

(11) Número de Publicação: **PT 1511730 E**

(51) Classificação Internacional:

C07D 213/68 (2006.01) **C07D 213/00** (2006.01)
A61K 31/33 (2006.01) **A61K 31/395** (2006.01)
A61K 31/4409 (2006.01) **A61K 31/4427**
(2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01) **A61K 31/4523**
(2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01) **A61K 31/4709**
(2006.01)
A61K 31/496 (2006.01) **A61K 31/505** (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) **A61K 31/5375**
(2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01) **A61P 9/00**
(2006.01)
A61P 9/10 (2006.01) **A61P 11/00** (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01) **A61P 13/00** (2006.01)
A61P 13/08 (2006.01) **A61P 15/00** (2006.01)
A61P 15/08 (2006.01) **A61P 17/00** (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01) **A61P 19/00** (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01) **A61P 25/00** (2006.01)
A61P 25/02 (2006.01) **A61P 29/00** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) **A61P 35/02** (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01) **A61P 37/00** (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01) **C07D 213/36** (2006.01)
C07D 213/38 (2006.01) **C07D 213/40** (2006.01)
C07D 213/63 (2006.01) **C07D 213/64** (2006.01)
C07D 213/69 (2006.01) **C07D 213/81** (2006.01)
C07D 213/84 (2006.01) **C07D 213/89** (2006.01)
C07D 239/00 (2006.01) **C07D 239/26** (2006.01)
C07D 239/30 (2006.01) **C07D 239/34** (2006.01)
C07D 239/40 (2006.01) **C07D 239/42** (2006.01)
C07D 239/46 (2006.01) **C07D 239/47** (2006.01)
C07D 239/52 (2006.01) **C07D 401/00** (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01) **C07D 401/12** (2006.01)
C07D 403/00 (2006.01) **C07D 403/12** (2006.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2003.05.28**

(30) Prioridade(s): **2002.05.29 GB 0212413**
2003.03.12 GB 0305684
2003.04.23 GB 0309219

(43) Data de publicação do pedido: **2005.03.09**

(45) Data e BPI da concessão: **2008.12.10**
034/2009

(73) Titular(es):

NOVARTIS AG
LICHTSTRASSE 35 4056 BASEL **CH**

(72) Inventor(es):

PASCAL FURET, DR. **FR**
GUIDO BOLD **CH**
PAUL WILLIAM MANLEY **CH**
VITO GUAGNANO **CH**
ANDREAS FLOERSHEIMER **CH**

(74) Mandatário:

ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS
RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE DIARIL-UREIA ÚTEIS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS
DEPENDENTES DE PROTEÍNA QUINASE**

(57) Resumo:

RESUMO**"DERIVADOS DE DIARIL-UREIA ÚTEIS PARA O TRATAMENTO DE
DOENÇAS DEPENDENTES DE PROTEÍNA QUINASE"**

A invenção relaciona-se com a utilização de derivados de diaril-ureia no tratamento de doenças dependentes de proteína quinase ou para o fabrico de composições farmacêuticas para utilização no tratamento das referidas doenças, com métodos de utilização de derivados de diaril-ureia no tratamento das referidas doenças, com preparações farmacêuticas compreendendo derivados de diaril-ureia para o tratamento das referidas doenças, com derivados de diaril-ureia para utilização no tratamento das referidas doenças, com novos derivados de diaril-ureia, com preparações farmacêuticas que compreendem estes novos derivados de diaril-ureia, com processos para o fabrico dos novos derivados de diaril-ureia, com a utilização ou métodos de utilização dos novos derivados de diaril-ureia tal como referido acima, e/ou com estes novos derivados de diaril-ureia para utilização no tratamento do corpo animal ou humano.

DESCRIÇÃO

"DERIVADOS DE DIARIL-UREIA ÚTEIS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS DEPENDENTES DE PROTEÍNA QUINASE"

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A invenção relaciona-se com a utilização de derivados de diaril-ureia para o fabrico de composições farmacêuticas para utilização no tratamento das referidas doenças, com preparações farmacêuticas compreendendo derivados de diaril-ureia para o tratamento das referidas doenças, com os referidos derivados de diaril-ureia e com processos para o fabrico dos novos derivados de diaril-ureia, tal como definido adiante e nas reivindicações.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

As proteínas quinases (PKs) são enzimas que catalisam a fosforilação de resíduos específicos de serina, treonina ou tirosina em proteínas celulares. Estas modificações pós-translacionais de proteínas substratos actuam como interruptores moleculares que regulam a proliferação, activação e/ou diferenciação celular. Foi observada actividade de PK aberrante ou excessiva em muitos estados patológicos incluindo doenças proliferativas benignas e malignas. Em muitos casos, foi possível tratar doenças in vitro

e em muitos casos *in vivo*, tais como doenças proliferativas, por utilização de inibidores de PK.

Devido ao grande número de inibidores de proteínas quinases e à multitude de doenças proliferativas e outras relacionadas com PK, há sempre uma necessidade de proporcionar novas classes de compostos que são úteis como inibidores de PK e por isso no tratamento destas doenças relacionadas com PTK. O que é necessário são novas classes de compostos inibidores de PK vantajosos do ponto de vista farmacêutico.

WO 00/42012 e WO01/53274 revelam compostos que não englobam os compostos da presente invenção.

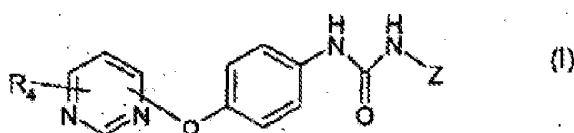
DESCRIÇÃO GERAL DA INVENÇÃO

Verificou-se agora que vários compostos da classe dos derivados de diaril-ureia apresentam inibição de várias proteínas tirosinas quinases. Entre as vantagens, são de referir uma boa biodisponibilidade e, especialmente quando os substituintes no anel com A na fórmula I apresentada adiante estão presentes, menor acessibilidade ao metabolismo. Os compostos de fórmula I, descritos adiante em mais pormenor, especialmente apresentam inibição de uma ou mais das seguintes proteínas tirosina quinases: c-Abl, Bcr-Abl, o receptor de tirosina quinases Flt3, VEGF-R ou c-Kit, bem como associações de duas ou mais destas; no caso dos novos derivados de diaril-ureia de acordo com a invenção,

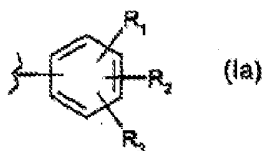
os compostos são apropriados para a inibição destas e/ou de outras proteínas tirosina quinases, especialmente as mencionadas acima e/ou, além disso, a tirosina quinase não receptora Raf, e/ou para a inibição de mutantes destas enzimas, especialmente de Bcr-Abl, por exemplo o mutante Glu255->Lisina. Tendo em conta estas actividades, os compostos podem ser utilizados para o tratamento de doenças relacionadas com actividades especialmente aberrante ou excessiva desses tipos de quinases, especialmente as mencionadas.

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO

A invenção relaciona-se especialmente com um derivado de diaril-ureia de fórmula I



em que Z é um radical de fórmula IA



cada um de R_1 , R_2 , R_3 , independentemente dos outros, é hidrogénio, hidroxilo, amino, nitro, C_1 - C_7 alquilo, halogeno- C_1 - C_7 alquilo, C_1 - C_7 alcoxi, halogeno- C_1 - C_7 alcoxi, halogéneo, fenilo, fenilamino, hidroxifenil-amino, amino-

C₁-C₇alquil-oxifenilamino, carbamoilfenil-amino, [N-(hidroxi-C₁-C₇alquil)-carbamoil]-fenil-amino, heterociclilo saturado com 5 ou 6 membros com 1 ou 2 heteroátomos seleccionados do grupo que consiste em N, O e S,

e pelo menos um de R₁, R₂ e R₃ é um piperidilo, piperidil-C₁-C₇alquilo, C₁-C₇alquil-piperazinilo, ou C₁-C₇alquil-piperazinil-C₁-C₇alquilo;

e R₄ é amino ou C₁-C₇alquilamino;

ou um seu tautómero;

ou um seu sal farmacêuticamente aceitável;

bem como a sua utilização para o fabrico de composições farmacêuticas para utilização no tratamento de doenças dependentes de proteínas quinases (especialmente tirosina), preparações farmacêuticas compreendendo os referidos derivados de diaril-ureia para o tratamento das referidas doenças, os referidos derivados de diaril-ureia para utilização no tratamento das referidas doenças, processos para o fabrico dos novos derivados de diaril-ureia ou os seus sais farmacêuticamente aceitáveis, e/ou estes novos derivados de diaril-ureia ou os seus sais farmacêuticamente aceitáveis para utilização no tratamento do corpo humano ou animal.

Os termos gerais aqui utilizados anteriormente e daqui em diante têm de preferência, no contexto desta

descrição, os seguintes significados, salvo indicação em contrário:

O prefixo "inferior" denota um radical com q até e incluindo um máximo de 7, especialmente 1 até e incluindo um máximo de 4 átomos de carbono, sendo os radicais em questão lineares ou ramificados com ramificações simples ou múltiplas. Alquilo inferior, por exemplo, é metilo, etilo, n-propilo, sec-propilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, n-hexilo ou n-heptilo.

Quando se utiliza a forma no plural para compostos, sais, preparações farmacêuticas, doenças e outros semelhantes, pretende-se significar também um só composto, sal, ou outro semelhante.

Halogéneo ou halogeno é preferencialmente iodo, bromo, cloro ou flúor, especialmente flúor, cloro ou bromo.

Devido à relação próxima entre os derivados de diaril-ureia em forma livre e na forma dos seus sais, incluindo os sais que podem ser utilizados como intermediários, por exemplo na purificação ou identificação dos novos compostos, tautómeros ou misturas tautoméricas e os seus sais, qualquer referência aqui feita anteriormente e daqui em diante a estes compostos, especialmente os compostos de fórmula I, é para ser entendida como se referindo também aos correspondentes tautómeros desses compostos, especialmente os compostos de fórmula I, misturas tauto-

méricas desses compostos, especialmente de compostos de fórmula I, ou sais de quaisquer destes, consoante apropriado e conveniente e se não mencionado de outra forma. Os tautómeros podem, e.g., estar presentes em casos em que amino ou hidroxilo, cada um com pelo menos um hidrogénio ligado, estão ligados a átomos de carbono que estão ligados a átomos adjacentes por ligações duplas (e.g. tautomerismo ceto-enólico ou imina-enamina). Os tautómeros preferidos são as formas piridin-on-ilo ou pirimidin-on-ilo dos compostos em que R_4 é hidroxilo e as outras unidades são definidas como para compostos de fórmula I ou I*, respectivamente.

Onde é mencionado {um composto..., um seu tautómero; ou um seu sal" ou outro semelhante, isto significa "um composto..., um seu tautómero, ou um sal do composto ou do tautómero".

Pode estar presente qualquer átomo de carbono assimétrico na configuração (R), (S) ou (R,S), de preferência na configuração (R) ou (S). Os substituintes num anel em átomos com ligações saturadas podem ser possível, estar presentes na forma cis (=Z) ou trans (=E). Os compostos podem assim estar presentes como misturas de isómeros ou de preferência como isómeros puros, de preferência como diastereómeros de enantiómeros puros, ou enantiómeros puros.

Os sais são de preferência os sais farmaceu-

ticamente aceitáveis dos derivados de diaril-ureia, especialmente os compostos de fórmula I se têm grupos formadores de sais.

Os grupos formadores de sais são grupos ou radicais com propriedades básicas ou ácidas. Os compostos que têm pelo menos um grupo básico ou pelo menos um radical básico, por exemplo amino, um grupo amino secundário que não forma uma ligação peptídica ou um radical piridilo, podem formar sais de adição de ácidos, por exemplo com ácidos inorgânicos, tais como ácido clorídrico, ácido sulfúrico ou um ácido fosfórico, ou com ácidos orgânicos carboxílicos ou sulfônicos adequados, por exemplo ácidos alifáticos mono- ou di-carboxílicos, tais como ácido trifluoroacético, ácido acético, ácido propiônico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido hidroximaleico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico ou ácido oxálico, ou aminoácidos tais como arginina ou lisina, ácidos carboxílicos aromáticos, tais como ácido benzóico, ácido 2-fenoxi-benzóico, ácido 2-acetoxi-benzóico, ácido salicílico, ácido 4-aminossalicílico, ácidos carboxílicos aromáticos-alifáticos, tais como ácido mandélico ou ácido cinâmico, ácidos carboxílicos hetero-aromáticos, tais como ácido nicotínico ou ácido isonicotínico, ácidos sulfônicos alifáticos, tais como ácido metano-, etano- ou 2-hidroxi-etano-sulfônico, ou ácidos sulfônicos aromáticos, por exemplo ácidos benzeno-, p-tolueno- ou naftaleno-2-sulfônico. Quando estão presentes vários grupos básicos podem formar-se sais de adição de mono- ou poli-ácidos.

Os compostos que têm grupos ácidos, um grupo carboxilo ou um grupo hidroxilo fenólico, podem formar sais de metais ou de amônio, tais como sais de metais alcalinos ou metais alcalino-terrosos, por exemplo, sais de sódio, potássio, magnésio ou cálcio, ou sais de amônio com amoníaco ou aminas orgânicas adequadas, tais como monoaminas terciárias, por exemplo trietilamina ou tri-(2-hidroxi-etil)-amina, ou bases heterocíclicas, por exemplo N-etil-piperidina ou N,N'-dimetilpiperazina. São possíveis misturas de sais.

Os compostos que têm tanto grupos ácidos como básicos podem formar sais internos.

Para efeitos de isolamento ou purificação, bem como no caso de compostos que são utilizados adicionalmente como intermediários, também é possível utilizar sais farmacologicamente inaceitáveis, e.g. os picratos. Contudo, para fins terapêuticos só podem ser utilizados sais não tóxicos farmacologicamente aceitáveis, e esses sais são portanto preferidos.

De preferência piperidilo é piperidin-1-ilo, piperidil-alquilo inferior é piperidin-1-ilmetilo, alquil inferior-piperidinilo é 4-metil-piperazin-1-ilo ou 4-etil-piperazin-1-ilo, ou alquil inferior-piperazinil-alquilo inferior é 4-metil-piperazin-1-ilmetilo ou 4-etil-piperazin-1-ilmetilo.

O termo "tratamento de doenças dependentes de tirosina proteína quinase" refere-se ao tratamento profilático ou de preferência terapêutico (incluindo paliativo e/ou de cura) das referidas doenças, especialmente das doenças mencionadas adiante.

Quando subsequentemente é mencionado o termo "UTILIZAÇÃO", este inclui um qualquer ou mais das seguintes formas de realização da invenção, respectivamente: a utilização para o fabrico de composições farmacêuticas para utilização no tratamento de doenças dependentes de proteínas (especialmente tirosinas) quinases, preparações farmacêuticas compreendendo derivados de diaril-ureia para o tratamento das referidas doenças, consoante apropriado e conveniente, salvo indicação em contrário. Em particular, as doenças a ser tratadas e por isso preferidas para UTILIZAÇÃO de um composto de fórmula I são seleccionadas de doenças dependentes de proteína (especialmente tirosina quinase (significando "dependente" também "suportada", não só "unicamente dependente") mencionadas adiante, especialmente as correspondentes doenças proliferativas, mais especialmente doenças que dependem da actividade de ras, Abl, tirosina quinase receptora de VEGF, Flt3, e/ou Bcr-Abl, especialmente as doenças mencionadas adiante para estas tirosina proteínas quinases específicas. Outras quinases de interesse incluem receptor de PDGF, c-KIT ou receptor de EphB4.

Os derivados de diaril-ureia de fórmula I têm propriedades farmacológicas valiosas e são úteis no tratamento de doenças dependentes de proteínas quinases, especialmente dependentes de tirosina proteínas quinases por exemplo, como fármacos para tratar doenças proliferativas.

A eficácia dos compostos da invenção como inibidores de actividade da proteína tirosina quinase c-Abl pode ser demonstrada como a seguir:

Um ensaio enzimático *in vitro* é realizado em placas com 96 poços como um ensaio de ligação ao filtro tal como descrito por Geissler *et al.* em *Cancer Res.* 1992; 52:4492-4498, com as seguintes modificações. O domínio de quinase marcado com HNis de c-Abl é clonado e expresso no sistema baculovírus/Sf9 tal como descrito por Bhat *et al.* em *J. Biol. Chem.* 1997; 272:16170-16175. Uma proteína de 37 kD (quinase c-Abl) é purificada por um procedimento em dois passos numa coluna de quelato de metal cobalto seguida por uma coluna de permuta aniónica com um rendimento de 1-2 mg/L de células Sf9 (Bhat *et al.*, referência citada). A pureza da quinase c-Abl é >90% como avaliado por SDS-PAGE após coloração com azul Coomassie. O ensaio contém (volume total de 30 µL: quinase c-Abl (50 ng), Tris-HCl 20 mM, pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, Na₃VO₄ 10 µM, DTT 1 mM e 0,06 µCi/ensaio de [³³P]-ATP (ATP 5 µM) utilizando 30 µg/mL de poli-Ala,Glu,Lys,Tyr-6:2:5:1 (Poly-AEKY, Sigma P1152) na presença de DMSO a 1%. As reacções são terminadas por adição de 10 µL de EDTA 250 mM e 30 µL da mistura

reaccional são transferidos para membrana Immobilon-PVDF (Millipore, Bedford, Mass., EUA) previamente embebida durante 5 min com metanol, lavada com água, depois embebida durante 5 min com H_3PO_4 a 0,5% e montada num colector de vácuo com a fonte de vácuo desligada. Após a aplicação de todas as amostras, o vácuo é ligado e cada poço lavado com 200 μL de H_3PO_4 a 0,5%. As membranas são retiradas e lavas num agitador com H_3PO_4 a 0,5% (4 vezes) e uma vez com etanol. As membranas são contadas após secagem à temperatura ambiente, montadas num suporte para 96 poços de um TopCount da Packard, e adição de 10 μL /poço de Microscint™ (Packard). Utilizando este sistema de ensaio, os compostos de fórmula I ou I* apresentam valores da inibição IC_{50} na gama de 0,001 a 100 μM , normalmente entre 0,05 e 5 μM .

A inibição da autofosforilação de receptores induzida por VEGF pode ser confirmada com mais experiências *in vitro* em células tais como células CHO transfectadas, que exprimem permanentemente receptor VEGF-R2 humano (KDR), são cultivadas em meio de cultura completo (com FCS = soro fetal de vitelo a 10%) em placas de cultura de células com 6 poços e incubadas a 37°C sob CO_2 a 5% até apresentarem cerca de 80% de confluência. Os compostos a ser testados são então diluídos em meio de cultura (sem FCS, com albumina de soro de bovino a 0,1%) e adicionados às células. (Os controlos incluem meio sem compostos de teste). Após duas horas de incubação a 37°C, adiciona-se VEGF recombinante; a concentração final de VEGF é 20 ng/mL. Após mais cinco minutos de incubação a 37°C, as células são

lavadas duas vezes com PBS gelado (soro fisiológico tamponado com fosfato) e imediatamente lisadas em 100 µL de tampão de lise por poço. Os lisados são então centrifugados para remover os núcleos das células, e as concentrações de proteína dos sobrenadantes são determinadas utilizando um ensaio de proteínas comercial (BIORAD). Os lisados podem ser ou imediatamente utilizados, ou, se necessário, armazenados a -20°C.

É realizado um ELISA em sanduíche para medir a fosforilação de VEGF-R2: um anticorpo monoclonal para VEGF-R2 (por exemplo Mab 1495.12.14; preparado por H. Towbin, Novartis ou um anticorpo monoclonal comparável) é imobilizado em placas de ELISA pretas (OptiPlate™ HTRF-96 da Packard). As placas são então lavadas e os sítios de ligação livres de proteína são saturados com 3% de TopBlock® (Juro, Cat. # TB232010) em soro fisiológico tamponado com fosfato com Tween 20® (monolaurato de polioxietileno(20)sorbitano, ICI/Uniquema) (PBST). Os lisados das células (20 µg de proteína por poço) são depois incubados nestas placas de um dia para o outro a 4°C juntamente com um anticorpo antifosfotirosina acoplado a fosfatase alcalina (PY20:AP de Zymed). As placas são lavadas de novo e a ligação do anticorpo antifosfotirosina ao receptor fosforilado capturado é então demonstrada utilizando um substrato AP luminescente (CDP-Star, pronto a utilizar, com Emerald II; Applied Biosystems). A luminescência é medida num contador de cintilações de microplacas TopCount da Packard. A diferença entre o sinal do controlo

positivo (estimulado com VEGF) e o do controlo negativo (não estimulado com VEGF) corresponde à fosforilação de VEGF-R2 induzida por VEGF (=100%). A actividade das substâncias testadas é calculada como uma percentagem de inibição da fosforilação de VEGF-R2 induzida por VEGF, em que a concentração de substância que induz metade da inibição máxima é definida como a IC_{50} (dose inibidora para 50% de inibição). Os compostos de fórmula I ou I* aqui referidos apresentam uma IC_{50} na gama de 0,0003 a 20 μ M, de preferência entre 0,001 e 10 μ M.

Por analogia, a inibição de VEGF-R1 pode ser demonstrada como se segue:

O ensaio é realizado utilizando tirosina quinase receptora de VEGF Fit-1. O procedimento detalhado é como se segue: 30 μ L de solução de quinase (10 ng do domínio da quinase de Flt-1, Shibuya *et al.*, *Oncogene* 5, 519-24 (1990)) em Tris-HCl 20 mM pH 7,5, dicloreto de manganês ($MnCl_2$) 3 mM, cloreto de magnésio ($MgCl_2$) 3 mM, vanadato de sódio 10 mM, 0,25 mg/mL de polietilenoglicol (PEG) 20 000, ditiotreitol 1 mM e 3 μ g/mL de poli (Glu, Tyr) 4:1 (Sigma, Buchs, Suíça), 8 [^{33}P]-ATP 8 μ M (0,2 μ Ci), sulfóxido de dimetilo a 1% e 0 a 100 μ M do composto de fórmula I ou I* a ser testado são incubados conjuntamente durante 10 min à temperatura ambiente. A reacção é então terminada pela adição de 10 μ L de tetraacetato de etilenodiamina (EDTA) 0,25 M pH 7. Utilizando um distribuidor multicanais (LAB SYSTEMS, EUA), aplica-se uma alíquota de 20 μ L numa

membrana de PVDF (= difluoreto de polivinilo) Immobilon P (Millipore, EUA), através de um colector de filtros de microtitulação Millipore e ligado ao vácuo. Após a eliminação completa do líquido, a membrana é lavada 4 vezes sucessivamente num banho contendo ácido fosfórico (H_3PO_4) a 0,5% e uma vez com etanol, incubada durante 10 min cada enquanto se agita, depois montada num distribuidor de um TopCount da Hewlett Packard e a radioactividade é medida após a adição de 10 μL de Microscint[®] (líquido de contagem de cintilações β). Os valores da IC_{50} são determinados por análise de regressão linear das percentagens de inibição de cada composto em três condições (em regra 0,01, 0,1 e 1 μmol). Os valores da IC_{50} que podem ser encontrados em compostos de fórmula I estão na gama de 0,01 a 100 μM , de preferência na gama de 0,01 a 50 μM .

A inibição da quinase Flt3 é determinada como se segue: O vector dador de baculovírus pFbacG01 (GIBCO) é utilizado para gerar um baculovírus recombinante que exprime região de aminoácidos dos aminoácidos 563-993 do domínio de quinase citoplasmática de Flt-3 humana. A sequência de codificação para o domínio citoplasmático de Flt-3 é amplificada por PCR a partir de bibliotecas de ADN-c (Clontech). Os fragmentos de ADN amplificados e o vector pFbacG01 são compatibilizados para ligação por digestão com BamH1 e HindIII. A ligação destes fragmentos de ADN resulta no plasmídeo dador de baculovírus Flt-3(1.1). A produção dos vírus, a expressão de proteínas em células Sf9 e a purificação das proteínas fundidas com GST são realizados como se segue:

Produção de vírus: Vector de transferência (pFbacG01-Flt-3) contendo o domínio de quinase Flt-3 é transfectado para a linha celular DH10Bac (GIBCO) e as células transfectadas são plaqueadas em placas de agar selectivas. As colónias sem inserção da sequência de fusão no genoma viral (transportado pela bactéria) são azuis. Colónias brancas individuais são colhidas e o ADN viral (bacmídeo) é isolado da bactéria por procedimentos correntes de purificação de plasmídeos. Células Sf9 ou Sf21 (American Type Culture Collection) são então transfectadas em balões com o ADN viral utilizando reagente Cellfectin.

Determinação da expressão de proteínas em pequena escala em células Sf9: Meio contendo vírus é colhido da cultura de células transfectadas e utilizado para infecção para aumentar o seu título. O meio contendo vírus obtido após dois ciclos de infecção é utilizado para a expressão de proteína em grande escala. Para expressão de proteína em grande escala placas de cultura de tecidos redondas com 100 cm² são cultivadas com 5×10^7 células/placa e infectadas com 1 mL de meio contendo vírus (aproximadamente 5 MOIs). Após 3 dias as células são retiradas por raspagem da placa e centrifugadas a 500 rpm durante 5 min. Os sedimentos das células de 10-20 placas de 100 cm² são ressuspensos em 50 mL de tampão de lise gelado (Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, EDTA 3 mM, NP-40 a 1%, DTT 1 mM, PMSF 1 mM). As células são agitadas em gelo durante 15 min e depois centrifugadas a 5000 rpm durante 20 min.

Purificação de proteínas marcadas com GST: O lisado de células centrifugado é aplicado numa coluna de 2 mL de glutathiona-sefarose (Pharmacia) e lavado três vezes com 10 mL de Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, EDTA 2 mM, DTT 1 mM, NaCl 200 mM. A proteína marcada com GST é então eluída por 10 aplicações (de 1 mL cada uma) de Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, glutathiona reduzida 10 mM, NaCl 100 mM, DTT 1 mM, 10% de glicerol e armazenada a -70°C.

Determinação da actividade enzimática: Os ensaios de tirosina proteína quinase com GST-Flt-3 purificada foram realizados num volume final de 30 µL contendo 200-1800 ng de proteína enzimática (dependendo da actividade específica), Tris-HCl 20 mM, pH 7,6, MnCl₂ 3 mM, MgCl₂ 3 mM, DTT 1 mM, Na₃VO₄ 10 µM, 3 µg/mL de poli(Glu,Tyr) 4:1, 1% de DMSO, ATP 8,0 µM e 0,1 µCi [γ ³³P]ATP). A actividade é determinada na presença ou ausência de inibidores, por determinação da incorporação de ³³P de [γ ³³P]ATP no substrato poli(Glu,Tyr). O ensaio (30 µL) é realizado em placas com 96 poços à temperatura ambiente durante 20 min em condições descritas adiante e terminado pela adição de 20 µL de EDTA 125 mM. Subsequentemente, 40 µL da mistura reaccional são transferidos para membrana de PVDF Immobilon (Millipore, Bedford, Mass., EUA) previamente embebida durante 5 min com metanol, lavada com água, depois embebida durante 5 min com H₃PO₄ a 0,5% e montada num distribuidor de vácuo com a fonte de vácuo desligada. Após a aplicação de todas as amostras, o vácuo é ligado e cada poço lavado com 200 µL de H₃PO₄ a

0,5%. As membranas são retiradas e lavadas 4 x num agitador com H_3PO_4 a 1,0%, uma vez com etanol. As membranas são contadas após secagem à temperatura ambiente, montagem num suporte para 96 poços de um TopCount da Packard TopCount, e adição de 10 μL /poço de Microscint[®] (Packard). Os valores da IC_{50} são calculados por análise de regressão linear da percentagem de inibição de cada composto em duplicado, em quatro concentrações (normalmente 0,01, 0,1, 1 e 10 μM). Uma unidade de actividade de proteína quinase é definida como 1 mmole de ^{33}P ATP transferidos de $[\gamma^{33}\text{P}]\text{ATP}$ para a proteína substrato por minuto por mg de proteína a 37°C. Os compostos de fórmula I aqui apresentam valores da IC_{50} na gama entre 0,005 e 20 μM , de preferência entre 0,01 e 10 μM .

A inibição de Bcr-Abl pode ser determinada por ELISA de captura como se segue: A linha celular progenitora mielóide murina 32Dcl3 transfectada com o vector de expressão p210 Bcr-Abl pGDp210Bcr/Abl (32D-bcr/abl) é obtida de J. Griffin (Bazzoni et al., *J. Clin. Invest.* 98, 521-8 (1996); Zhao et al., *Blood* 90, 4687-9 (1997)). As células exprimem a proteína de fusão de bcr-abl com quinase abl constitutivamente activa e proliferam de forma independente de factor de crescimento. As células são expandidas em RPMI 1640 (AMIMED; cat. # 1-41F01), soro fetal de vitelo a 10%, glutamina 2 mM (Gibco) ("meio completo"), e é preparada uma solução mãe por congelação de alíquotas de 2×10^6 células por frasco em meio de congelação (soro fetal de vitelo a 95%, sulfóxido de dimetilo a 5% (SIGMA, D-

2650). Após a descongelação, as células são utilizadas durante no máximo 10-12 passagens para as experiências. Utiliza-se o domínio SH3 do anticorpo anti-abl cat. # 06-466 de Upstate Biotechnology para o ELISA. Para detecção da fosforilação de bcr-abl, utiliza-se o anticorpo anti-fosfotirosina Ab PY20, marcado com fosfatase alcalina (PY10(AP)) de ZYMED (cat. # 03-7722). Como composto de comparação e de referência, utiliza-se (N-(5-[4-(4-metil-piperazino-metil)-benzoílamido]-2-metilfenil)-4-(3-piridil)-2-pirimidino-amina, na forma do sal metano sulfonato (monomesilato) (ST1571) (comercializado como Gleevec® ou Glivec®, Novartis). Prepara-se uma solução mãe 10 mM em DMSO e armazena-se a -20°C. Para os ensaios celulares, a solução mãe é diluída em meio completo em dois passos (1:100 e 1:10) para dar uma concentração de partida de 10 µM seguida pela preparação de diluições triplas em série em meio completo. Não foram encontrados problemas de solubilidade utilizando este procedimento. Os compostos de teste de fórmula I ou I* são tratados analogamente. Para o ensaio, são cultivadas 200.000 células 32D-bcr/abl em 50 µL por poço em placas de cultura de tecidos de fundo redondo com 96 poços. Adiciona-se às células 50 µL por poço de diluições triplas em série do composto de teste em triplicados. A concentração final do composto de teste varia e.g. desde 5 µM baixando até 0,01 µM. As células não tratadas são utilizadas como controlo. O composto é incubado juntamente com as células durante 90 min a 37°C, 5% de CO₂, seguida por centrifugação das placas de cultura de tecidos a 1300 rpm (centrífuga Beckman GPR) e remoção

dos sobrenadantes por aspiração cuidadosa tomando cuidado para não remover qualquer das células sedimentadas. Os sedimentos das células são lisados por adição de 150 µL de tampão de lise (Tris/HCl 50 mM, pH 7,4, cloreto de sódio 150 mM, 5 mM EDTA, EGTA 1 mM, NP-40 a 1% (detergente não iônico, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha), ortovanadato de sódio 2 mM, fluoreto de fenilmetil sulfonylo 1 mM, 50 µg/mL de aprotinina e 80 µg/mL de leupeptina) e utilizados imediatamente para o ELISA ou armazenados congelados a -20°C até à utilização.

O anticorpo do domínio SH3 anti-abl é revestido a 200 ng em 50 µL de PBS por poço de placas de ELISA negras (placas negras Packard HTRF-96; 6005207) de um dia para o outro a 4°C. Após lavagem 3x com 200 µL/poço de PBS contendo Tween 20 a 0,05% (PBST) e TopBlock a 0,5% (Juro, Cat. # TB 232010), os sítios de ligação de proteínas residuais são bloqueados com sites com 200 µL/poço de PBST, TopBlock a 3% durante 4 h à temperatura ambiente, seguida por incubação com 50 µL dos lisados de células não tratadas ou tratadas com composto de teste (20 µg de proteína total por poço) durante 3-4 h a 4°C. Após 3 lavagens, adiciona-se 50 µL/poço de PY20(AP) (Zymed) diluídos para 0,5 µg/mL em tampão de bloqueamento e incuba-se de um dia para o outro (4°C). Para todos os passos de incubação, as placas são cobertas com seladores de placas (Costar, cat. # 3095). Finalmente, as placas são lavadas outras três vezes com tampão de lavagem e uma vez com água desionizada antes da adição de 90 µL/poço do substrato de AP, CPDStar RTU com

Emerald II. As placas agora seladas com seladores de placas Packard Top Seal™-A (cat. # 6005185) são incubadas durante 45 min à temperatura ambiente no escuro e a luminescência é quantificada por determinação das contagens por segundo (CPS) com um contador de cintilações para microplacas da Packard (TopCount). Para a versão otimizada do ELISA, 50 µL dos lisados das células cultivadas, tratadas e lisadas em placas de cultura de tecidos com 96 poços, são transferidos directamente destas placas para as placas de ELISA que são pré-revestidas com 50 ng/poço do domínio SH3 anti-abl policlonal de coelho AB 06-466 da Upstate. A concentração da anti-fosfotirosina AB PY20 (AP) pode ser reduzida para 0,2 µg/mL. A lavagem, bloqueamento e incubação com o substrato luminescente são como acima. A quantificação é realizada como a seguir: é calculada a diferença entre a leitura do ELISA (CPS) obtida para os lisados de células 32D-bcr/abl não tratadas e a leitura para o fundo do ensaio (todos os componentes, mas sem lisado celular) e tomada como 100% reflectindo a proteína bcr-abl fosforilada constitutivamente presente nestas células. A actividade do composto na actividade de quinase de bcr-abl é expressa como a percentagem de redução da fosforilação de bcr-abl. Os valores para a IC₅₀ são determinados a partir das curvas de resposta à dose por inter- ou extra-polação gráfica. Os compostos de fórmula I aqui de preferência apresentam valores da IC₅₀ na gama de 20 nM a 200 µM.

Além de ou em vez de inibir as proteínas quinases

acima referidas, os compostos de fórmula I ou I* também inibem outras proteínas quinases de tirosina que estão envolvidas na transmissão de sinais mediada por factores tróficos, por exemplo quinases da família da quinase src, tais como especialmente a quinase c-Src, membros da família das proteínas quinases de tirosina receptoras de PDGF, por exemplo o receptor de PDGF (PDGF-R), c-Kit, VEGF-R e/ou FGF-R; de que todas desempenham um papel na regulação do crescimento e transformação nas células de animais, especialmente células de mamíferos, incluindo células humanas. Um ensaio apropriado está descrito em Andrejauskas-Buchdunger *et al.*, *Cancer Res.* 52, 5353-8 (1992).

Os derivados de diaril-ureia úteis de acordo com a invenção, especialmente os compostos de fórmula I, que inibem as actividades de proteínas quinases mencionadas, especialmente proteínas quinases de tirosina mencionadas acima e adiante, podem portanto ser utilizadas no tratamento de doenças dependentes de proteínas quinases. As doenças dependentes de proteínas quinases são especialmente doenças proliferativas, de preferência tumores benignos ou especialmente malignos (por exemplo carcinoma dos rins, fígado, cápsulas supra-renais, bexiga, mama, estômago, ovários, cólon, recto, próstata, pâncreas, pulmões, vagina ou tiróide, sarcoma, glioblastomas e numerosos tumores do pescoço e cabeça, bem como leucemias). São capazes de provocar a regressão de tumores e de impedir a formação de metástases tumorais e o crescimento de metástases (e também de micrometástases). Além disso podem ser utilizados em

hiperproliferação epidérmica (e.g. psoríase), em hiperplasia da próstata, e no tratamento de neoplasias, especialmente de carácter epitelial, por exemplo carcinoma mamário. Também é possível utilizar os compostos de fórmula I ou I* no tratamento de doenças do sistema imune desde que estejam envolvidas várias ou, especialmente, proteínas quinases de tirosina individuais; além disso, os compostos de fórmula I ou I* também podem ser utilizados no tratamento de doenças do sistema nervoso central ou periférico onde está envolvida a transmissão de sinais por pelo menos uma proteína quinase de tirosina, especialmente seleccionada das mencionadas especificamente.

O oncogene p21ras é o principal contribuinte para o desenvolvimento e progressão de cancros sólidos humanos e está mutado em 30% de todos os cancros humanos. A actividade de GTPase endógena, se aliviada em células de cancro mutadas em ras, medeia os sinais de crescimento constitutivo a efectores a jusante tais como a quinase raf. A inibição da via de sinalização de quinase raf pode portanto ser utilizada para inibição do efeito de ras activa. Os derivados de diaril-ureia úteis de acordo com a presente invenção, especialmente os compostos de fórmula I ou I*, como inibidores de ras são por isso especialmente apropriados para a terapêutica de doenças relacionadas com a sobre-expressão ou a sobre-actividade de ras.

O receptor 2 do factor de crescimento endotelial vascular (VEGF-R2; KDR) é expresso selectivamente no

endotélio vascular primário e é essencial para o desenvolvimento vascular normal. De forma a crescer para além do tamanho mínimo, os tumores têm de gerar novo suprimento vascular. A angiogénese, ou a formação de novos vasos sanguíneos, é um processo central no crescimento de tumores sólidos. Para muitos cancros, a extensão da vascularização de um tumor é um indicador prognóstico negativo que significa doença agressiva e potencial acrescido de metástases. Esforços recentes para compreender a base molecular da angiogénese associada aos tumores identificaram vários alvos terapêuticos potenciais, incluindo as tirosina quinases receptoras do factor de crescimento endotelial vascular (VEGF) do factor angiogénico (ver Zeng *et al.*, *J. Biol. Chem.* 276(35), 32714-32719 (2001)). Os derivados de diaril-ureia úteis de acordo com a presente invenção, especialmente os compostos de fórmula I ou I*, como inibidores de KDR são pois especialmente apropriados para a terapêutica de doenças relacionadas com a sobre-expressão de tirosinas quinases receptoras de VEGF. Entre estas doenças, são especialmente importante as retinopatias, degeneração macular relacionada com a idade, psoríase, hemangioblastoma, hemangioma, arteriosclerose, doenças inflamatórias, tais como doenças reumatóides ou inflamatórias reumáticas, especialmente artrites, tais como artrite reumatóide, ou outras doenças inflamatórias crónicas, tais como asma crónica, aterosclerose arterial ou pós-transplantação, endometriose, e especialmente doenças neoplásicas, por exemplo os chamados tumores sólidos (especialmente cancros do tracto gastrointestinal, pâncreas,

mama, estômago, colo do útero, bexiga, rim, próstata, ovários, endométrio, pulmão, cérebro, melanoma, sarcoma de Kaposi, carcinoma de células escamosas ou carcinoma da cabeça e pescoço, mesotelioma pleural maligno, linfoma ou mieloma múltiplo) e tumores líquidos (e.g. leucemias).

A Flt3 (tirosina quinase de tipo FMD) é especialmente expressa em células progenitoras hematopoiéticas e em progenitores da série linfóide e mielóide. A expressão aberrante do gene de Flt3 foi documentada tanto em leucemias de adultos como de crianças incluindo AML (leucemia mielogénea aguda), AML com mielodisplasia de trilineagem (AML/TMDS), ALL (leucemia linfoblástica aguda), CML (leucemia mielogénea crónica) e síndrome mielodisplásica (MDS), que são portanto as doenças preferidas a ser tratadas com compostos de fórmula I ou I*. Foram encontradas mutações activantes em Flt3 em aproximadamente 25 a 30% dos doentes com AML. Assim existem provas acumuladas quanto ao papel de Flt3 em leucemias humanas, e os derivados de diaril-ureia úteis de acordo com a invenção, especialmente os compostos de fórmula I ou I*, como inibidores de Flt3 são especialmente de utilização na terapêutica deste tipo de doenças (ver Tse et al., *Leukemia* 15(7), 1001-1010 (2001); Tomoki et al., *Cancer Chemother. Pharmacol.* 48 (Suppl. 1), S27-S30 (2001); Birkenkamp et al., *Leukemia* 1(12), 1923-1921 (2001); Kelly et al., *Neoplasia* 9(1), 310-318 (2002)).

Na leucemia mielogénea crónica (CML), uma trans-

locação cromossômica reciprocamente equilibrada em células estaminais hematopoiéticas (HSCs) produz o gene híbrido BCR-ABL. este último codifica a proteína de fusão Bcr-Abl oncogénica. Enquanto que ABL codifica uma proteína tirosina quinase fortemente regulada, que desempenha um papel fundamental na regulação da proliferação, aderência e apoptose celular, o gene de fusão BCR-ABL codifica como quinase constitutivamente activa, que transforma HSCs para produzir um fenotipo que apresenta proliferação clonal desregulada, capacidade reduzida para aderir ao estroma da medula óssea e uma resposta apoptótica reduzida a estímulos mutagénicos, que permitem que acumule transformações progressivamente mais malignas. Os granulócitos resultantes não conseguem desenvolver-se em linfócitos maduros e são libertados na circulação, conduzindo a uma deficiência de células maduras e susceptibilidade acrescida a infecção. Foram descritos inibidores de Bcr-Abl competitivos com ATP que impedem que a quinase activa as vias mitogénica e anti-apoptótica (e.g. quinase P-3 e STAT5), conduzindo à morte das células do fenotipo BCR-ABL e proporcionando assim uma terapêutica eficaz contra CML. Os derivados de diaril-ureia úteis de acordo com a presente invenção, especialmente os compostos de fórmula I, como inibidores de Bcr-Abl são por isso especialmente apropriados para a terapêutica de doenças relacionadas com a sua sobre-expressão, especialmente leucemias, tais como leucemias, e.g. CML ou ALL.

Os compostos de fórmula I, devido à sua actividade como inibidores de receptores de PDGF, também são

especialmente apropriados no tratamento de doenças proliferativas, especialmente cancro do pulmão de células pequenas, aterosclerose, trombose, psoríase, esclerodermia ou fibrose.

Também há experiências para demonstrar a actividade antitumoral de compostos de fórmula I *in vivo*. A actividade antitumoral *in vivo* é testada, por exemplo, utilizando linhas celulares de carcinoma da mama, tais como as de carcinoma da mama dependente de estrogénios humana MCF-7 (ATCC: HTB22) ou ZR-75-1 (ATCC: CRL1500), ou as de carcinomas da mama independentes de estrogénios MDA-MB468 (ATCC: HTB132) ou MDA-MB231 (ATCC: HTB26); linhas celulares de carcinoma do cólon, tais como a de carcinoma do cólon Colo 205 (ATCC: CCL222); linhas celulares de glioblastoma, tais como a dos glioblastomas U-87MG (ATCC: HTB14) ou U-373MG (ATCC: HTB17); linhas celulares de carcinoma do pulmão, tais como as de "carcinomas do pulmão de células pequenas" NCI-H69 (ATCC: HTB119) ou NCI-H209 (ATCC: HTB172), ou as de carcinoma do pulmão NCI-H596 (ATCC: HTB178); linhas celulares de tumores da pele, tais como as de melanomas Hs294T (ATCC: HTB140) ou A375 (ATCC: CRL1619); linhas celulares tumorais dos sistemas genito-urinários, tais como as de carcinoma do ovário NIH-Ovcar3 (ATCC: HTB161), bem como as dos carcinomas da próstata DU145 (ATCC: HTB81) ou PC-3 (ATCC: CRL1435), ou de carcinoma da bexiga T24 (ATCC: HTB4); carcinomas epiteliais, tais como o carcinoma epitelial KB31; ou (especialmente em relação a leucemias) células K562 (American Type Culture Collection,

Mannassas, Va.) ou células CFU-G humanas (CFU-G significa unidade formadora de colónias de granulócitos, e representa uma células precursora formadora de granulócitos precoce mas dedicada que circula no corrente sanguíneo ou na medula óssea) cada uma das quais é transplantada para ratinhos glabros Balb/c fêmeas ou machos. Outras linhas celulares incluem linhas celulares de leucemia tais como K-562, SUPB15, MEG01, Ku812F, MOLM-13, BaF3, CEM/0, JURKAT/0 ou U87MG.

São obtidos tumores após injeção subcutânea das respectivas células (mínimo de 2×10^6 células em 100 mL de soro fisiológico tamponado com fosfato) nos ratinhos portadores (e.g. 48 ratinhos por linha celular). Os tumores resultantes são passados em série através de pelo menos três transplantações subsequentes antes de se iniciar o tratamento. Fragmentos dos tumores (cerca de 25 mg cada) são injectados s.c. no flanco esquerdo dos animais utilizando uma agulha Trocar de calibre 13 sob narcose com Forene (Abbott, Suíça) para implantação. Aos ratinhos transplantados com tumor dependente de estrogénio é, além disso, administrada uma pastilha de estrogénio (1,0 cm de um tubo com uma qualidade apropriada para fins médicos, Dow Chemicals, com 5 mg de estradiol, Sigma). O tratamento é iniciado em rotina (isto é a carga tumoral baixa ou intermédia), logo que o tumor tiver atingido um tamanho médio de 100 mm³. O crescimento tumoral é determinado uma, duas ou três vezes por semana (dependendo do crescimento tumoral da linha celular) e 24 h após o último tratamento

por medição do diâmetro perpendicular. No caso de tumores, os volumes dos tumores são determinados de acordo com a fórmula $L \times D \times p/6$ (ver Evans, B. D., Smith, I. E., Shorthouse, A. J. e Millar, J. J., *Brit. J. Cancer*, 45:466-468, 1982). A actividade é expressa como T/C% (aumento médio do volume do tumor de animais tratados dividido pelo aumento médio do volume do tumor em animais de controlo multiplicado por 100). A regressão tumoral (%) representa o volume médio do tumor mais pequeno em comparação com o volume médio do tumor no início do tratamento. Cada animal em que o tumor atinge um diâmetro de mais de 1,5 a 2 cm³ é sacrificado. A carga de leucemia é avaliada por exame da contagem de leucócitos periféricos e peso do baço e timo nos animais que têm linhas celulares de leucemia.

Um regime exemplificativo (mas não limitante) para administração de um derivado de diaril-ureia, especialmente de formula I, ou um seu sal, é a administração diária, de preferência com 1 a 3 doses diárias durante um período mais longo, possivelmente quando a doença está curada ou, se só se consegue tratamento paliativo, durante tanto tempo quanto o necessário; alternativamente, é possível o tratamento e.g. durante 5 dias, e/ou a administração nos dias 1, 4 e 9, com eventual repetição após um certo tempo sem tratamento. Alternativamente, são possíveis o tratamento várias vezes por dia (e.g. 2 a 5 vezes) ou o tratamento por administração contínua (e.g. perfusão), e.g. nos pontos de tempo indicados na última frase. Geralmente, a administração é oralmente ou parentericamente, de prefe-

rência oralmente. Os compostos de teste são de preferência diluídos em água ou em soro fisiológico a 0,9% estéril.

Todas as linhas celulares tumorais humanas são obtidas da American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, Md., EUA) salvo indicação em contrário e são cultivadas nos meios sugeridos com os correspondentes aditivos (condições de cultura da ATCC), salvo indicação em contrário. As células 3T3 de BALB/c transformadas *c-sis*- e *v-sis* são obtidas do Dr. C. Stiles (Dana Farber Cancer Institute, Boston, Mass., EUA). São cultivadas em "meio de Eagle modificado por Dulbecco" (DMEM), que é suplementado com soro de vitelo a 10% e Higromicina B numa concentração de 0,2 mg/mL ou G418 numa concentração de 0,5 mg/mL. Células AMuLV A.6R.1 de BALB/c (ATCC) são mantidas em DMEM, suplementado com soro fetal de vitelo a 10%.

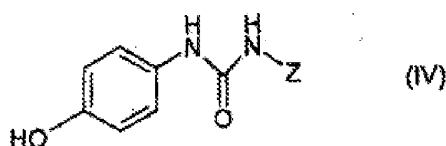
A actividade farmacológica de um derivado de diaril-ureia de fórmula I pode, por exemplo, ser demonstrada num estudo clínico ou num procedimento de ensaio essencialmente tal como aqui descrito a seguir.

Os estudos clínicos adequados são, por exemplo, estudos de aumento de escala não cegos, não distribuídos aleatoriamente, em doentes com uma das doenças tumorais acima referidas. Os efeitos vantajosos sobre doenças proliferativas podem ser determinados directamente através dos resultados destes estudos ou por alterações da concepção do estudo que são conhecidas como tal por um

especialista na matéria. A eficácia do tratamento pode ser determinadas nesses estudos, e.g., no caso de tumores após 18 ou 24 semanas por avaliação radiológica dos tumores de 6 em 6 semanas, no caso de uma leucemia e.g. por determinação da contagem de glóbulos brancos aberrantes, e por colocação de células mononucleares e/ou por meio da determinação da doença residual mínima (MRD) e.g. por FACS-LPC MRD ou PCR.

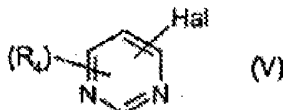
Alternativamente, um estudo duplamente cego, controlado por placebo, pode ser utilizado de modo a comprovar as vantagens dos derivados de diaril-ureia úteis de acordo com a invenção, especialmente os compostos de fórmula I, aqui mencionados.

Os derivados de diaril-ureia úteis de acordo com a invenção, especialmente os compostos de fórmula I, de preferência os novos compostos de fórmula I, podem ser preparados de acordo com processos que são conhecidos na técnica, especialmente em que para a síntese de um composto de fórmula I em que n é 1, Y₁ é O e Z, R₁, R₂, R₃ e R₄ têm os significados definidos para um composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 7, um composto hidroxilado de fórmula IV



em que Z, R₁, R₂ e R₃ têm os significados definidos para um composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 7, é

eterificado com um composto halogenado de fórmula V



em que R_4 tem os significados definidos para um composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 7 e Hal é halogéneo, ou

e, se desejado, após a reacção (a), (b), (c) ou (d) um composto de fórmula I obtido é transformado num composto de fórmula I diferente, um sal de um composto de fórmula I obtido é transformado no composto livre ou num sal diferente, ou um composto livre de fórmula I obtido é transformado num sal; e/ou uma mistura obtida de isómeros de compostos de fórmula I é separada nos isómeros individuais;

em que para todas as reacções mencionadas os grupos funcionais dos materiais de partida que não vão tomar parte na reacção estão, se necessário, presentes em forma protegida por grupos protectores prontamente removíveis, e quaisquer grupos protectores são subsequentemente removidos.

São preferidas as seguintes condições reaccionais, respectivamente:

No âmbito deste texto, só um grupo prontamente removível que não é um constituinte do produto final desejado específico de fórmula I é designado um "grupo

protector", salvo se o contexto indicar de outro modo. A protecção de grupos funcionais por esses grupos protectores, os próprios grupos protectores, e as suas reacções de clivagem estão descritas por exemplo em livros de referência correntes, tais como J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Londres e Nova Iorque 1973, em T. W. Greene e P. G. M. Wuts, "Protective Groups em Organic Synthesis", Third edition, Wiley, Nova Iorque 1999, em "The Peptides"; Volume 3 (editores: E. Gross e J. Meienhofer), Academic Press, Londres e Nova Iorque 1981, em "Methoden der organischen Chemie" (Methods of Organic Chemistry), Houben Weyl, 4th edition, Volume 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, em H.-D. Jakubke e H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, Peptides, Proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, e Basileia 1982, e em Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of Carbohydrates: Monosaccharides and Derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Uma característica dos grupos protectores é que podem ser removidos facilmente (*i.e.* sem a ocorrência de reacções secundárias indesejadas) por exemplo por solvólise, redução, fotólise ou alternativamente em condições fisiológicas (*e.g.* por clivagem enzimática).

Um grupo protector de um grupo OH, nomeadamente um grupo tri-alquilsililo inferior, tal como um grupo terc-butil-di-metilsililo, pode, por exemplo, ser removido na presença de aniões fluoreto, *e.g.* por reacção com um

fluoreto de amónio apropriado, tal como fluoreto de terc-butilamónio, ou de preferência com HF na presença de uma base azotada, especialmente piridina, num solvente aprótico, especialmente um éter, tal como tetra-hidrofurano, um nitrilo, tal como acetonitrilo, ou uma sua mistura, a temperaturas entre 0 e 50°C, e.g. à temperatura ambiente.

A reacção, isto é, a formação de éteres, de preferência decorre na presença de um alcóxido de um metal, especialmente um alcóxido de um metal alcalino, tal como terc-butóxido de potássio, num solvente apropriado, tal como N,N'-dimetilpropilenourea ou uma di-alquil inferior alcanoíl-amida, tal como dimetilformamida, ou as suas misturas, a temperaturas preferidas entre 50°C e a temperatura de refluxo da mistura reaccional, por exemplo a 100°C.

A formação de éteres também pode decorrer nas condições das reacções de eterificação do tipo Hartwig-Buchwald (ver e.g. Mann *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 121(13), 3224-5 (1999), ou Aranyos *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 121, 4369-78 (1999)).

Os compostos de fórmula I podem ser transformados em compostos de fórmula I diferentes.

Os sais de compostos de fórmula I que têm pelo menos um grupo formador de sais podem ser preparados de modo conhecido *per se*. Por exemplo, os sais de compostos de

fórmula I que têm grupos ácidos podem ser formados, por exemplo, por tratamento dos compostos com compostos de metais, tais como sais de metais alcalinos de ácidos carboxílicos adequados, e.g. o sal de sódio do ácido 2-etilhexanóico, com compostos orgânicos de metais alcalinos ou de metais alcalino-terrosos, tais como os correspondentes hidróxidos, carbonatos ou hidrogeno carbonatos, tais como hidróxido, carbonato ou hidrogeno carbonato de sódio ou de potássio, com os correspondentes compostos de cálcio ou com amoníaco ou uma amina orgânica adequada, sendo de preferência utilizadas quantidades estequiométricas ou só um pequeno excesso do agente formador de sais. Os sais de adição de ácidos de compostos de fórmula I são obtidos do modo habitual, e.g. por tratamento dos compostos com um ácido ou um reagente de permuta aniônica adequado. Os sais internos de compostos de fórmula I contendo grupos ácidos e básicos formadores de sais, e.g. um grupo carboxilo livre e um grupo amina livre, podem ser formador, e.g. pela neutralização de sais, tais como sais de adição de ácidos, até ao ponto isoeléctrico, e.g. com bases fracas, ou por tratamento com permutadores de iões.

Os sais podem ser convertidos do modo habitual nos compostos livres; os sais de metais e de amónio podem ser convertidos, por exemplo, por tratamento com ácidos adequados, e os sais de adição de ácidos, por exemplo, por tratamento com um agente básico adequado.

As misturas de isómeros que podem ser obtidas de

acordo com a invenção podem ser separadas de modo conhecido per se nos isómeros individuais; os diastereoisómeros podem ser separados, por exemplo, por partição entre misturas de solventes polifásicas, recristalização e/ou separação cromatográfica, por exemplo em gel de sílica ou por e.g. cromatografia líquida de média pressão numa coluna de fase inversa, e os racematos podem ser separados, por exemplo, pela formação de sais com reagentes formadores de sais opticamente puros e separação da mistura de diastereo-isómeros assim obtida, por exemplo, por meio de cristalização fraccionada, ou por cromatografia em materiais de enchimento de colunas opticamente activos.

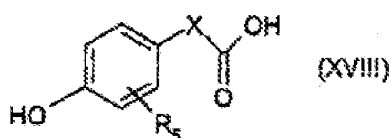
Os intermediários e produtos finais podem ser processados e/ou purificados de acordo com métodos correntes, e.g. utilizando métodos cromatográficos, métodos de distribuição, (re)cristalização, e outros semelhantes.

Materiais de partida

Na descrição seguinte da síntese dos materiais de partida Z, R₁, R₂, R₃, R₄ e R₅ têm os significados indicados para os compostos de fórmula I, salvo indicação em contrário. Os materiais de partida de fórmulas IV e V são conhecidos, estão disponíveis comercialmente e/ou podem ser preparados de acordo com métodos conhecidos na técnica; em particular, podem ser preparados utilizando processos tal como descritos nos Exemplos.

Na descrição subsequente de alguns métodos de síntese preferidos para materiais de partida preferidos, os grupos funcionais que não vão tomar parte nas respectivas reacções podem estar presentes em forma protegida e os grupos protectores podem ser removidos em momentos apropriados; para grupos protectores, a sua introdução e remoção, faz-se referência aos livros de texto e métodos correntes já mencionados acima.

Os compostos de fórmula IV são conhecidos na técnica ou podem ser preparados de acordo com métodos conhecidos na técnica; por exemplo, os compostos de fórmula IV em que X é CHK, em que K é alquilo inferior ou hidrogénio, e p é zero podem ser obtidos por condensação de um composto de fórmula XVIII



em que p e X são como acabado de definir, ou um seu derivado reactivo, com um composto de fórmula VII



em que Z é como definido para um composto de fórmula I; os derivados reactivos e as condições reaccionais são como se segue. A formação de ligações amida, de preferência decorre em condições correntes para a formação de ligações peptí-

dicas (reacção de condensação). Num derivados reactivo de um composto de fórmula I, o grupo carboxilo está funcionalizado como um éster activado (forma reactiva). Contudo, os grupos carboxilo reactivos são de preferência sintetizados *in situ* (por exemplo utilizando os reagentes habituais em química de péptidos, e.g. para a preparação de 1-hidroxibenzotriazole, ésteres de succinimida- ou N-hidroxissuccinimida, ou derivatização *in situ* com agentes de condensação, e.g. com carbodiimidas, tais como diciclo-hexilcarbodiimida, com carbonilimidazole, com N-óxido de fluorofosfato de N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridin-1-ilmetileno]-N-metilmetanamínio (HATU); com tetrafluoroborato de 2-(1H-benzo-triazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio (HBTU), com tetrafluoroborato de 2-(piridon-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio (TPTU); ou hexafluorofosfato de benzo-triazol-1-il-oxi-tris(dimetilamino)fosfónio (BOP), ou reagentes semelhantes). A reacção de condensação de preferência decorre na presença de um agente de condensação, especialmente HBTU, num solvente polar aprótico, de preferência uma N,N-di-(alquil inferior)-alcanoíl amida inferior, tal como dimetilformamida, a temperaturas preferidas na gama de 0 a 50°C, e.g. à temperatura ambiente.

Os compostos de fórmula V e VII são conhecidos, podem ser preparados de acordo com métodos que são conhecidos na técnica ou análogos aos descritos acima e/ou estão disponíveis comercialmente.

Outros materiais de partida são conhecidos na

técnica, podem ser preparados de acordo com métodos que são conhecidos na técnica, e.g. analogamente aos métodos aqui descritos acima ou nos exemplos, e/ou estão disponíveis comercialmente. Os materiais de partida também estão disponíveis de acordo com ou analogamente a métodos descritos no WO 00/42012, WO 00/41698, WO 99/32436 e WO 99/32463.

A presente invenção relaciona-se também com novos materiais de partida e/ou intermediários e com processos para a sua preparação. Os materiais de partida utilizados e as condições reaccionais seleccionadas são de preferência as que resultam nos compostos descritos como sendo preferidos.

Condições gerais dos processos

O seguinte aplica-se em geral a todos os processos aqui mencionados anteriormente e a seguir, sendo preferidas condições reaccionais especificamente mencionadas acima ou adiante:

Todos os passos dos processos acima referidos podem ser realizados em condições reaccionais que são conhecidas *per se*, de preferência as que são mencionadas especificamente, na ausência ou, habitualmente, na presença de solventes ou diluentes, de preferência solventes ou diluentes que são inertes para os reagentes utilizados e os dissolvem, na ausência ou na presença de catalisadores, agentes de condensação ou de neutralização, por exemplo

permutadores de iões, tais como permutadores catiónicos, e.g. na forma H^+ , dependendo da natureza da reacção e/ou dos reagentes a temperatura reduzida, normal ou elevada, por exemplo numa gama de temperaturas de cerca de $-100^{\circ}C$ a cerca de $190^{\circ}C$, de preferência de aproximadamente $-80^{\circ}C$ a aproximadamente $150^{\circ}C$, por exemplo de -80 a $-60^{\circ}C$, à temperatura ambiente, de -20 a $40^{\circ}C$ ou à temperatura de refluxo, à pressão atmosférica ou num reactor fechado, quando apropriado a pressão e/ou numa atmosfera inerte, por exemplo em atmosfera de árgon ou de azoto.

Em todas as etapas das reacções, as misturas de isómeros que são formadas podem ser separadas nos isómeros individuais, por exemplo diastereoisómeros ou enantiómeros, ou em quaisquer misturas de isómeros desejadas, por exemplo racematos ou misturas de diastereoisómeros, por exemplo analogamente aos métodos descritos em "Passos de processo adicionais".

Os solventes dos quais podem ser seleccionados os solventes que são adequados para qualquer reacção específica incluem os mencionados especificamente ou, por exemplo, água, ésteres, tais como alquil alcanatois inferiores, por exemplo acetato de etilo, éteres, tais como éteres alifáticos, por exemplo éter dietílico, ou éteres cíclicos, por exemplo tetra-hidrofurano ou dioxano, hidrocarbonetos aromáticos líquidos, tais como benzeno ou tolueno, álcoois, tais como metanol, etanol ou 1- ou 2-propanol, nitrilos, tais como acetonitrilo, hidrocarbonetos halogenados, tais

como cloreto de metileno ou clorofórmio, amidas de ácidos, tais como dimetilformamida ou dimetil acetamida, bases, tais como bases heterocíclicas azotadas, por exemplo piridina ou N-metilpirrolidin-2-ona, anidridos de ácidos carboxílicos, tais como anidridos de ácidos alcanóicos inferiores, por exemplo anidrido acético, hidrocarbonetos cíclicos, lineares ou ramificados, tais como ciclo-hexano, hexano ou isopentano, ou misturas destes solventes, por exemplo soluções aquosas, salvo indicação em contrário na descrição dos processos. Essas misturas de solventes também podem ser utilizadas no processamento, por exemplo por cromatografia ou partição.

Os compostos, incluindo os seus sais, também podem ser obtidos na forma de hidratos, ou os seus cristais podem, por exemplo, incluir o solvente utilizado para cristalização. Podem estar presentes diferentes formas cristalinas.

A invenção também se relaciona com as formas do processo em que um composto que pode ser obtido como intermediário em qualquer passo do processo é utilizado como material de partida e são realizados os restantes passos do processo, ou em que um material de partida é formado nas condições reaccionais ou é utilizado na forma de um derivado, por exemplo em forma protegida ou na forma de um sal, ou um composto que pode ser obtido pelo processo de acordo com a invenção é produzido nas condições do processo e adicionalmente processado *in situ*. No processo

da presente invenção são de preferência utilizados os materiais de partida que resultam em composto de fórmula I novos descritos no início como sendo especialmente valiosos. É dada especial preferência às condições reacionais que são idênticas ou análogas às mencionadas nos Exemplos.

Forma de realização preferidas de acordo com a invenção

Nas formas de realização preferidas seguintes, uma expressão geral pode ser substituída pelas correspondentes definições mais específicas apresentadas acima e adiante, dando assim formas de realização mais fortemente preferida da invenção.

É preferida a UTILIZAÇÃO de compostos de fórmula I, dos seus tautómeros ou dos seus sais farmaceuticamente aceitáveis, em que a doença dependente de proteína quinase de tirosina a ser tratada é uma doença proliferativa dependente de qualquer uma ou mais das seguintes proteína quinases de tirosina: actividade de ras, Abl, tirosina quinase receptora de VEGF, Flt3, e/ou Bcr-Abl.

É preferido um composto de fórmula I em que cada de R₁, R₂, R₃, independentemente dos outros, é hidrogénio, hidroxilo, amino, nitro, metilo, etilo, propilo, trifluorometilo, metoxi, 2,2,2-trifluoroetoxi, cloro, bromo, 4-hidroxifenilamino, 4-[(2-aminoetil)-oxi]-fenilamino, 4-sulfamoil-fenilamino, {N-[4-(2-hidroxietil)-carbamoil]-fe-

nil}amino, piperidilo, piperazinilo, morfolinilo, ou tio-morfolinilo;

ou um seu tautômero;

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

Também é preferido um composto de fórmula I em que cada de R_1 , R_2 , R_3 , independentemente dos outros, é hidrogénio, hidroxilo, amino, nitro, metilo, etilo, propilo, trifluorometilo, metoxi, 2,2,2-trifluoroetoxi, cloro, bromo, 4-hidroxi-fenilamino, 4-[(2-aminoetil)-oxi]-fenilamino, 4-sulfamoil-fenilamino, {N-[4-(2-hidroxietil)-carbamoil]-fenil}amino, piperidin-1-ilo, piperazin-1-ilo, morfolino, ou tiomorfolino;

ou um seu tautômero;

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

É muito preferido um composto de fórmula I novo, bem como a sua UTILIZAÇÃO, apresentado nos Exemplos, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Também é muito preferido o método de síntese destes compostos analogamente aos métodos descritos nos Exemplos.

Composições farmacêuticas:

A invenção também se relaciona especialmente com

composições farmacêuticas compreendendo um novo composto de fórmula I, ou com os compostos de fórmula I para utilização no tratamento de uma doença dependente de proteína quinase (especialmente de tirosina) e com a preparação de preparações farmacêuticas, especialmente para as referidas utilizações.

Os compostos farmacologicamente aceitáveis da presente invenção podem ser utilizados, por exemplo, para a preparação de composições farmacêuticas que compreendem uma quantidade farmacêuticamente eficaz de um composto de fórmula I, ou de um seu sal farmacêuticamente aceitável, como ingrediente activo conjuntamente ou em mistura íntima com uma quantidade significativa de um ou mais veículos inorgânicos ou orgânicos, sólidos ou líquidos, farmacêuticamente aceitáveis.

A invenção também se relaciona com uma composição farmacêutica que é adequada para administração a um animal de sangue quente, especialmente um ser humano (ou a células ou linhas celulares derivadas de um animal de sangue quente, especialmente um ser humano, e.g. linfócitos), para o tratamento de ou, num aspecto mais amplo da invenção, prevenção de (= profilaxia contra) uma doença que responde à inibição de actividade de proteína quinase de tirosina, especialmente uma das doenças mencionadas acima como sendo preferida para UTILIZAÇÃO de um composto de fórmula I, compreendendo uma quantidade de um novo composto de fórmula I, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, que é eficaz

para a referida inibição, conjuntamente com pelo menos um veículo farmacêuticamente aceitável.

As composições farmacêuticas de acordo com a invenção são as para administração entérica, tal como nasal, rectal ou oral, ou parentérica, tal como intramuscular ou intravenosa, a animais de sangue quente (especialmente um ser humano), que compreendem uma dose eficaz do ingrediente farmacologicamente activo, só ou conjuntamente com uma quantidade significativa de um veículo farmacêuticamente aceitável. A dose do ingrediente activo depende da espécie de animal de sangue quente, do peso corporal, da idade e do estado individual, dos dados farmacocinéticos individuais, da doença a ser tratada e do modo de administração.

A invenção também permite um método de tratamento de uma doença que responde a inibição de uma proteína quinase (especialmente de tirosina), especialmente uma das doenças mencionadas acima como sendo preferida para UTILIZAÇÃO de um composto de fórmula I; que compreende a administração de uma quantidade profilacticamente ou especialmente terapeuticamente eficaz (contra a referida doença) de um composto de fórmula I de acordo com a invenção, especialmente a um animal de sangue quente, por exemplo um ser humano, que, devido a uma das doenças mencionadas, requer esse tratamento.

A dose de um composto de fórmula I, ou de um seu

sal farmacêuticamente aceitável a ser administrada a animais de sangue quente, por exemplo seres humanos com peso corporal de aproximadamente 70 kg, é de preferência de aproximadamente 3 mg a aproximadamente 30 g, mais preferencialmente de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1,5 g, mais preferencialmente ainda de cerca de 100 mg a cerca de 1000 mg por pessoa por dia, divididos de preferência em 1 a 3 doses individuais que podem, por exemplo, ser do mesmo tamanho. Normalmente as crianças recebem metade da dose de um adulto.

As composições farmacêuticas compreendem de aproximadamente 1% a aproximadamente 95%, de preferência de aproximadamente 20% a aproximadamente 90%, de ingrediente activo. As composições farmacêuticas de acordo com a invenção podem estar, por exemplo, em forma de dose unitária, tal como na forma de ampolas, frascos, supositórios, drageias, comprimidos ou cápsulas.

As composições farmacêuticas da presente invenção são preparadas de modo conhecido *per se*, por exemplo por meio de processos convencionais de dissolução, liofilização, mistura, granulação ou confecção.

As soluções do ingrediente activo, e também as suspensões, e especialmente as soluções ou suspensões aquosas isotónicas, são uma forma preferida utilizada, sendo possível, por exemplo no caso de composições liofilizadas que compreendam o ingrediente activo só ou con-

juntamente com um veículo, por exemplo manitol, que essas soluções ou suspensões sejam produzidas antes da utilização. As composições farmacêuticas podem ser esterilizadas e/ou podem compreender excipientes, por exemplo conservantes, estabilizadores, agentes molhantes e/ou emulsionantes, solubilizantes, sais para regulação da pressão osmótica e/ou tampões, e são preparadas de modo conhecido *per se*, por exemplo por meio de processos de dissolução ou liofilização convencionais. As referidas soluções ou suspensões podem compreender substâncias de aumento da viscosidade, tais como carboximetilcelulose de sódio, carboximetilcelulose, dextrano, polivinilpirrolidona ou gelatina.

As suspensões em óleo compreendem como o componente oleoso os óleos vegetais, sintéticos ou semi-sintéticos habituais para fins de injeção. Pode mencionar-se como tais especialmente os ésteres de ácidos gordos líquidos que contêm como o componente ácido um ácido gordo de cadeia longa com de 8 a 22, especialmente de 12 a 22, átomos de carbono, por exemplo ácido láurico, ácido tridecílico, ácido mirístico, ácido pentadecílico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido araquídico, ácido behénico ou os correspondentes ácidos insaturados, por exemplo ácido oleico, ácido elaidico, ácido erúcico, ácido brasídico ou ácido linoleico, se desejado com a adição de anti-oxidantes, por exemplo vitamina E, β -caroteno ou 3,5-di-terc-butil-4-hidroxitolueno. O componente álcool desses ésteres de ácidos gordos tem um máximo de 6 átomos de carbono e é um álcool

mono- ou poli-hidroxilado, por exemplo, mono-, di- ou tri-hidroxilado, por exemplo metanol, etanol, propanol, butanol ou pentanol ou os seus isómeros, mas especialmente glicol e glicerol. São portanto de mencionar os seguintes exemplos de ésteres de ácidos gordos: oleato de etilo, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, "Labrafil M 2375" (trioleato de polioxietileno glicerol, Gattefossé, Paris), "Miglyol 812" (triglicérido de ácidos gordos saturados com um comprimento da cadeia de C8 a C12, Hüls AG, Alemanha), mas especialmente óleos vegetais, tais como óleo de sementes de algodoeiro, óleo de amêndoas, azeite, óleo de rícino, óleo de sésamo, óleo de soja e mais especialmente óleo de amendoim.

As composições para injeção são preparadas do modo habitual em condições estéreis; o mesmo se aplica à introdução de composições em ampolas ou frascos e selagem dos recipientes.

As composições farmacêuticas para administração oral podem ser obtidas por combinação do ingrediente activo com veículos sólidos, se desejado granulando a mistura resultante, e processando a mistura, se desejado ou necessário, após a adição de excipientes apropriados, em comprimidos, núcleos de drageias ou cápsulas. Também é possível serem incorporadas em veículos plásticos que permitem que os ingredientes activos se difundam ou sejam libertados em quantidades medidas.

Os veículos adequados são especialmente enchi-mentos, tais como açúcares, por exemplo lactose, sacarose, manitol ou sorbitol, preparações de celulose e/ou fosfatos de cálcio, por exemplo fosfato tricálcico ou hidrogeno fosfato de cálcio, e aglutinantes, tais como pastas de amido utilizando por exemplo amido de milho, trigo, arroz ou fécula de batata, gelatina, tragacanta, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose de sódio e/ou polivinilpirrolidona, e/ou, se desejado, desin-tegrantes, tais como os amidos acima referidos, e/ou carboximetil amido, polivinilpirrolidona reticulada, agar, ácido algínico ou um seu sal, tal como alginato de sódio. Os excipientes são especialmente condicionadores do caudal e lubrificantes, por exemplo ácido silícico, talco, ácido esteárico ou os seus sais, tais como estearato de magnésio ou cálcio, e/ou polietileno glicol. Os núcleos de drageias são dotados com revestimentos adequados, opcionalmente entéricos, neles sendo utilizados, *inter alia*, soluções concentradas de açúcar que podem compreender goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, polietileno glicol e/ou dióxido de titânio, ou soluções de revestimento em solventes orgânicos adequados, ou, para a preparação de revestimentos entéricos, soluções de preparações de celulose adequadas, tais como ftalato de etilcelulose ou ftalato de hidroxipropilmetilcelulose. As cápsulas são cápsulas de encher a seco feitas de gelatina e cápsulas moles seladas feitas de gelatina e um plastificante, tal como glicerol ou sorbitol. As cápsulas de encher a seco podem compreender o ingrediente activo na forma de

grânulos, por exemplo com enchimentos, tais como lactose, aglutinantes, tais como amidos, e/ou deslizantes, tais como talco ou estearato de magnésio, e se desejado com estabilizadores. Em cápsulas moles o ingrediente activo está de preferência dissolvido ou suspenso em excipientes oleosos adequados, tais como óleos gordos, óleo e parafina ou polietileno glicóis líquidos, sendo também possível que sejam adicionados estabilizadores e/ou agentes antibacterianos. Podem ser adicionados corantes ou pigmentos aos revestimentos dos comprimidos ou drageias ou aos invólucros das cápsulas, por exemplo para fins de identificação ou para indicar diferentes doses de ingrediente activo.

Um composto de fórmula I também pode ser utilizado com vantagem em associação com outros agentes antiproliferativos. Esses agentes antiproliferativos incluem mas não estão limitados a inibidores de aromatase, anti-estrogénios, inibidores de topoisomerase I, inibidores de topoisomerase II, agentes activos para microtúbulos, agentes alquilantes, inibidores de histona desacetilase, inibidores de farnesil transferase, inibidores de COX-2, inibidores de MMP, inibidores de mTOR, antimetabolitos antineoplásicos, compostos de platina, compostos que reduzem a actividade de proteína quinase e mais compostos anti-angiogénicos, agonistas de gonadorelina, anti-androgénios, bengamidas, bisfosfonatos, anticorpos antiproliferativos e temozolomida (TEMODAL®).

O termo "inibidores de aromatase" tal como aqui

utilizado relaciona-se com compostos que inibem a produção de estrogénios, *i.e.* a conversão dos substratos androstenodiona e testosterona em estrona e estradiol, respectivamente. O termo inclui, mas não está limitado a, esteróides, especialmente exemestano e formestano e, em particular, não esteróides, especialmente aminoglutetimida, vorozole, fadrozole, anastrozole e, muito especialmente, letrozole. O exemestano pode ser administrado, *e.g.*, na forma em que é comercializado, *e.g.* com o nome comercial AROMASIN™. O formestano pode ser administrado, *e.g.*, na forma em que é comercializado, *e.g.* com o nome comercial LENTARON™. O fadrozole pode ser administrado, *e.g.*, na forma em que é comercializado, *e.g.* com o nome comercial AFEMA™. O anastrozole pode ser administrado, *e.g.*, na forma em que é comercializado, *e.g.* com o nome comercial ARIMIDEX™. O letrozole pode ser administrado, *e.g.*, na forma em que é comercializado, *e.g.* com o nome comercial FEMARA™ ou FEMAR™. A aminoglutetimida pode ser administrada, *e.g.*, na forma em que é comercializado, *e.g.* com o nome comercial ORIMETEN™.

Uma associação da invenção compreendendo um agente antineoplásico que é um inibidor de aromatase é particularmente útil para o tratamento de tumores da mama positivos a receptores hormonais.

O termo "antiestrogénios" tal como aqui utilizado relaciona-se com compostos que antagonizam o efeito de estrogénios ao nível dos receptores de estrogénios. O termo

inclui, mas não estão limitados a tamoxifeno, fulvestrant, raloxifeno e cloridrato de raloxifeno. O tamoxifeno pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial NOLVADEX™. O cloridrato de raloxifeno pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial EVISTA™. O fulvestrant pode ser formulado como descrito na U.S. 4 659 516 ou pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial FASLODEX™.

O termo "inibidores de topoisomerase I" tal como aqui utilizado inclui, mas não está limitado a topotecan, irinotecan, 9-nitrocamptotecina e o conjugado de camptotecina macromolecular PNU-166148 (composto A1 no WO99/17804). O irinotecano pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial CAMPTOSAR™. O topotecano pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial HYCAMTIN™.

O termo "inibidores de topoisomerase II" tal como aqui utilizado inclui, mas não está limitado às antraciclina doxorubicina (incluindo a formulação lipossomal, e.g. CAELYX™), epirrubicina, idarrubicina e nemorrubicina, as antraquinonas mitoxantrona e losoxantrona, e as podofilotoxinas etoposido e teniposido. O etoposido pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial ETOPOPHOS™. O teniposido pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado,

e.g. com o nome comercial VM 26-BRISTOL™. A doxorubicina pode ser administrada, e.g., na forma em que está comercializada, e.g. com o nome comercial ADRIBLASTIN™. A epirubicina pode ser administrada, e.g., na forma em que está comercializada, e.g. com o nome comercial FARMORUBICIN™. A idarrubicina pode ser administrada, e.g., na forma em que está comercializada, e.g. com o nome comercial ZAVEDOS™. A mitoxantrona pode ser administrada, e.g., na forma em que está comercializada, e.g. com o nome comercial NOVANTRON™.

O termo "agentes activos para microtúbulos" relacionam-se com agentes de estabilização de microtúbulos e agentes de desestabilização de microtúbulos incluindo, mas não limitados aos taxanos paclitaxel e docetaxel, os alcalóides de vinca, e.g., vinblastina, especialmente sulfato de vinblastina, vincristina especialmente sulfato de vincristina, e vinorrelbina, discodermolido e epotilonas, tais como epotilona B e D. O docetaxel pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial TAXOTERE™. O sulfato de vinblastina pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial VINBLASTIN R.P.™. O sulfato de vincristina pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial FARMISTIN™. O discodermolido pode ser obtido, e.g., como descrito na U.S. 5 010 099.

O termo "agentes alquilantes" tal como aqui utilizado inclui, mas não está limitado a ciclofosfamida,

ifosfamida e melfalan. A ciclofosfamida pode ser administrada, e.g., na forma em que está comercializada, e.g. com o nome comercial CYCLOSTIN™. A ifosfamida pode ser administrada, e.g., na forma em que está comercializada, e.g. com o nome comercial HOLOXAN™.

O termo "inibidores de histona desacetilase" relaciona-se com compostos que inibem a histona desacetilase e que possuem actividade antiproliferativa.

O termo "inibidores de farnesil transferase" relaciona-se com compostos que inibem a farnesil transferase e que possuem actividade antiproliferativa.

O termo "inibidores de COX-2" relaciona-se com compostos que inibem a enzima ciclooxigenase de tipo 2 (COX-2) e que possuem actividade antiproliferativa tais como celecoxib (Celebrex®), rofecoxib (Vioxx®) e lumiracoxib (COX189).

O termo "inibidores de MMP" relaciona-se com compostos que inibem a metaloproteinase de matriz (MMP) e que possuem actividade antiproliferativa.

O termo "inibidores de mTOR" relaciona-se com compostos que inibem o alvo em mamíferos da rapamicina (mTOR) e que possuem actividade antiproliferativa tais como sirolimus (Rapamune®), everolimus (Certican™), CCI-779 e ABT578.

O termo "antimetabolitos antineoplásicos" inclui, mas não está limitado a 5-fluorouracilo, tegafur, capecitabina, cladribina, citarabina, fosfato de fludarabina, fluoro-uridina, gemcitabina, 6-mercaptopurina, hidrox ureia, metotrexato, edatrexato e sais desses compostos, e ainda ZD 1694 (RALTITREXED™), LY231514 (ALIMTA™), LY264618 (LOMOTREXOL™) e OGT719.

O termo "compostos de platina" tal como aqui utilizado inclui, mas não está limitado a carboplatina, cisplatina e oxaliplatina. A carboplatina pode ser administrada, e.g., na forma em que está comercializada, e.g. com o nome comercial CARBOPLAT™. A oxaliplatina pode ser administrada, e.g., na forma em que está comercializada, e.g. com o nome comercial ELOXATIN™.

O termo "compostos que reduzem a actividade de proteína quinase e outros compostos anti-angiogénicos" tal como aqui utilizado inclui, mas não está limitado a compostos que diminuem a actividade de e.g. o factor de crescimento endotelial vascular (VEGF), o factor de crescimento epidérmico (EGF), c-Src, proteína quinase C, o factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), Bcr-Abl, c-Kit, Flt-3, o receptor do factor I de crescimento semelhante a insulina (IGF-IR) e as quinases dependentes de ciclina (CDKs), e compostos anti-angiogénicos que têm outro mecanismo de acção do que a redução da actividade de proteínas quinases.

Os compostos que reduzem a actividade de VEGF são especialmente compostos que inibem o receptor de VEGF, especialmente a actividade de tirosina quinase do receptor de VEGF, e compostos que se ligam a VEGF, e são em particular os compostos, proteínas e anticorpos monoclonais genericamente e especificamente descritos no WO 98/35958 (descrevendo compostos de fórmula I), WO 00/09495, WO 00/27820, WO 00/59509, WO 98/11223, WO 00/27819, WO 01/55114, WO 01/58899 e EP 0 769 947; os descritos por M. Prewett et al. em *Cancer Research* 59 (1999) 5209-5218, por F. Yuan et al. em *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, vol. 93, pp. 14765-14770, Dezembro de 1996, por Z. Zhu et al. em *Cancer Res.* 58, 1998, 3209-3214, e por J. Mordenti et al. em *Toxicologic Pathology*, vol. 27, nº 1, pp. 14-21, 1999; no WO 00/37502 e WO 94/10202; Angiostatin™, descrita por M. S. O'Reilly et al., *Cell* 79, 1994, 315-328; e Endostatin™, descrita por M. S. O'Reilly et al., *Cell* 88, 1997, 277-285; os compostos que reduzem a actividade de EGF são especialmente compostos que inibem o receptor de EGF, especialmente a actividade de tirosina quinase do receptor de EGF, e compostos que se ligam a EGF, e são em particular os compostos genericamente e especificamente descritos no WO 97/02266 (que descreve compostos de fórmula IV), EP 0 564 409, WO 99/03854, EP 0520722, EP 0 566 226, EP 0 787 722, EP 0 837 063, WO 98/10767, WO 97/30034, WO 97/49688, WO 97/38983 e, especialmente, WO 96/33980;

os compostos que reduzem a actividade de c-Src incluem, mas

não estão limitados a compostos que inibem a actividade de proteína quinase de c-Src tal como definido adiante e os inibidores de interacção SH2 tais como os descritos no WO97/07131 e WO97/08193;

os compostos que inibem a actividade de proteína tirosina quinase incluem, mas não estão limitados a compostos que pertencem às classes estruturais de pirrolopirimidinas, especialmente pirrolo[2,3-d]pirimidinas, purinas, pirazopirimidinas, especialmente pirazo[3,4-d]pirimidinas, pirazopirimidinas, especialmente pirazo[3,4-d]pirimidinas e piri-dopirimidinas, especialmente pirido[2,3-d]pirimidinas. De preferência, o termo relaciona-se com os compostos descritos no WO 96/10028, WO 97/28161, W097/32879 e W097/49706;

compostos que reduzem a actividade da proteína quinase C são especialmente os derivados de estaurosporina descritos na EP 0 296 110 (preparação farmacêutica descrito no WO 00/48571) cujos compostos são inibidores de proteína quinase C;

outros compostos específicos que reduzem a actividade de proteína quinase e que também podem ser utilizados em associação com os compostos da presente invenção são Imatinib (Gleevec®/Glivec®), PKC412, Iressa™ (ZD1839), PK1166, PTK787, ZD6474, GW2016, CHIR-200131, CEP-7055/CEP-5214, CP-547632, KRN-633 e SU5416;

os compostos anti-angiogénicos que têm outro mecanismo de

acção do que o de redução da actividade de proteína quinase incluem, mas não estão limitados a e.g. talidomida (THALOMID), celecoxib (Celebrex) e ZD6126.

O termo "agonista de gonadorelina" tal como aqui utilizado inclui, mas não está limitado a abarelix, goserelina e acetato de goserelina. A goserelina está descrita na U.S. 4 100 274 e pode ser administrada, e.g., na forma em que está comercializada, e.g. com o nome comercial ZOLADEX™. O abarelix pode ser formulado, e.g. tal como descrito na U.S. 5 843 901.

O termo "anti-androgénios" tal como aqui utilizado inclui, mas não está limitado a bicalutamida (CASODEX™), que pode ser formulada, e.g. tal como descrito na U.S. 4 636 505.

O termo "bengamidas" relaciona-se com bengamidas e os seus derivados que têm propriedades antiproliferativas.

O termo "bisfosfonatos" tal como aqui utilizado inclui, mas não está limitado a ácido etridónico, ácido clodrónico, ácido tiludrónico, ácido pamidrónico, ácido alendrónico, ácido ibandrónico, ácido risedrónico e ácido zoledrónico. O "ácido etridónico" pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial DIDRONEL™. O "ácido clodrónico" pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g.

com o nome comercial BONEFOS™. O "ácido tiludrónico" pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial SKELID™. O ácido "pamidrónico" pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial AREDIA™. O "ácido alendrónico" pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial FOSAMAX™. O "ácido ibandrónico" pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial BONDRANAT™. O "ácido risedrónico" pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial ACTONEL™. O "ácido zoledrónico" pode ser administrado, e.g., na forma em que está comercializado, e.g. com o nome comercial ZOMETA™.

O termo "anticorpos antiproliferativos" tal como aqui utilizado inclui, mas não está limitado a trastuzumab (Herceptin™), Trastuzumab-DM1, erlotinib (Tarceva™), bevacizumab (Avastin™), rituximab (Rituxan®), PRO64553 (anti-CD40) e Anticorpo 2C4.

Para o tratamento de leucemia mielóide aguda (AML), os compostos de fórmula I ou I* podem ser utilizados em associação com as terapêuticas correntes para leucemias, especialmente em associação com terapêuticas utilizadas para o tratamento da AML. Em particular, os compostos de fórmula I ou I* podem ser administrados em associação com e.g. inibidores de farnesiltransferase e/ou outros fármacos úteis para o tratamento de AML, tais como Daunorrubicina,

Adriamicina, Ara-C, VP-16, Teniposido, Mitoxantrona, Idarrubicina, Carboplatina e PKC412.

A estrutura dos agentes activos identificados por números de código, nomes genéricos ou comerciais podem ser retiradas da presente edição do compêndio corrente "The Merck Index" ou de bases de dados, e.g. Patents International (e.g. IMS World Publications).

Os compostos acima referidos, que podem ser utilizados em associação com um composto de fórmula I ou I*, podem ser preparados e administrados tal como descrito na técnica tal como nos documentos citados acima.

Exemplos

Os exemplos seguintes servem para ilustrar a invenção sem limitar o seu âmbito.

Abreviaturas:

abs.	absoluto
AcOEt	acetato de etilo
AcOH	ácido acético
Anal.	análise elementar (para os átomos indicados, diferença entre o valor calculado e o determinado: 0,4 %)
salmoura	solução aquosa saturada de NaCl
cat.	catalisador

conc.	concentrado
d	dia(s)
decomp.	decomposição
DIBAH	hidreto de diisobutil-alumínio
DIEA	diisopropil-etil-amina
DMF	dimetil formamida
DMPU	1,3-dimetil-3,4,5,6-tetra-hidro-2-(1H)- pirimidinona
DMEU	1,3-dimetil-2-imidazolidinona
DMSO	sulfóxido de dimetilo
DMSO-d6	sulfóxido de dimetilo per-deuterado
éter	éter dietílico
EtOH	etanol
equiv	equivalente(s)
Ex.	Exemplo
h	hora(s)
HPLC	cromatografia líquida de alta pressão
L	litro(s)
Me	metilo
min	minuto(s)
p.f.	ponto de fusão
MPLC	cromatografia líquida de média pressão (sistema Combi Flash)
NEt ₃	trietilamina
NMM	N-metilmorfolina
NMR	Ressonância magnética nuclear
Rf	razão de frentes (cromatografia em camada fina)
ta	temperatura ambiente
TBS	terc-butil-dimetilsililo

TBTU	tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)- N,N,N',N'-tetrametilurónio
THF	tetra-hidrofurano (destilado de Na/benzofenona)
TFA	ácido trifluoroacético
TLC	cromatografia em camada fina
TPTU	tetrafluoroborato de O-(2-oxo-1(2H)-piridil)- N,N,N',N'-tetrametilurónio
tR	tempo de retenção (HPLC)
trifosgénio	carbonato de bis(triclorometilo)
Tween 80	monooleato de polioxietileno (20) sorbitano (marca comercial da ICI, Uniquema)

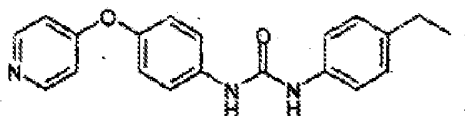
Condições de HPLC:

Sistema 1: A HPLC é realizada num Agilent HP 1100 utilizando uma coluna Nucleosil 100-3 C18 HD 125 x 4,0 mm (1 mL/min; gradiente linear de 20-100% de CH₃CN (0,1% de TFA) e H₂O (0,1% de TFA) em 7 min).

Sistema 2: Gradiente linear de 2-100% de CH₃CN (0,1% de TFA) e H₂O (0,1% de TFA) em 10 min + 2 min de 100% de CH₃CN (0,1% de TFA); detecção a 215 nm, caudal 0,7 mL/min a 25 ou 30°C. Coluna : Nucleosil 120-3 C18 (125 x 3,0 mm).

Sistema 3: Gradiente linear de 20-100% de CH₃CN (0,1% de TFA) e H₂O (0,1% de TFA) em 13 min + 5 min de 100% de CH₃CN (0,1% de TFA); detecção a 215 nm, caudal 1 mL/min a 25 ou 30°C. Coluna: Nucleosil 120-3 C18 (125 x 3,0 mm).

Exemplo 1 (Exemplo de referência): N-(4-piridin-4-il-oxi-fenil)-N'-(4-etil-fenil)-ureia



Uma solução de piridina (3,46 mL, 43 mmol), 4-etil anilina (0,69 mL, 5,37 mmol) e fosgênio (11,1 mL, 20% em tolueno; 21,5 mmol) em CH_2Cl_2 (66 mL) é agitada a 0°C de um dia para o outro. Após concentração a pressão reduzida, a mistura reaccional é retomada em THF (26 mL), filtrada e adicionada a uma solução de 4-(piridin-4-il-oxi)-fenilamina (Passo 1.11; 0,5 g, 2,69 mmol) e piridina (0,43 mL, 0,43 mmol) em THF (3,3 mL) e agitada à ta durante 24 h. A solução da reacção é filtrada sobre gel de sílica (30 g), retomada em AcOEt (100 mL), lavada com H_2O (20 mL), NaHCO_3 (5%, 20 mL), e salmoura (20 mL, 2x), seca sobre Na_2SO_4 , concentrada a pressão reduzida e submetida a cromatografia "flash" (gel de sílica, 2 x 18 cm; AcOEt/hexano = 2:1-> 4:1) dando o composto do Exemplo 1 como um sólido incolor; $M+H=334$, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 8,70 (s, 1H, NH), 8,60 (s, 1H, NH), 8,44 (d, Hz, 6,5 Hz, 2H, piridinilo), 7,54 (d, 9,5 Hz, 2H, 4-etil-fenilo), 7,37 (d, 9,5 Hz, 2H, oxo-fenil-amina), 7,11 (d/d, 9,5 Hz, 4H, oxo-fenil-amina/4-etil-fenilo), 6,89 (d, 6,5 Hz, 2H, piridinilo), 2,55 (qu, 7,5 Hz, 2H, CH_2), 1,16 (t, 7,5 Hz, 3H, CH_3); R_f (AcOEt/hexano=2:1): 0,16; p.f. = 166,5-168°C.

O material de partida é preparado como se segue:

Passo 1.1: (4-(piridin-4-il-oxi)-fenil-amina)

Uma solução de 4-aminofenol (15 g, 0,135 mol), cloridrato de 4-cloropiridina (22,5 g, 0,148 mol) e KOtBu (45,8 g, 0,404 mol) em DMPU (208 mL) e DMF (52 mL) é agitada a 100°C durante 24 h, arrefecida até à ta, vertida em H₂O (0,6 L), e extraída com AcOEt (150 mL, 6 x). As fases orgânicas combinadas são lavadas com H₂O (100 mL, 2 x), salmoura (100 mL, 2 x), secas (Na₂SO₄), concentradas a pressão reduzida, e submetidas a cromatografia "flash" (gel de sílica, 4,5 x 25 cm; AcOEt/hexano = 1:9->3:7) para dar o composto em epígrafe do Passo 1.1 como um sólido incolor: M+H = 187,2; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8,37 (d, 6,5 Hz, 2H, piridinilo), 6,79 (d, 9,5 Hz, 2H, fenil), 6,78 (d, 9,5 Hz, 2H, piridinilo) 5,12 (s, 2H, NH₂); R_f (AcOEt/CH₂Cl₂ = 3:7): 0,23; p.f. = 165,8-166,6°C.

Exemplo de Referência 35: N-[4-(piridin-4-il-oxi)-3-cloro-fenil]-N'-(3-trifluorometil-fenil)-ureia

Trifosgénio (91 mg, 0,30 mmol) dissolvido em CH₂Cl₂ (9 mL) é adicionado a uma solução de 3-cloro-4-(piridin-4-iloxi)-fenilamina (Passo 35.1) (0,2 g, 0,906 mmol) e NEt₃ (0,11 mL, 1,5 mmol) em CH₂Cl₂ (4,5 mL) durante 4 min a 0°C. Após agitação da solução da reacção durante 10 min à ta, adiciona-se uma solução de 3-trifluorometil-fenilamina (0,114 mL, 0,906 mmol) e NEt₃ (0,11 mL, 1,5 mmol) em CH₂Cl₂ (4,5 mL). Após agitação durante 4,5 h, a solução de reacção é vertida em solução concentrada de NaHCO₃, e extraída com CH₂Cl₂ (25 mL, 5 x). As fases orgâ-

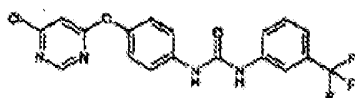
nicas combinadas são lavadas com salmoura (20 mL), secas (MgSO_4), concentradas a pressão reduzida, e submetidas a cromatografia "flash" (gel de sílica, 3,5 x 35 cm; AcOEt/hexano = 2:1→3:1) para dar o composto do Exemplo 35 como um sólido ligeiramente amarelado (301 mg, 0,74 mmol; 81%), $M+H=408,0$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 9,20/9,11 (s/s, 2H, NH), 8,45 (d, 6,5 Hz, 2H, pirimidinilo), 8,01 (s, 1H, CF_3 -fenilo), 7,90 (s, 1H, Cl-fenilo), 7,60 (d, 7,5 Hz, 1H, CH_3 -fenilo), 7,53 (t, 7,5 Hz, 1H, CF_3 -fenilo), 7,41 (d, 8,5 Hz, 1H, Cl-fenilo), 7,33 (m, 2H, *fenil*-Cl/ CF_3 -fenilo), 6,88 (s, 2H, pirimidinilo); HPLC (Sistema 1): 5,43 min.

Passo 35.1:

É preparado de acordo com a síntese do composto da Fase 1.1: $M+H=221,0$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): 8,38 (d, 6,5 Hz, 2H, pirimidinilo), 6,98 (d, 8,5 Hz, 1H, Cl-fenilo), 6,77 (d, 7,0 Hz, 2H, Cl-fenilo), 6,73 (s, 1H, Cl-fenilo), 6,53 (s, 2H, pirimidinilo), 5,44 (s, 2H, NH_2); HPLC (Sistema 1): 5,43 min.

pirimidinilo), 6,73 (m, 3H, pirimidinilo/*fenil*- CH_3), 6,49 (s, 1H, *fenil*- CH_3), 6,44 (m, 2H, *fenil*- CH_3), 5,06 (s, 2H, NH_2), 1,96 (s, 3H, CH_3); R_f (hexano/AcOEt=1:2): 0,14.

Exemplo de referência 56: 1-[4-(6-Cloro-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-3-(3-trifluorometil-fenil)-ureia



Após agitação de isocianato de 3-trifluorometilo (412 mg, 2,2 mmol), 4-(6-cloro-pirimidin-4-iloxi)anilina (Passo 56.1; 0,25 g, 1,1 mmol) e piridina (0,18 mL) de um dia para o outro, a solução de reacção é concentrada a pressão reduzida e submetida a cromatografia "flash" (gel de sílica, 2,5 x 17 cm; acetona/CH₂Cl₂= 5:95->1:9) para dar o composto do Exemplo 56 como um material sólido branco: M+H=408,9/410,9; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 9,07 (s, 1H, NH), 8,89 (s, 1H, NH), 8,63 (d, 2,0 Hz, 1H, piridinilo), 8,01 (s, 1H, 3-CF₃-fenilo), 7,57 (d/largo, 8,0 Hz, 1H, CF₃-fenilo), 7,52 (d, 9,5 Hz, 2H, oxo-fenil-amina), 7,50 (m, 1H, 3-CF₃-fenilo), 7,32 (d, 2,0 Hz, 1H, piridinilo), 7,29 (d/largo, 8,0 Hz, 1H, -CF₃-fenilo), 7,15 (d, 9,5 Hz, 2H, oxo-fenil-amina), (d, 6,5 Hz, 2H, piridinilo); R_f (acetona/CH₂Cl₂=1:9): 0,54; p.f. = 187,4-189,7°C.

Passo 56.1: 4-(6-chloro-pirimidin-4-iloxi)-anilina

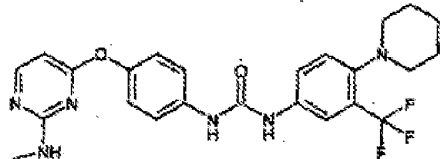
4-Cloro-6-(4-nitro-fenoxi)-pirimidina (Passo 56,2; 3,6 g, 14,3 mmol) dissolvida em MeOH (250 mL) é hidrogenada na presença de Ni de Raney (3 g) a 40°C durante 3 d. A solução de reacção é filtrada, concentrada a pressão reduzida e cristalizada de AcOEt/hexano para dar o composto do Passo 56.1: M+H=222/224; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8,62 (s, 1H, piperidinilo), 7,13 (s, 1H, piperidinilo), 6,83 (d, 9 Hz, 2H, fenilo), 6,56 (d, 9 Hz, 2H, fenilo), 5,12 (s, 2H, NH₂); p.f. = 135,5-138,1°C.

Passo 56.2: 4-Cloro-6-(4-nitro-fenoxi)-pirimidina

4-Nitrofenol (2,8 g, 20,1 mmol), 2,4-dicloro-pirimidina (3 g, 20,1 mmol), NaOH (0,8 g, 20,1 mmol) dissolvidos em H₂O/acetona (80 mL; 1:1) são agitados a 60-65°C durante 1 h. A solução de reacção é concentrada a pressão reduzida e submetida a cromatografia "flash" (gel de sílica, 4,5 x 22 cm, AcOEt/hexano=1:4) para dar o composto do Passo 56.2 como um material sólido branco: M+H=252/254; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8,67 (s, 1H, piperidinilo), 8,34 (d, 9 Hz, 2H, fenilo), 7,58 (d, 9 Hz, 2H, fenilo), 7,53 (s, 1H, piperidinilo); R_f (AcOEt/hexano=1:1): 0,16; p.f. = 125,4-126,6°C.

Os compostos seguintes são sintetizados por analogia com a preparação do composto do Exemplo 56 por agitação do correspondente cloreto e da amina numa gama de temperaturas entre 20 e 80°C durante um período de tempo entre 10 min até várias horas. As estruturas e dados analíticos dos compostos estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6:

Ex.	Estrutura	Dados analíticos
73		M+H = 487,0; R _f (AcOEt/hexano = 2:1): 0,45; HPLC (Sistema 1): 6,44 min

A 4-piperidin-1-il-3-trifluorometil-fenilamina (Passo 73.1) para a síntese do composto do Exemplo 74 é

sintetizada de acordo com a preparação do composto do Passo 38.1: $M+H=245,1$; R_f (AcOEt/hexano = 1:5): 0,11.

Exemplo 88: Os compostos seguintes podem ser preparados analogamente aos procedimentos descritos (Tabela 7):

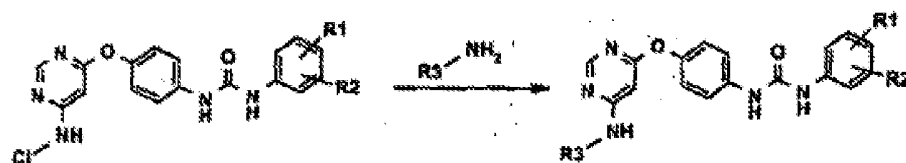
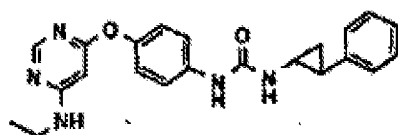


Tabela 7:

			Condições reacionais	p.f. [°C]	MS [M+1] ⁺	Anal.
p)			EtOH 90 min 50°C	191-192	449	CHN
q)			EtOH 20 h, ta	189-191	463	CHN
u)						
v)			EtOH 1 h, ta	178-180	478	
w)			EtOH 11 h, ta		492	
z)						
aa)						
ab)			EtOH, NaI 100 min, 40°C		477	

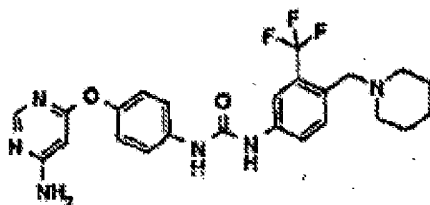
Exemplo 89: $(\pm)$ -*trans*-N-(4-(4-Etilaminopirimidin-6-il-oxi)-fenil)-N'-(2-fenil-ciclopropil)-ureia (método A)



A uma solução de 4-(4-etilaminopirimidin-6-il-oxi)-anilina (Passo 89.1; 271 mg, 1,177 mmol) em THF (5 mL) sob atmosfera de N₂, adiciona-se isocianato de *trans*-2-fenil-ciclopropilo (188 mg, 1,18 mmol; Aldrich). Em seguida a solução é agitada durante 8 h, enquanto se forma um precipitado. A filtração e lavagem com THF e éter dá o composto em epígrafe: p.f.: 205-206°C; ¹H-NMR (DMSO-d₆): 8,50 (s, HN), 8,11 (s, 1H), 7,42 (d, 2H), 7,27 (m, 3H), 7,15 (m, 3H), 7,01 (d, 2H), 6,67 (s, HN), 5,67 (s, 1H), 3,25 (m, 2H), 2,74 (m, 1H), 1,98 (m, 1H), 1,17 (m, 2H), 1,09 (t, 3H); Anal.: CHN.

Os materiais de partida são preparados como se segue:

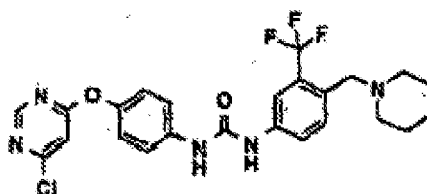
Exemplo 131: N-(4-(4-Aminopirimidin-6-il-oxi)-fenil)-N'-(3-trifluorometil-4-(piperidin-1-ilmetil)-fenil)-ureia



A hidrogenação de N-(4-(4-azidopirimidin-6-il-oxi)-fenil)-N'-(3-trifluorometil-4-(piperidin-1-ilmetil)-fenil)-ureia (Exemplo 130; 213 mg, 0,41 mmol) na presença de Pd/C a 10% (40 mg) em 10 mL de THF durante 2 h à ta, filtração e concentração do filtrado dá o composto em

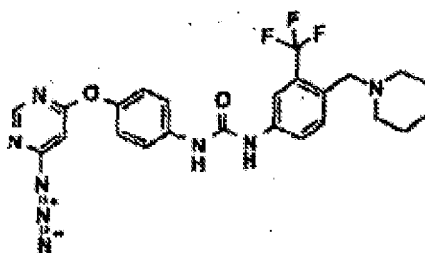
epígrafe: MS: $[M+1]^+ = 487$; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): 9,09 & 8,92 (2s, 2HN), 8,03 & 7,93 (2s, 2H), 7,69 & 7,65 (2m, 2H), 7,47 & 7,03 (2d, 2 x 2H), 6,79 (s, 2H), 5,6 (s, 1H), 3,46 (s, 2H), 2,31 (m, 4H), 1,49 (m, 4H), 1,40 (m, 2H).

Passo 131.1 N-(4-(4-Cloropirimidin-6-il-oxi)-fenil)-N'-(3-trifluorometil-4-(piperidin-1-ilmetil)-fenil)-ureia



O composto em epígrafe é preparado a partir de 3-trifluormetil-4-(piperidin-1-ilmetil)-fenilamina (Passo 131.1) e 4-(6-cloro-pirimidin-4-il-oxi)-anilina (Passo 21.1) analogamente ao Exemplo 85: MS: $[M+1]^+ = 505$; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): 8,99 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,55 (m, 1H), 7,51 (d, 2H), 7,32 (s, 1H), 7,14 (d, 2H), 3,47 (s, 2H), 2,31 (sb, 4H), 1,49 (m, 4H), 1,39 (m, 2H).

Passo 131.2 N-(4-(4-Azidopirimidin-6-il-oxi)-fenil)-N'-(3-trifluorometil-4-(piperidin-1-ilmetil)-fenil)-ureia



Uma mistura de N-(4-(4-cloropirimidin-6-il-oxi)-fenil)-N'-(3-trifluorometil-4-(piperidin-1-ilmetil)-fenil)-ureia (Exemplo 128; 350 mg, 0,69 mmol) e NaN₃ (91 mg, 1,4 mmol) em 7 mL de DMF é agitada durante 2 h a 70°C. A mistura resultante é concentrada em vácuo, o resíduo diluído com AcOEt e água, a camada aquosa separada e extraída duas vezes com AcOEt. As fases orgânicas são lavadas com água e salmoura, secas (Na₂SO₄) e concentradas para dar o composto em epígrafe: MS: [M+1]⁺=513.

Passo 131.3: 3-Trifluorometil-4-(piperidin-1-ilmetil)-fenil-amina

A uma solução de 2,2,2-trifluoro-N-(4-piperidin-1-ilmetil-3-trifluorometil-fenil)-acetamida (Passo 131.4; 1,427 g, 4,03 mmol) em metanol à ebulição (42 mL), adiciona-se gota a gota 20 mL de uma solução de K₂CO₃ 1 N em água. Após 2 h de agitação, a mistura reaccional é arrefecida à tal concentrada em vácuo e o resíduo redissolvido em AcOEt e água. A camada aquosa é separada e extraída duas vezes com AcOEt. As fases orgânicas são lavadas com água e salmoura, secas (Na₂SO₄) e concentradas para dar o composto em epígrafe: MS: [M+1]⁺=259; ¹H-NMR (DMSO-d₆): 7,28 (d, 1H), 6,82 (d, 1H), 7,73 (dd, 1H), 5,40 (s, H₂N), 3,32 (s, 2H), 2,27 (sb, 4H), 1,46 (m, 4H), 1,39 (m, 2H).

Passo 131.4: 2,2,2-Trifluoro-N-(4-piperidin-1-ilmetil-3-trifluorometil-fenil)-acetamida

A uma solução de N-(4-bromometil-3-trifluorometil-fenil)-2,2,2-trifluoroacetamida (Passo 131.5; 1,465 g, 4,19 mmol) em acetonitrilo (35 mL) sob atmosfera de N₂, adiciona-se piperidina (1,25 mL, 12,7 mmol). Após 30 min à ta a mistura reaccional é diluída com água e parcialmente concentrada em vácuo. O resíduo aquoso é acidificado a pH 5 por adição de HCl 0,1 N HCl e extraído 3x com AcOEt. As camadas orgânicas são lavadas com água e salmoura, secas (Na₂SO₄) e concentradas. A cromatografia em coluna (SiO₂; hexano/AcOEt 3:2) dá o composto em epígrafe: MS: [M+1]⁺=355; ¹H-NMR (DMSO-d₆): 11,48 (s, HN), 8,02 (s, 1H), 7,91 (dd, 1H), 7,77 (d, 1H), 3,52 (s, 2H), 2,32 (sb, 4H), 1,50 (m, 4H), 1,40 (m, 2H).

Passo 131.5: 2-N-(4-Bromometil-3-trifluorometil-fenil)-2,2,2-trifluoroacetamida

Sob atmosfera de N₂, uma suspensão de N-(4-metil-3-trifluorometil-fenil)-2,2,2-trifluoroacetamida (Passo 131.6; 5,21 g, 19,2 mmol), N-bromossuccinimida (15 g, 84 mmol) e azo-iso-butironitrilo (740 mg, 4,5 mmol) em 430 mL de CCl₄ é aquecida a 85°C durante 15 h. A mistura quente é filtrada, o sólido lavado com CCl₄ e eliminado. O filtrado é concentrado, o resíduo redissolvido em CH₂Cl₂ (0,7 L) e

lavado duas vezes com solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,5 M e salmoura. As fases inorgânicas são extraídas com 2 porções de CH_2Cl_2 , as fases orgânicas são secas (Na_2SO_4) e concentradas. A cromatografia em coluna (SiO_2 ; hexano/ CH_2Cl_2 1:1) dá o composto em epígrafe: ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$): 11,59 (s, HN), 8,06 (d, 1H), 7,97 (dd, 1H), 7,76 (d, 1H), 4,77 (s, 2H).

Passo 131.6: N-(4-Metil-3-trifluorometil-fenil)-2,2,2-trifluoro-acetamida

A uma solução arrefecida em gelo de 5-amino-2-metilbenzotrifluoreto (3,77 g, 21,5 mmol) e piridina (17,3 mL, 215 mmol) em 50 mL de CH_2Cl_2 sob atmosfera de N_2 , adiciona-se anidrido do ácido trifluoroacético (3,3 mL, 23 mmol) gota a gota. Após aquecimento até à ta, a mistura é diluída com CH_2Cl_2 e lavada 3x com uma solução de ácido cítrico a 10% em água. As camadas aquosas são extraídas duas vezes com CH_2Cl_2 , as fases orgânicas são secas (Na_2SO_4) e concentradas. A sublimação num forno Kugelröhr (0,1 mbar; forno a 150°C) dá o composto em epígrafe: p.f.: 72-74°C

Passo 131.7: 4-(6-Cloro-pirimidin-4-il-oxi)-anilina

4-Cloro-6(4-nitro-fenoxi)-pirimidina (Passo 131.8; 3,6 g, 14,3 mmol) dissolvida em MeOH (250 mL) é hidrogenada na presença de Ni de Raney (3 g) a 40°C durante 3 d. A solução de reacção é filtrada, concentrada a pressão

reduzida e cristalizada de AcOEt/hexano para dar o composto em epígrafe do Passo 21.1: M+H=222/224; ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 8,62 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 6,83 (d, 9 Hz, 2H, fenilo), 6,56 (d, 9 Hz, 2H, fenilo), 5,12 (s, 2H, NH_2); p.f. = 135,5-138,1°C.

Passo 131.8: 4-Cloro-6-(4-nitro-fenoxi)-pirimidina

4-Nitrofenol (2,8 g, 20,1 mmol), 2,4-dicloro-pirimidina (3 g, 20,1 mmol), NaOH (0,8 g, 20,1 mmol) dissolvido em H_2O /acetona (80 mL; 1:1) são agitados a 60-65°C durante 1 h. A solução de reacção é concentrada a pressão reduzida e submetida a cromatografia "flash" (gel de sílica, 4,5 x 22 cm, AcOEt/hexano=1:4) para dar o composto em epígrafe do Passo 21.2 como um sólido incolor: M+H=252/254; ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 8,67 (s, 1H, pirimidinilo), 8,34 (d, 9 Hz, 2H, fenilo), 7,58 (d, 9 Hz, 2H, fenilo), 7,53 (s, 1H, pirimidinilo); R_f (AcOEt/hexano=1:1): 0,16; p.f. = 125,4-126,6°C.

Exemplo 136: Os seguintes compostos da Tabela 11 podem ser preparados analogamente aos procedimentos descritos:

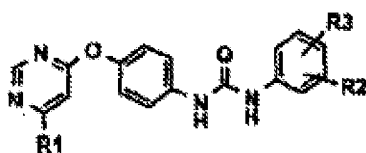
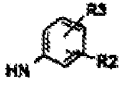
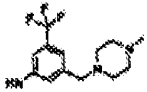
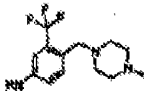


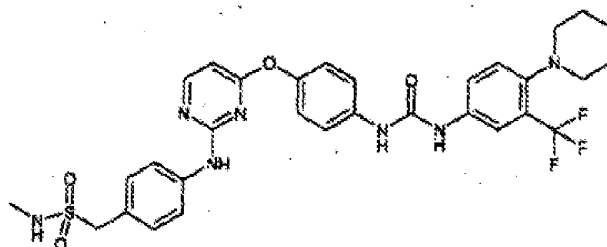
Tabela 11:

		R1	HPLC t _R [min] Sistema3	p.f. [°C]	MS [M+1] ⁺	Anal.
b)		NH ₂			464	CHN
d)		NH ₂	7.6		435	
f) g)		NH ₂ NH-CH ₃	8.0 8.4		516 530	
i)		NH ₂	8.1		449	
k) l)		NH ₂ NH-CH ₃	6.4 6.6		464 478	
n) o)		NH ₂ NH-CH ₃	9.2 9.6		487 501	CHNF H ₂ O
q) r)		NH ₂ NH-CH ₃	8.4 8.6		516 530	
s)		NH-CH ₃	9.0		501	

(continuação)

		R1	HPLC t _R [min] Sistema 3	p.f. [°C]	MS [M+] ⁺	Anal.
u) v)		NH-CH ₃ NH ₂				
y) z)		NH-CH ₃ NH ₂				

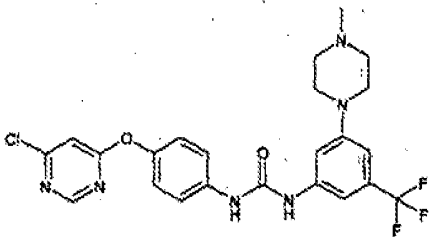
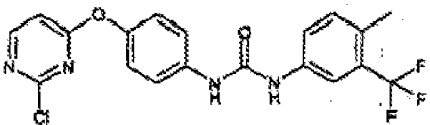
Exemplo de referência 138: N-Metil-C-[4-(4-{4-[3-(4-piperidin-1-il-3-trifluorometil-fenil)ureído]-fenoxi}-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-metanossulfonamida



Uma suspensão de 1-[4-(2-cloro-pirimidin-4-il-oxi)-fenil]-3-(4-piperidin-1-il-3-trifluorometil-fenil)-ureia (140 mg, 0,285 mmol) e de C-(4-amino-fenil)-N-metil-metanossulfonamida (855 mg, 4,27 mmol) em etanol (5 mL) é agitada num tubo selado a 60°C durante 27 h. Após evaporação do solvente, a mistura reaccional é submetida a cromatografia "flash" (gel de sílica, 2,5 x 45 cm, hexano/AcOEt = 1:1->1:2) para dar composto do Exemplo 138 como um sólido bege: M+H = 655,8; R_f (Hexano/AcOEt=1:1): 0,319; HPLC: 6,65 min (Sistema 1).

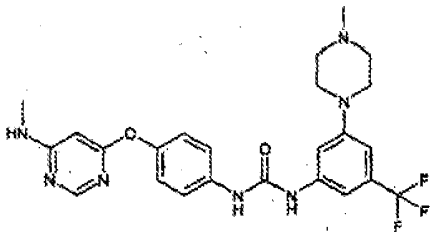
O composto do Exemplo 140 é sintetizado por analogia com o Exemplo 35 por formação de ureia entre as correspondentes cloro-pirimidiniloxi-fenilaminas e as 3-trifluorometil-fenil aminas substituídas por meio de trifosgênio. As estruturas e dados analíticos estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12:

Ex.	Estrutura	Dados analíticos
139	 1-[4-(6-Cloro-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-3-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluorometil-fenil]-ureia	M+H = 506,9/508,9; R_f CH₂Cl₂/MeOH = 9:1): 0,21; HPLC: 5,31 min (Sistema 1).
140	 1-[4-(2-Cloro-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-3-(4-metil-3-trifluorometil-fenil)-ureia	M+H = 420,9/422,9; R_f hexano/AcOEt = 1:1): 0,22; HPLC: 7,31 min (Sistema 1).

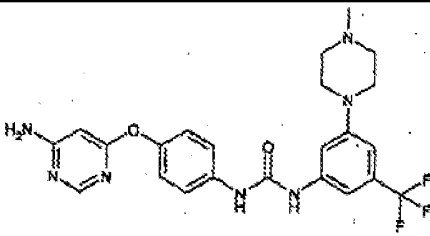
O composto do Exemplo 141 é sintetizado analogamente à preparação do composto do Exemplo de Referência 138. As estruturas e os dados analíticos estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13:

Ex.	Estrutura	Dados analíticos
141	 1-[4-(6-Metilamino-pirimidin-4-iloxi)fenil]-3-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluorometil-fenil]-ureia	M+H = 502,0; R_f CH₂Cl₂/MeOH = 9:1): 0,09; HPLC: 3,98 min (Sistema 1).

O composto do Exemplo 145 é formado por formação de ureia entre as correspondentes anilinas e 4-(4-amino-fenoxi)-pirimidin-2-ilamina analogamente à preparação do composto de Referência - Exemplo 35. As estruturas e dados analíticos estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14:

Ex.	Estrutura	Dados analíticos
145	 1-[4-(6-Amino-pirimidin-4-iloxi)fenil]-3-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluorometil-fenil]-ureia	M+H = 487,9; R_f (CH₂Cl₂/ MeOH/NH₃ = 8:2:0,1): 0,20; HPLC: 3,78 min (Sistema 1).

Exemplo 165: Dados farmacocinéticos

O composto de fórmula I a ser testado é formulado para administração a ratinhos MAG fêmeas de BRL, Fuellinsdorf, Suíça, por dissolução em DMSO/Tween 80 (90:10 v/v). A solução é diluída 1:20 com água destilada e brevemente sonicada para uma suspensão homogênea macroscopicamente em 5% v/v de DMSO/0,5% v/v de Tween 80. As concentrações finais do composto são 10, 3 e 1 mg/mL para dosagem de 50 mg/kg, respectivamente. Cada formulação é examinada num microscópio com contraste de fases e é descrita a forma das partículas e calculado o tamanho.

O composto formulado é administrado por cânula para dar dosagens de 50 mg/kg. Nos pontos de tempo alocados os ratinhos (4 de cada vez) são anestesiados com 3% de isoflurano em oxigénio e é retirado coração do sangue para tubos heparinizados (ca. de 30 UI/mL). Os animais são subsequentemente mortos sem recuperar do anestésico. É preparado plasma a partir do sangue por centrifugação (10.000 g, 5 min) e ou analisado imediatamente ou armazenado congelado a -70°C. As amostras de plasma são misturadas com um volume igual de acetonitrilo e deixadas em repouso à ta durante 20-30 min. O precipitado de proteínas é removido por centrifugação (10.000 x g) e uma amostra do sobrenadante é analisada por HPLC de fase inversa num equipamento Merck-Hitachi LaChrom®. A amostra (100 µL) é injectada numa coluna C18 Nucleosil® 100-5

(Macherey & Nagel, Düren, F.R.G.) (125 x 4 mm) com uma pré-coluna (8 x 4 mm) do mesmo material. A coluna é equilibrada e.g. com 5% v/v de acetonitrilo em água contendo 0,05% de ácido trifluoroacético (TFA). A amostra é eluída e.g. com um gradiente de 5% v/v de acetonitrilo até 95% v/v de acetonitrilo (em água com 0,05% v/v de TFA) ao longo de um período de 10 min. A coluna é depois preparada para a amostra seguinte por manutenção do gradiente nas condições finais durante 5 min, depois retornado às condições iniciais e reequilibrando durante 5 min. O composto é detectado por absorvência, e.g. a 320 nm. A identidade do pico pode ser confirmada pelo tempo de retenção e comparação do espectro de absorção no UV (detector de fotodíodos 205-400 nm) com controlos. A quantidade de composto é quantificada pelo método do padrão externo: é construída uma curva de calibração com quantidades conhecidas de composto em plasma que é processado tal como descrito acima.

Os compostos de fórmula I ou I* de acordo com a invenção apresentam aqui concentrações plasmáticas na área de e.g. 1 a 50 μ M.

Exemplo 166: Dados de inibição *in vitro*

As determinações enzimáticas (c-Abl, KDR, Flt3) são feitas tal como descrito acima na descrição geral.

Exemplo 167: Comprimidos compreendendo compostos de fórmula I ou I*

Comprimidos, compreendendo, como ingrediente activo, 100 mg de qualquer dos compostos de fórmula I ou I* dos Exemplos 1 a 164c) são preparados com a seguinte composição, seguindo procedimentos correntes:

<u>Composição</u>	
Ingrediente activo	100 mg
Lactose cristalina	240 mg
Avicel	80 mg
PVPPXL	20 mg
Aerosil	2 mg
Esterato de magnésio	<u>5 mg</u>
	447 mg

Fabrico: O ingrediente activo é misturado com os materiais de veículo e comprimido por meio de uma máquina de comprimidos (Korsch EKO, Stempeldurchmesser 10 mm).

O Avicel é celulose microcristalina (FMC, Filadélfia, EUA).

O PVPPXL é polivinilpolipirrolidona, reticulada (BASF, Alemanha).

O Aerosil é dióxido de silício (Degussa, Alemanha).

Exemplo 168: Cápsulas

Cápsulas, compreendendo, como ingrediente activo, 100 mg de qualquer dos compostos de fórmula I ou I* dos Exemplos 1 a 164c), com a composição seguinte, são preparadas de acordo com procedimentos correntes:

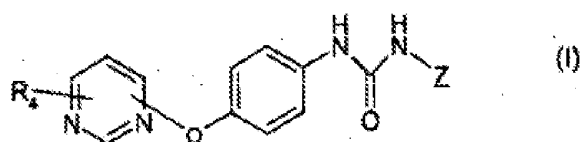
<u>Composição</u>	
Ingrediente activo	100 mg
Avicel	200 mg
PVPPXL	15 mg
Aerosil	2 mg
Esterato de magnésio	<u>1,5 mg</u>
	318,5 mg

O fabrico é feito por mistura dos componentes e enchimento em cápsulas de gelatina dura de tamanho 1.

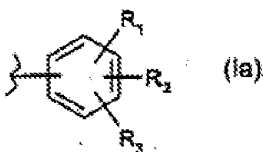
Lisboa, 10 de Fevereiro de 2009

REIVINDICAÇÕES

1. Derivado de diaril-ureia de fórmula I



em que Z é um radical de fórmula Ia



cada um de R_1 , R_2 , R_3 , independentemente dos outros, é hidrogénio, hidroxilo, amino, nitro, C_1 - C_7 alquilo, halogeno- C_1 - C_7 alquilo, C_1 - C_7 alcoxi, halogeno- C_1 - C_7 alcoxi, halogéneo, fenilo, fenilamino, hidroxifenil-amino, amino- C_1 - C_7 alquil-oxifenilamino, carbamoilfenil-amino, [N-(hidroxi- C_1 - C_7 alquil)-carbamoil]-fenil-amino, heterociclilo saturado com 5 ou 6 membros com 1 ou 2 heteroátomos seleccionados do grupo que consiste em N, O e S,

e pelo menos um de R_1 , R_2 e R_3 é um piperidilo, piperidil- C_1 - C_7 alquilo, C_1 - C_7 alquil-piperazinilo, ou C_1 - C_7 alquil-piperazinil- C_1 - C_7 alquilo;

e R_4 é amino ou C_1 - C_7 alquilamino;

ou um seu tautómero;

ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

2. Composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 1 em que cada de R_1 , R_2 , R_3 , independentemente dos outros, é hidrogénio, hidroxilo, amino, nitro, metilo, etilo, propilo, trifluorometilo, metoxi, 2,2,2-trifluoroetoxi, cloro, bromo, 4-hidroxi-fenilamino, 4-[(2-aminoetil)-oxi]-fenilamino, 4-sulfamoil-fenilamino, {N-[4-(2-hidroxietil)-carbamoil]-fenil}amino, piperidilo, piperazinilo, morfolinilo, ou tiomorfolinilo;

ou um seu tautómero;

ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

3. Composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 2 em que cada de R_1 , R_2 , R_3 , independentemente dos outros, é hidrogénio, hidroxilo, amino, nitro, metilo, etilo, propilo, trifluorometilo, metoxi, 2,2,2-trifluoroetoxi, cloro, bromo, 4-hidroxi-fenilamino, 4-[(2-aminoetil)-oxi]-fenilamino, 4-sulfamoil-fenilamino, {N-[4-(2-hidroxietil)-carbamoil]-fenil}amino, piperidin-1-ilo, piperazin-1-ilo, morfolino, ou tiomorfolino;

ou um seu tautómero;

ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

4. Composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3 em que pelo menos um de R_1 , R_2 e R_3 , é

piperidin-1-ilmetilo, 4-metil-piperazin-1-ilo, 4-etil-piperazin-1-ilo, 4-metil-piperazin-1-ilmetilo ou 4-etil-piperazin-1-ilmetilo.

5. Composto de fórmula I seleccionado do grupo que consiste em:

1-[4-(2-Metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-3-(4-piperidin-1-il-3-trifluorometil-fenil)ureia (73),

1-[4-(6-metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-3-(4-piperidin-1-il-3-metoxi-fenil)ureia (88p),

1-[4-(6-etilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-3-(4-piperidin-1-il-3-metoxi-fenil)ureia (88q),

1-[4-(6-terc-butilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-3-(4-piperidin-1-il-3-metoxi-fenil)ureia (88u),

1-[4-(6-metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-4-(4-etil-piperidin-1-il)-3-metoxi-fenil)ureia (88v),

1-[4-(6-etilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-4-(4-etil-piperidin-1-il)-3-metoxi-fenil)ureia (88w),

1-[4-(6-terc-butilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-4-(4-etil-piperidin-1-il)-3-metoxi-fenil)ureia (88z),

1-[4-(6-metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-3-(4-piperidin-1-ilmetil-3-metoksi-fenil)ureia (88aa),

1-[4-(6-etilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-3-(4-piperidin-1-ilmetil-3-metoksi-fenil)ureia (88ab),

N-(4-(4-Aminopirimidin-6-il-oxi)-fenil)-N'-(3-trifluorometil-4-(piperidin-1-ilmetil)-fenil)-ureia (131)

1-[3-(4-Etil-piperazin-1-il)-3-metoksi-fenil]-3-[4-(6-amino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136b)

1-[4-(piperidin-1-il)-3-metoksi-fenil]-3-[4-(6-amino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136d)

1-[4-(4-Etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-amino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136f)

1-[4-(4-Etil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136g)

1-[4-(piperadin-1-ilmetil)-3-metoksi-fenil]-3-[4-(6-amino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136i)

1-[4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-metoksi-fenil]-3-[4-(6-amino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136k)

1-[4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-metoksi-fenil]-3-[4-(6-metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia
(136l)

1-[3-(piperidin-1-ilmetil)-5-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-amino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136n)

1-[3-(piperidin-1-ilmetil)-5-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia
(136o)

1-[3-(4-Etil-piperazin-1-il)-5-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-amino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136q)

1-[3-(4-Etil-piperazin-1-il)-5-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia
(136r)

1-[4-(piperidin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia
(136s)

1-[3-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-5-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136u)

1-[3-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-5-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-amino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia
(136v)

1-[4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-metilamino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136y)

1-[4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-fenil]-3-[4-(6-amino-pirimidin-4-iloxi)-fenil]-ureia (136z)

1-[4-(6-Metilamino-pirimidin-4-iloxi)fenil]-3-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluorometil-fenil]-ureia (141)

1-[4-(6-Amino-pirimidin-4-iloxi)fenil]-3-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-5-trifluorometil-fenil]-ureia (145),

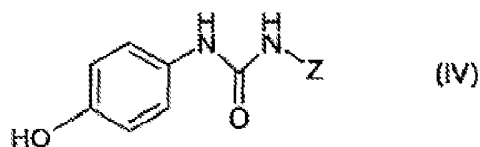
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

6. Composto de fórmula I de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 5, ou um seu tautómero, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para utilização no tratamento do corpo animal ou humano.

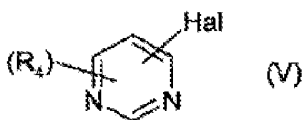
7. Utilização de um composto de fórmula I de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, ou um seu tautómero, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para o fabrico de composições farmacêuticas para utilização no tratamento de leucemia.

8. Preparação farmacêutica compreendendo um composto de fórmula I de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 5, ou um seu tautômero, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um veículo farmaceuticamente aceitável.

9. Processo para a preparação de um composto de fórmula I de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 5, ou de um seu tautômero, ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável, caracterizado por para a síntese de um composto de fórmula I em que n é 1, Y₁ é O e Z, R₁, R₂, R₃ e R₄ têm os significados definidos para um composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 7, um composto hidroxilado de fórmula IV



em que Z, R₁, R₂ e R₃ têm os significados definidos para um composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 7, é eterificado com um composto halogenado de fórmula V



em que R₄ tem os significados definidos para um composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 7 e Hal é halogéneo, ou
e, se desejado, após a reacção um composto de fórmula I

obtido é transformado num composto de fórmula I diferente, um sal de um composto de fórmula I obtido é transformado no composto livre ou num sal diferente, ou um composto livre de fórmula I obtido é transformado num sal; e/ou uma mistura obtida de isómeros de compostos de fórmula I é separada nos isómeros individuais;

em que para todas as reacções mencionadas os grupos funcionais dos materiais de partida que não vão tomar parte na reacção estão, se necessário, presentes em forma protegida por grupos protectores prontamente removíveis, e quaisquer grupos protectores são subsequentemente removidos.

Lisboa, 10 de Fevereiro de 2009

REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.

Documentos de patentes citadas na Descrição

- | | |
|----------------|----------------|
| • WO 0042612 A | • WO 9903854 A |
| • WO 0153274 A | • EP 0520722 A |
| • WO 0041698 A | • EP 0566226 A |
| • WO 9932436 A | • EP 0767722 A |
| • WO 9932483 A | • EP 0837063 A |
| • US 4659516 A | • WO 9810767 A |
| • WO 9917904 A | • WO 9730034 A |
| • US 5010099 A | • WO 9749688 A |
| • WO 9835958 A | • WO 9738083 A |
| • WO 0009495 A | • WO 9633980 A |
| • WO 0027820 A | • WO 9707131 A |
| • WO 0059509 A | • WO 9708193 A |
| • WO 9811223 A | • WO 9610028 A |
| • WO 0027819 A | • WO 9728161 A |
| • WO 0155114 A | • WO 9732879 A |
| • WO 0158899 A | • WO 9749706 A |
| • EP 0769947 A | • EP 0296110 A |
| • WO 0037502 A | • WO 0048571 A |
| • WO 9410202 A | • US 4100274 A |
| • WO 9702266 A | • US 5843901 A |
| • EP 0564409 A | • US 4636505 A |

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- | | |
|---|--|
| • GEISSLER et al. <i>Cancer Res.</i> , 1992, vol. 52, 4492-4498 | • J. F. W. MCOMIE. <i>Protective Groups in Organic Chemistry</i> . Plenum Press, 1973 |
| • BHAT et al. <i>J. Biol. Chem.</i> , 1997, vol. 272, 16170-16175 | • T. W. GREENE ; P. G. M. WUTS. <i>Protective Groups in Organic Synthesis</i> . Wiley, 1999 |
| • SHIBUYA et al. <i>Oncogene</i> , 1990, vol. 5, 519-24 | • The Peptides. Academic Press, 1981, vol. 3 |
| • BAZZONI et al. <i>J. Clin. Invest.</i> , 1996, vol. 98, 521-8 | • HOUBEN WEYL. <i>Methoden der organischen Chemie</i> . Georg Thieme Verlag, 1974, vol. 15/1 |
| • ZHAO et al. <i>Blood</i> , 1997, vol. 90, 4687-9 | • H.-D. JAKUBKE ; H. JESCHKEIT. <i>Aminosäuren, Peptide, Proteine</i> . Verlag Chemie, 1982 |
| • ANDREJAUSKAS-BUCHDUNGER et al. <i>Cancer Res.</i> , 1992, vol. 52, 5353-8 | • JOCHEN LEHMANN. <i>Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate</i> . Georg Thieme Verlag, 1974 |
| • ZENG et al. <i>J. Biol. Chem.</i> , 2001, vol. 276 (35), 32714-32719 | • MANN et al. <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 1999, vol. 121 (13), 3224-5 |
| • TSE et al. <i>Leukemia</i> , 2001, vol. 15 (7), 1001-1010 | • ARANYOS et al. <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 1999, vol. 121, 4369-78 |
| • TOMOKI et al. <i>Cancer Chemother. Pharmacol.</i> , 2001, vol. 48 (1), S27-S30 | • M. PREWETT et al. <i>Cancer Research</i> , 1999, vol. 59, 5209-5218 |
| • BIRKENKAMP et al. <i>Leukemia</i> , 2001, vol. 15 (12), 1923-1921 | • F. YUAN et al. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , December 1996, vol. 93, 14765-14770 |
| • KELLY et al. <i>Neoplasia</i> , 2002, vol. 99 (1), 310-318 | • Z. ZHU et al. <i>Cancer Res.</i> , 1998, vol. 58, 3209-3214 |
| • EVANS, B.D. ; SMITH, I.E. ; SHORTHOUSE, A.J. ; MILLAR, J.J. <i>Brit. J. Cancer</i> , 1982, vol. 45, 466-468 | • J. MORDENTI et al. <i>Toxicologic Pathology</i> , 1999, vol. 27 (1), 14-21 |

PE1511730

- 2 -

- M. S. O'REILLY et al. *Cell*, 1994, vol. 79, 315-328
- M. S. O'REILLY et al. *Cell*, 1997, vol. 88, 277-285