 10 minutos depois, é adicionado 1 equivalente de etiléster de ácido {3-[6-oxo-3-(3,4,5-trifluoro-fenil)-6H-piridazin-1-ilmetil]-fenil}-carbamínico

e agitado em atmosfera de azoto, à temperatura ambiente. A reacção é seguida por intermédio de HPLC. Após 3-24 h, a reacção é parada.

#### **Processamento:**

##### **A: reacções com álcoois básicos**

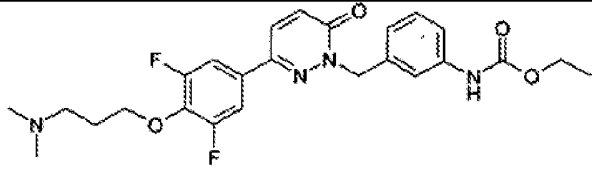
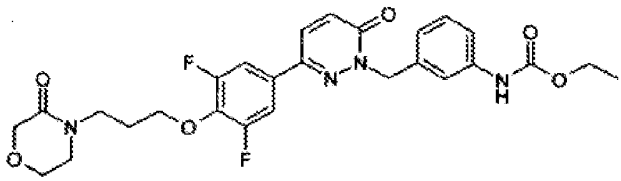
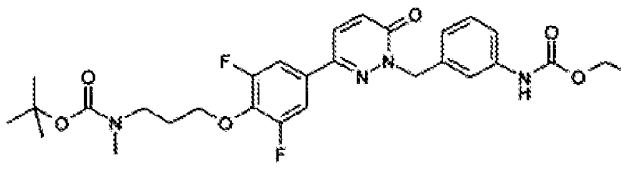
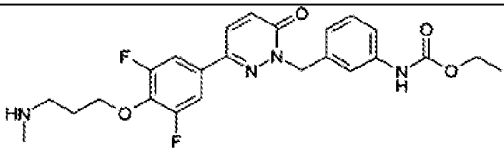
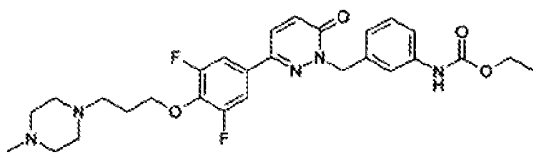
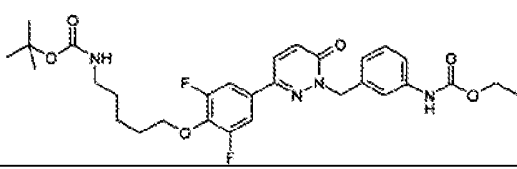
A mistura é neutralizada com 1 N HCl. A mistura é concentrada até a formação de um sedimento, o sedimento é ressuspenso em etilacetato (100 mL por mmol de álcool) e extraído com solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio (20 mL por mmol de álcool) e solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio / cloreto de sódio (1:1, 20 mL por mmol de álcool). A fase orgânica é extraída 2 x com HCl 2N (30 mL por mmol de álcool). A fase aquosa é cuidadosamente neutralizada com hidrogenocarbonato de sódio, e extraída com 2 x 50 mL de etilacetato. As fases orgânicas são secas em sulfato de sódio e evaporadas, o sedimento é purificado por intermédio de HPLC preparativa.

##### **B: reacções com álcoois neutrais ou ácidos**

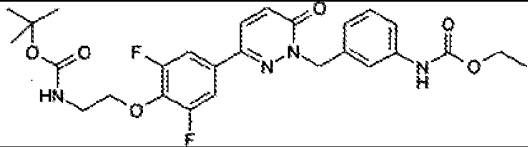
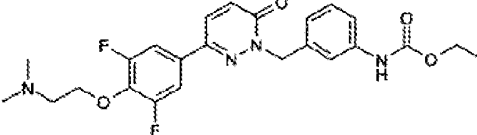
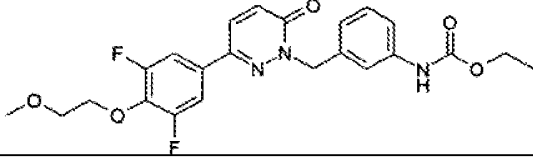
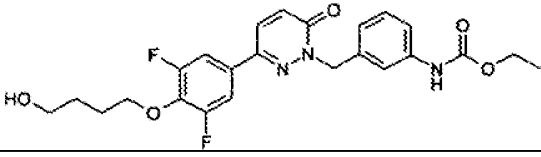
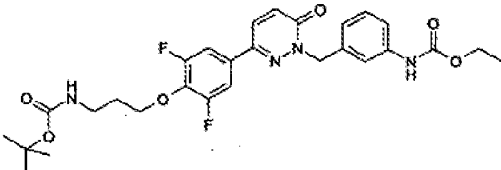
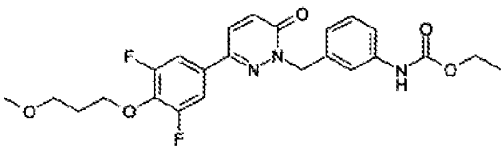
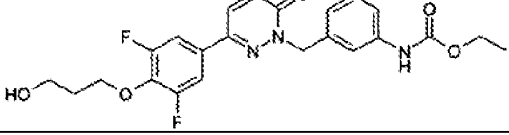
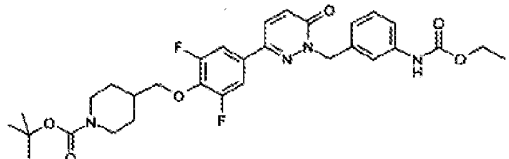
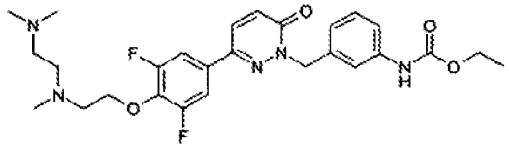
A solução de reacção é adicionada a água gelada (50 mL por mmol de álcool). A fase aquosa é extraída com 2 x etilacetato (50 mL por mmol de álcool), as fases orgânicas são lavadas com solução semi-saturada de cloreto de sódio, secas em sulfato de sódio. O solvente é destilado e o sedimento é purificado por intermédio de HPLC preparativa.

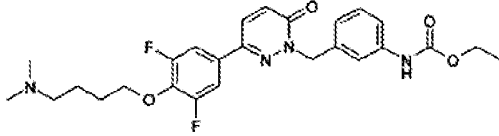
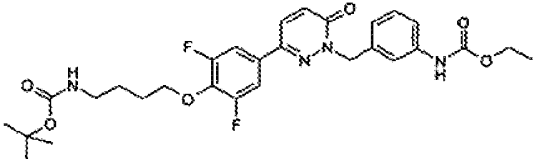
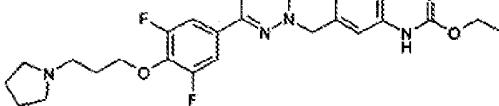
Assim, são produzidos os seguintes compostos

Nº.	Estrutura e/ou Nome	ESI	HPLC
"A27"		487	2,43 (B)

	 <p>trifluoroacetato</p>		
	<sup>1</sup> H-NMR (d <sub>6</sub> -DMSO): δ [ppm] = 9,596 (1H, s), 9,389 (1H, b), 8,105 (1H, d), 7,731 (2H, d), 7,514 (1H, s), 7,356 (1H, d), 7,237 (1H, t), 7,113 (1H, d), 6,976 (1H, d), 5,269 (2H, s), 4,240 (2H, t), 4,099 (2H, q), 3,259 (2H, m), 2,824 (6H, b), 2,102 (2H, m), 1,221 (3H, t).		
"A28"		543	2,85 (B)
	<sup>1</sup> H-NMR (d <sub>6</sub> -DMSO): δ [ppm] = 9,604 (1H, s), 8,110 (1H, d), 7,721 (2H, d), 7,511 (1H, s), 7,389 (1H, d), 7,248 (1H, t), 7,106 (1H, d), 6,993 (1H, d), 5,276 (2H, s), 4,200 (2H, t), 4,110 (2H, q), 4,016 (2H, s), 3,830 (2H, t), 3,492 (2H, t), 3,383 (2H, t), 2,824 (6H, b), 1,962 (2H, m), 1,230 (3H, t).		
"A29"		473 (M- BOC+H)	3,26 (B)
"A29a"	 <p>trifluoroacetato; Obtido a partir de "A29", através de separação BOC</p>	473	2,40 (B)
"A30"	 <p>trifluoroacetato</p>	541	2,26 (B)
"A31"		487 (M- Boc+H)	3,46 (B)
"A32"		445 (M-	3,22 (B)



		Boc+H)	
"A33"	 trifluoroacetato	473	2,33 (B)
"A34"		460	3,02 (B)
"A35"		474	2,86 (B)
"A36"		459 (M- Boc+H)	3,27 (B)
"A37"		474	3,15 (B)
"A38"		460	2,76 (B)
"A39"		599	3,69 (B)
"A40"	 trifluoroacetato	530	2,16 (B)

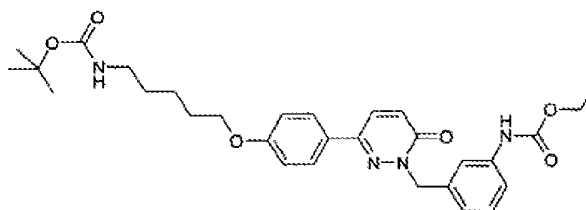
"A41"	 Trifluoroacetato	501	2,50 (B)
"A42"		473 (M- Boc+H)	3,44 (B)
"A43"	 trifluoroacetato	513	2,52 (B)

#### Procedimentos gerais do trabalho 4:

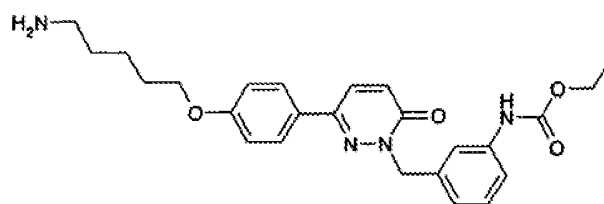
Separação de um grupo de protecção tert.-butiloxicarbonil de um grupo amina

O composto protegido por BOC é dissolvido em diclorometano e misturado com 10 - 20 equivalentes de ácido trifluoroacético. A reacção é agitada durante 1 a 20 h, à temperatura ambiente (controlo da reacção por intermédio de HPLC). A mistura de reacção é evaporada e seca em vácuo. O produto cru é purificado por HPLC preparativa, caso necessário.

Assim, com base em



obtém-se o seguinte composto "A44"



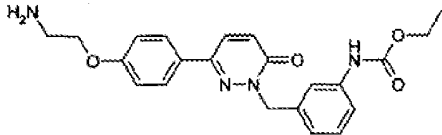
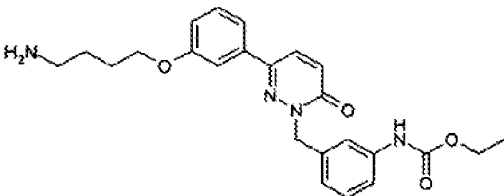
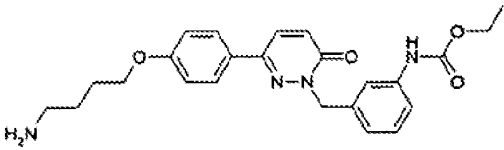
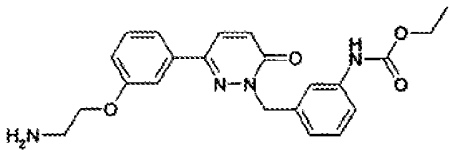
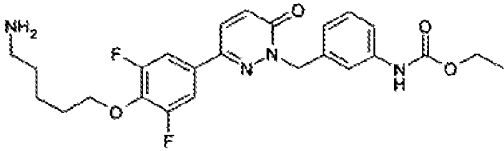
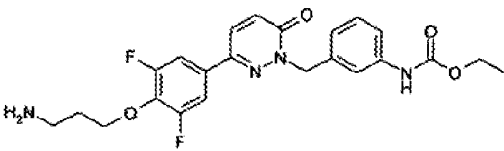
"A44"

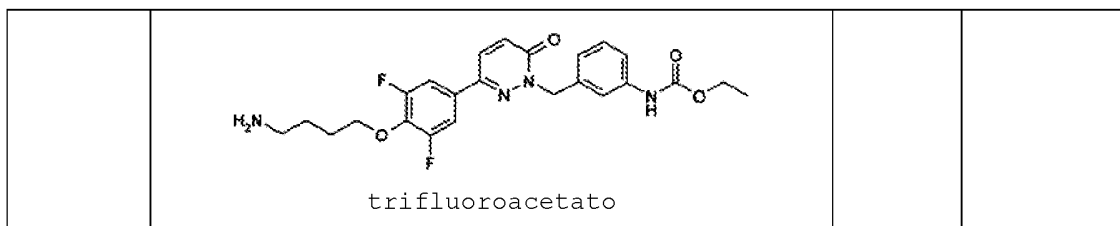
Trifluoroacetato; ESI 451; HPLC 2,48 min. (Método A).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{d}_6\text{-DMSO}$ ):  $\delta$  [ppm] = 9,595 (1H, s), 8,036 (1H, d), 7,839 (2H, d), 7,692 (3H, b), 7,475 (1H, s), 7,385 (1H, d), 7,242 (1H, t), 7,067 (1H, d), 7,034 (2H, d), 6,972 (1H, d), 5,262 (2H, s), 4,106 (2H, q), 4,038 (2H, t), 2,826 (2H, m), 1,763 (2H, m), 1,615 (2H, m), 1,484 (2H, m), 1,229 (3H, t).

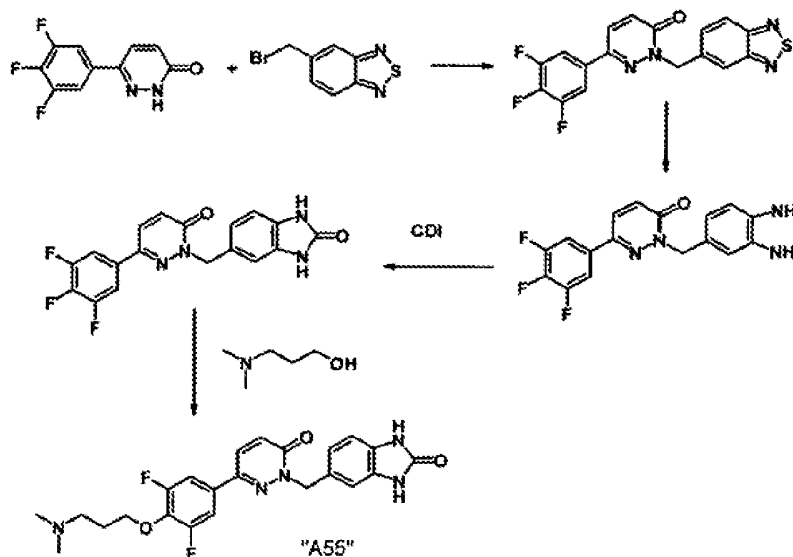
Assim, são produzidos os seguintes compostos

Nº.	Estrutura e/ou Nome	ESI	HPLC
"A45"	<p>trifluoroacetato</p>	445	2,26 (B)
"A46"	<p>trifluoroacetato</p>	528	2,22 (B)
"A47"		499	2,47 (B)

	trifluoroacetato		
"A48"	 <p>Trifluoroacetato</p>	409	2,21 (B)
"A49"	 <p>trifluoroacetato</p>	437	2,40 (B)
"A50"	 <p>trifluoroacetato</p>	437	2,35 (B)
"A51"	 <p>trifluoroacetato</p>	409	2,24 (B)
"A52"	 <p>trifluoroacetato</p>	487	2,52 (B)
"A53"	 <p>trifluoroacetato</p>	459	2,35 (B)
"A54"		473	2,47 (B)



**Preparação de 5-{3-[4-(3-dimetilamino-propoxi)-3,5-difluoro-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-1,3-dihidro-benzimidazol-2-ona ("A55")**



**Passo 1: 2-benzo[1,2,5]tiadiazol-5-ilmetil-6-(3,4,5-trifluoro-fenil)-2H-piridazin-3-ona:**

3,0 g (13,3 mmol) de 6-(3,4,5-trifluoro-fenil)-2H-piridazin-3-ona e 4,8 g (14,4 mmol) de carbonato de cácio são ressuspensos em 250 mL de DMF, e misturados com 3,0 g (13,3 mmol) de 5-(bromo-metil)2,1,3-benzotiadiazol e agitados à temperatura ambiente. Após 15 h, a mistura de reacção é misturada com 110 mL de água e agitada durante 2 h à temperatura ambiente. O precipitado formado é extraído e lavado com água e seco em vácuo.

Rendimento: 4,1 g, (sedimento castanho claro); ESI 375; Rt = 3,32 min (método B).

**Passo 2: 2-(3,4-diamino-benzil)-6-(3,4,5-trifluoro-fenil)-2H-piridazin-3-ona:**

3,5 g (9,4 mmol) de 2-benzo[1,2,5]tiadiazol-5-ilmetil-6-(3,4,5-trifluoro-fenil)-2H-piridazin-3-ona são dissolvidos em 35 mL de THF e hidratados com 2 g de Raney-Ni (70%, humidade), em atmosfera de água, a 30°C e pressão de 2 bar, em autoclave. Após 17 h, são novamente adicionados 3 g de Raney-Ni (70%, humidade), e novamente hidratado durante 16 h, a 35°C e pressão de 2 bar. O catalisador é separado, lavado e o filtrado é evaporado até secar.

Rendimento: 3,1 g, sólido amarelo; ESI 341; Rt = 2,37 min (método B).

**Passo 3: 5-[6-oxo-3-(3,4,5-trifluoro-fenil)-6H-piridazin-1-ilmetil]-1,3-dihidro-benzimidazol-2-ona:**

1 g (2,89 mmol) e 2-(3,4-diamino-benzil)-6-(3,4,5-trifluoro-fenil)-2H-piridazin-3-ona é dissolvido em 10 mL de THF, misturado com 702 mg (4,33 mmol) de 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) e agitado à temperatura ambiente. Após 15 h, o precipitado formado é extraído, lavado com THF e seco em vácuo.

Rendimento: 1,04 g, sólido amarelo pálido; ESI 373; Rt = 2,65 min (método B).

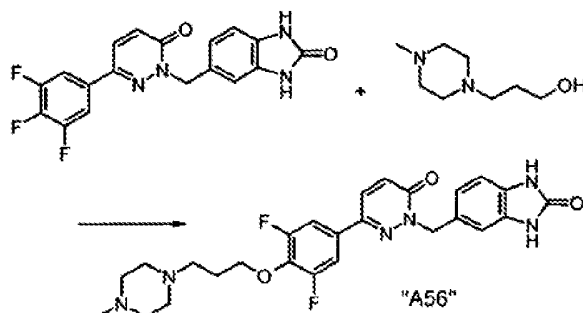
**Passo 4: 5-{3-[4-(3-dimetilamino-propoxi)-3,5-difluoro-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil]-1,3-dihidro-benzimidazol-2-ona:**

126 µL (1,08 mmol) de 3-(dimetilamino)-1-propanol são dissolvidos em 20 mL de DMF, em condições de azoto, e misturados com 64,5 mg (1,61 mmol) de NaH em óleo de parafina (60%) e agitado à temperatura ambiente. Após 10 minutos, são adicionados 200 mg (0,54 mmol) de 5-[6-oxo-3-(3,4,5-trifluoro-fenil)-6H-piridazin-1-ilmetil]-1,3-dihidro-benzimidazol-2-ona, e a mistura é agitada em

atmosfera de azoto, à temperatura ambiente. A reacção é seguida por intermédio de HPLC. Após 3 h, a reacção é parada. A mistura é neutralizada com HCl 1 N. A mistura é concentrada até se formar um sedimento; o sedimento é ressuspenso em 100 mL de etilacetato, 20 mL de solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio e 10 mL de solução saturada de cloreto de sódio. O precipitado não dissolvido é extraído, e o sedimento é purificado por intermédio de HPLC preparativa.

Rendimento: 22 mg de "A55", trifluoroacetato, na forma de sólido branco; ESI 456; Rt = 2,08 min (método B).

**Preparação de 5-(3-{3,5-difluoro-4-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propoxi]-fenil}-6-oxo-6H-piperazin-1-ilmetil)-1,3-dihidro-benzimidazol-2-ona ("A56")**

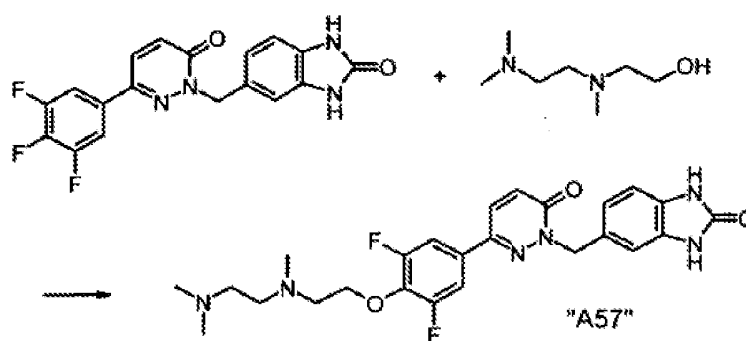


170 mg (1,08 mmol) de 3-(4-metil-piperazin-1-il)-propan-1-ol são dissolvidos em 20 mL de DMF, misturado em condições de azoto com 64,5 mg (1,61 mmol) de NaH em óleo de parafina (60%) e agitado à temperatura ambiente. Após 10 min, são adicionados 200 mg (0,54 mmol) de 5-[6-oxo-3-(3,4,5-trifluoro-fenil)-6H-piridazin-1-ilmetil]-1,3-dihidro-benzimidazol-2-ona, e a mistura é agitada em atmosfera de azoto, à temperatura ambiente. A reacção é seguida por HPLC. Após 3 h, a reacção é parada. A mistura é neutralizada com HCl 1 N. A mistura é concentrada até se formar um sedimento; o sedimento é dissolvido em 100 mL de etilacetato e 30 mL de água, a fase aquosa é separada e

neutralizada com hidrogenocarbonato de sódio, e em seguida extraída. Forma-se assim um precipitado, o qual é separado. O sedimento é agitado com metanol, extraído e seco em vácuo.

Rendimento: 41 mg de "A56", na forma de sólido branco; ESI 511; Rt = 1,97 min (método B).

**Preparação de 5-[3-(4-{2-[(2-dimetilamino-etil)-metil-amino]-etoxi}-3,5-difluoro-fenil)-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil]-1,3-dihidro-benzoimidazol-2-ona ("A57")**

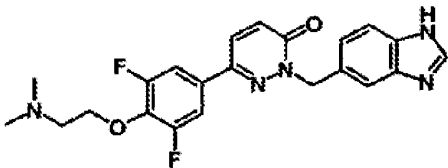
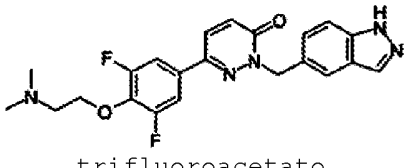
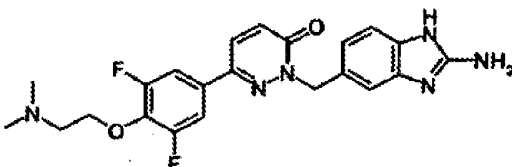
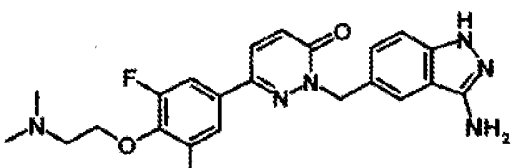
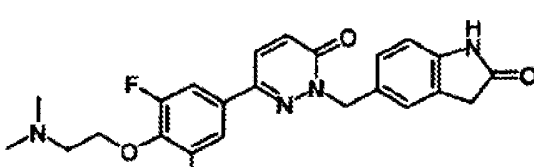
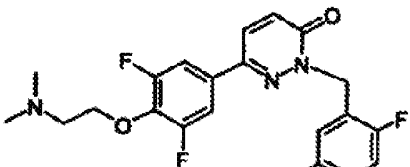
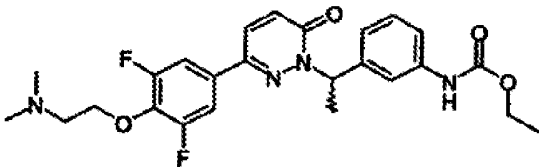


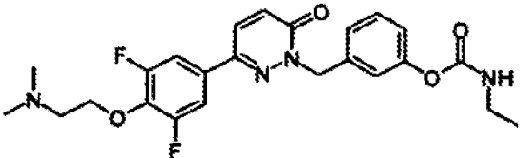
178  $\mu$ L (1,08 mmol) de 2-[(2-dimetilamino-etil)-metil-amino]-etanol são dissolvidos em 20 mL de DMF, misturados com 64,5 mg (1,61 mmol) de NaH em óleo de parafina (60%), em condições de azoto, e agitados à temperatura ambiente. Após 10 min, são adicionados 200 mg (0,54 mmol) de 5-[6-oxo-3-(3,4,5-trifluoro-fenil)-6H-piridazin-1-ilmetil]-1,3-dihidro-benzimidazol-2-ona e a mistura é agitada em atmosfera de azoto, à temperatura ambiente. A reacção é seguida por intermédio de HPLC. Após 2 h, é neutralizada com HCl 1N, e a mistura é concentrada até se formar um sedimento. O sedimento é purificado por intermédio de HPLC preparativa.

Rendimento: 42 mg de "A57", trifluoroacetato, na forma de sólido branco; ESI 499; Rt = 1,86 min (método B).

Tal como nos Exemplos anteriores, são produzidos os seguintes compostos



N°.	Estrutura e/ou Nome	ESI	HPLC
"A58"	 trifluoroacetato		
"A59"	 trifluoroacetato		
"A60"	 trifluoroacetato		
"A61"	 trifluoroacetato		
"A62"	 trifluoroacetato		
"A63"	 trifluoroacetato		
"A64"	 trifluoroacetato		

"A65"	 trifluoroacetato		
-------	--	--	--

### **Dados farmacológicos**

Inibição de cinase Met (ensaio enzimático)

Tabela 1

Nº. composto	IC <sub>50</sub>
"A1"	A
"A2"	A
"A3"	A
"A4"	A
"A5"	A
"A6"	A
"A7"	A
"A8"	A
"A9"	A
"A10"	A
"A11"	A
"A12"	A
"A13"	A
"A14"	A
"A15"	A
"A16"	A
"A17"	A
"A18"	A
"A19"	A
"A20"	A
"A21"	A
"A22"	A
"A23"	A
"A24"	A

"A25"	A
"A26"	A
"A27"	A
"A28"	A
"A29a"	A
"A31"	A
"A33"	A
"A34"	A
"A35"	A
"A37"	A
"A38"	A
"A43"	A
"A44"	A
"A45"	A
"A48"	A
"A49"	A
"A50"	A
"A52"	A
"A53"	A
"A55"	A
"A56"	A

IC<sub>50</sub>:        10 nM – 1 µM = A  
                   1 µM – 10 µM = B  
                   > 10 mM = C

Os Exemplos seguintes referem-se a medicamentos:

#### **Exemplo A: frascos para injeção**

O pH de uma solução de 100 g de um agente activo de fórmula I e 5 g de hidrogenofosfato dissódico em 3 L de água bi-distilada é ajustado a 6,5 com ácido clorídrico 2 N; a solução é esterilizada por filtração, colocada em frascos para injeção, liofilizada em condições estéreis e selada

estéril. Cada frasco de injeção contém 5 mg de agente activo.

**Exemplo B: supositórios**

Derrete-se uma mistura de 20 g de um agente activo de fórmula I com 100 g de lecitina de soja e 1400 g de manteiga de cacau; distribui-se por formas e deixa-se arrefecer. Cada supositório contém 20 mg de agente activo.

**Exemplo C: solução**

Prepara-se uma solução a partir de 1 g de um agente activo de fórmula I, 9,38 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 28,48 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  e 0,1 g de cloreto de benzalcónio em 940 mL de água bi-destilada. Ajusta-se o pH para 6,8, preenche-se até 1 L e esteriliza-se por irradiação. Esta solução pode ser utilizada na forma de gotas para os olhos.

**Exemplo D: pomada**

Mistura-se 500 mg de um agente activo de fórmula I com 99,5 g de vaselina, em condições assépticas.

**Exemplo E: comprimidos**

Uma mistura de 1 kg de agente activo de fórmula I, 4 kg de lactose, 1,2 kg de amido de batata, 0,2 kg de talco e 0,1 kg de estearato de magnésio é prensada de forma convencional, em comprimidos, de forma que cada comprimido contém 10 mg de agente activo.

**Exemplo F: drageias**

De forma semelhante ao Exemplo E, comprimidos são prensados, os quais são seguidamente revestidos com um revestimento de sacarose, amido de batata, talco, tragacanto e corante.

**Exemplo G: cápsulas**

2 kg de agente activo de fórmula I são distribuídos, de forma convencional, em cápsulas de gelatina dura, de forma que cada cápsula contém 20 mg de agente activo.

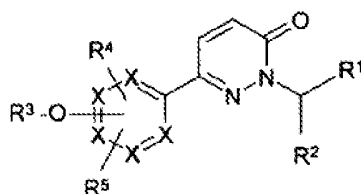
**Exemplo H: ampolas**

Uma solução de 1 kg de agente activo de fórmula I em 60 L de água bi-destilada é esterilizada por filtração, colocada em ampolas, liofilizada em condições estéreis e selada estéril. Cada ampola contém 10 mg de agente activo.

Lisboa, 30 de Setembro de 2011

## REIVINDICAÇÕES

1. Compostos da fórmula I



I

em que significam

- |         |   |
|---------|---|
| $R^1$   | $Ar^1$ ou $Het^1$ ,   |
| $R^2$   | H ou A,   |
| $R^3$   | Alk-Y ou $Het^3$ ,  |
| A       | alquilo linear ou ramificado com 1-8 átomos C,<br>em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F e/ou Cl,   |
| Alk     | alquileno linear ou ramificado com 1-8 átomos C,<br>em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F, Cl e/ou Br,   |
| $Ar^1$  | fenil substituído simplesmente por $NR^2-COOA$ ou $CON(R^2)_2$ ,  |
| $Het^1$ | um heterociclo insaturado ou aromático com um ou dois anéis, com 1 a 3 átomos N e/ou átomos O, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A, $NH_2$ , $OR^2$ e/ou $=O$ (carbonilo), |
| $Het^3$ | um heterociclo saturado com um ou dois anéis, com 1 a 3 átomos N e/ou átomos O, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A e/ou $=O$ (carbonilo),                                 |
| $Het^2$ | um heterociclo saturado com um anel, com 1 a 2 átomos N e/ou átomos O, o qual pode ser ou uma ou duas vezes substituído por A e/ou $=O$   |

	(carbonilo),
$R^4, R^5$	independentemente um do outro H ou Hal,
X	CH,
Y	Het <sup>2</sup> , $N(R^2)_2$ , $NR^2[C(R^2)_2]_nN(R^2)_2$ ou C(=O)N(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> ,
	em que um grupo NH pode ser substituído por N-COOA ou N-COA
n	1, 2, 3 ou 4

assim como os seus solvatos, sais, tautômeros e estereoisômeros farmaceuticamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções.

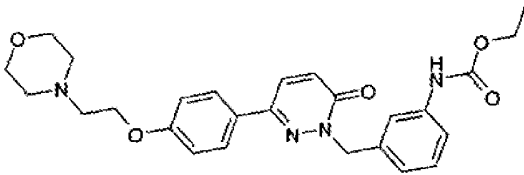
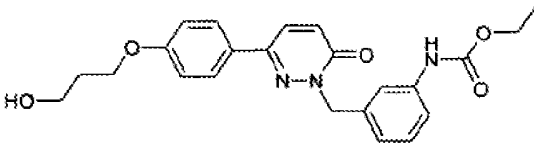
2. Compostos de acordo com a reivindicação 1, em que significam,

$R^1$	Ar <sup>1</sup> ou Het <sup>1</sup> ,
$R^2$	H ou A,
$R^3$	Alk-Y ou Het <sup>3</sup> ,
A	alquilo linear ou ramificado com 1-8 átomos C, em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F e/ou Cl,
Alk	alquileno linear ou ramificado com 1-8 átomos C, em que 1-7 átomos H podem ser substituídos por F, Cl e/ou Br,
Ar <sup>1</sup>	fenil substituído simplesmente por NR <sup>2</sup> -COOA ou OCON(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> ,
Het <sup>1</sup>	1,3-dihidro-benzimidazolilo, benzoxazolilo, indazolilo, benzimidazolilo, quinolinilo, dihidroindolilo ou indolilo, o qual pode ser não substituído ou substituído uma ou duas vezes por A, NH <sub>2</sub> , OR <sup>2</sup> e/ou =O (carbonilo),
Het <sup>3</sup>	piperidinilo, pirrolidinilo, piperazinilo ou

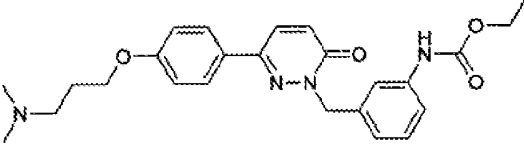
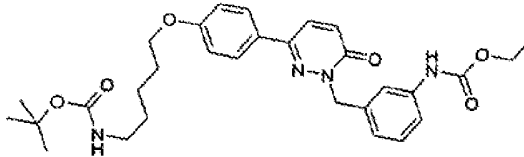
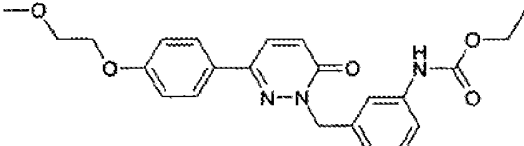
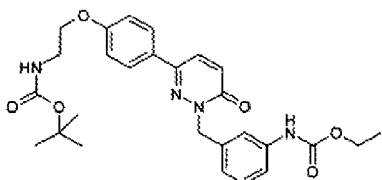
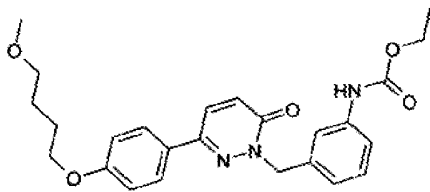
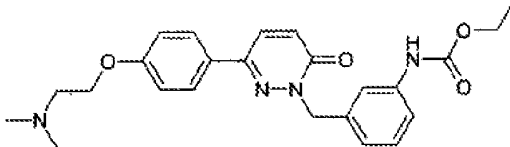
	morfolinilo, o qual pode ser substituído uma ou duas vezes por A e/ou =O (carbonilo),
Het <sup>2</sup>	piperidinilo, pirrolidinilo, piperazinilo ou morfolinilo, o qual pode ser substituído uma ou duas vezes por A e/ou =O (carbonilo),
R <sup>4</sup> , R <sup>5</sup>	independentemente um do outro H ou Hal,
X	CH,
Y	Het <sup>2</sup> , Y(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> , NR <sup>2</sup> [C(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> ] <sub>n</sub> N(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> ou C(=O)N(R <sup>2</sup> ) <sub>2</sub> , em que um grupo NH pode ser substituído por N-COOA ou N-COA
n	1, 2, 3 ou 4

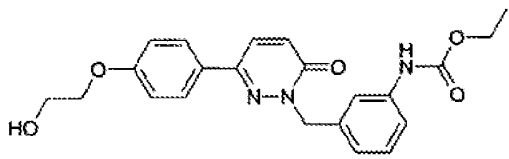
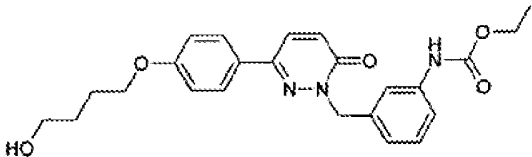
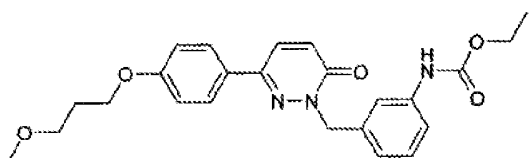
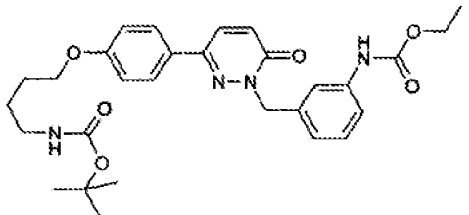
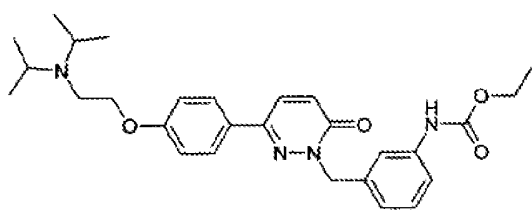
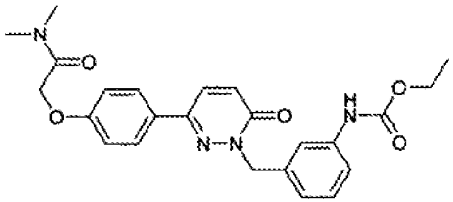
assim como os seus solvatos, sais, tautômeros e estereoisômeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções.

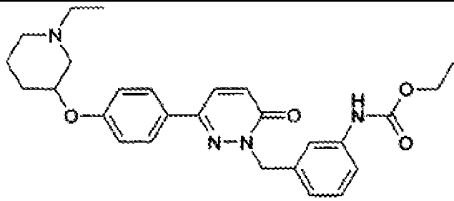
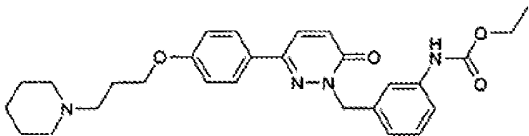
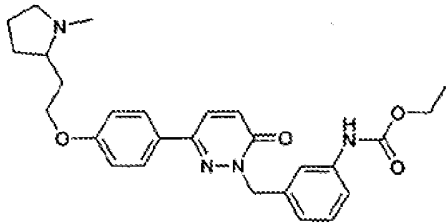
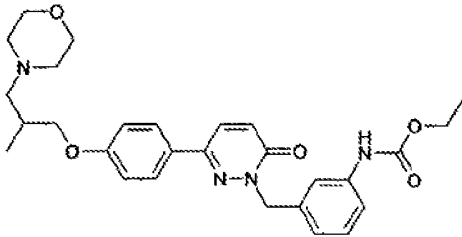
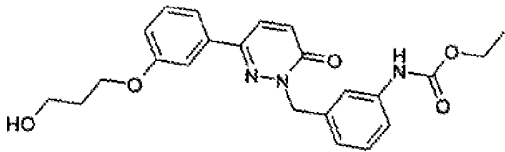
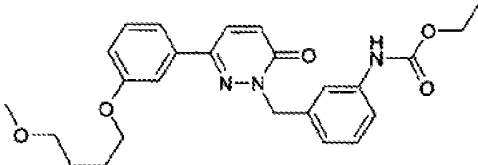
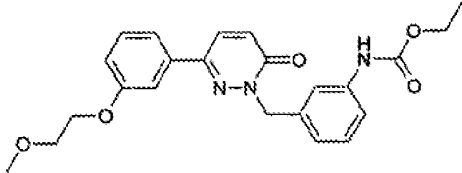
3. Compostos de acordo com a reivindicação 1, seleccionados do grupo

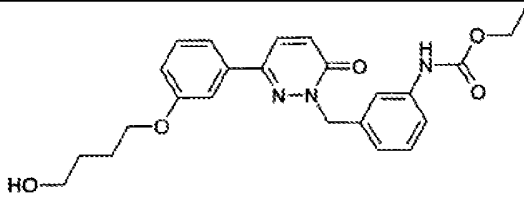
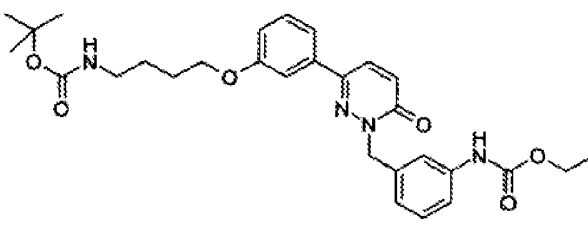
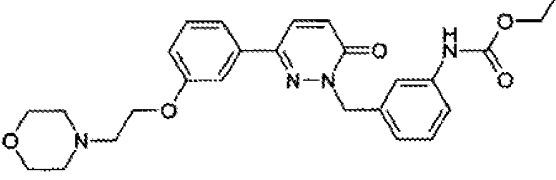
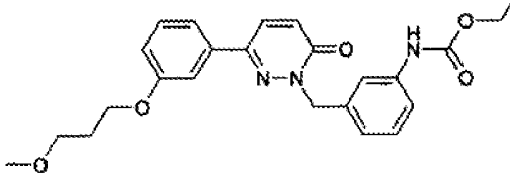
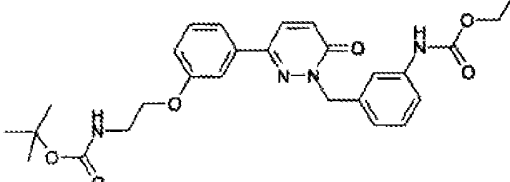
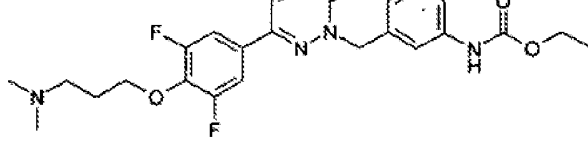
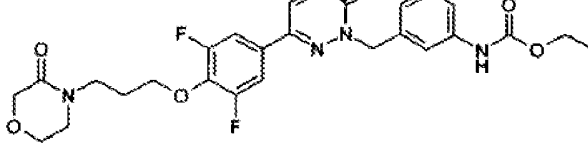
N°.	Estrutura e/ou Nome
"A1"	 <p>etiléster de ácido (3-{3-[4-(2-morfolin-4-il-etoxi)-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-fenil)-carbamínico,</p>
"A2"	 <p>etiléster de ácido (3-{3-[4-(3-hidroxi-propoxi)-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-fenil)-carbamínico</p>

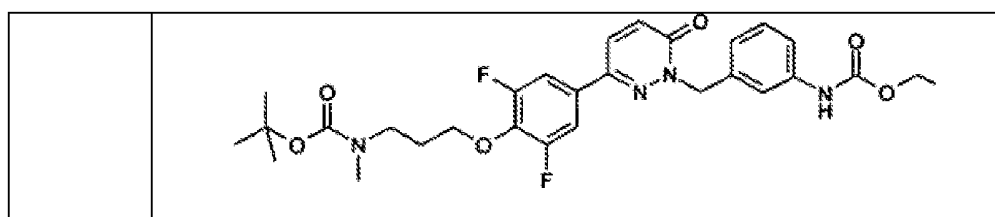


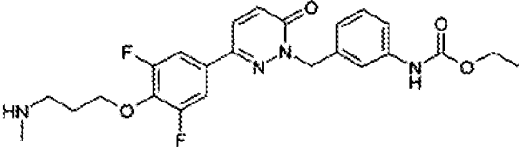
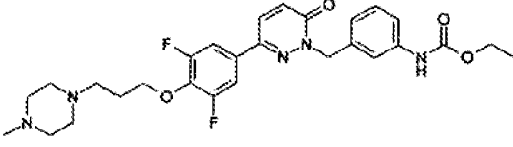
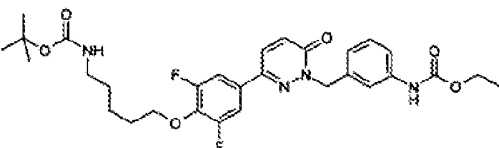
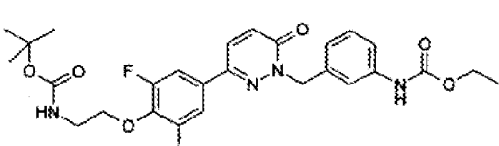
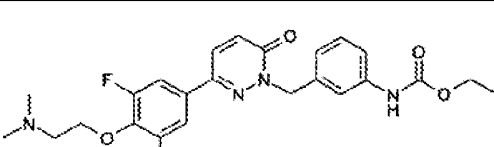
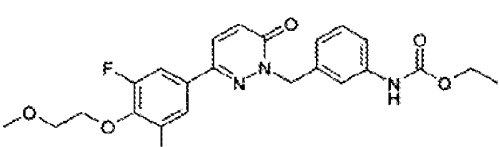
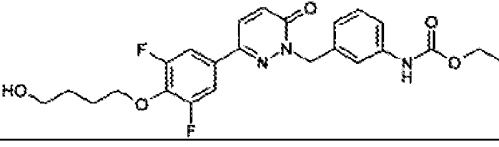
"A3"	 <p>etiléster de ácido (3-{3-[4-(3-dimetilamino-propoxi)-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-fenil)-carbamínico,</p>
"A4"	 <p>etiléster de ácido (3-{3-[4-(5-tert.-butoxicarbonilamino-pentiloxi)-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-fenil)-carbamínico</p>
"A5"	 <p>etiléster de ácido (3-{3-[4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-6-oxo-6H-piridazin-1-ilmetil}-fenil)-carbamínico</p>
"A6"	
"A7"	
"A8"	

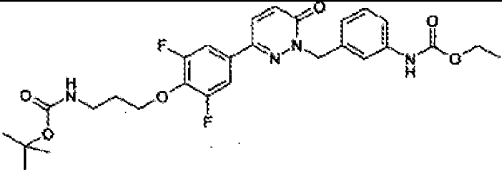
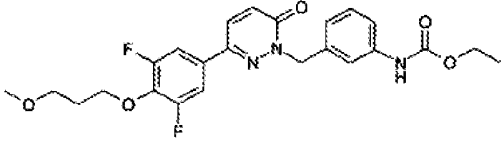
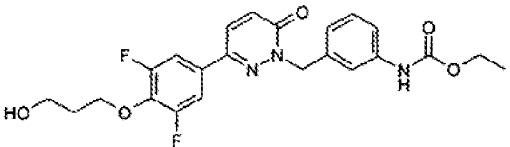
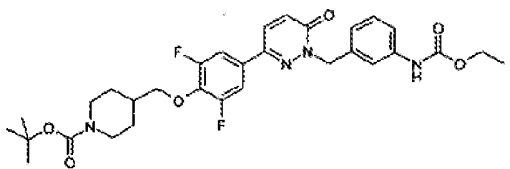
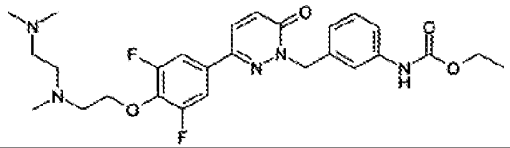
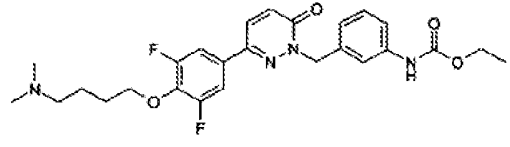
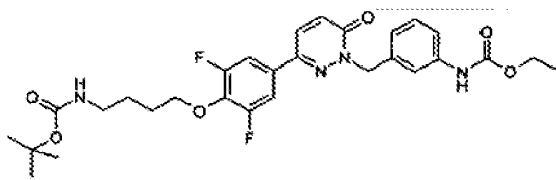
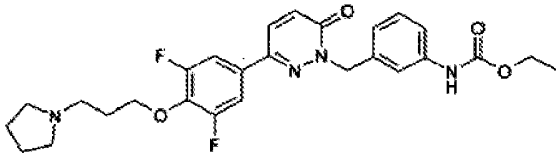
"A9"	 <chem>CCOC(=O)Nc1ccccc1CN2C(=O)C=C(C2c3ccc(OCCO)cc3)C4=CC=CC=C4</chem>
"A10"	 <chem>CCOC(=O)Nc1ccccc1CN2C(=O)C=C(C2c3ccc(OCCCCO)cc3)C4=CC=CC=C4</chem>
"A11"	 <chem>CCOC(=O)Nc1ccccc1CN2C(=O)C=C(C2c3ccc(OCCOC)cc3)C4=CC=CC=C4</chem>
"A12"	 <chem>CCOC(=O)Nc1ccccc1CN2C(=O)C=C(C2c3ccc(OCCCC(=O)N(C)C(C)(C)C)cc3)C4=CC=CC=C4</chem>
"A13"	 <chem>CCOC(=O)Nc1ccccc1CN2C(=O)C=C(C2c3ccc(OCCN(C)C(C)C)cc3)C4=CC=CC=C4</chem>
"A14"	 <chem>CCOC(=O)Nc1ccccc1CN2C(=O)C=C(C2c3ccc(OCCN(C)C)cc3)C4=CC=CC=C4</chem>
"A15"	

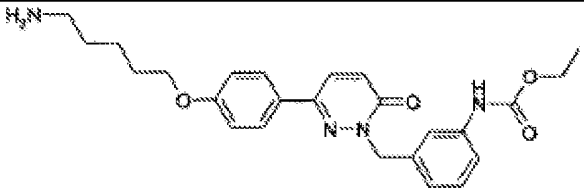
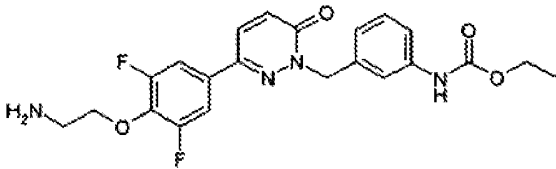
	
"A16"	
"A17"	
"A18"	
"A19"	
"A20"	
"A21"	
"A22"	

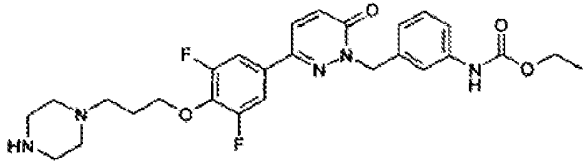
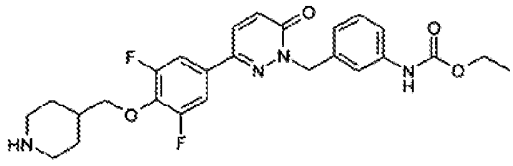
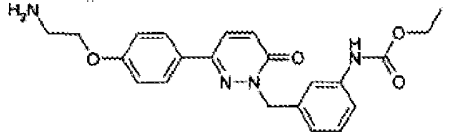
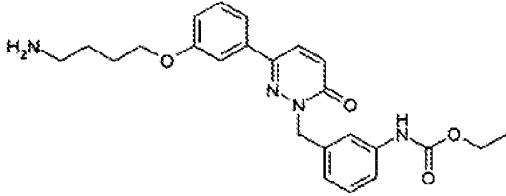
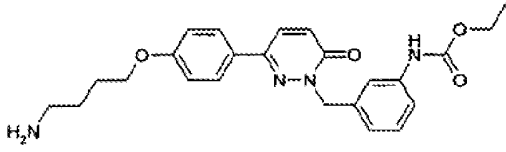
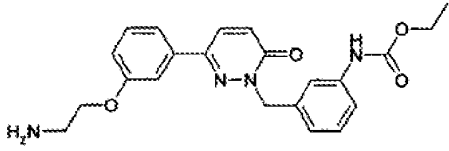
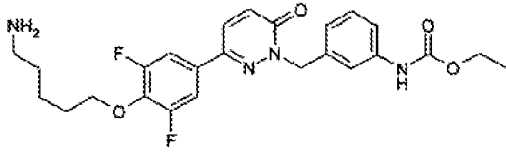
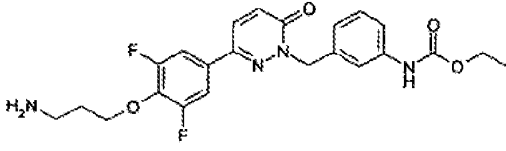
	
"A23"	
"A24"	
"A25"	
"A26"	
"A27"	
"A28"	
"A29"	



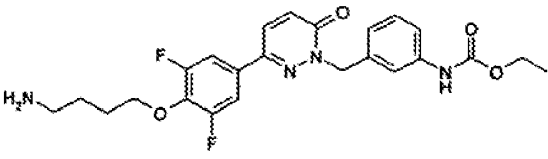
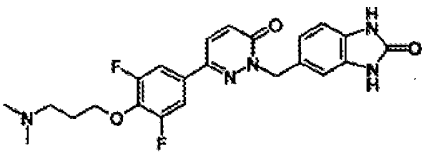
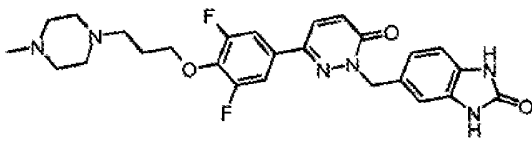
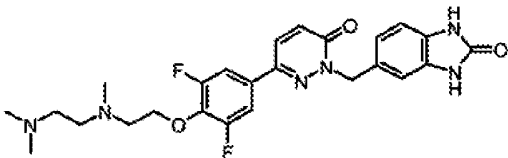
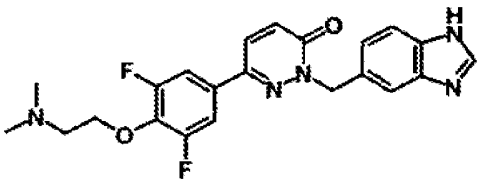
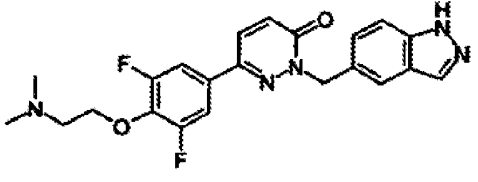
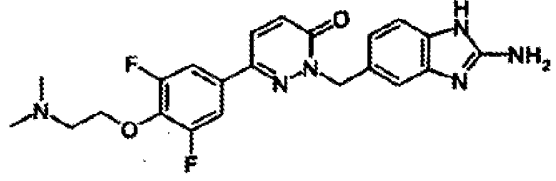
"A29a"	
"A30"	
"A31"	
"A32"	
"A33"	
"A34"	
"A35"	
"A36"	

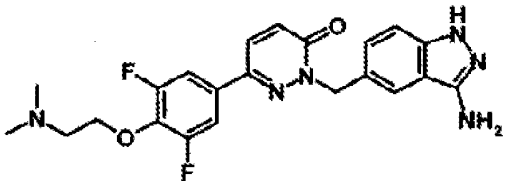
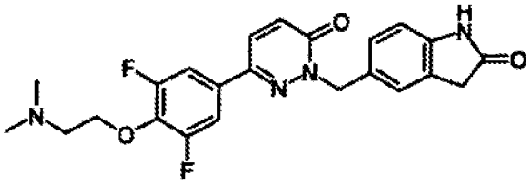
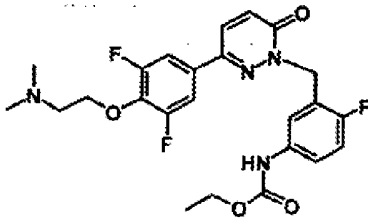
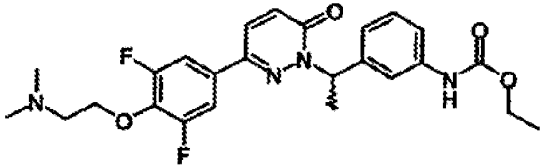
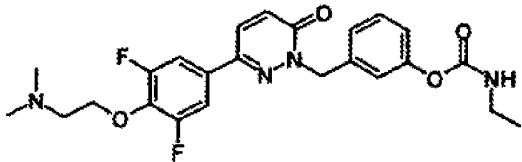
	
"A37"	
"A38"	
"A39"	
"A40"	
"A41"	
"A42"	
"A43"	
"A44"	

	
"A45"	

"A46"	
"A47"	
"A48"	
"A49"	
"A50"	
"A51"	
"A52"	
"A53"	



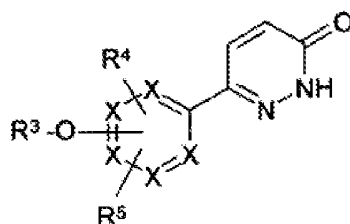
"A54"	 <chem>CCCCCNCOc1cc(F)c(cc1F)c2cc3c(cc2)nc(=O)n3Cc4ccc(cc4)NC(=O)OCC</chem>
"A55"	 <chem>CN(C)CCCOc1cc(F)c(cc1F)c2cc3c(cc2)nc(=O)n3Cc4c5c(ccc4c5)nc(=O)[nH]5</chem>
"A56"	 <chem>CN1CCCCC1CCCOc2cc(F)c(cc2F)c3cc4c(cc3)nc(=O)n4Cc5c6c(ccc5c6)nc(=O)[nH]6</chem>
"A57"	 <chem>CN(C)CCCN(C)CCCOc1cc(F)c(cc1F)c2cc3c(cc2)nc(=O)n3Cc4c5c(ccc4c5)nc(=O)[nH]5</chem>
"A58"	 <chem>CN(C)CCCOc1cc(F)c(cc1F)c2cc3c(cc2)nc(=O)n3Cc4c5c(ccc4c5)nc(=O)[nH]5</chem>
"A59"	 <chem>CN(C)CCCOc1cc(F)c(cc1F)c2cc3c(cc2)nc(=O)n3Cc4c5c(ccc4c5)nc(=O)[nH]5</chem>
"A60"	 <chem>CN(C)CCCOc1cc(F)c(cc1F)c2cc3c(cc2)nc(=O)n3Cc4c5c(ccc4c5)nc(=O)[nH]5</chem>

"A61"	
"A62"	
"A63"	
"A64"	
"A65"	

assim como os seus solvatos, sais, tautômeros e estereoisômeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções.

4. Processo para a preparação de compostos de fórmula I de acordo com as reivindicações 1-3, assim como os seus sais, solvatos, tautômeros e estereoisômeros farmacologicamente utilizáveis, em que se faz reagir

a) um composto de fórmula II



II

em que  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  e X têm os significados atribuídos na reivindicação 1,

com um composto de fórmula III



em que  $R^1$  e  $R^2$  têm os significados atribuídos na reivindicação 1

e

L significa Cl, Br, I ou um grupo OH livre ou reactivo funcionalmente modificado,

ou

b) um radical  $R^1$  e/ou  $R^3$  é modificado num outro radical  $R^1$  e/ou  $R^3$ , no qual se transforma um grupo amino ou hidroxil em acilo, alquilo ou éter,

ou

c) em que se liberta do seu derivado funcional através de tratamento com um agente que pode sofrer solvólise ou hidrogenólise,

e/ou

uma base ou ácido de fórmula I é modificado num dos seus sais.

5. Um medicamento contendo pelo menos um composto de fórmula I de acordo com as reivindicações 1-3 e/ou os seus sais, solvatos, tautómeros e estereoisómeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções, assim como, eventualmente, transportadores e/ou adjuvantes.

6. Utilização de compostos de acordo com as reivindicações 1-3, assim como os seus sais, solvatos, tautómeros e estereoisómeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções, para o fabrico de um medicamento para o tratamento de doenças, em que a doença a tratar é um tumor sólido, ou em que a doença a tratar é um tumor do sangue ou do sistema imune.

7. Utilização de acordo com a reivindicação 6, em que os tumores sólidos pertencem ao grupo dos tumores de células escamosas, da bexiga, do estômago, dos rins, da cabeça e pescoço, do esófago, do útero, da tireóide, do intestino, do fígado, do cérebro, da próstata, do tracto urogenital, do sistema linfático, do estômago, da laringe e/ou do pulmão.

8. Utilização, de acordo com a reivindicação 6, em que o tumor sólido pertence ao grupo das leucemias monocíticas, adenocarcinoma do pulmão, carcinoma de células pequenas do pulmão, cancro do pâncreas, glioblastoma e carcinoma da mama.

9. Utilização, de acordo com a reivindicação 6, em que o tumor sólido pertence ao grupo do adenocarcinoma do pulmão, carcinoma de células pequenas do pulmão, cancro do pâncreas, glioblastoma, carcinoma do cólon e recto e carcinoma da mama.

10. Utilização, de acordo com a reivindicação 6, em que o tumor pertence ao grupo das leucemias mielóides agudas, leucemias mielóides crónicas, leucemias linfóides agudas e/ou leucemias linfóides crónicas.

11. Medicamentos contendo pelo menos um composto de fórmula I, de acordo com uma ou mais reivindicações 1 a 3, e/ou os seus solvatos e estereoisómeros farmacologicamente utilizáveis, as suas misturas em todas as proporções, e pelo menos um fármaco adicional.

12. Um conjunto (kit) constituído por embalagens separadas de

(a) uma quantidade eficaz de um composto de fórmula I, de acordo com uma ou mais reivindicações 1 a 3, e/ou os seus solvatos, sais e estereoisómeros farmacologicamente utilizáveis, incluindo as suas misturas em todas as proporções,

e

(b) uma quantidade eficaz de um fármaco adicional.

Lisboa, 30 de Setembro de 2011