

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

(22) Data de pedido: 2006.12.05	(73) Titular(es): NOVARTIS AG LICHTSTRASSE 35 4056 BASEL CH
(30) Prioridade(s): 2005.12.06 US 742781 P	
(43) Data de publicação do pedido: 2008.08.27	(72) Inventor(es): PAUL W. MANLEY CH
(45) Data e BPI da concessão: 2012.07.18 208/2012	(74) Mandatário: ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA PARA O TRATAMENTO DE NEUROFIBROMATOSE**

(57) Resumo:

O PRESENTE INVENTO ESTÁ RELACIONADO COM A UTILIZAÇÃO DE DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA PARA A PREPARAÇÃO DE UM FÁRMACO DESTINADO AO TRATAMENTO DE TUMORES BENIGNOS NÃO CANCEROSOS DO CÉREBRO, ESPECIALMENTE PARA O TRATAMENTO CURATIVO E/OU PROFILÁCTICO DE NF, E COM UM MÉTODO DE TRATAMENTO DE TUMORES BENIGNOS NÃO CANCEROSOS DO CÉREBRO, ESPECIALMENTE PARA O TRATAMENTO CURATIVO E/OU PROFILÁCTICO DE NF.

RESUMO

**"DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA PARA O TRATAMENTO DE
NEUROFIBROMATOSE"**

O presente invento está relacionado com a utilização de derivados de pirimidilaminobenzamida para a preparação de um fármaco destinado ao tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente para o tratamento curativo e/ou profilático de NF, e com um método de tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente para o tratamento curativo e/ou profilático de NF.

DESCRIÇÃO

"DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA PARA O TRATAMENTO DE NEUROFIBROMATOSE"

Sumário do invento

O presente invento está relacionado com a utilização de derivados de pirimidilaminobenzamida para usar num método de tratamento e preparação de um fármaco para o tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro neurofibromatose tipo 1 e realizações relacionadas do invento, todas como mencionado nas reivindicações.

Fundamento do invento

WO 2005/049032 está relacionada com a inibição da forma mutante de KIT. WO2004/005281 descreve derivados de pirimidilaminobenzamida e a sua actividade sobre várias cinases de tirosina, incluindo PDGFR. Badache *et al.*, Oncogene 17(6), p. 795-800 (1998) descrevem a ligação covalente da proteína tirfostina 9 como inibidor da proliferação de células de Schwann derivadas de NFS. Weisberg *et al.* Cancer Cell 7(2), p. 129-141 (2005) descrevem AMN107 como inibidor de cinases. A neurofibromatose (NF) é um distúrbio genético que afecta o osso, tecidos moles, pele e sistema nervoso. É classificada em neurofibromatose do tipo

1 (NF1) e neurofibromatose do tipo 2 (NF2), ocorrendo em cerca de 1 em 3000 e 1 em 50000 nados, respectivamente. Os distúrbios ocorrem como resultado de defeitos genéticos, com NF1 resultando de uma mutação num gene localizado no cromossoma 17 e NF2 no cromossoma 22.

NF1, também conhecido como doença de Recklinghausen, é uma doença hereditária observada em aproximadamente 1 em cada 4000 nados vivos nos EUA. NF1 caracteriza-se por uma tríade de manchas cor de café com leite (descolorações da pele), neurofibromatose cutânea e nódulos de Lisch na íris. Outras características do distúrbio podem incluir displasia do esqueleto, displasia vascular, dificuldades de aprendizagem, convulsões e outros tumores originados na crista neuronal, tais como feocromocitomas. Ainda, cerca de 10-15% dos doentes NF1 possuem astrocitomas de grau baixo e, menos frequentemente, ependimomas ou meningiomas.

NF2 caracteriza-se por schwannomas vestibular bilateral com sintomas associadas a zumbidos, perda de audição e disfunção do equilíbrio. Outros resultados incluem schwannomas de outros nervos craniais e periféricos, meningiomas e catarata subcapsular posterior juvenil.

Ambas as formas de NF caracterizam-se pelo crescimento de tumores benignos designados neurofibromas. Estes tumores podem crescer em qualquer lugar do corpo onde existam células nervosas. Isto inclui nervos imediatamente

sob a superfície da pele, assim como nervos mais profundos no corpo, medula espinal e/ou cérebro. Os neurofibromas geralmente originam-se em fibras nervosas periféricas.

Em NF1, os neurofibromas mais frequentemente crescem na pele ou no nervo do olho. Um tumor que cresce no nervo do olho designa-se um glioma óptico e se crescer até um tamanho suficientemente grande pode causar problemas com a visão, incluindo cegueira.

Se não tratado, um neurofibroma pode causar destruição grave do nervo conduzindo à perda da função da área estimulada por aquele nervo, como seja malformação dos ossos longos, curvatura da coluna, estatura pequena e deficiência da hormona de crescimento. Os tumores no nervo óptico podem causar perda de visão, no trato gastrointestinal podem causar hemorragia ou obstrução, no cérebro podem conduzir a dificuldades de aprendizagem (problemas na fala), problemas de comportamento (incapacidade de aprendizagem ou atraso mental), problemas de audição, aumento do risco de epilepsia.

Actualmente, o único tratamento disponível para NF é a cirurgia.

O gene NF1 codifica neurofibromina, um supressor de tumores postulado como funcionando em parte como uma proteína activadora da GTPase Ras. Ras é um componente a jusante de PDGFR e da sinalização do receptores kit, os

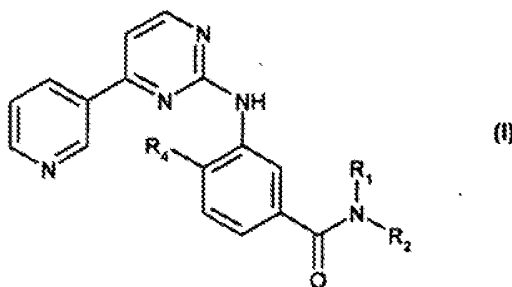
quais se observou estarem positivamente regulados nas células positivas para NF1.

Como inibidor de PDGFR e da sinalização do receptor kit, AMN107 possui o potencial de ser benéfico para o tratamento de NF.

Sumário da divulgação e do invento

O presente invento está relacionado com as realizações mencionadas nas reivindicações que são aqui incluídas como referência.

O presente invento também descreve a utilização de compostos pirimidilaminobenzamida da fórmula (I) (daqui em diante: DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA"):



em que

R₁ representa hidrogénio, alquilo inferior, alcoxilo inferior-alquilo inferior, aciloxi-alquilo inferior, carboxi-alquilo inferior, alcoxycarbonilo inferior, alquilo inferior ou fenil-alquilo inferior;

R₂ representa hidrogénio, alquilo inferior, facultativamente substituído por um ou mais radicais idênticos ou

diferentes R_3 , cicloalquilo, benzocicloalquilo, heterocíclico, um grupo arilo ou um grupo hetero-arilo mono- ou bicíclico compreendendo 0, 1, 2 ou 3 átomos de azoto no anel e 0 ou 1 átomo de oxigénio e 0 ou 1 átomo de enxofre, grupos esses que podem não ser substituídos ou são mono- ou poli-substituídos; e

R_3 representa hidroxilo, alcoxilo inferior, aciloxilo, carboxilo, alcoxicarbonilo inferior, carbamoílo, carbamoílo N-mono ou N,N-di-substituído, amino, amino mono- ou di-substituído, cicloalquilo, heterocíclico, um grupo arilo ou um grupo heteroarilo mono- ou bi-cíclico compreendendo 0, 1, 2 ou 3 átomos de azoto no anel e 0 ou 1 átomo de oxigénio e 0 ou 1 átomo de enxofre, grupos esses que podem não ser substituídos ou são mono- ou poli-substituídos ou R_1 e R_2 , em conjunto, representam alquileno com 4, 5 ou 6 átomos de carbono facultativamente mono- ou di-substituídos por alquilo inferior, cicloalquilo, heterocíclico, fenilo, hidroxilo, alcoxilo inferior, amino ou amino mono- ou di-substituído, oxo, piridilo, pirazinilo ou pirimidinilo, benzalquileno com 4 ou 5 átomos de carbono; oxa-alquileno com 1 átomo de oxigénio e 3 ou 4 átomos de carbono; ou aza-alquileno com 1 átomo de azoto e 3 ou 4 átomos de carbono, em que o azoto é não substituído ou substituído por alquilo inferior, fenil-alquilo inferior, alcoxicarbonilo inferior-alquilo inferior, carboxilo-alquilo inferior, carbamoil-alquilo inferior, carbamoílo N-mono ou N,N-di-substituído-alquilo inferior, cicloalquilo, alcoxicarbonilo inferior, carboxilo, fenilo, fenilo substituído, piridinilo, pirimidinilo ou pirazinilo;

R₄ representa hidrogénio, alquilo inferior ou halogéneo; e um N-óxido ou um sal farmacêuticamente aceitável de tal composto para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento de doenças mieloproliferativas induzidas por FIP1 L1-PDGFR α ou TEL-PDGFR β , especialmente para o tratamento curativo e/ou profilático de leucemia mielomonocítica, síndrome hipereosinofílica, leucemia eosinofílica crónica e síndrome hipereosinofílica com resistência a imatinib ou leucemia mielomonocítica com resistência a imatinib.

O presente invento está ainda relacionado com a utilização de compostos da fórmula (I) para tratar ou prevenir doenças mieloproliferativas induzidas por FIP1 L9-PDGFR α ou TEL-PDGFR β , especialmente para o tratamento curativo e/ou profilático de leucemia mielomonocítica, leucemia eosinofílica crónica, síndrome hipereosinofílica e síndrome hipereosinofílica com resistência a imatinib.

Os termos gerais usados até agora e usados daqui em diante, de preferência, possuem dentro do contexto deste invento os significados que se seguem, a menos que de outra forma seja indicado:

Quando a fórmula (I) foi referida anteriormente e é referida à frente, esta pode ser substituída pela fórmula (II), definindo então as realizações do invento abrangidas pelas reivindicações.

O prefixo "inferior" significa um radical tendo até um máximo de 7 átomos de carbono inclusive, especialmente até um máximo de 4 átomos de carbono inclusive, os radicais em questão sendo lineares ou ramificados com ramificação simples ou múltipla.

Quando a forma plural é usada para os compostos, sais e similares, esta é considerada como significando também um composto simples, sal ou similar.

Quaisquer átomos de carbono assimétricos podem estar presentes na configuração (*R*), (*S*) ou (*R,S*), de preferência na configuração (*R*) ou (*S*). Os compostos podem assim estar presentes como misturas de isômeros ou como isômeros puros, de preferência como diastereómeros de enantiómeros puros.

O invento está também relacionado com possíveis tautômeros dos compostos da fórmula (I).

Alquilo inferior é de preferência alquilo com 1 a 7 inclusive, de preferência de 1 a 4 inclusive, átomos de carbono e é linear ou ramificado; de preferência, alquilo inferior é butilo, como seja *n*-butilo, *sec*-butilo, isobutilo, *tert*-butilo, propilo, como seja *n*-propilo ou isopropilo, etilo ou metilo. De preferência alquilo inferior é metilo, propilo ou *tert*-butilo.

Acilo inferior é, de preferência, formilho ou alquilcarbonilo inferior, em particular acetilo.

Um grupo arilo é um radical aromático que está ligado à molécula através de uma ligação situada num átomo de carbono do anel aromático do radical. Numa realização preferida, o arilo é um radical aromático tendo 6-14 átomos de carbono, especialmente fenilo, naftilo, tetra-hidro-naftilo, fluorenilo ou fenantrenilo e não é substituído ou é substituído por 1 ou mais, de preferência até 3, especialmente 1 ou 2 substituintes, especialmente seleccionados entre amino, amino mono- ou di-substituído, halogéneo, alquilo inferior, alquilo inferior substituído, alcenilo inferior, alcinilo inferior, fenilo, hidroxilo, hidroxilo eterificado ou esterificado, nitro, ciano, carboxilo, carboxilo esterificado, alcanóilo, benzoílo, carbamoílo, carbamoílo N-mono- ou N,N-di-substituído, amidino, guanidino, ureido, mercapto, sulfo, alquiltio inferior, feniltio, fenil-alquiltio inferior, alquilo inferior-feniltio, alquilsulfinilo inferior, fenilsulfinilo, fenil-alquilsulfinilo inferior, alquilo inferior-fenilsulfinilo, alquilsulfonilo inferior, fenilsulfonilo, fenil-alquilsulfonilo inferior, alquilo inferior-fenilsulfonilo, halogéneo-alquilmercapto inferior, halogéneo-alquilsulfonilo inferior, como sejam especialmente trifluorometanosulfonilo, di-hidroxibora ($-B(OH)_2$), heterociclilo, um grupo heteroarilo mono ou bicíclico e alquilenos inferiores dioxilo ligados em átomos de C adjacentes do anel, tais como metileno dioxilo. Arilo é de preferência fenilo, naftilo ou

tetra-hidronaftilo, o qual pode ser não substituído ou independentemente substituído por 1 ou 2 substituintes seleccionados do grupo compreendendo halogéneo, especialmente flúor, cloro ou bromo; hidroxilo; hidroxilo eterificado por alquilo inferior, e.g., por metilo, por halogénio-alquilo inferior, e.g., trifluorometilo ou por fenilo; alquilenos inferior dioxo ligados a dois átomos de C adjacentes, e.g., metilenodioxilo, alquilo inferior, e.g., metilo ou propilo; halogénio-alquilo inferior, e.g., trifluorometilo; hidroxi-alquilo inferior, e.g., hidroxi-metilo ou 2-hidroxi-2-propilo; alcoxilo inferior-alquilo inferior; e.g., metoximetilo ou 2-metoxietilo; alcoxycarbonilo inferior-alquilo inferior, e.g., metoxycarbonil-metilo; alcinilo inferior, como seja 1-propionilo; carbonilo esterificado, especialmente alcoxycarbonilo inferior, e.g., metoxycarbonilo, n-propoxycarbonilo ou isopropoxycarbonilo; carbamoilo N-mono-substituído, em particular, carbamoilo mono-substituído por alquilo inferior, e.g., metilo, n-propilo ou isopropilo; amino; alquilamino inferior, e.g., metilamino; di-alquilamino inferior, e.g., dimetilamino ou dietilamino; alquilenos-amino inferior, e.g., pirrolidino ou piperidino; oxa-alquilenos-amino inferior, e.g., morfolino, aza-alquilenos-amino inferior, e.g., piperazino, acilamino, e.g., acetilamino ou benzoil-amino; alquilsulfonilo inferior, e.g., metilsulfonilo; sulfamoilo; ou fenilsulfonilo.

Um grupo cicloalquilo é de preferência ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo ou cicloheptilo e pode

ser não substituído ou substituído com um ou mais, especialmente 1 ou 2, substituintes seleccionados do grupo definido atrás como substituintes para arilo, mais de preferência por alquilo inferior, como seja metilo, alcoxilo inferior, como seja metoxilo ou etoxilo, ou hidroxilo, e ainda por oxo ou fundido com um anel benzo, como seja benzociclopentilo ou benzociclo-hexilo.

Alquilo substituído é alquilo como definido atrás, especialmente alquilo inferior, de preferência metilo; em que 1 ou mais, especialmente até 3, substituintes podem estar presentes, principalmente do grupo seleccionado entre halogénio, especialmente flúor, amino, N-alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, N-alcanoilamino inferior, hidroxilo, ciano, carboxilo, alcoxycarbonilo inferior e fenil-alcoxycarbonilo inferior. Prefere-se especialmente trifluorometilo.

Amino mono- ou di-substituído é especialmente amino substituído por 1 ou 2 radicais seleccionados independentemente de entre alquilo inferior, como seja metilo; hidroxi-alquilo inferior, como seja 2-hidroetilo; alcoxilo inferior alquilo inferior, como seja metoxi-etilo; fenil-alquilo inferior, como seja benzilo ou 2-feniletilo; alcanoílo inferior, como seja acetilo; benzoílo; benzoílo substituído, em que o radical fenilo é especialmente substituído por 1 ou mais, de preferência 1 ou 2, substituintes seleccionados entre nitro, amino, halogénio, N-alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, hidroxilo, ciano,

carboxilo, alcoxicarbonilo inferior, alcanóilo inferior e carbamoílo inferior; e fenil-alcoxicarbonilo inferior, em que o radical fenilo é não substituído ou especialmente substituído com 1 ou mais, de preferência 1 ou 2, substituintes seleccionados entre nitro, amino, halogénio, N-alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior, hidroxilo, ciano, carboxilo, alcoxicarbonilo inferior, alcanóilo inferior e carbamoílo inferior; e é de preferência N-alquilamino inferior, como seja N-metilamino, hidroxialquilamino inferior, como seja 2-hidroxi-etilamino ou 2-hidroxi-propilo, alcoxilo inferior alquilo inferior, como seja metoxi-etilo, fenil-alquilamino inferior, como seja benzilamino, N,N-dialquilamino inferior, N-fenil-alquilo inferior-N-alquilamino inferior, N,N-di-alquilo inferior-fenilamino, alcanoilamino inferior, como seja acetilamino ou um substituinte seleccionado do grupo consistindo em benzoilamino e fenil-alcoxi inferior-carbonilamino, em que o radical fenilo em cada caso é não substituído ou especialmente substituído por nitro ou amino, ou também por halogéneo, amino, N-alquilamino inferior, N,N-di-alquilamino inferior, hidroxilo, ciano, carboxilo, alcoxicarbonilo inferior, alcanóilo inferior, carbamoílo ou aminocarbonilamino. Amino di-substituído é igualmente alquilenamino inferior, e.g., pirrolidino, 2-oxopirrolidino ou piperidino; oxo-alquilenamino inferior, e.g., morfolino ou aza-alquilenamino inferior, e.g., piperazino ou piperazino N-substituído, como seja N-metilpiperazino ou N-metoxicarbonilpiperazino.

O halogénio é especialmente flúor, cloro, bromo ou iodo, especialmente flúor, cloro ou bromo.

Hidroxilo eterificado é especialmente alquilo-xilo C_8-C_{20} , como seja n-decilo-xilo, alco-xilo inferior (preferido), como seja metoxilo, etoxilo, isopropilo-xilo ou *tert*-butilo-xilo, fenil-alco-xilo inferior, como seja benzilo-xilo, fenilo-xilo, halogénio-alco-xilo inferior, como seja tri-fluorometoxilo, 2,2,2-trifluoroetoxilo ou 1,1,2,2-tetra-fluoroetoxilo ou alco-xilo inferior que é substituído por heteroarilo mono- ou bi-cíclico compreendendo 1 ou 2 átomos de zoto, de preferência alco-xilo inferior que é substituído por imidazolilo, como seja 1H-imidazol-1-ilo, pirrolilo, benzimidazolilo, como seja 1-benzimidazolilo, piridilo, especialmente 2-, 3- ou 4-piridilo, pirimidinilo, especialmente 2-pirimidinilo, pirazinilo, isoquinolinilo, especialmente 3-isoquinolinilo, quinolinilo, indolilo ou tiazolilo.

Hidroxilo esterificado é especialmente alcanilo-xilo inferior; benzoilo-xilo; alcoxycarbonilo-xilo inferior, como seja *tert*-butoxycarbonilo-xilo; ou fenilo-alcoxycarbonilo-xilo, como seja benziloxycarbonilo-xilo.

Carboxilo esterificado é especialmente alcoxycarbonilo inferior, como seja *tert*-butoxycarbonilo, isopropoxycarbonilo, metoxycarbonilo ou etoxycarbonilo, fenilo-alcoxycarbonilo inferior ou feniloxycarbonilo.

Alcanoílo é principalmente alquilcarbonilo, especialmente alcanoílo inferior, e.g., acetilo.

Carbamoílo N-mono- ou N,N-di-substituído é especialmente substituído com 1 ou 2 substituintes independentemente seleccionados entre alquilo inferior, fenil-alquilo inferior e hidroxialquilo inferior ou alquilenos inferiores, oxa-alquileno inferior ou aza-alquileno inferior facultativamente substituído no átomo de azoto terminal.

Um grupo heteroarilo mono- ou bi-cíclico compreendendo 0, 1, 2 ou 3 átomos de azoto no anel e 0 ou 1 átomo de oxigénio e 0 ou 1 átomo de enxofre, grupos esses que não são substituídos ou são mono- ou poli-substituídos, refere-se a um grupo heterocíclico que é insaturado no anel que liga o radical heteroarilo ao resto da molécula na fórmula (I) e é de preferência um anel, em que no anel de ligação, mas facultativamente também em qualquer anel ligado, pelo menos 1 átomo de carbono é substituído por um heteroátomo seleccionado do grupo consistindo em azoto, oxigénio e enxofre; em que o anel de ligação, de preferência, possui 5 a 12 átomos no anel, mais de preferência 5 ou 6 átomos no anel; e que pode ser não substituído ou substituído com 1 ou mais, especialmente 1 ou 2, substituintes seleccionados do grupo definido atrás como substituintes para arilo, mais de preferência por alquilo inferior, como seja metilo, alcoxilo inferior, tal como metoxilo ou etoxilo, ou hidroxilo. De preferência o grupo heteroarilo mono- ou bicíclico é seleccionado entre

2H-pirrolilo, imidazolilo, benzimidazolilo, pirazolilo, indazolilo, purinilo, piridilo, pirazinilo, pirtimidinilo, piridazinilo, 4H-quinolizininilo, isoquinolilo, quinonlil, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalilo, quinazolinilo, quinolinilo, pteridinilo, indlizinilo, 3H-indolilo, indolilo, isoindolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, furazanilo, benzo[d]pirazolilo, tienilo e furanilo. Mais de preferência, o grupo heteroarilo mono- ou bicíclico é seleccionado do grupo constituído por pirrolilo; imidazolilo, como seja 1H-imidazol-1-ilo; benzimidazolilo, como seja 1-benzimidazolilo; indazolilo, especialmente 5-indazolilo; piridilo, especialmente 2-, 3- ou 4-piridilo; pirimidinilo, especialmente 2-pirimidinilo; pirazinilo; isoquinolinilo, especialmente 3-isoquinolinilo; quinolinilo, especialmente 4- ou 8-quinolinilo; indolilo, especialmente 3-indolilo; tiazolilo; benzo[d]pirazolilo; tienilo; e furanilo. Numa realização preferida do invento, o radical piridilo é substituído por hidroxilo na posição orto relativamente ao átomo de azoto e portanto existe pelo menos parcialmente na forma do correspondente tautómero que é piridin-(1H)2-ona. Numa outra realização preferida, o radical pirimidinilo é substituído por hidroxilo nas posições 2 e 4 e portanto existe em várias formas tautoméricas, e.g., como pirimidina-(1H, 3H)2,4-diona.

Heterociclilo é especialmente um sistema heterocíclico de 5, 6 ou 7 membros com 1 ou 2 heteroátomos seleccionados do grupo compreendendo azoto, oxigénio e

enxofre, o qual pode ser insaturado ou totalmente ou parcialmente saturado e é não substituído ou substituído especialmente por alquilo inferior, como seja metilo; fenil-alquilo inferior, como seja benzilo, oxo ou heteroarilo, como seja 2-piperazinilo; heterocíclico é especialmente 2- ou 3-pirrolidinilo, 2-oxo-5-pirrolidinilo, piperidinilo, N-benzil-4-piperidinilo, N-alquilo inferior-4-piperidinilo, N-alquilo inferior-piperazinilo, morfolinilo, e.g., 2- ou 3-morfolinilo, 2-oxo-1H-azepin-3-ilo, 2-tetra-hidrofuranilo ou 2-metil-1,3-dioxolan-2-ilo.

Os sais são especialmente sais farmacêuticamente aceitáveis de compostos da fórmula (I).

Tais sais são formados, e.g., como sais de adição de ácido, de preferência com ácidos orgânicos ou inorgânicos, a partir de compostos da fórmula (I) com um átomo de azoto básico, especialmente os sais farmacêuticamente aceitáveis. Os sais inorgânicos adequados são, e.g., ácidos de halogêneos, tais como ácido clorídrico, ácido sulfúrico ou ácido fosfórico. Ácidos orgânicos adequados são, e.g., ácido carboxílico, fosfônico, sulfônico ou sulfâmico, e.g., ácido acético, ácido propiônico, ácido octanóico, ácido decanóico, ácido dodecanóico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, aminoácidos, tais como ácido glutâmico ou ácido aspártico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido ciclo-

hexanocarboxílico, ácido adamantanocarboxílico, ácido benzóico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido ftálico, ácido fenilacético, ácido mandélico, ácido cinâmico, ácido metano- ou etano-sulfônico, ácido 2-hidroxi-etanossulfônico, ácido etano-1,2-dissulfônico, ácido benzenossulfônico, ácido 2-naftalenossulfônico, ácido 1,5-naftaleno-dissulfônico, ácido 2-, 3- ou 4-metilbenzenossulfônico, ácido metilsulfúrico, ácido etilsulfúrico, ácido dodecilsulfúrico, ácido N-ciclo-hexilsulfâmico, ácido N-metil-, N-etil- ou N-propil-sulfâmico; ou outros ácidos protônicos orgânicos, como sejam o ácido ascórbico.

Na presença de radicais negativamente carregados, como seja carboxilo ou sulfo, podem também ser formados sais com bases, *e.g.*, sais de metais ou de amónio, como sejam sais de metais alcalinos ou de metais alcalinos terrosos, *e.g.*, sais de sódio, potássio, magnésio ou cálcio; ou sais de amónio com amónia ou amins orgânicas adequadas, tais como mono-aminas terciárias, *e.g.*, trietilamina ou tri(2-hidroxi-etil)amina; ou bases heterocíclicas, *e.g.*, N-etil-piperidina ou N,N-dimetilpiperazina.

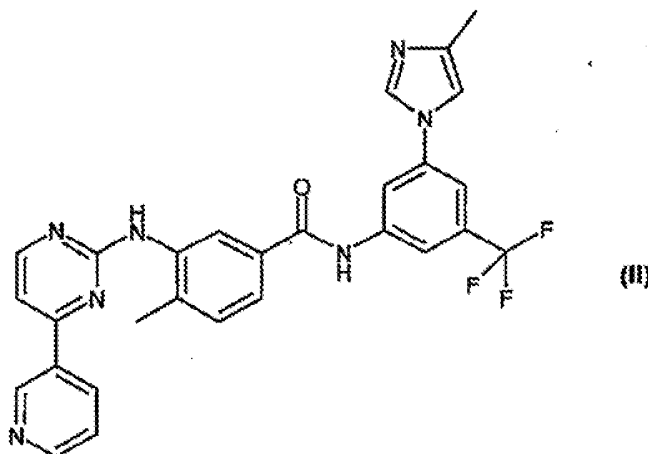
Quando um grupo básico e um grupo ácido estão presentes na mesma molécula, um composto da fórmula (I) pode também formar sais internos.

Para fins de isolamento ou purificação é também possível usar sais farmacêuticamente inaceitáveis, *e.g.*, picratos ou percloratos. Para uso terapêutico, apenas sais

farmaceuticamente aceitáveis ou compostos livres são empregues (quando aplicável na forma de preparações farmacêuticas) e estes são portanto preferidos.

Face à relação estreita entre os novos compostos na forma livre e os na forma de sais, incluindo os sais que podem ser usados como intermediários, *e.g.*, na purificação ou identificação dos novos compostos, qualquer referência aos compostos livres já feita ou a fazer deve ser entendida como referindo-se aos sais correspondentes, conforme apropriado e oportuno.

Os compostos dentro do âmbito da fórmula (I) e o processo para a sua produção estão descritos em WO 04/005281 publicada em 15 de Janeiro, 2004, que aqui é incluída no presente pedido como referência. O composto para usar ou útil de acordo com as realizações do invento é 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida e N-óxidos e sais farmaceuticamente aceitáveis da fórmula (II):



Sempre que as citações de pedidos de patente ou de publicações científicas sejam citadas em particular para os compostos DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA, os produtos finais, as preparações farmacêuticas e as reivindicações são assim incluídas no presente pedido através de referência a estas publicações.

A estrutura dos agentes activos identificados por números de código, nomes genéricos ou de marcas podem ser retirados da actual edição do compêndio de padrões "The Merck Index" ou de bases de dados, e.g., Patentes Internacionais, e.g., IMS World Publications. O teor correspondente é aqui incluído como referência.

Surpreendentemente, encontrou-se agora que os DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA possuem propriedades terapêuticas que os tornam particularmente úteis no tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente de neurofibromatose.

A presente descrição diz assim respeito à utilização de DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA para a preparação de um fármaco para o tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente de neurofibromatose.

O presente invento diz respeito mais particularmente à utilização de DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINO-

BENZAMIDA na preparação de um fármaco para o tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente NF, compreendendo a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma quantidade terapeuticamente eficaz de DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA ou dos seus sais farmacologicamente aceitáveis ou pró-fármacos.

O presente invento também proporciona um método para o tratamento de mamíferos, especialmente seres humanos, sofrendo de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente NF, compreendendo a administração a um mamífero necessitado de tal tratamento de uma quantidade inibidora de 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]-amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)-fenil]benzamida (Composto (II)) ou um seu sal farmacologicamente aceitável.

De preferência, este método é usado para o tratamento de NF1 ou NF2.

Numa outra realização, o presente invento está relacionado com a utilização de DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA para a preparação de uma composição farmacêutica para usar no tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente NF.

Na presente descrição de ambas as realizações descritas e do invento, o termo "tratamento" inclui tratamento profilático ou preventivo, assim como tratamento

curativo ou supressor da doença, incluindo tratamento de doentes em risco de contraírem a doença ou suspeitos de terem contraído a doença, assim como doentes com manifestações da doença. Este termo ainda inclui o tratamento para o retardamento de progressão da doença.

O termo "curativo", como aqui usado, significa eficácia no tratamento de episódios que envolvem tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente NF.

O termo "profilático" significa a prevenção do estabelecimento ou recorrência de doenças envolvendo tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente NF.

O termo "retardamento da progressão", como aqui usado, significa administração do composto activo a doentes que estão num pré-estado ou numa fase precoce da doença a ser tratada, em que nos doentes, *e.g.*, uma pré-forma da correspondente doença foi diagnosticada ou doentes que estão numa condição, *e.g.*, durante um tratamento médico ou uma condição resultante de um acidente, da qual é provável que se desenvolva uma doença correspondente.

Esta imprevisível gama de propriedades significa que a utilização de DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA é de interesse particular para a produção de um medicamento para o tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente NF.

Para demonstrar que os DERIVADOS DE PIRIMIDIL-AMINOBENZAMIDA são particularmente adequados para o tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente NF, com boa margem terapêutica e outras vantagens, podem ser realizados ensaios clínicos de forma conhecida dos familiarizados com a área.

A dosagem precisa de DERIVADOS DE PIRIMIDIL-AMINOBENZAMIDA a ser empregue para a inibição de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente NF, depende de vários factores incluindo o hospedeiro, a natureza e a gravidade da condição a ser tratada, o modo de administração. O composto da fórmula (I) pode ser administrado por qualquer via, incluindo a oral, parentérica, e.g., intraperitoneal, intravenosa, subcutânea, intratumoral ou rectal ou entérica. De preferência, o composto da fórmula (I) é administrado oralmente, de preferência numa dose diária de 1-300 mg/kg de peso do corpo ou, para os primatas de grande porte, uma dose diária de 50-5000 mg, de preferência 500-3000 mg. Uma dose diária oral preferida é de 1-75 mg/kg de peso de corpo ou, para os primatas maiores, uma dose diária de 10-2000 mg, administrada como uma dose única ou dividida em múltiplas doses, como seja numa dosagem de duas vezes ao dia.

Geralmente, uma dose pequena é administrada inicialmente e a dosagem é gradualmente aumentada até a dosagem óptima para o hospedeiro a ser tratado ser

determinada. O limite superior da dosagem é o imposto por efeitos secundários e pode ser determinado através de ensaio para o hospedeiro a ser tratado.

Os compostos da fórmula (I) podem ser combinados com um ou mais veículos farmacologicamente aceitáveis e, facultativamente, um ou mais adjuvantes farmacêuticos convencionais e administrado entericamente, *e.g.*, oralmente, na forma de comprimidos, cápsulas, pílulas, etc., ou parentericamente, *e.g.*, intraperitonealmente ou intravenosamente na forma de soluções ou suspensões injectáveis estéreis. As composições entéricas e parentéricas podem ser preparadas por meios convencionais.

Os DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA descritos ou, no caso do composto da fórmula (II), de acordo com o invento podem ser usados sozinhos ou em combinação com pelo menos um outro composto farmacologicamente activo para usar nestas patologias. Estes compostos activos podem ser combinados na mesma preparação farmacêutica ou na forma de preparações combinadas "kit de partes" no sentido dos parceiros de combinação poderem ser doseados independentemente ou através do uso de diferentes combinações fixas com quantidades distintas dos parceiros de combinação, *i.e.*, simultaneamente ou em tempos diferentes. As partes do kit de partes podem então, *e.g.*, ser administradas simultaneamente ou separadas cronologicamente, ou seja em diferentes alturas e com intervalos de tempo iguais ou diferentes para qualquer parte do kit de partes. Exemplos

não limitantes de compostos que podem ser citados para usar em combinação com DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA são fármacos citotóxicos para quimioterapia, tais como arabinósido de citosina, daunorrubicina, doxorubicina, ciclofosfamida, VP-16 ou imatinib, etc. Ainda, os DERIVADOS DE PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA podem ser combinados com outros inibidores da transdução de sinal ou com outros fármacos dirigidos a oncogenes, com a expectativa de resultar numa sinergia significativa.

O invento, ou no caso do composto da fórmula (II) do invento, ainda diz respeito à combinação de um DERIVADO DE PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA como aqui descrito atrás com imatinib para o tratamento das doenças e condições aqui descritas. A administração de tal combinação pode ser efectuada em simultâneo, *i.e.*, na forma de uma composição ou preparação farmacêutica combinada fixa, ou sequencialmente ou separada no tempo. É actualmente preferida a administração de um DERIVADO DE PIRIMIDILAMINO BENZAMIDA numa forma de dosagem como aqui descrito anteriormente e de imatinib na sua forma comercial de GLEEVEC® nos EUA/GLIVEC® na Europa e com as dosagens destinadas para estas formas de dosagem.

O tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro, especialmente NF, com a combinação atrás descrita pode ser um tratamento da chamada primeira linha, *i.e.*, o tratamento de uma doença recentemente diagnosticada sem quimioterapia anterior ou similares, ou pode também ser

um tratamento da chamada segunda linha, *i.e.*, o tratamento da doença após um tratamento anterior com imatinib ou com um DERIVADO DE PIRIMIDILAMINOBENZAMIDA, dependendo da gravidade ou fase da doença, assim como da condição global do doente, etc.

Exemplo 1

A eficácia dos compostos da fórmula I como inibidores de c-kit e da actividade da tirosina cinase PDGF-R pode ser demonstrada como se segue:

BaF3-Tel-PDGFRbeta e BaF3-kitD816V são derivados da célula de linfoma das células pro-B murinas BaF3 [a linha celular BaF3 está disponível na German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ), Braunschweig, Germany] que foram tornadas independentes de IL-3 através da transdução estável com PDGF β -R selvagem activado pela fusão com Tel (Golub T.R. *et al.*, Cell 77(2): 307-316, 1994) ou com c-kit activado pela mutação D816V, respectivamente. As células foram cultivadas em RPMI-1640 (Animed #1-14F01-I) suplementado com 2% de L-glutamina (Animed #5-10K50-H) e 10% de soro fetal de vitela (FCS, Animed #2-01F16-I). Células BaF3 selvagens não transfectadas foram mantidas no meio acima mais 10U/ml de IL-3 (Interleucina-3 de murganho, Roche #1380745).

As células foram diluídas em meio fresco para uma densidade final de 3×10^5 células por ml e alíquotas de 50

µl semeadas em placas de 96 alvéolos ($1,5 \times 10^4$ células por alvéolo). Foram adicionados 50 µl de soluções dos compostos 2X. Como controlo interno, o inibidor de cinases PKC412 foi usado de rotina. As células controlo tratadas com DMSO (0,1% concentração final) servem como referência do crescimento (consideradas como 100% de crescimento). Ainda, um valor branco da placa foi de rotina determinado num alvéolo contendo apenas 100 µl de meio e sem células. As determinações de IC_{50} foram realizadas com base em diluições seriadas de 3 vezes do composto a testar, começando em 10 µM. Após incubação das células durante 48 h a 37°C e 5% CO_2 , o efeito dos inibidores na viabilidade celular foi avaliado pelo ensaio de redução do corante sal sódico de resazurina (conhecido comercialmente como ensaio de AlamarBlue) essencialmente como anteriormente descrito (O'Brien J. *et al.*, Eur. J. Biochem. 267: 5421-5426, 2000). 10 µl de AlamarBlue foram adicionados por alvéolo e as placas incubadas durante 6 h a 37°C e 5% CO_2 . Em seguida, a fluorescência foi medida usando um leitor de placas de 96 alvéolos Gemini (Molecular Devices) com os seguintes parâmetros estabelecidos; Excitação 544 nm e Emissão 590 nm. Os dados brutos obtidos foram exportados para um formato de ficheiro Excel. Para a análise de dados, o valor de branco da placa foi subtraído de todos os pontos. O efeito anti-proliferativo de um composto através da leitura de AlamarBlue foi então calculado como percentagem do valor das células controlo consideradas como 100%. Os valores de IC_{50} foram determinados usando o programa informático XLfit. Os compostos da fórmula I mostram um IC_{50} para c-Kit

e PDGF β -R na gama de 0,00003 a 20 μ M, especialmente entre 0,001 e 0,1 μ M.

Exemplo 2

O gene KIT humano codificador de 544-976 aa foi clonado no plasmídeo dador de baculovírus pFB-GST-01. Esta sequência codificadora foi retirada usando as endonucleases de restrição BamH1 e EcoR1 e ligada a um vector dador Bac-to-Bac pFB-GEX-P1 com extremos compatíveis. Subsequentemente, as mutações pretendidas foram feitas no gene KIT (pelo Dr. M Heinrich). Devido a uma mudança de grelha de leitura dentro do plasmídeo original que foi usado para gerar as sequências codificadoras mutantes, os insertos do plasmídeo mutado foram removidos e inseridos no vector dador Bac-to-Bac pFB-GST-01 usando as enzimas de restrição BamHI-EcoR1 para cada mutante. A sequenciação automática confirmou a sequência correcta presente em cada plasmídeo mutante.

O DNA do bacmídeo foi gerado a partir de 10 colónias de células DH10Bac transformadas com plasmídeos pFB-G01-KIT mutantes como descrito em materiais e métodos e estes foram transfectados para células Sf9. As células transfectadas foram sedimentadas e o baculovírus recombinante resultante presente no meio do sobrenadante amplificado. Realizou-se transferência Western com os lisados dos sedimentos celulares para confirmar a expressão da proteína de fusão GST-c-KIT pelos clones virais usando anticorpos anti-KIT e anti-GST para a imunodeteccção.

Mutação de Kit	Composto II IC ₅₀ (µM) (média)
D186F	>10
D186H	>10
D186N	>10
D186Y	>10
D186V	>10
K642E	<10
Y823D	<1
Del 550-558	<2
Del 557-561	<2
N822K	<10
V654A	>10
N822H	<10
Del 550-558 + V654A	<10
Del 557-561 + V654A	>10

O meio contendo vírus foi colhido a partir da cultura de células transfectadas e usado na infecção para aumentar o seu título. O meio contendo vírus obtido após dois ciclos de infecção foi usado para a expressão de proteína em larga escala. Para a expressão da proteína em larga escala placas de cultura de tecidos circulares de 100 cm² foram semeadas com 5×10^7 células/placa e infectadas com 1 ml de meio contendo vírus (aproximadamente 5 MOIs) Após 3 dias, as células foram raspadas da placa e centrifugadas a 500 rpm durante 5 minutos. Os sedimentos celulares de 10-20 placas de 100 cm² foram ressuspensos em 50

ml de tampão de lise arrefecido em gelo (Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, EDTA 2 mM, 1% NP40, DTT 1 mM, PMSF 1 mM). As células foram agitadas em gelo durante 15 minutos e depois centrifugadas a 5000 rpm durante 20 minutos.

O lisado celular centrifugado foi aplicado numa coluna de 2 ml de glutathiona-sepharose (Pharmacia) e lavado 3x com 10 ml de Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, EDTA 2 mM DTT 1 mM, NaCl 200 mM. As proteínas marcadas com GST foram então eluídas através de 10 aplicações (1 ml cada) de Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, glutathiona reduzida 10 mM, NaCl 100 mM, DTT 1 mM, 10% glicerol e guardadas a -70°C.

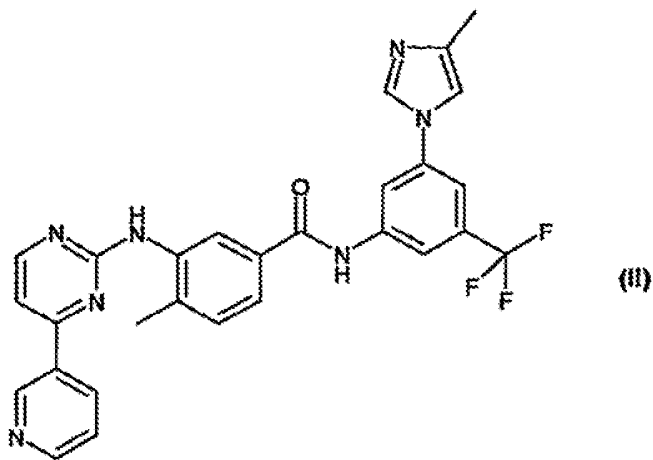
As actividades de cinase de proteínas de 200-500 ng dos vários mutantes Kit foram testadas na presença ou ausência de inibidores, Tris-HCl 20 mM, pH 7,6, MgCl₂ 3 mM, DTT 1 mM, Na₃VO₄, 3 µg/ml de poli(Glu, Tyr) 4:1, 1% DMSO, ATP 1,5 µM (γ-[³³P]-ATP 0,1 µCi). O ensaio (30 µl) foi realizado em placas de 96 alvéolos à temperatura ambiente durante 30 minutos e a reacção terminada pela adição de 20 µl de EDTA 125 mM. Subsequentemente, 30 µl da mistura de reacção foram transferidos para membrana Immobilon-PVDF (Millipore, Bedford, MA, USA) previamente embebida durante 5 minutos em metanol, lavada com água, depois embebida durante 5 minutos com 0,5% H₃PO₄ e montada num dispositivo de vácuo com a fonte de vácuo desligada. Após aplicação de todas as amostras, ligou-se o vácuo e cada alvéolo foi lavado com 200 µl de 0,5% H₃PO₄. As membranas foram removidas e lavadas 4x num agitador com 1,0% H₃PO₄, uma vez

com etanol. As membranas foram contadas após secagem à temperatura ambiente, montadas numa moldura de 96 alvéolos Packard TopCount e adicionados 10 µl/alvéolo de Microscint (Packard). Os valores de IC₅₀ foram calculados por análise de regressão linear da percentagem de inibição em duplicado, em 4 concentrações (geralmente 0,01, 0,1, 1 e 10 µM). Uma unidade de actividade de cinase de proteínas é definida como 1 nmole de ³³P transferido a partir de (γ³³P)ATP para o substrato proteína/minuto/mg da proteína à TA.

Lisboa, 17 de outubro de 2012

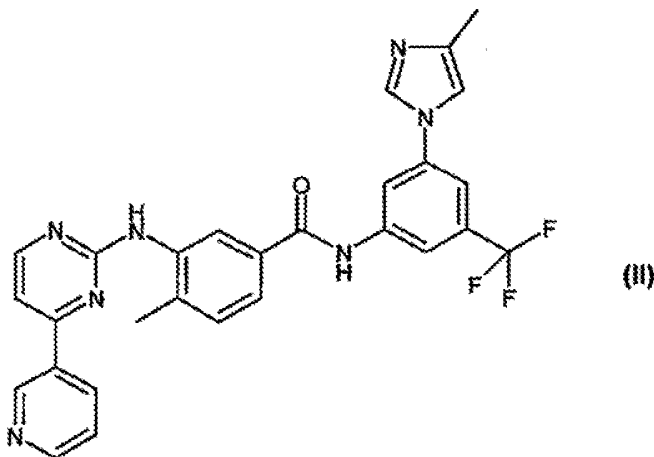
REIVINDICAÇÕES

1. Um composto da fórmula (II), 4-metil-3-[[4-(3-piridinil)-2-pirimidinil]amino]-N-[5-(4-metil-1H-imidazol-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]benzamida



N-óxidos ou seus sais farmacologicamente aceitáveis, para usar num método de tratamento ou prevenção de tumores benignos não cancerosos do cérebro de neurofibromatose tipo 1.

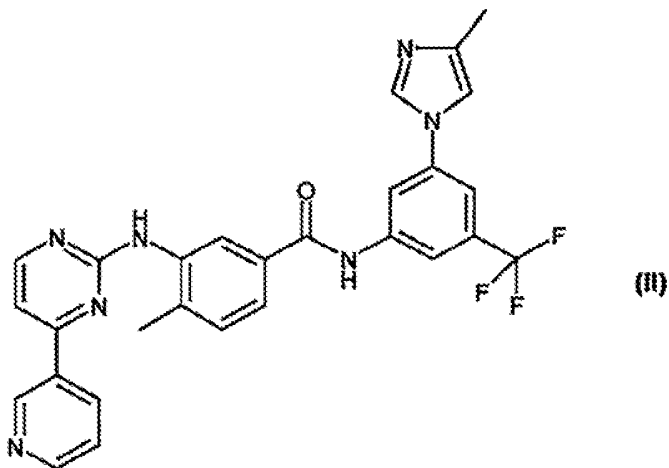
2. A utilização de um composto da fórmula (II):



ou

um N-óxido ou seus sais farmacêuticamente aceitáveis para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro de neurofibromatose tipo 1.

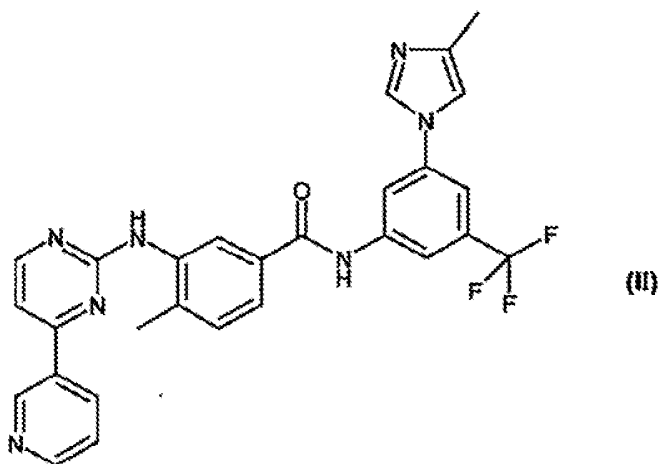
3. Uma preparação farmacêutica para usar num método do tratamento de tumores benignos não cancerosos do cérebro de neurofibromatose tipo 1, compreendendo um composto da fórmula (II):



ou

um N-óxido ou seus sais farmacêuticamente aceitáveis.

4. Uma combinação do composto da fórmula (II):



um N-óxido ou seus sais farmacêuticamente aceitáveis e pelo menos um outro composto farmacêuticamente activo para usar no tratamento de tumores benignos não cancerosos de neurofibromatose tipo 1.

5. A combinação para usar de acordo com a reivindicação 4, em que o outro composto farmacêuticamente activo é o imatinib.

Lisboa, 17 de outubro de 2012

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 2005049032 A
- * WO 2004005281 A
- * WO 04005281 A

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- * *Badische et al. Oncogene*, 1998, vol. 17 (8), 795-800
- * *Golub T.R. et al. Cell*, 1994, vol. 77 (2), 307-316
- * *Weisberg et al. Cancer Cell*, 2005, vol. 7 (2), 129-141
- * *O'Brien J. et al. Eur. J. Biochem.*, 2000, vol. 267, 5421-5426