

(11) Número de Publicação: **PT 1805170 E**

(51) Classificação Internacional:

C07D 413/04 (2007.10) **C07D 265/18** (2007.10)

A61K 31/535 (2007.10) **A61P 29/00** (2007.10)

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

(22) Data de pedido: 2005.10.19	(73) Titular(es): NOVARTIS AG	
(30) Prioridade(s): 2004.10.21 GB 0423405	LICHTSTRASSE 35 4056 BASEL	CH
(43) Data de publicação do pedido: 2007.07.11	(72) Inventor(es):	
(45) Data e BPI da concessão: 2010.04.14	ANDREAS BILlich	AT
132/2010	PHILIPP LEHR	AT
	HUBERT GSTACH	AT
	(74) Mandatário:	
	ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS	
	RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA	PT

(54) Epígrafe: **INIBIDORES DE MIF**

(57) Resumo:

RESUMO**"INIBIDORES DE MIF"**

3,4-Di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas que estão substituídas no átomo de azoto por (C₃₋₈)cicloalquilo, (C₁₋₄)alquil(C₃₋₈)cicloalquilo, (C₆₋₁₈)arilo ou (C₆₋₁₈)aril(C₁₋₄)alquilo substituído ou não substituído e a sua utilização como medicamentos.

DESCRIÇÃO

"INIBIDORES DE MIF"

A presente invenção refere-se a inibidores de MIF, tais como compostos que são farmacologicamente activos, e.g. inibidores da actividade de tautomerase do factor inibidor da migração de macrófagos humano (MIF), tais como 3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas que estão substituídas no átomo de azoto por (C₃₋₈)cicloalquilo, (C₃₋₈)cicloalquil(C₁₋₄)alquilo, (C₆₋₁₈)arilo ou (C₆₋₁₈)aril(C₁₋₄)alquilo não substituído ou substituído.

O MIF é uma citocina com uma grande variedade de actividades celulares e biológicas (para artigos de revisão ver: Calandra et al., *Nat. Rev. Immunol.* 3:791-800, 2003; Orita et al., *Curr. Pharm. Design* 8:1297-1317, 2002; Nishihira, J. *Interferon Cytokine Res.* 20:751-762, 2000; Swope & Lolis, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 139:1-32, 1999; Metz & Bucala, *Adv. Immunol.* 66:197-223, 1997). Verificou-se que o MIF inibe a migração aleatória de macrófagos, e que está associado a reacções de hipersensibilidade de tipo tardio (George & Vaughan, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111:514-521, 1962; Weiser et al., *J. Immunol.* 126:1958-1962, 1981; Bloom & Bennett, *Science*, 153:80-82, 1966; David, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 56:72-77, 1966). Também se demonstrou que o MIF aumenta a adesão,

fagocitose e actividade tumoricida de macrófagos (Nathan et al., *J. Exp. Med.* 137:275-288, 1973; Nathan et al., *J. Exp. Med.* 133:1356-1376, 1971; Churchill et al., *J. Immunol.* 115:781-785, 1975).

O MIF humano recombinante foi originalmente clonado a partir de uma biblioteca de células T humanas (Weiser et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 7522-7526, 1989), e demonstrou-se que activa macrófagos derivados do sangue para matar parasitas intracelulares e células tumorais *in vitro*, para estimular a expressão de IL-1 β e TNF α , e para induzir a síntese de óxido nítrico (Weiser et al., *J. Immunol.* 147:2006-2011, 1991; Pozzi et al., *Cellular Immunol.* 145:372-379, 1992; Weiser et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:8049-8052, 1992; Cunha et al., *J. Immunol.* 150:1908-1912, 1993).

Mais recentemente verificou-se que o MIF é não só um produto citocina do sistema imune, mas é também um produto semelhante a uma hormona do sistema endócrino, particularmente a glândula pituitária. Este trabalho sublinhou a actividade potente do MIF como um contra-regulador dos efeitos anti-inflamatórios dos glucocorticóides (tanto os libertados endogenamente como os administrados terapeuticamente), com o efeito de que as actividades normais dos glucocorticóides limitam e suprimem a gravidade das respostas inflamatórias são inibidas pelo MIF e a resposta do MIF endógeno pode assim ser vista como uma causa ou factor de exacerbação numa variedade de doenças e

patologias inflamatórias (objecto de revisão em Donnelly e Bucala, *Molecular Medicine Today* 3:502-507, 1997).

Actividades biológicas adicionais incluem a regulação de células T estimuladas (Bacher *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:7849-7854, 1996), o controlo da síntese de IgE (Mikayama *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:10056-60, 1993), a inactivação funcional da proteína supressora de tumores p53 (Hudson *et al.*, *J. Exp. Med.* 190:1375-1382, 1999), a regulação do metabolismo da glucose e hidratos de carbono (Sakaue *et al.*, *Mol. Med.* 5:361-371, 1999), e a regulação do crescimento e da angiogénese de células tumorais (Chesney *et al.*, *Mol. Med.* 5:181-191, 1999; Shimizu *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 264:751-758, 1999; Mitchell & Bucala, *Cancer Biol.* 10:359-366, 2000). Também foi implicado um papel do MIF na aterogénese (Lin *et al.*, *Circulation Res.* 8:1202-1208, 2000), na asma (Yamaguchi *et al.*, *Clin. Exp. Allergy* 30:1244-1249, 2000), e na malária (Martiney *et al.*, *Infection Immunity* 68:2259-2267, 2000).

Demonstrou-se que os anticorpos anti-MIF são activos numa variedade de modelos: choque tóxico induzido por endotoxinas e exotoxinas (Bernhagen *et al.*, *Nature*, 365:756-759, 1993; Kobayashi *et al.*, *Hepatology*, 29:1752-1759, 1999; Calandra *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:11383-11388, 1998; Makita *et al.*, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158:573-579, 1998, Calandra *et al.*, *Nat. Med.* 6:164-170, 2000), activação de células T (Bacher *et al.*,

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93:7849-7854, 1996), doenças auto-imunes, incluindo artrite reumatóide (Leech et al., *Arthritis Rheum.*, 42:1601-1608, 1999), uveorretinite (Kitaichi et al., *Curr. Eye Res.*, 20:109-114, 2000), glomerulonefrite (Yang et al., *Mol. Med.* 4: 413-424, 1998), encefalomielite aguda experimental (Denkinger et al., *J. Immunol.* 170: 1274-1282, 2003), colite (de Jong et al., *Nat. Immunol.* 2:1061-1066, 2001; Ohkawara et al., *Gastroenterol.* 123: 256-270, 2002), e destruição de enxertos de pele (Hou et al., *Transplantation* 72: 1890-1897, 2001), e aterosclerose (Chen et al., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24:709-714, 2004; Schober et al., *Circulation* 109:380-385, 2004). Além disso, demonstrou-se que os anticorpos anti-MIF inibem o crescimento e a angiogénese tumoral (Chesney et al., *Mol. Med.* 5:181-191, 1999; Ogawa et al., *Cytokine* 12:309-314, 2000; Mitchell & Bucala, *Cancer Biol.* 10:359-366, 2000). Com base na actividade dos anticorpos anti-MIF, é elevado o potencial terapêutico de inibidores de MIF de baixo peso molecular.

O MIF partilha uma homologia de sequência significativa (36% de identidade) com a D-dopacromo tautomerase, e tem actividade enzimática para catalisar a tautomerização dos substratos não fisiológicos D-dopacromo (Rosengren et al., *Mol. Med.* 2:143-149, 1996) e éster metílico de L-dopacromo (Bendrat et al., *Biochemistry*, 36:15356-15362, 1997) (FIG. 1A). Adicionalmente, o ácido fenilpirúvico e o ácido p-hidroxifenilpirúvico (Rosengren et al., *FEBS Letters*, 417:85-88, 1997), e o 3,4-di-

hidroxifenilaminocromo e o norepinefrinocromo (Matsunaga *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 274:3268-3271, 1999) são substratos do MIF. A estrutura cristalina tridimensional do MIF humano mostra que a proteína existe como um homotrímero (Lolis *et al.*, *Proc. Ass. Am. Phys.* 108:415-419, 1996). Foram descritos vários inibidores da actividade de tautomerase do MIF (*e.g.*, Orita *et al.*, *J. Med. Chem.* 44:540-547, 2001; Senter *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)* 99:144-149, 2002; Dios *et al.*, *J. Med. Chem.* 45: 2410-2416, 2002; Lubetsky *et al.*, *J. Biol. Chem.* 277:24976-24982, 2002).

Foi agora surpreendentemente encontrada uma nova classe de compostos que actuam como inibidores de MIF.

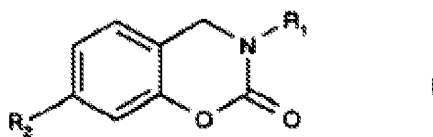
Num aspecto a presente invenção proporciona compostos seleccionados do grupo que consiste em

3-((C₆₋₁₂) aril)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,
e.g. 3-(fenil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,
3-(naftil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,
3-((C₃₋₈) ciclo-alquil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas, *e.g.* 3-(ciclo-hexil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,
3-((C₆₋₁₂) aril(C₁₋₄) alquil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas, *e.g.* 3-(benzil-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas, e
3-((C₃₋₈) cicloalquil(C₁₋₄) alquil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,

preferencialmente

3-(fenil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,
 3-(naftil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,
 3-(ciclo-hexil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas, e
 3-(benzil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,
 3-(fenil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,
 3-(naftil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,
 3-(ciclo-hexil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas, e
 3-(benzil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,
 3-(fenil)-7-aminossulfoniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-onas,
 3-(naftil)-7-aminossulfoniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-onas,
 3-(ciclo-hexil)-7-aminossulfoniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-onas, e
 3-(benzil)-7-aminossulfoniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-onas.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona um composto de fórmula



e.g. que é uma 3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,

em que

R₁ é

- (C₃₋₈)cicloalquil(C₁₋₄)alquilo,
- (C₆₋₁₈)aril(C₁₋₄)alquilo,
- (C₃₋₈)cicloalquilo,
- (C₆₋₁₈)arilo, não substituídos ou substituídos

e.g. em que (C₆₋₁₈)arilo está opcionalmente condensado com outro anel (sistema),

e.g. em que os substituintes incluem, e.g. são seleccionados do grupo que consiste em, (C₆₋₁₈)arilo, halogéneo, hidroxilo, aminossulfoniloxi, (C₁₋₄)alcoxi, tri(C₁₋₆)alquilsililoxi, halogeno(C₁₋₄)alquilo ou halogeno(C₁₋₄)alcoxi,

R₂ é hidrogénio ou hidroxilo não substituído ou substituído, e.g. hidrogénio, hidroxilo, aminossulfoniloxi, (C₁₋₄)alcoxi, tri(C₁₋₆)alquilsililoxi ou halogeno(C₁₋₄)alcoxi.

Num composto de fórmula I preferencialmente

R₁ é

- ciclo-hexilo,
- fenilo, naftilo,
- fenilo condensado com outro anel (sistema), e.g. condensado com um éter em coroa,
- fenil(C₁₋₄)alquilo, não substituídos ou substituídos

em que os substituintes incluem, e.g. são seleccionados do grupo que consiste em, (C₆₋₁₈)arilo, halogéneo, hidroxilo, aminossulfonilo, (C₁₋₄)alcoxi, tri(C₁₋₆)alquilsililo, halogeno(C₁₋₄)alquilo, halogeno(C₁₋₄)alcoxi,

R₂ é hidrogénio, hidroxilo, aminossulfonilo, (C₁₋₄)alcoxi, tri(C₁₋₆)alquilsililo, halogeno(C₁₋₄)alquilo, ou halogeno(C₁₋₄)alcoxi.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona um composto de fórmula I, em que

R₁ é

- ciclo-hexilo,
- hidroxiciclo-hexilo, e.g. 4-hidroxiciclo-hexilo,
- fenilo,
- bifenililo, e.g. bifenil-4-ilo,
- naftilo, e.g. naft-1-ilo,
- hidroxifenilo, e.g. 3-hidroxifenilo, 4-hidroxifenilo,
- metoxifenilo, e.g. 4-metoxifenilo,
- triflorometoxifenilo, e.g. 4-triflorometoxifenilo,
- bromofenilo, e.g. 4-bromofenilo,
- aminossulfoniloxifenilo, e.g. 3-aminossulfoniloxifenilo, 4-aminossulfoniloxifenilo,
- (terc-butil)(dimetil)sililoxifenilo, e.g. 4-(terc-butil)-(dimetil)sililoxifenilo,
- fenilmetilo, ou

- fenilo condensado com um 18-coroa-6, tal como benzo-18-coroa-6,
e R₂ é como definido acima.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona um composto de fórmula I, em que R₁ é como definido acima, e

R₂ é

- hidrogénio,
- hidroxilo,
- aminossulfoniloxi.

Num composto de fórmula I cada substituinte definido individual pode ser um substituinte preferido, e.g. independentemente de cada um dos outros substituintes definidos.

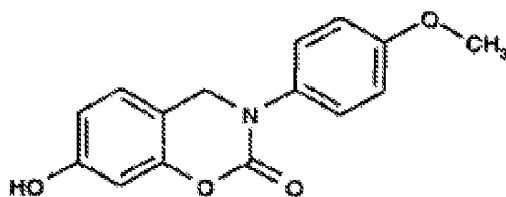
Noutro aspecto a presente invenção proporciona um composto seleccionado do grupo que consiste em

3-Ciclo-hexil-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(4-Metoxifenil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-ona,
3-(4-Hidroxiciclo-hexil-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-ona,
3-Fenil-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(3-Hidroxifenil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-ona,

3-(4-Hidroxifenil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-ona,
3-(4-Aminossulfaniloxifenil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(4-(terc-Butil)(dimetil)sililoxifenil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(6,7,9,10,12,13,15,16,18,19-decahidro-5,8,11,14,17,20-hexaoxibenzociclooctadecen-2il)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(Fenilmetil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(4-Trifluorometiloxifenil)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(4-Metoxifenil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(Bifenil-4-il)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(Naft-1-il)-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(4-Bromofenil))-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(3-Aminossulfaniloxifenil)-7-aminossulfaniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-Ciclo-hexil-7-aminossulfaniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e]-[1,3]-oxazin-2-ona,
3-(4-Aminossulfaniloxifenil)-7-aminossulfaniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona,
3-(4-Metoxifenil)-7-aminossulfaniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e]-[1,3]oxazin-2-ona,
3-Fenil-7-aminossulfaniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-ona,
3-(4-Hidroxifenil)-7-aminossulfaniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e]-[1,3]oxazin-2-ona, e

3-(Fenilmetil)-7-aminossulfaniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e]-[1,3]-oxazin-2-ona.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona um composto de fórmula



Os compostos proporcionados pela presente invenção são aqui também designados como "composto(s) da (de acordo com a) presente invenção".

Um composto da presente invenção inclui um composto em qualquer forma, e.g. em forma livre, na forma de um sal, na forma de um solvato e na forma de um sal e um solvato.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona um composto da presente invenção na forma de um sal.

Um sal de um composto da presente invenção inclui um sal farmacêuticamente aceitável, e.g. incluindo um sal de um metal ou um sal de adição de ácido. Os sais de metais incluem por exemplo sais de metais alcalinos ou alcalino-terrosos, os sais de adição de ácidos incluem sais com ácidos orgânicos e com ácidos inorgânicos, e.g. com HCl. Um composto da presente invenção em forma livre pode ser

convertido num composto correspondente na forma de um sal; e vice versa. Um composto da presente invenção na forma livre ou na forma de um sal e na forma de um solvato pode ser convertido no correspondente composto em forma livre ou na forma de um sal em forma não solvatada; e vice versa.

Um composto da presente invenção pode existir na forma de isómeros e as suas misturas; e.g. isómeros ópticos, diastereoisómeros, confórmers cis/trans. Um composto da presente invenção pode e.g. conter átomos de carbono assimétricos e pode por isso existir na forma de enantiómeros ou diastereoisómeros e as suas misturas, e.g. racematos. Os substituintes em qualquer átomo de carbono assimétrico podem estar presentes na configuração (R), (S) ou (R;S), de preferência na configuração (R) ou (S).

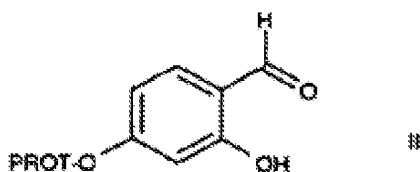
Por exemplo, um substituinte ligado a um cicloalquilo, e.g. em que um substituinte está ligado noutra posição que não a posição para num ciclo-hexilo, no significado de R₁ num composto de fórmula I pode estar na configuração (R) ou (S) em relação ao grupo 7-hidroxi-3,4-dihidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona também ligado ao referido cicloalquilo.

As misturas isoméricas podem ser separados consoante apropriado, e.g. de acordo com um método convencional, para obter isómeros puros. A presente invenção inclui um composto da presente invenção em qualquer forma isomérica e em qualquer mistura isomérica. A presente

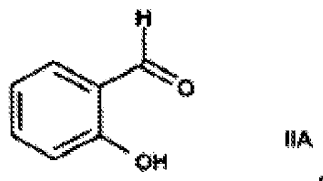
invenção também inclui tautómeros de um composto de fórmula I em que os tautómeros possam existir.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona um processo para a produção de um composto de fórmula I

a. reacção de um composto de fórmula



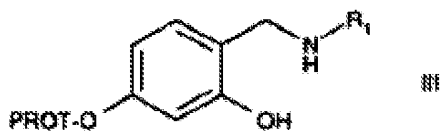
ou de fórmula



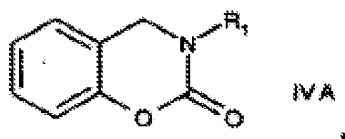
respectivamente,

em que PROT é um grupo protector de hidroxilo, e.g. benzilo, com a composto de fórmula H_2N-R_1

em que R_1 é como definido acima, na presença de um agente redutor, tal como $NaBH_4$, para obter um composto de fórmula

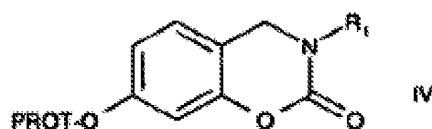


ou de fórmula

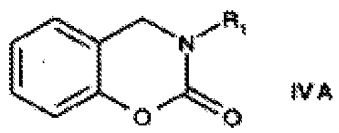


respectivamente,

b. reacção de um composto obtido de fórmula III ou de fórmula IIIA, respectivamente, com carbonildiimidazole na presença de uma base, e.g. trietilamina, para obter um composto de fórmula



ou de fórmula



respectivamente,

c. opcionalmente, se R_1 compreende um substituinte que é hidroxilo, reacção do referido grupo hidroxilo para obter um grupo hidroxilo substituído com um derivado reactivo do referido substituinte, e.g. no caso em que R_1 num composto de fórmula I compreende um substituinte que é tri(C_{1-6})alquilsililoxi, reacção com um halogeneto de tri-(C_{1-6})alquilsililo, tal como um cloreto, e.g. na presença de imidazole, e.g. no caso em que R_1 num composto de fórmula I é aminossulfoniloxi, reacção de um grupo hidroxilo com ácido amidoclorossulfónico,

d. opcionalmente desprotecção, i.e. remoção do grupo protector PROT, e.g. por hidrogenação catalítica, para obter um composto de fórmula I,

e. opcionalmente, se um composto de fórmula II

for utilizado como um material de partida, reacção do grupo hidroxilo obtido no passo d. para obter um grupo hidroxilo substituído com um derivado reactivo do referido substituinte, e.g. no caso em que R_2 num composto de fórmula I é tri(C_{1-6})alquilsililoxi fazer reagir o grupo hidroxilo obtido no passo d. com um halogeneto de tri(C_{1-6})alquilsililo, tal como um cloreto, e.g. na presença de imidazole, e.g. no caso em que R_2 é aminossulfoniloxi fazer reagir o grupo hidroxilo obtido no passo d. com ácido amido-clorossulfónico, e

e. isolamento de um composto de fórmula I obtido.

Qualquer composto aqui descrito, e.g. um composto da presente invenção, pode ser preparado consoante apropriado, e.g. de acordo, e.g. analogamente, com um método convencional, e.g. ou como aqui especificado. Um composto de fórmula II ou de fórmula III é conhecido ou pode ser obtido de acordo, e.g. analogamente, com um método convencional.

Surpreendentemente foram identificados os compostos da presente invenção como inibidores de MIF pela sua inibição da actividade enzimática do MIF *in vitro*. Os substratos naturais da actividade enzimática de MIF não são ainda conhecidos com toda a certeza. Contudo, a actividade de tautomerase de MIF pode ser prontamente demonstrada com os substratos D-dopacromo e p-hidroxifenilpiruvato (HPP) (Rosengren *et al. Molec. Med.* 2:143-149, 1996; Rosengren

E., *FEBS Lett.* 417:85-88, 1997). O ensaio aqui utilizado é o ensaio de HPP adaptado para o formato de placa de microtitulação:

- Proteína MIF humana é purificada de acordo com Bernhagen *et al.*, *Biochemistry*, 33:14144-14155, 1994. São preparadas diluições da enzima em tampão fosfato de sódio 50 mM, EDTA 1 mM, pH 6,5.

- O HPP é obtido da Aldrich. Prepara-se uma solução mãe de HPP 60 mM em etanol e é mantida no máximo durante 4 horas em gelo. A solução de trabalho (600 µM) do substrato é preparada por diluição de uma alíquota da solução mãe com tampão fosfato de sódio 50 mM, EDTA 1 mM EDTA, pH 6,5.

- Obtém-se placas de microtitulação transparentes no UV (96 poços) da Corning (Cat#3635). Soluções de inibidor e enzima são pipetadas manualmente utilizando uma pipeta Eppendorf com 12 canais. A adição de substrato para iniciar a reacção é realizada com uma estação de pipetagem Igel 96 (OpalJena, Jena, Alemanha), que permite a adição simultânea de fluido à totalidade dos 96 poços das placas.

- Determina-se a densidade óptica (OD) utilizando um leitor SPECTRAmax 250 (Molecular Devices). O leitor funciona com o software SoftmaxPro 2.6.1.

- Ensaio: Três poços das placas de microtitulação

são cheios só com tampão, para servir como brancos. Para os poços de teste são pipetados consecutivamente:

- 50 μ L de diluição do inibidor (ou tampão para controlo),
- 50 μ L de diluição da enzima (55 nM; concentração final no ensaio: 18,3 nM),
- 50 μ L de solução de trabalho do substrato diluída de fresco (600 μ M; concentração final: 200 μ M).

O último passo é realizado utilizando o dispositivo de pipetagem com 96 canais. A placa é depois imediatamente (*i.e.* dentro de alguns segundos) transferida manualmente para o leitor SPECTRAMax 250 e determina-se a densidade óptica (310 nm). A partir dos dados obtidos, calcula-se os valores da IC_{50} utilizando um software Excel™ e XLfit™.

Os compostos da presente invenção apresentam actividade nesse ensaio, *i.e.* inibem a actividade enzimática (de tautomerase) do MIF e estão portanto indicados para utilização como fármacos, *e.g.* para o tratamento de doenças mediadas pelo MIF. Tipicamente, os compostos apresentam inibição da actividade de tautomerase do MIF com uma inibição semi-máxima (IC_{50}) dentro de uma gama de 20 nM a 20 μ M. Um composto preferido é o composto do Exemplo 2, que apresenta $IC_{50} = 20$ nM.

Os compostos da presente invenção estão indicados para o tratamento ou prevenção de doenças mediadas pelo MIF. As doenças mediadas pelo MIF, e.g. doenças inflamatórias, doenças auto-imunes, doenças neuropáticas e cancro, e.g. incluindo transplantação, e.g. incluem

- **doenças associadas a toxicidade mediada por citocinas,**
e.g. incluindo toxicidade de interleucina-2,
- **doenças associadas ao osso,**
e.g. incluindo osteoporose,
- **doenças associadas ao cérebro e aos nervos,**
e.g. incluindo patologias associadas ao eixo hipotálamo-hipófise-supra-renal, doenças neurodegenerativas, doenças cerebrovasculares, infecções do sistema nervoso central, doenças traumáticas, doença de Alzheimer, doenças cerebrais, incluindo trauma e consequências inflamatórias do trauma,
- **doenças associadas ao olho,**
e.g. incluindo uveorretinite, vitreorretinopatia, doença da córnea, irite, iridociclite, cataratas, uveíte, retinopatia diabética,
- **doenças associadas ao tracto gastrointestinal**
e.g. incluindo colite, doença inflamatória do intestino, colitis, doença de Crohn, colite ulcerosa, ulceração péptica, gastrite, oesofagite,
- **doenças associadas a doenças cardíacas e vasculares**
e.g. incluindo doenças cardíacas, doença vascular proliferativa, vasculite, poliarterite nodosa, consequências

inflamatórias de isquémia, doença cardíaca isquémica, enfarte do miocárdio, acidente vascular, doença vascular periférica, hipertensão pulmonar,

- doenças associadas ao fígado e aos rins,

e.g. incluindo cirrose, hepatite, colangite esclerosante, cirrose biliar primária,

- doenças associadas ao tracto respiratório e pulmão

e.g. incluindo doenças pulmonares, doença pulmonar crónica, síndrome da insuficiência respiratória aguda no adulto (ARDS), asma, bronquite asmática, bronquiectasia, doenças pulmonares intersticiais difusas, pneumoconioses, alveolite fibrosante,

- doenças associadas à pele e doenças do tecido conjuntivo

e.g. incluindo eczema, dermatite atópica, dermatite de contacto, psoríase, dermatomiosite, síndrome de Sjörgen, síndrome de Churg-Strauss, queimadura solar, cancro da pele, cicatrização de feridas,

- doenças associadas a doenças alérgicas,

e.g. incluindo hipersensibilidade tardia, rinite alérgica,

- doenças associadas à angiogénese,

e.g. incluindo doenças caracterizadas por angiogénese modificada, angiogénese associada a tumores,

- doenças associadas a sobreproliferação celular,

e.g. incluindo patologias pré-malignas, doenças hiperproliferativas, cancros quer primários quer metastáticos, cancro cervical e metastático, tumores sólidos, crescimento tumoral, linfoma, linfoma das células B ou células T, patologias pré-malignas, tumores benignos, doenças disproliferativas benignas, carcinoma renal, cancro do esófago,

cancro do estômago, carcinoma do rim, cancro da bexiga, cancro da mama, cancro do cólon, cancro do pulmão, melanoma, cancro nasofaríngeo, osteocarcinoma, cancro do ovário, cancro do útero, cancro da próstata, cancro da pele, leucemia, neovascularização tumoral, angiomas, doenças mielodisplásticas,

- doenças associadas a doenças diabéticas,

e.g. incluindo diabetes, retinopatia diabética, diabetes insulino dependente, diabetes mellitus,

- doenças associadas a endometriose, disfunções testiculares

- doenças associadas a doenças infecciosas, e.g. a doenças infecciosas crónicas

e.g. incluindo doenças bacterianas, otite média, doença de Lyme, tiroidite, doenças virais, doenças parasíticas, doenças fúngicas, malária, e.g. anemia da malária, sepsia, sepsia grave, choque séptico, e.g. choque séptico induzido por endotoxinas, choque séptico induzido por exotoxinas, choque tóxico-infeccioso (séptico verdadeiro), choque séptico causado por bactérias Gram-negativas, doença inflamatória pélvica, SIDA,

- doenças associadas a miastenia grave,

- doenças associadas a nefrite,

e.g. incluindo glomerulonefrite, nefrite intersticial, granulomatose de Wegener,

- doenças associadas à dor,

- doenças associadas a doenças reumáticas,

e.g. incluindo artrite, artrite reumatóide, osteoartrite, artrite psoriática, artropatias por deposição de cristais,

gota, pseudo gota, doença da deposição de pirofosfato de cálcio, síndromes do lupus, lupus eritematoso sistémico, esclerose, esclerodermia, esclerose múltipla, arteriosclerose, arteriosclerose, espondiloartropatias, esclerose sistémica, artrite reactiva, síndrome de Reiter, espondilite anquilosante, polimiosite,

- doenças associadas a sarcoidose,

- doenças associadas a transplantação,

e.g. incluindo doença do enxerto contra o hospedeiro, insuficiência que acompanha a rejeição na transplantação de órgãos, rejeição de transplantes, protecção de órgãos de transplantes;

tais como tratamento ou prevenção de doenças inflamatórias, doenças auto-imunes, doenças neuropáticas e cancros, e.g. incluindo doenças após transplantação.

É preferido o tratamento ou prevenção de doenças associadas ao tracto gastrointestinal, incluindo colite, doença inflamatória do intestino, doença de Crohn, colite ulcerosa; e doenças associadas a doenças reumáticas, tais como artrite, artrite reumatóide.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona um composto da presente invenção para utilização como um fármaco, e.g. para doenças mediadas pelo MIF, tais como tratamento ou prevenção de doenças inflamatórias, doenças auto-imunes, doenças neuropáticas e cancros, e.g. incluindo doenças na sequência de transplantação; e.g. incluindo doenças associadas a toxicidade mediada por

citoquinas, ao osso, cérebro, nervos, olho, tracto gastrointestinal, doenças cardíacas e vasculares, do fígado e rins, do tracto respiratório e pulmão, doenças da pele e tecido conjuntivo, doenças alérgicas, angiogénese, sobreproliferação celular e cancros, doenças diabéticas, endometriose, disfunções testiculares, doenças infecciosas, miastenia grave, nefrite, dor, doenças reumáticas, sarcoidose, e para o tratamento e prevenção de doenças na sequência de transplantação.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona a utilização de um composto da presente invenção para o fabrico de um medicamento, e.g. uma composição farmacêutica, para o tratamento ou prevenção de doenças mediadas pelo MIF, e.g. tal como descrito acima.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona um método para o tratamento ou prevenção de doenças mediadas pelo MIF, e.g. tal como descrito acima, compreendendo a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da presente invenção a um indivíduo necessitado desse tratamento.

Tratamento inclui tratamento e profilaxia (prevenção).

Para esse tratamento, a dosagem apropriada vai, é claro, variar dependendo, por exemplo, da natureza química e dos dados farmacocinéticos de um composto da presente

invenção utilizado, do hospedeiro individual, do modo de administração e da natureza e gravidade da doença a ser tratada.

Uma "quantidade farmacêuticamente eficaz", tal como aqui utilizada, significa a quantidade de um composto da presente invenção que resulta numa redução do desenvolvimento ou da gravidade de uma doença caracterizada pela libertação e produção de MIF. A toxicidade e eficácia terapêutica desses compostos podem ser determinadas por procedimentos farmacêuticos, farmacológicos e toxicológicos correntes em culturas de células ou em animais experimentais, e.g., para determinação da LD₅₀ (a dose letal para 50% da população) e a ED₅₀ (a dose terapeuticamente eficaz em 50% da população), e.g., dados obtidos a partir de ensaios de cultura de células ou estudos com animais podem ser utilizados para determinação da dose para utilização em seres humanos. A dosagem de um composto da presente invenção está de preferência dentro de um intervalo de concentrações circulantes que incluem a ED₅₀ (ou a ED₉₉) com pouca ou nenhuma toxicidade. O programa de dosagem pode estar dependente da dosagem aplicada e da via de administração. A composição farmacêutica exacta, a via de administração e a dosagem podem ser escolhidas pelo médico individual tendo em conta o estado do doente. (ver e.g. Fingl et al., 1975, em "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Capítulo 1, página 1).

A quantidade de dosagem e o intervalo podem ser

ajustados individualmente para proporcionar níveis plasmáticos da unidade activa que sejam suficientes para manter a actividade desejada, ou a concentração inibidora mínima (MIC). A MIC vai variar para cada composto, mas pode ser estimada a partir de dados *in vitro*; e.g., a concentração necessária para obter uma inibição de 50-97% da actividade do MIF. As dosagens necessárias para atingir a MIC vão depender das características individuais e via de administração. No entanto, podem ser utilizados ensaios por HPLC, bioensaios ou imunoensaios para determinar as concentrações plasmáticas. Os intervalos de dosagem também pode ser determinados usando o valor da MIC. Os compostos devem ser administrados utilizando um regime que mantenha os níveis plasmáticos acima da MIC durante 10-90% do tempo, de preferência entre 30-90% e mais preferencialmente entre 50-90%.

No entanto, em geral, para resultados satisfatórios em mamíferos maiores, por exemplo seres humanos, uma dosagem diária indicada está na gama de cerca de 0,5 mg a 1000 mg (e.g., de cerca de 0,00625 mg/kg a cerca de 12,5 mg/kg) de um composto activo da presente invenção convenientemente administrados, por exemplo, em doses divididas até quatro vezes por dia.

Um composto da presente invenção pode ser administrado por qualquer via convencional, por exemplo, entericamente, e.g. incluindo administração nasal, bucal, rectal, oral; parentericamente, e.g. incluindo a adminis-

tração intravenosa, intramuscular, subcutânea; ou topicamente, e.g. incluindo administração epicutânea, intranasal, intratraqueal; e.g., na forma de comprimidos revestidos ou não revestidos, cápsulas, soluções ou suspensões injectáveis, e.g. na forma de ampolas, frascos, na forma de cremes, geles, pastas, pós para inalador, espumas, tinturas, batons, gotas, produtos para pulverização, ou na forma de supositórios.

Os compostos da presente invenção podem ser administrados na forma de um sal farmacêuticamente aceitável, e.g. um sal de adição de ácido ou sal de metal, ou em forma livre, opcionalmente na forma de um solvato. Os compostos da presente invenção na forma de um sal apresentam a mesma ordem de grandeza de actividade que os compostos activos da presente invenção na forma livre, opcionalmente na forma de um solvato.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona uma composição farmacêutica compreendendo um composto da presente invenção, e.g. pelo menos um, em associação com pelo menos um excipiente farmacêutico, e.g. veículo e/ou diluente adequado, e.g. incluindo enchimentos, aglutinantes, desintegrantes, condicionadores de fluidez, lubrificantes, açúcares e edulcorantes, fragrâncias, conservantes, estabilizantes, agentes molhantes e/ou emulsionantes, solubilizantes, sais para regulação da pressão osmótica e/ou tampões.

As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser produzidas de forma análoga a um método convencional como, *e.g.*, por processos de mistura, dissolução, produção de drageias, levitação, emulsificação, encapsulamento, retenção, ou liofilização, *e.g.*, utilizando um ou mais excipientes farmacêuticamente aceitáveis, *e.g.* incluindo veículos, diluentes e auxiliares que facilitam o processamento dos compostos da presente invenção em composições farmacêuticas. Técnicas úteis para a formulação e administração dos compostos da presente invenção podem ser encontradas *e.g.* em "Remington's Pharmaceutical Sciences" Mack Publishing Co., Easton, Pensilvânia, edição mais recente.

As composições farmacêuticas *e.g.* incluem composições farmacêuticas para

- administração oral, como comprimidos, pílulas, drageias, cápsulas, líquidos, geles, xaropes, suspensões espessas, suspensões para ingestão oral;
- administração bucal, *e.g.* na forma de comprimidos ou pastilhas,
- administração por inalação, *e.g.* em que um composto da presente invenção é convenientemente administrado na forma de um pulverizador de aerossol a partir de embalagens pressurizadas ou de um nebulizador, *e.g.* com a utilização de um propulsor adequado, ou na forma de

cápsulas e cartuchos de e.g. gelatina para utilização num inalador ou insuflador podem ser formuladas contendo uma mistura de pó do composto e de uma base em pó adequada tal como lactose ou amido.

- administração parentérica por injeção, e.g., por injeção bolus ou perfusão contínua, e.g. numa forma de dosagem unitária, tal como ampolas ou em recipientes multidoses, em que uma composição farmacêutica da presente invenção está e.g. na forma de suspensões, soluções ou emulsões, e.g. em veículos oleosos ou aquosos, opcionalmente compreendendo ainda agentes de formulação tais como agentes de suspensão, estabilização e/ou dispersão; alternativamente, o ingrediente activo pode estar na forma de pó para com reconstituição com um veículo adequado (líquido), e.g. água, antes da utilização.
- administração rectal, tal como supositórios ou enemas de retenção, e.g. contendo bases de supositório convencionais tais como manteiga de cacau ou outros glicéridos.
- administração tópica, e.g. incluindo geles, cremes.

Um composto, ou mais do que um composto, da presente invenção pode ser utilizado para tratamento farmacêutico de acordo com a presente invenção por si só, ou em associação com um ou mais outros agentes farmacêuticamente activos.

Outros agentes farmacologicamente activos incluem os que são úteis para o tratamento de doenças mediadas pelo MIF, e.g. incluindo os que são úteis para o tratamento de doenças inflamatórias, doenças auto-imunes, doenças neuropáticas e cânceres, e.g. incluindo doenças na sequência de transplantação. Esses outros agentes farmacologicamente activos incluem e.g. esteróides, glucocorticóides, inibidores de outras citocinas inflamatórias (e.g. anticorpos anti-TNF-alfa, anticorpos anti-IL-1, anticorpos anti-IFN- γ), ou outras citocinas tais como IL-1 RA ou IL-10, outros agentes que diminuem a quantidade endógena de MIF intracelular ou extracelular, tais como anticorpos de MIF, outros inibidores MIF de baixo peso molecular, inibidores de HMG-CoA redutase, fármacos anti-hiperlipidêmicos do tipo fibrato, agentes anticancerígenos, ou compostos imunomoduladores, e.g. incluindo imunossuppressores; ou associações de agentes individuais, e.g. tal como citado acima.

Esses compostos imunomoduladores incluem imunossuppressores, incluindo e.g. corticosteróides; azatiopreno; inibidores de calcineurina, tais como ciclosporinas, e.g. incluindo ciclosporina A; inibidores de mTOR, tais como rapamicinas, e.g. incluindo rapamicina, 32-desoxorapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32-desoxorapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-di-hidro-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-di-hidro-40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina (everolimus), CC1779, AP23573, AP22549, inibidores da enzima inosina 5'-monofosfato desidrogenase

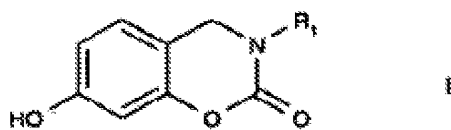
(IMPDH), tais como o ácido micofenólico, incluindo ácido micofenólico na forma de um sal, e.g. incluindo micofenolato mofetil; compostos que se ligam a macrofilina-12, tais como ascomicinas, e.g. incluindo FK506 (tacrolimus), moduladores dos receptores S1P, tais como FTY720 e anticorpos imunossupressores, e.g. incluindo anticorpos monoclonais imunossupressores, e.g. anticorpos monoclonais a CD3, CD4, CD25, CD28 ou CD45; ou outros compostos imunomoduladores.

As associações incluem associações fixas, em que dois ou mais agentes farmacêuticamente activos estão na mesma formulação; kits, em que dois ou mais agentes farmacêuticamente activos em formulações separadas são comercializados na mesma embalagem, e.g. com instruções para co-administração; e associações livres em que os agentes farmacêuticamente activos estão embalados separadamente, mas são dadas instruções para administração simultânea ou sequencial.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona uma composição farmacêutica compreendendo como um ingrediente activo um composto da presente invenção, e.g. pelo menos um, em associação, e.g. incluindo associações fixas, kits e associações livres com um ou mais outros agentes farmacêuticamente activos, e.g. com outros agentes farmacêuticamente activos, e.g. seleccionados do grupo que consiste em esteróides, glucocorticóides, inibidores de outras citocinas inflamatórias (e.g., anticorpos anti-TNF-

alfa, anticorpos anti-IL-1, anticorpos anti-IFN- γ), outras citocinas tais como IL-1 RA ou IL-10, outros agentes que diminuem a quantidade endógena de MIF intracelular ou extracelular, tais como anticorpos de MIF, outros inibidores de MIF de baixo peso molecular, inibidores de HMG-CoA redutase, fármacos anti-hiperlipidémicos do tipo fibrato, agentes anticancerígenos, ou compostos imunomoduladores; ou associações de agentes individuais, e.g. como citados acima, em associação com e.g. pelo menos um excipiente farmacologicamente aceitável.

Noutro aspecto a presente invenção proporciona 7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas que estão substituídas no átomo de azoto por (C₃₋₈)cicloalquilo, (C₁₋₄)alquil(C₃₋₈)cicloalquilo, (C₆₋₁₈)arilo, ou (C₆₋₁₈)aril(C₁₋₄)alquilo não substituídos ou substituídos, e.g. incluindo um composto de fórmula



em que R₁ é (C₃₋₈)cicloalquilo, (C₁₋₄)alquil(C₃₋₈)cicloalquilo, (C₆₋₁₈)arilo, (C₆₋₁₈)aril(C₁₋₄)alquilo não substituído ou substituído, em que (C₆₋₁₈)arilo está opcionalmente condensado com outro anel (sistema) e em que os substituintes são seleccionados do grupo que consiste em hidroxilo não substituído e substituído;

e.g. R₁ é ciclo-hexilo, hidroxiciclo-hexilo, fenilo, hidroxifenilo, metoxifenilo, aminossulfoniloxifenilo, (terc-bu-

til)(dimetil)sililoxifenilo, fenilmetilo ou fenilo condensado com um 18-coroa-6, tal como benzo-18-coroa-6.

Nos exemplos seguintes que ilustram a invenção as referências à temperatura são em graus Centígrados (°C) e não estão corrigidos.

São utilizadas as seguintes abreviaturas:

EX.: Exemplo

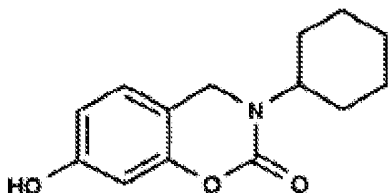
EtOH: etanol

p.f.: Ponto de fusão

TA: Temperatura ambiente

Exemplo 1

Produção de 3-ciclo-hexil-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona de fórmula



A. 3-Ciclo-hexil-7-metoxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-ona

Adiciona-se 40 g de ciclo-hexilamina a uma solução de 26 g de 2-hidroxi-4-metoxi-benzaldeído em 800 mL de

EtOH absoluto à TA. A mistura obtida é agitada durante 1,5 horas, arrefecida a 0°, e adiciona-se 20 g de NaBH₄ em porções. A mistura obtida é agitada durante 3 horas à TA, vertida em H₂O e a mistura obtida é extraída com CH₂Cl₂. Formam-se duas fases e são separadas. A camada orgânica obtida é seca, adiciona-se 42 g de carbonil-diimidazole e a mistura obtida é agitada durante 16 horas à TA. Adiciona-se mais 21,5 g de carbonil-diimidazole, a mistura obtida é agitada durante 3 horas, lavada com HCl 1 N, uma solução aquosa saturada de NaHCO₃ e solução aquosa saturada de NaCl, seca e concentrada em vácuo. Obtém-se 3-ciclo-hexil-7-metoxi-3,4-di-hidrobenzo[e][1,3]-oxazin-2-ona. p.f.: 76-77°. ¹H-NMR (CDCl₃): δ 6,99 (d, J=8,4 Hz, 1H), 6,66 (dd, J=2,5+8,4 Hz, 1H), 6,57 (d, J=2,5 Hz, 1H), 4,30 (s, 2H), 4,24 (tt, J=3,6+11,6 Hz, 1H); 3,78 (s, 3H), 1,33-1,90 (m, 9H), 1,02-1,20 (m, 1H).

Uma amostra do composto obtido de acordo com o passo A é submetida a cromatografia "flash" em gel de sílica e as fracções contendo 3-ciclo-hexil-7-metoxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona purificada são tratadas com HCl. Obtém-se 3-ciclo-hexil-7-metoxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-ona na forma de cloridrato. p.f.: 169-172°, ¹H-NMR (CDCl₃) δ 6,86 (d, J=8,25 Hz, 1H), 6,41 (d, J=2,55 Hz, 1H), 6,33 (dd, J=2,55+8,25 Hz, 1H), 3,96 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 2,53 (tt, J=3,7+10 Hz, 1H) 1,92-2,03 (m, 2H), 1,56-1,80 (m, 3H), 1,03-1,37 (m, 5H).

B. Produção de 3-ciclo-hexil-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona

Uma mistura de 66 g de 3-ciclo-hexil-7-metoxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona e 200 g de cloridrato de piridínio é aquecida sem solvente num banho de metais a 220° durante 45 minutos enquanto se agita. O HCl gasoso que se liberta é removido por sucção. A mistura obtida é arrefecida à TA, o fundido obtido é dissolvido em H₂O e acetato de etilo e as duas fases obtidas são separadas. A camada aquosa obtida é extraída com acetato de etilo e lavada com HCl 1 N, seca e concentrada em vácuo. O resíduo obtido é filtrado sobre gel de sílica e o resíduo de filtração obtido é concentrado. Obtém-se 3-ciclo-hexil-7-hidroxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona é em forma cristalina. p.f. 193-196°. ¹H-NMR (CDCl₃) δ 7,19 (br s, 1H), 6,95 (d, J=8,3 Hz, 1H), 6,65 (dd, J=2,4+8,3 Hz, 1H), 4,30 (s, 2H), 4,23 (tt, J=3,6+11,6 Hz, 1H), 1,30-1,90 (m, 9H), 1,02-1,20 (m, 1H).

Exemplo 2

Processo de produção do composto do EX. 17 na Tabela 1 adiante

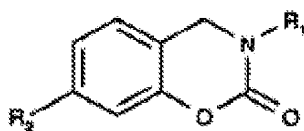
Produção de 3-ciclo-hexil-7-aminossulfoniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona

Trata-se 22,5 g de 3-ciclo-hexil-7-hidroxi-3,4-

di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona com 42,3 g de ácido amidoclorossulfônico sem solvente. A mistura obtida é agitada a 60° a pressão reduzida (100 mbar) durante 1 hora. A mistura obtida é arrefecida à TA, adiciona-se acetato de etilo e água e extrai-se a mistura. A camada orgânica obtida é seca e concentrada em vácuo. Obtém-se 3-ciclohexil-7-aminossulfoniloxi-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona.

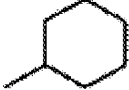
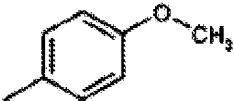
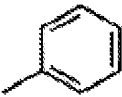
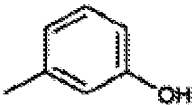
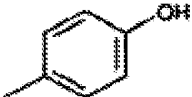
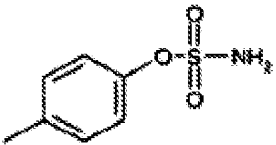
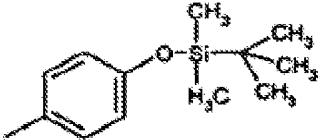
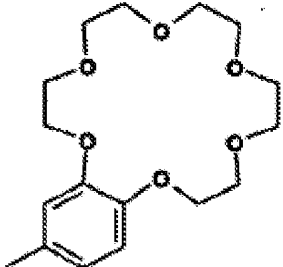
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 8,06 (br s, 2H), 7,36 (d, $J=8,3$ Hz, 1H), 7,06 (dd, $J=2,3+8,3$ Hz, 1H), 6,96 (d, $J=2,3$ Hz, 1H), 4,46 (s, 2H), 3,99 (tt, $J=3,6+11,6$ Hz, 1H), 1,20-1,84 (m, 9H), 1,00-1,19 (m, 1H). ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): δ 25,376, 25,641, 29,039, 41,450, 56,165, 109,794, 117,801, 118,292, 127,513, 149,593, 150,048, 150,211.

Analogamente ao descrito no Exemplo 1 e opcionalmente no Exemplo 2, mas utilizando materiais de partida apropriados, obtém-se compostos de fórmula

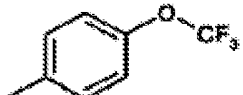
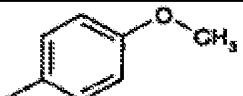
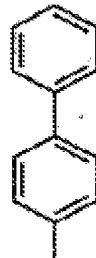
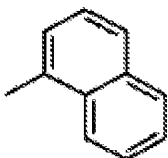
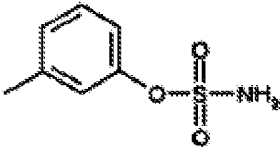
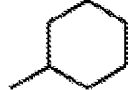
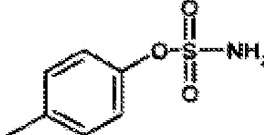
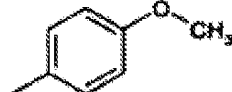
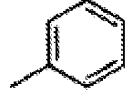


em que R_1 e R_2 são como indicado na TABELA 1 tendo o ponto de fusão ("P.f.") e/ou "dados de $^1\text{H-NMR}$ " indicados (os dados de $^1\text{H-NMR}$ são determinados em CDCl_3 , salvo indicação em contrário).

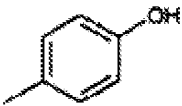
TABELA 1

EX.	R ₁	R ₂	P.f. / ¹ H-NMR/MS
1		OH	193-196°
2		OH	212-215°
3		OH	239-247°
4		OH	4,78 (s, 2H), 5,96-6,65 (m, 2H), 6,88-7,06 (m, 1H), 7,22-7,50 (m, 5H), 8,98 (bs, 1H)
5		OH	226-228°
6		OH	6,44 (d, 1H), 6,56 (dd, 1H), 6,74-6,82 (m, 2H), 7,03 (d, 1H), 7,20-7,26 (m, 2H), 9,58 (bs, 1H), 9,78 (bs, 1H)
7		OH	224-227°
8		OH	212-216°
9		OH	167-169°

(continuação)

EX.	R ₁	R ₂	P.f./ ¹ H-NMR/MS
10		OH	164-169°
11		OH	204-208°
12		H	141-143°
13		H	217-219°
14		OH	242-244°
15		H	163-164°
16		NH ₂ -SO ₂ -O-	90-99°
17		NH ₂ -SO ₂ -O-	179-184°
18		NH ₂ -SO ₂ -O-	53-55°
19		NH ₂ -SO ₂ -O-	196-199°
20		NH ₂ -SO ₂ -O-	197-199°

(continuação)

EX.	R ₁	R ₂	P.f. / ¹ H-NMR/MS
21		NH ₂ -SO ₂ -O-	186-189°
22		NH ₂ -SO ₂ -O-	176-179°

Lisboa, 5 de Junho de 2010

REIVINDICAÇÕES

1. Derivado 3-substituído de uma 3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-ona, sendo o referido derivado selecionado do grupo que consiste em

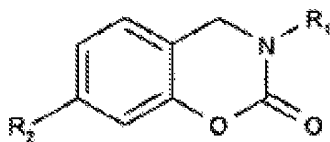
i) 3-((fenil substituído)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas, 3-((naftil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]oxazin-2-onas,

ii) 3-((C₃₋₈)cicloalquil)-3,4-di-hidro-benzo[e]1,3]oxazin-2-onas,

iii) 3-((C₆₋₁₂) aril (C₁₋₄) alquil)-3,4-di-hidro-benzo[e][1,3]-oxazin-2-onas, e

iv) 3-((C₃₋₈)cicloalquil(C₁₋₄)alquil)-3,4-di-hidro-benzo[e]-[1,3]oxazin-2-onas.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1 de fórmula



em que

R₁ é fenilo substituído, ou

R₁ é

- (C₃₋₈)cicloalquil(C₁₋₄)alquilo,
- (C₆₋₁₈)aril(C₁₋₄)alquilo,
- (C₃₋₈)cicloalquilo,
- naftilo,
- fenilo condensado com outro sistema em anel

não substituídos ou substituídos, em que os substituintes incluem (C₆₋₁₈)arilo, halogéneo, hidroxilo, aminossulfoniloxi, (C₁₋₄)alcoxi, tri(C₁₋₆)alquilsililoxi, halogeno(C₁₋₄)alquilo ou halogeno(C₁₋₄)alcoxi,

R₂ é hidrogénio, hidroxilo, aminossulfoniloxi, (C₁₋₄)alcoxi, tri(C₁₋₆)alquilsililoxi ou halogeno(C₁₋₄)alcoxi.

3. Composto de acordo com a reivindicação 2, em que

R₁ é

- ciclo-hexilo,
- hidroxiciclo-hexilo,
- bifenililo,
- naftilo,
- hidroxifenilo,
- metoxifenilo,
- triflorometoxifenilo,
- bromofenilo,
- aminossulfoniloxifenilo,

- (terc-butil)(dimetil)sililoxifenilo, ou
- fenilo condensado com um 18-coroa-6, e

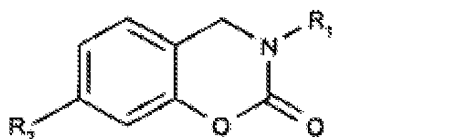
R₂ é como definido na reivindicação 2.

4. Composto de acordo com qualquer das reivindicações 2 ou 3, em que

R₁ é como definido em qualquer das reivindicações 2 ou 3, e

R₂ é hidrogénio, hidroxilo ou aminossulfoniloxi.

5. Composto de fórmula



em que

R₁ é

- (C₃₋₈)cicloalquil(C₁₋₄)alquilo,
- (C₆₋₁₈)aril(C₁₋₄)alquilo,
- (C₃₋₈)cicloalquilo,
- (C₆₋₁₈)arilo opcionalmente condensado com outro anel (sistema), não substituídos ou substituídos

em que os substituintes incluem (C₆₋₁₈)arilo, halogéneo, hidroxilo, aminossulfoniloxi, (C₁₋₄)alcoxi, tri(C₁₋₆)alquil-sililoxi, halogeno(C₁₋₄)alquilo ou halogeno(C₁₋₄)alcoxi;

R₂ é hidroxilo, aminossulfoniloxi, (C₁₋₄)alcoxi, tri(C₁₋₆)alquilsililoxi ou halogeno(C₁₋₄)alcoxi.

6. Composto de acordo com a reivindicação 5 em que

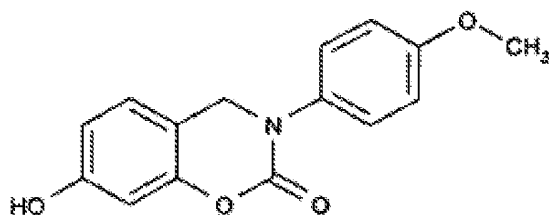
R₁ é

- ciclo-hexilo,
- hidroxiciclo-hexilo,
- fenilo,
- bifenililo,
- naftilo,
- hidroxifenilo,
- metoxifenilo,
- triflorometoxifenilo,
- bromofenilo,
- aminossulfoniloxifenilo,
- (terc-butil)(dimetil)sililoxifenilo,
- fenilmetilo, ou
- fenilo condensado com um 18-coroa-6, e

R₂ é como definido na reivindicação 5.

7. Composto de acordo com a reivindicação 5 em que R₂ é hidroxilo ou aminossulfoniloxi.

8. Composto de acordo com a reivindicação 1 de fórmula



9. Composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 8 na forma de um sal.

10. Composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 9 para utilização como fármaco.

11. Utilização de um composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 9 para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou prevenção de doenças mediadas pelo MIF.

12. Composição farmacêutica compreendendo um composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 9 em associação com pelo menos um excipiente farmacêutico.

13. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 12, compreendendo ainda um ou mais outros agentes farmacologicamente activos.

Lisboa, 5 de Junho de 2010

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.

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- Calandra et al. *Nat.Rev.Immunol.*, 2003, vol. 3, 791-800
- Orita. *Curr.Pharm.Design*, 2002, vol. 8, 1297-1317
- Nishihira. *J Interferon Cytokine Res*, 2000, vol. 20, 751-762
- Swope ; Lolis. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 1999, vol. 139, 1-32
- Metz ; Bucala. *Adv. Immunol.*, 1997, vol. 66, 197-223
- George ; Vaughan. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1982, vol. 111, 514-521
- Weiser et al. *J. Immunol.*, 1981, vol. 126, 1958-1962
- Bloom ; Bennett. *Science*, 1966, vol. 153, 80-82
- David. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1966, vol. 56, 72-77
- Nathan et al. *J. Exp. Med.*, 1973, vol. 137, 275-288
- Nathan et al. *J. Exp. Med.*, 1971, vol. 133, 1356-1376
- Churchill et al. *J. Immunol.*, 1975, vol. 115, 781-785
- Weiser et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, vol. 86, 7522-7528
- Weiser et al. *J. Immunol.*, 1991, vol. 147, 2006-2011
- Pozzi et al. *Cellular Immunol.*, 1992, vol. 145, 372-379
- Weiser et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, vol. 89, 8049-8052
- Cunha et al. *J. Immunol.*, 1993, vol. 150, 1908-1912
- Donnelly ; Bucala. *Molecular Medicine Today*, 1997, vol. 3, 502-507
- Bacher et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, vol. 93, 7849-7854
- Mikayama et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, 10056-60
- Hudson et al. *J. Exp. Med.*, 1999, vol. 190, 1375-1382
- Sakaue et al. *Mol. Med.*, 1999, vol. 5, 361-371
- Chesney et al. *Mol. Med.*, 1999, vol. 5, 181-191
- Shimizu et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999, vol. 264, 751-758
- Mitchell ; Bucala. *Cancer Biol.*, 2000, vol. 10, 359-366
- Lin et al. *Circulation Res.*, 2000, vol. 8, 1202-1208
- Yamaguchi et al. *Clin. Exp. Allergy*, 2000, vol. 30, 1244-1249
- Martiney et al. *Infection Immunity*, 2000, vol. 68, 2259-2267
- Bernhagen et al. *Nature*, 1993, vol. 365, 756-759
- Kobayashi et al. *Hepatology*, 1999, vol. 29, 1752-1759
- Calandra et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, vol. 95, 11383-11388
- Makita et al. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998, vol. 158, 573-579
- Calandra et al. *Nat. Med.*, 2000, vol. 6, 164-170
- Bacher et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, vol. 93, 7849-7854
- Leech et al. *Arthritis Rheum.*, 1999, vol. 42, 1601-1608
- Kitaichi et al. *Curr. Eye Res.*, 2000, vol. 20, 109-114
- Yang et al. *Mol. Med.*, 1996, vol. 4, 413-424
- Denking et al. *J. Immunol.*, 2003, vol. 170, 1274-1282
- de Jong et al. *Nat. Immunol.*, 2001, vol. 2, 1061-1066 [0003]
- Ohkawara et al. *Gastroenterol.*, 2002, vol. 123, 258-270
- Hou et al. *Transplantation*, 2001, vol. 72, 1890-1897
- Chen et al. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2004, vol. 24, 709-714
- Schober et al. *Circulation*, 2004, vol. 109, 380-385
- Chesney et al. *Mol. Med.*, 1999, vol. 5, 181-191
- Ogawa et al. *Cytokine*, 2000, vol. 12, 309-314
- Rosengren et al. *Mol. Med.*, 1996, vol. 2, 143-149
- Bendrat et al. *Biochemistry*, 1997, vol. 36, 15356-15362
- Rosengren et al. *FEBS Letter*, 1997, vol. 417, 85-88
- Matsunaga et al. *J. Biol. Chem.*, 1999, vol. 274, 3268-3271
- Lolis et al. *Proc. Ass. Am. Phys.*, 1996, vol. 108, 415-419

- * Orita et al. *J. Med. Chem.*, 2001, vol. 44, 540-547
- * Senter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 2002, vol. 99, 144-149
- * Dias et al. *J. Med. Chem.*, 2002, vol. 45, 2410-2416
- * Lubetsky et al. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, 24976-24982
- * Mindl et al. *Collect. Czech. Chem. Comm.*, 2000, 1262-1267
- * Rosengren et al. *Molec. Med.*, 1996, vol. 2, 143-149
- * Rosengren E. *FEBS Lett.*, 1997, vol. 417, 85-88
- * Bernhagen et al. *Biochemistry*, 1994, vol. 33, 14144-14155
- * Remington's Pharmaceutical Sciences. Mack Publishing Co.