

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

(51) Classificação Internacional:

C07D 215/36 (2011.01) **C07D 215/22** (2011.01)
C07D 221/04 (2011.01) **C07D 401/12** (2011.01)
A61K 31/47 (2011.01) **A61P 9/10** (2011.01)
C07D 471/04 (2011.01) **C07D 513/04** (2011.01)
C07D 495/04 (2011.01) **C07D 213/68** (2011.01)
C07D 487/04 (2011.01)

(22) Data de pedido: **2001.10.05**

(30) Prioridade(s): **2000.10.10 GB 0024808**

(43) Data de publicação do pedido: **2003.07.16**

(45) Data e BPI da concessão: **2011.12.21**
048/2012

(73) Titular(es):

SMITHKLINE BEECHAM LIMITED
980 GREAT WEST ROAD BRENTFORD
MIDDLESEX TW8 9GS

GB

(72) Inventor(es):

STEVEN JAMES STANWAY
JOHN LIDDLE
ROBERT JOHN IFE
COLIN ANDREW LEACH
DEIRDRE MARY B. HICKEY

GB
GB
GB
GB
GB

(74) Mandatário:

LUÍS MANUEL DE ALMADA DA SILVA CARVALHO
RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA

PT

(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE PIRIDINONA PARA TRATAMENTO DE ATHEROSCLEROSE**

(57) Resumo:

COMPOSTOS DE FÓRMULA (I): SÃO INIBIDORES DA ENZIMA LP-PLA2 E TÊM UTILIZAÇÃO EM TERAPIA, EM PARTICULAR PARA TRATAMENTO DE ATHEROSCLEROSE.

RESUMO

"DERIVADOS DE PIRIDINONA PARA TRATAMENTO DE ATEROSCLEROSE"

Compostos de fórmula (I): são inibidores da enzima L_p -PLA₂ e têm utilização em terapia, em particular para tratamento de aterosclerose.

DESCRIÇÃO

"DERIVADOS DE PIRIDINONA PARA TRATAMENTO DE ATEROSCLEROSE"

A presente invenção diz respeito a certos novos compostos de piridinona, processos para a sua preparação, intermediários úteis na sua preparação, composições farmacêuticas que os contêm e seu uso em terapia, em particular no tratamento de aterosclerose.

WO 95/00649 (SmithKline Beecham plc) descreve a enzima fosfolipase A₂, Fosfolipase A₂ Associada a Lipo-proteína (Lp-PLA₂), a sua sequência, isolamento e purificação, ácidos nucleicos isolados que codificam a enzima, e células hospedeiras recombinantes transformadas com DNA que codifica a enzima. Os usos terapêuticos sugeridos para inibidores da enzima incluíam aterosclerose, diabetes, artrite reumatoide, acidente vascular cerebral, enfarte do miocárdio, lesão de reperfusão e inflamação aguda e crônica. Uma publicação subsequente do mesmo grupo descreve outrossim esta enzima (D. Tew et al., *Arterioscler Thromb Vas Biol*, **16** (1996) 591-9) em que ela é referida como LDL-PLA₂. Um pedido de patente posterior (WO 95/09921, Icos Corporation) e uma publicação relacionada na *Nature* (Tjoelker et al., **374** (6 de Abril de 1995) 549) descrevem a enzima PAF-AH a qual tem essencialmente a mesma sequência que Lp-PLA₂ e sugerem que pode ter potencial como proteína

terapêutica para a regulação de eventos inflamatórios patológicos.

Tem sido mostrado que a Lp-PLA₂ é responsável pela conversão de fosfatidilcolina a lisofosfatidilcolina, durante a conversão de lipoproteína de baixa densidade (LDL) à sua forma oxidada. A enzima é conhecida por hidrolisar o éster sn-2 da fosfatidilcolina oxidada para dar lisofosfatidilcolina e um ácido gordo modificado oxidativamente. Ambos os produtos da ação da Lp-PLA₂ são biologicamente ativos com lisofosfatidilcolina, em particular tendo várias atividades pró-aterogênicas atribuídas a ela incluindo quimiotactismo de monócito e indução de disfunção endotelial, ambos os quais facilitam a acumulação de macrófago derivado de monócito no interior da parede da artéria. Será por conseguinte de esperar que a inibição da enzima Lp-PLA₂ pare a construção destas lesões enriquecidas em macrófago (por inibição da formação de lisofosfatidilcolina e ácidos gordos livres oxidados) e por isso serem úteis no tratamento de aterosclerose.

Um estudo publicado recentemente (WOSCOPS - Packard *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, **343** (2000) 1148-1155) mostrou que o nível da enzima Lp-PLA₂ é um fator de risco independente na doença da artéria coronária. O conteúdo aumentado de lisofosfatidilcolina de LDL oxidativamente modificada é também pensado como sendo responsável pela disfunção endotelial observada em pacientes com aterosclerose. Os inibidores de LpPLA₂ poderão por conseguinte

provar o benefício no tratamento deste fenómeno. Um inibidor de Lp-PLA₂ poderá também encontrar utilidade noutros estados de doença que exibem disfunção endotelial incluindo diabetes, hipertensão, angina *pectoris* e após isquemia e reperfusão.

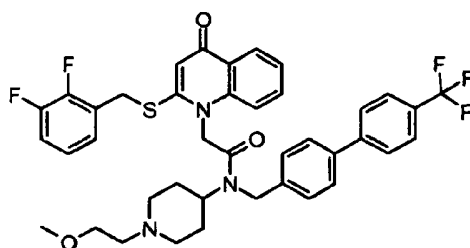
Em aditamento, os inibidores de Lp-PLA₂ também podem ter uma aplicação geral em qualquer desordem que envolve monócitos, macrófagos ou linfócitos ativados, na medida em que todos estes tipos de células expressam Lp-PLA₂. Exemplos de tais desordens incluem psoríase.

Além disso, os inibidores de Lp-PLA₂ também podem ter uma aplicação geral em qualquer desordem que envolve a oxidação de lípido em conjugação com atividade de Lp-PLA₂ para produzir os dois produtos prejudiciais, lisofosfatidilcolina e ácidos gordos oxidativamente modificados. Tais condições incluem as condições acima mencionadas aterosclerose, diabetes, artrite reumatoide, acidente vascular cerebral, enfarte do miocárdio, isquemia, lesão de reperfusão e inflamação aguda e crónica.

Os pedidos de patente WO 96/12963, WO 96/13484, WO 96/19451, WO 97/02242, WO 97/217675, WO 97/217676, WO 96/41098 e WO 97/41099 (SmithKline Beecham plc) revelam *inter alia* várias séries de compostos 4-tionil/-sulfinil/sulfonyl-azetidina que são inibidores da enzima Lp-PLA₂. Estes são inibidores acilantes (Tew *et al.*, *Biochemistry*, **37** (1998) 10087.

Uma outra classe de compostos foi agora identificada e eles são inibidores não acilantes da enzima Lp-PLA₂. Por conseguinte, WO 99/24420, WO 00/10980, WO 00/66566, WO 00/66567 e WO 00/68208 (SmithKline Beecham plc) revelam uma classe de compostos de pirimidona. Nós encontramos agora que o anel de pirimidona pode ser trocado por um anel de piridona, para dar compostos que têm boa atividade como inibidores da enzima Lp-PLA₂.

De acordo com isto, a presente invenção proporciona um composto de fórmula (I) o qual é:



(I)

Será evidente que compostos da presente invenção podem compreender um ou mais centros quirais de modo que podem ser formados estereoisômeros. A presente invenção cobre todos aqueles estereoisômeros, incluindo diastereoisômeros e enantiômeros individuais, e suas misturas.

Será evidente que nalguns casos os compostos da presente invenção podem incluir uma função básica tal como um grupo amino como substituinte. Tais funções básicas podem ser usadas para formar sais de adição de ácido, em

particular sais farmaceuticamente aceitáveis. Os sais farmaceuticamente aceitáveis incluem aqueles descritos por Berge, Bighley e Monkhouse, *J. Pharm. Sci.*, **66** (1977) 1-19. Tais sais podem ser formados a partir de ácidos inorgânicos e orgânicos. Os seus exemplos representativos incluem os ácidos maleico, fumárico, benzóico, ascórbico, pamóico, succínico, bismetilenossalicílico, metanossulfónico, etanodissulfónico, acético, propiónico, tartárico, salicílico, cítrico, glucónico, aspártico, esteárico, palmítico, itacónico, glicólico, *p*-aminobenzóico, glutâmico, taurocólico, benzenossulfónico, *p*-toluenossulfónico, clorídrico, bromídrico, sulfúrico, ciclo-hexilsulfâmico, fosfórico e nítrico.

Será evidente que nalguns casos, os compostos da presente invenção podem incluir um grupo carboxi como substituinte. Tais grupos carboxi podem ser usados para formar sais, em particular sais farmaceuticamente aceitáveis. Os sais farmaceuticamente aceitáveis incluem aqueles descritos por Berge, Bighley e Monkhouse, *J. Pharm. Sci.*, **66** (1977) 1-19. Os sais preferidos incluem sais de metal alcalino tais como os sais de sódio e potássio.

Uma vez que os compostos da presente invenção, em particular os compostos de fórmula (I), são pensados para serem usados em composições farmacêuticas, será entendido que eles são, cada um, proporcionados em forma substancialmente pura, por exemplo pelo menos 50% puros, mais adequadamente pelo menos 75% puros e preferivelmente pelo

menos 95% puros (as % estão numa base *m/m*). As preparações impuras dos compostos de fórmula (I) podem ser usadas para a preparação de formas mais puras usadas nas composições farmacêuticas. Ainda que a pureza de compostos intermediários da presente invenção seja menos crítica, será prontamente entendido que a forma substancialmente pura é preferida como para os compostos de fórmula (I). Preferivelmente, sempre que possível, os compostos da presente invenção são obtidos em forma cristalina.

Quando alguns dos compostos desta invenção são deixados cristalizar ou são recristalizados em solventes orgânicos, o solvente de cristalização pode estar presente no produto cristalino. Esta invenção inclui dentro do seu âmbito e alcance tais solvatos. De modo semelhante, alguns dos compostos desta invenção podem ser cristalizados ou recristalizados em solventes contendo água. Em tais casos pode ser formada água de hidratação. Esta invenção inclui dentro do seu âmbito e alcance hidratos estequiométricos bem como compostos contendo quantidades variáveis de água que podem ser produzidos por processos tais como liofilização. Em aditamento, condições de cristalização diferentes podem conduzir à formação de formas polimórficas diferentes de produtos cristalinos. Esta invenção inclui dentro do seu âmbito e alcance todas as formas polimórficas do composto de fórmula (I).

Os compostos da presente invenção são inibidores da enzima fosfolipase A₂ associada a lipoproteína (Lp-PLA₂) e como tal são esperados terem utilização em terapia, em

particular no tratamento de aterosclerose. Num aspeto adicional, por conseguinte, a presente invenção proporciona um composto de fórmula (I) para uso em terapia.

Os compostos de fórmula (I) são inibidores da produção de lisofosfatidilcolina por Lp-PLA₂ e podem por conseguinte também ter uma aplicação geral em qualquer desordem que envolve disfunção endotelial, por exemplo aterosclerose, diabetes, hipertensão, angina *pectoris* e após isquemia e reperfusão. Em aditamento, os compostos de fórmula (I) podem ter uma aplicação geral em qualquer desordem que envolve oxidação de lípido em conjugação com atividade de enzima, por exemplo em adição a condições tais como aterosclerose e diabetes, outras condições tais como artrite reumatoide, acidente vascular cerebral, condições inflamatórias do cérebro tais como doença de Alzheimer, enfarte do miocárdio, isquemia, lesão de reperfusão, sepsia e inflamação aguda e crónica.

Aplicações adicionais incluem qualquer desordem que envolve monócitos, macrófagos ou linfócitos ativados, na medida em que todos estes tipos de células expressam Lp-PLA₂. Exemplos de tais desordens incluem psoríase.

De acordo com isto, num aspeto adicional, a presente invenção proporciona um método de tratamento de um estado de doença associado com atividade da enzima Lp-PLA₂, método esse que envolve o tratamento dum paciente com necessidade dele com uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor da enzima. O estado de doença pode estar

associado com o envolvimento aumentado de monócitos, macrófagos ou linfócitos; com a formação de lisofosfatidilcolina e ácidos gordos livres oxidados; com oxidação de lípido em conjugação com atividade de Lp-PLA₂; ou com disfunção endotelial.

Os compostos da presente invenção também podem ser usados no tratamento de estados de doenças acima mencionados em combinação com um agente anti-hiperlipidémico, antiaterosclerótico, antidiabético, antianginal, anti-inflamatório, ou anti-hipertensivo ou um agente para o abaixamento de Lp(a). Exemplos do anterior incluem inibidores da síntese de colesterol tais como estatinas, antioxidantes tais como probucol, sensibilizadores da insulina, antagonistas do canal de cálcio, e fármacos anti-inflamatórios tais como NSAIDs. Exemplos de agentes para o abaixamento de Lp(a) incluem os aminofosfonatos descritos em WO 97/02037, WO 98/28310, WO 98/28311 e WO 98/28312 (Symphar SA e SmithKline Beecham).

Uma terapia de combinação preferida será o uso dum composto da presente invenção e uma estatina. As estatinas são uma classe bem conhecida de agentes de abaixamento de colesterol e incluem atorvastatina, simvastatina, pravastatina, cerivastatina, fluvastatina, lovastatina e rosuvastatina (também referida como S-4522 ou ZD 4522, Astra Zeneca). Os dois agentes podem ser administrados substancialmente ao mesmo tempo ou em momentos diferentes, de acordo com a descrição do médico.

Uma terapia de combinação adicional preferida será a utilização dum composto da presente invenção e um agente antidiabético ou um sensibilizador da insulina, na medida em que a doença cardíaca coronária é uma causa principal de morte para diabéticos. Dentro desta classe, os compostos preferidos para uso com um composto da presente invenção incluem os ativadores PPAR γ , por exemplo GI262570 (GlaxoSmithKline) e a classe de compostos de glitazona tais como rosiglitazona (Avandia, GlaxoSmithKline), troglitazona e pioglitazona.

Em uso terapêutico, os compostos da presente invenção são usualmente administrados numa composição farmacêutica padrão. A presente invenção por conseguinte proporciona, num aspeto adicional, uma composição farmacêutica compreendendo um composto de fórmula (I) e um agente de suporte farmacêuticamente aceitável.

As composições farmacêuticas adequadas incluem aquelas que são adaptadas para administração oral ou parenteral ou como um supositório.

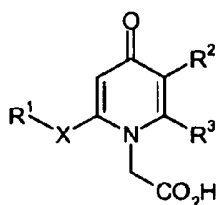
As composições farmacêuticas adequadas incluem aquelas que são adaptadas para administração oral ou parenteral ou como um supositório. Os compostos de fórmula (I) que são ativos quando dados oralmente podem ser formulados na forma de líquidos, por exemplo xaropes, suspensões ou emulsões, comprimidos, cápsulas e pastilhas. Uma formulação líquida consistirá geralmente numa suspensão

ou solução do composto ou sal farmacêuticamente aceitável num agente(s) de suporte líquido(s) adequado(s) por exemplo, etanol, glicerina, solvente não aquoso, por exemplo polietilenoglicol, óleos, ou água com um agente de suspensão, agente de conservação, de aromatização ou de coloração. Uma composição na forma de um comprimido pode ser preparada usando qualquer agente (ou agentes) de suporte farmacêutico adequado rotineiramente usado para a preparação de formulações sólidas. Exemplos de tais agentes de suporte incluem estearato de magnésio, amido, lactose, sacarose e celulose. Uma composição na forma de uma cápsula pode ser preparada usando procedimentos de encapsulação de rotina. Por exemplo, os péletes contendo o ingrediente ativo podem ser preparados usando agentes de suporte padrão e em seguida introduzidos numa cápsula de gelatina dura; alternativamente, uma dispersão ou suspensão pode ser preparada usando qualquer agente (ou agentes) de suporte farmacêutico adequado, por exemplo gomas aquosas, celulosas, silicatos ou óleos e a dispersão ou suspensão em seguida introduzida numa cápsula de gelatina mole. As composições parentéricas típicas consistem numa solução ou suspensão do composto de fórmula (I) num agente de suporte aquoso estéril ou óleo parentericamente aceitável, por exemplo polietilenoglicol, polivinilpirrolidona, lecitina, óleo de aráquis ou óleo de sésamo. Alternativamente, a solução pode ser liofilizada e em seguida reconstituída com um solvente adequado justamente antes da administração. Uma formulação de supositório típica compreende um composto de fórmula (I) o qual é ativo quando administrado por este

caminho, com um agente de ligação e/ou lubrificação tal como glicóis poliméricos, gelatinas ou manteiga de cacau ou outras ceras ou gorduras vegetais ou sintéticas de baixa fusão.

Preferivelmente, a composição está em forma de dosagem unitária tal como um comprimido ou cápsula. Cada unidade de dosagem para administração oral contém preferivelmente desde 1 a 500 mg (e para administração parentérica contém preferivelmente desde 0,1 a 25 mg) de um composto da fórmula (I). O regime de dosagem diária para um paciente adulto pode ser, por exemplo, uma dose oral entre 1 mg e 1000 mg, preferivelmente entre 1 mg e 500 mg, ou uma dose intravenosa, subcutânea ou intramuscular entre 0,1 mg e 100 mg, preferivelmente entre 0,1 mg e 25 mg, do composto da fórmula (I), sendo o composto administrado 1 a 4 vezes por dia. Adequadamente, os compostos serão administrados ao longo de um período de terapia contínua, por exemplo durante uma semana ou mais.

Um composto de fórmula (I) pode ser preparado por reação de um composto ácido de fórmula (II):



(II)

na qual X é CH₂S, R¹ é 2,3-difluorofenilo, e R² e R³, em conjunto com os átomos de carbono do anel piridona aos

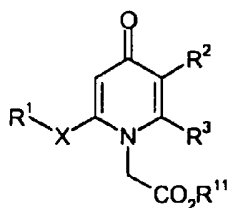
quais eles estão ligados, formam um anel benzocondensado, com um composto amina de fórmula (III):



na qual R^4 é 1-(2-metoxietil)piperidin-4-ilo, R^5 é fenilo e R^6 é fenilo substituído por trifluorometilo na posição 4 sob condições de formação de amida.

As condições de formação de amida adequadas são bem conhecidas na técnica e incluem tratamento do ácido de fórmula (II) com a amina de fórmula (III) na presença de um agente de acoplamento tal como 1-(3-dimetil-aminopropil)-3-etilcarbodiimida (DEC) e 1-hidroxibenzotriazole (HOBt), ou hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurónio (HATU) e di-isopropiletilamina, num solvente aprótico tal como diclorometano ou dimetilformamida.

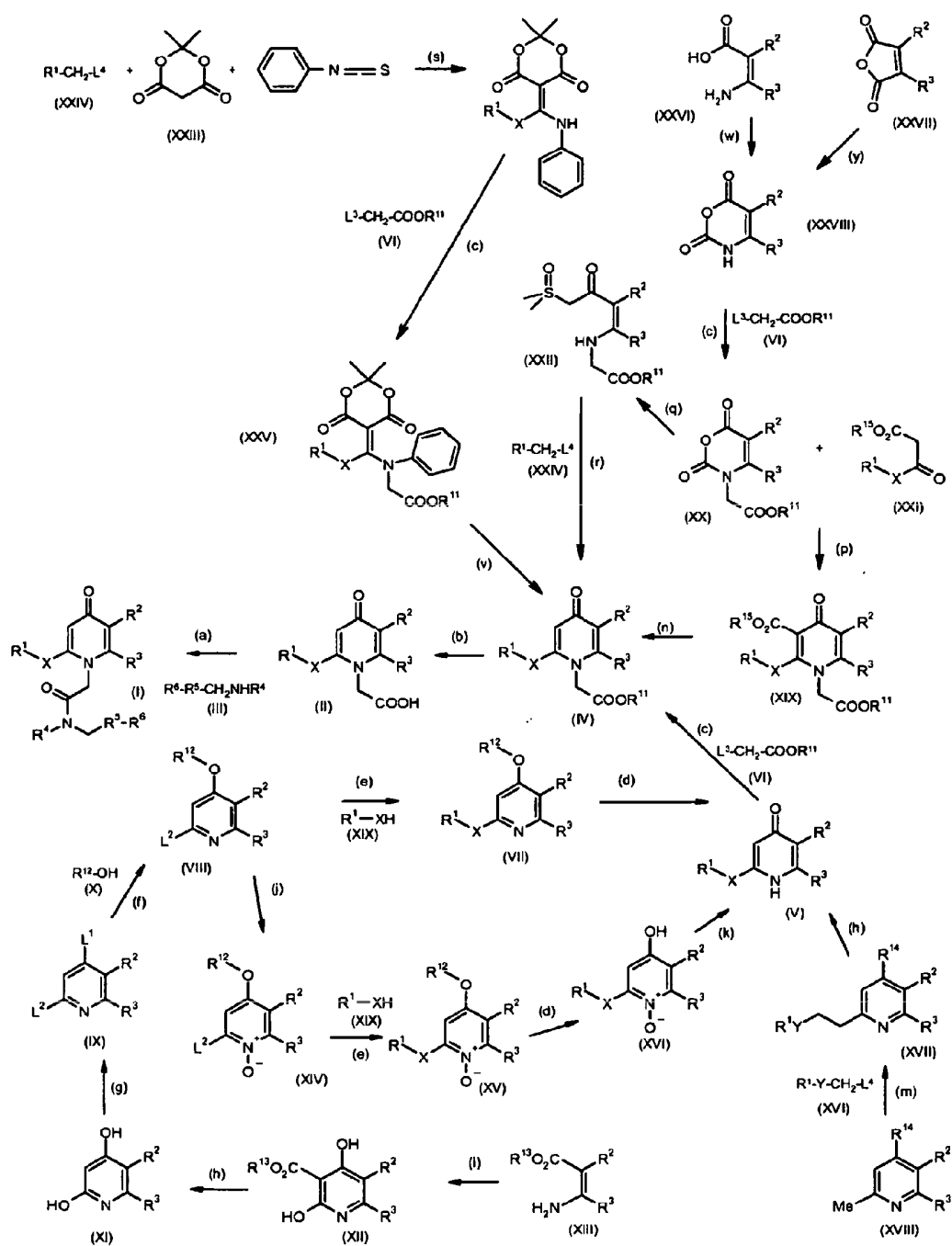
Um composto de fórmula (II) pode ser prontamente preparado a partir dum éster correspondente de fórmula (IV):



(IV)

na qual X, R^1 , R^2 e R^3 são conforme definidos daqui em diante, e R^{11} é alquilo C₁-C₆, por exemplo etilo ou *t*-butilo, por tratamento com um agente de esterificação, por exemplo, quando R^1 é *t*-butilo, ácido trifluoroacético ou quando R^{11} é etilo, hidróxido de sódio em dioxano.

A síntese global de compostos de fórmula (I) é ilustrada no seguinte Esquema em que R¹ a R⁶ e R¹¹ são conforme definidos daqui em diante:



Com referência ao Esquema, o éster (IV) é usualmente preparado por alquilação N-1 de (V) usando (VI), no qual R^{11} é conforme definido daqui em diante e. g. (VI) é bromoacetato de *t*-butilo ou bromoacetato de etilo, na presença de uma base e. g. BuLi em THF ou hidreto de sódio em N-metilpirrolidinona (NMP) (Passo c).

Quando X é CH_2S , o intermediário chave (IV) pode ser sintetizado por reação de (XX) com metileto de dimetiloxossulfônio, gerado via tratamento de iodeto de trimetilsulfoxônio com hidreto de sódio a baixa temperatura, para produzir um ileto de enxofre (XXII) (Passo q). O tratamento subsequente de (XXII) com dissulfureto de carbono na presença de diisopropilamina, seguido por $R^1CH_2-L^4$, onde L^4 é um grupo separável, produz o intermediário (IV) (Passo r).

Alternativamente, quando X é CH_2S , o substituinte R^1X pode ser introduzido por deslocamento dum grupo separável L^2 (e. g. Cl) (Passo e) quer numa piridina (VIII) ou N-óxido de piridina (XIV), para dar piridinas 2-substituídas (VII) e (XV). A transformação de (VII) ou (XV) para a 4-piridona (V) é conseguida por desproteção do oxigénio 4 (e. g. usando $(Ph_3P)_3RhCl$ quando em etanol aq. quando R^{12} = aliilo) (Passo d), seguido, para (XVI), por remoção do substituinte N-óxido, usando hidrogénio na presença de Pd/C em ácido acético (Passo k). A piridina (VIII) ou N-óxido de piridina (XIV) podem ser preparadas pelos Passos (i), (h), (g), (f) e (j), em que:

- (j) tratamento de (VIII) com ácido *m*-cloroperbenzóico em diclorometano;
- (f) tratamento de (IX) com $R^{12}OH$ (X), no qual R^{12} é alilo, e hidreto de sódio em DMF;
- (g) tratamento de (XI) com cloreto de fosforilo;
- (h) tratamento de (XII) com HCl *aq* com aquecimento;
- (i) tratamento de (XIII) com malonato de dialquilo inferior e alcóxido de sódio em álcool (no qual R^{13} é alquilo C_1-C_6 , tipicamente $R^{13} = Et$); e

R^1-CH_2SH (XIX) é tipicamente preparado a partir do tioacetato, o qual é formado a partir do correspondente brometo de alquilo R^1-CH_2Br .

Alternativamente, quando X é CH_2S e R^2 e R^3 , em conjunto com os átomos de carbono do anel de piridona aos quais eles estão ligados, formam um anel benzocondensado, o intermediário (IV) pode ser sintetizado a partir de materiais de partida conhecidos pelos Passos (s), (c) e (v) nos quais:

- (s) tratamento de ácido de Meldrum (XXIII) com hidreto de sódio a baixa temperatura, seguido por reação com isotiocianato de fenilo e subsequente tratamento com $R^1CH_2-L^4$;
- (c) conforme discutido anteriormente;
- (v) tratamento de (XXV) com ácido trifluoroacético.

Será evidente pelos peritos na técnica que todos

os outros materiais de partida e intermediários são ou compostos conhecidos ou podem ser preparados por métodos da literatura, tais como os descritos em Richard Larock, *Comprehensive Organic Transformations: a guide to functional group preparations*, VCH, 1989, aqui incorporado por referência.

Como será apreciado pelos peritos na técnica, pode ser necessário ou desejável em qualquer fase na síntese de compostos de fórmula (I) proteger um ou mais grupos sensíveis na molécula de maneira a prevenir reações secundárias indesejáveis. Os grupos de proteção usados na preparação de compostos de fórmula (I) podem ser usados de maneira convencional. Ver, por exemplo, aqueles descritos em Theodora W. Green e Peter G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, segunda edição, John Wiley and Sons, 1991, aqui incorporado por referência, que também descreve métodos para a remoção de tais grupos.

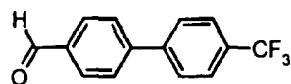
A presente invenção será agora ilustrada pelos seguintes exemplos.

EXEMPLOS

A estrutura e pureza dos intermediários e exemplos foi confirmada por ^1H -RMN e (em quase todos os casos) espectroscopia de massa, mesmo onde não explicitamente indicado abaixo.

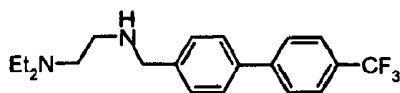
INTERMEDIÁRIO DE REFERÊNCIA A1

4-(4-Trifluorometilfenil)benzaldeído



Um balão de 3 tubuladuras de 3 L equipado com agitador de topo, condensador e entrada/saída de argon foi carregado com ácido 4-trifluorometil-benzenoborônico (90,0 g, 0,474 mol), 4-bromobenzaldeído (83,29 g, 0,450 mol) e 1,2-dimetoxietano (1,3 L), seguido por carbonato de sódio aquoso 2 M (474 mL) e acetato de paládio (5,32 g, 0,0237 mol). A mistura em agitação foi aquecida em refluxo durante 4 h sob argon, em seguida deixada arrefecer até à temperatura ambiente ao longo de 16 h. A mistura reacional foi filtrada através de Hyflo. O filtrado foi diluído com água salgada saturada e extraída 3x com acetato de etilo. Os extratos combinados foram secos sobre sulfato de magnésio e filtrados através de Hyflo, dando um filtrado laranja límpido que foi evaporado até um sólido (ca. 120 g, cru). A cromatografia flash (sílica, diclorometano 10-50% em éter de pet., passos de 10%) deu um sólido branco que se dissolveu em hexano (500 mL) em ebulição. Cristalização, no fim em gelo, deu o composto mencionado em título na forma de um sólido que foi separado por filtração, lavado com hexano arrefecido em gelo e seco, (86,33 g, 77%). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7,77-8,03 (8H, m), 10,09 (1H, s).

INTERMEDIÁRIO DE REFERÊNCIA A2

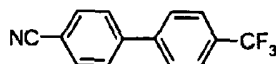
**N,N-Dietil-N'-(4'-trifluorometilbifenil-4-ilmetil)etano-
-1,2-diamina**

4-(4-Trifluorometilfenil)benzaldeído (85,43 g, 0,3414 mol) (Ref. Int. A1) e peneiros moleculares de 4 Å (400 g, pré-secos a 120 °C) foram suspensos em diclorometano (1,4 L) e em seguida N,N-dietil-etileno-diamina (47,97 g, 0,3414 mol) foi adicionada. A mistura foi deixada à temperatura ambiente durante 16 h com agitação ocasional, em seguida os peneiros foram separados por filtração e lavados com diclorometano. Os filtrados combinados foram evaporados até um sólido amarelo e secos sob alto vácuo. Este material (114,3 g, 0,328 mol) em etanol (1 L) foi arrefecido num banho de gelo, e tetra-hidretoborato de sódio (12,41 g, 0,328 mol) foi adicionado sob árgon com agitação. Foi observada evolução de hidrogénio. Após 30 min, o banho de gelo foi removido, e a solução amarela turva foi deixada em repouso à temperatura ambiente durante 16 h. O solvente foi removido em vácuo, água e água salgada foram adicionadas, e a mistura foi extraída 3× com diclorometano. Os extratos combinados foram secos sobre carbonato de potássio e evaporados para darem o composto mencionado em título na forma de um sólido amarelo, (112,1 g, 98%). ¹H-NMR (CDCl₃) δ 7,66 (4H, s), 7,53-7,56 (2H, m), 7,40-7,44 (2H, m), 3,86 (2H, s), 2,47-

2,75 (9H, m), 0,96-1,10 (6H, m); MS (APCI+) encontrado (M+1) = 351, $C_{20}H_{25}F_3N_2$ requer 350.

INTERMEDIÁRIO A3

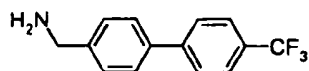
4-(4-Trifluorometilfenil)benzonitrilo



Preparado pelo método do Intermediário de Referência A1 usando ácido 4-trifluorometilbenzenoborônico e 4-bromobenzonitrilo. 1H -NMR (DMSO- d_6) δ 7,99-7,94 (6H, m), 7,86 (2H, d); MS (APCI+) encontrado (M+1) = 248, $C_{14}H_8NF_3$ requer 247.

INTERMEDIÁRIO A4

4-(4-Trifluorometilfenil)benzilamina, base livre e sal hidrocloreto



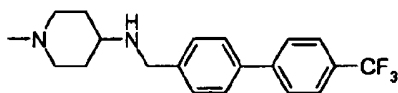
(a) Uma solução do Intermediário A3 (75,5 g, 0,306 mol) em THF anidro (500 mL) foi adicionada gota a gota a uma solução de tetra-hidretoaluminato de lítio (460 mol, solução 1,0 M em THF) a 0 °C sob árgon. A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 16 h, em seguida água (17 mL), solução aquoso 10% de hidróxido de sódio (10 mL) e água (50 mL) foram cuidadosamente adicionadas gota a gota ao longo de 8 h sob árgon. A mistura foi

agitada durante 16 h, em seguida filtrada através de Celite e o filtrado evaporado. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (500 mL) e lavado com água salgada, seco e evaporado para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido creme (66,3 g, 86%). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7,68 (4H, s), 7,57 (2H, d), 7,42 (2H, d), 3,94 (2H, s), 1,50 (2H, s); MS (APCI+) encontrado (M-NH_2)=235, $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{F}_3\text{N}$ requer 251.

(b) A uma solução do Intermediário A3 (96,7 g, 0,39 mol) em etanol absoluto (5 L) e ácido clorídrico concentrado (200 mL) foi adicionado paládio 10% sobre carvão vegetal (30,0 g, pasta 54% em H_2O). A mistura foi agitada sob 50 psi de hidrogénio durante 16 h. Mais paládio 10% sobre carvão vegetal (25,0 g, pasta 54% em H_2O) foi adicionado e a mistura foi agitada sob 50 psi de hidrogénio durante mais 16 h. A mistura foi filtrada através de Celite e o solvente evaporado para dar o sal hidrocloreto do composto mencionado em título na forma de um sólido creme (102,5 g, 91%). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8,61 (3H, s), 7,93 (2H, d), 7,83 (2H, d), 7,80 (2H, d), 7,65 (2H, d), 4,08 (2H, s); MS (APCI+) encontrado (M-NH_2) = 235, $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{F}_3\text{N}$ requer 251.

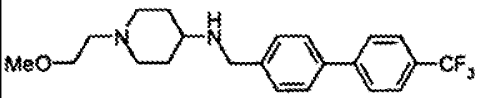
INTERMEDIÁRIO DE REFERÊNCIA A5

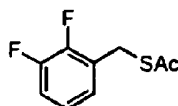
N-(1-Metil-piperidin-4-il)-4-(4-trifluorometilfenil)-benzilamina



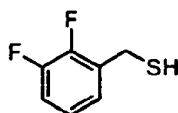
Uma mistura do sal hidrocloreto do Intermediário A4 (6,0 g, 20,87 mmol), 1-metil-piperidin-4-ona (2,56 mL, 20,84 mmol), triacetoxi-hidretoborato de sódio (6,20 g, 29,25 mmol) e ácido acético (1,3mol) em dicloroetano (50 mL) foi agitada à temperatura ambiente sob árgon durante 16 h em seguida vertida em solução 2 M de hidróxido de sódio (150 mL). A fase orgânica foi separada e a camada aquosa extraída com diclorometano. As fases orgânicas combinadas foram lavadas com água salgada, secas e evaporadas. A cromatografia (sílica, diclorometano até diclorometano/amônia metanólica 97:3) deu o produto na forma de um sólido creme (6,3 g, 87%). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7,68 (4H, s), 7,57 (2H, d), 7,42 (2H, d), 3,87 (2H, s), 2,82 (2H, m), 2,52 (1H, m), 2,27 (3H, s), 1,90-2,02 (4H, m), 1,45-1,51 (2H, m); MS (APCI+) encontrado (M+1) = 349, $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{F}_3$ requer 348.

Os seguintes intermediários foram feitos pelo método do Intermediário de Referência A5: os precursores de piperidona ou estavam ou comercialmente disponíveis ou foram prontamente preparados a partir de materiais comercialmente disponíveis por métodos da literatura ou suas modificações menores.

Nº	Precursor	Estrutura	Nome
A6	Int. A4		(1-(2-metoxietil)-piperidin-4-il)-4-(4-(4-(trifluorometilfenil))-benzilamina

INTERMEDIÁRIO B1**Éster de *S*-(2,3-difluorobenzilo) do ácido tioacético**

Tioacetato de potássio (13,45 g, 1,2 eq) foi adicionado em porções a uma solução de brometo de 2,3-difluorobenzilo (20 g, 1 eq) em dimetilformamida (200 m L) e a reação foi agitada durante 4 h à temperatura ambiente. O sólido resultante foi separado por filtração e o filtrado repartido entre éter dietílico e água, a fase orgânica foi seca e evaporada. A cromatografia (sílica, petróleo/acetato de etilo 20:1) deu o composto mencionado em título na forma dum óleo amarelo (18,35 g). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 2,35 (3H, s), 4,15 (2H, d), 6,98-7,13 (3H, m).

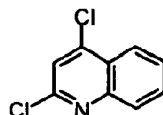
INTERMEDIÁRIO B2**2,3-Difluorobenzilmercaptano**

Uma mistura de éster de *S*-(2,3-difluorobenzilo) do ácido tioacético (Intermediário B1) (18,35 g, 1 eq) e carbonato de potássio (25,11 g, 2 eq) em metanol (200 m L) e água (400 m L) foi agitada durante a noite antes de ser

vertida em diclorometano (500 m L). A fase orgânica foi seca e evaporada e destilada (125 °C e 5,6 mbar) para dar o composto mencionado em título na forma dum óleo incolor (12,15 g). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1,89 (1H, t), 3,78 (2H, d), 7,05 (3H, m).

INTERMEDIÁRIO B3

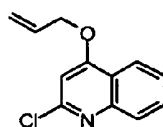
2,4-Dicloroquinolina



Uma mistura de 2,4-di-hidroxiquinolina (14 g) e cloreto de fosforilo (40 m L) foi aquecida em refluxo durante a noite. O cloreto de fosforilo em excesso foi separado por evaporação e o resíduo vertido sobre gelo. O sólido resultante foi separado por filtração e seco para dar o composto mencionado em título na forma dum sólido castanho (13,86 g). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7,82 (1H, m), 7,96 (2H, m), 8,03 (1H, d), 8,21 (1H, dd); MS (APCI+) encontrado (M+1) = 198; $\text{C}_9\text{H}_5^{35}\text{Cl}_2\text{N}$ requer 197.

INTERMEDIÁRIO B4

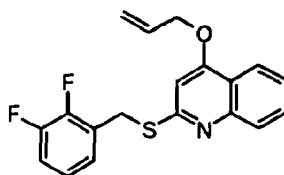
4-Aliloxi-2-cloroquinolina



Álcool alílico (7,1 mL, 1,2 eq) foi adicionado gota a gota a uma suspensão de hidreto de sódio (3,83 g, 1,1 eq, dispersão a 60% em óleo mineral) em dimetilformamida (120 mL) sob argon a 0 °C. A mistura reacional foi agitada durante 20 min antes da adição gota a gota a uma solução de 2,4-dicloroquinolina (Int. B3) (17,26 g, 1 eq) em dimetilformamida (80 mL) a 0 °C, a agitação foi continuada à temperatura ambiente durante a noite. O solvente foi evaporado e o resíduo repartido entre água e acetato de etilo, a fase orgânica foi seca e evaporada. A cromatografia (sílica, tolueno) deu o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (13,56 g). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 4,77 (2H, m), 5,30-5,57 (2H, m), 6,08-6,20 (1H, m), 6,73 (1H, s), 7,52 (1H, m), 7,71 (1H, m), 7,92 (1H, d), 8,17 (1H, dd); MS (APCI+) encontrado (M+1) = 220; $\text{C}_{12}\text{H}_{10}^{35}\text{ClNO}$ requer 219.

INTERMEDIÁRIO B5

4-Aliloxi-2-(2,3-difluorobenziltio)quinolina

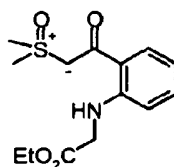


2,3-Difluorobenzilmercaptano (Int. B2) (2 g, 1,1 eq) foi adicionado gota a gota a uma suspensão de hidreto de sódio (0,477 g, 1,05 eq, dispersão a 60% em óleo mineral) em dimetilformamida (50 mL) sob argon a 0 °C. A

mistura reacional foi agitada durante 20 min, antes da adição gota a gota duma solução de 4-aliloxi-2-cloro-quinolina (Int. B4) (2,49 g, 1 eq) em dimetilformamida (30 mL) a 0 °C e a agitação foi continuada à temperatura ambiente durante a noite. O solvente foi evaporado, o resíduo repartido entre água e acetato de etilo e a fase orgânica foi seca e evaporada. A cromatografia (sílica, petróleo/tolueno 2:1) deu o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (2,26 g). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 4,68 (4H, m), 5,34-5,53 (2H, m), 6,06-6,17 (1H, m), 6,54 (1H, s), 6,96 (2H, m), 7,41 (2H, m), 7,65 (1H, dt), 7,90 (1H, dd), 8,11 (1H, dd); MS (APCI+) encontrado (M+1) = 344; $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{F}_2\text{NOS}$ requer 343.

INTERMEDIÁRIO B6

Dimetiloxossulfônio-2- -(etoxicarbonilmetilamino)benzoilmetileto

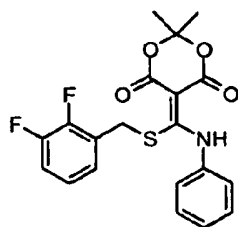


A uma solução de iodeto de trimetilsulfoxônio (99 g, 0,45 mol) em DMSO (1 L) a 5 °C foi adicionado hidreto de sódio (19,4 g, 0,485 mol, 60% em óleo) ao longo de 0,5 h e a solução foi agitada durante mais 0,5 h até a reação abrandar. 2-(2,4-Dioxo-4H-benzo[d][1,3]oxazin-1-il)acetato de etilo (110 g, 0,44 mol) foi em seguida adicionado a uma solução ao longo de 0,33 h e agitada

durante mais 3 h tempo após o qual a mistura reacional foi aquecida a 50 °C durante 1,5 h. Após arrefecimento até à temperatura ambiente a solução foi vertida sobre gelo e o precipitado foi separado por filtração e lavado com água e em seguida pentano. Os sólidos foram secos em vácuo a 40 °C para produzir o produto (124,4 g, 94%). ¹H-NMR (d₆-DMSO) δ 1,2 (3H, t), 3,5 (6H, s), 3,98 (2H, d), 4,15 (2H, q), 5,46 (1H, s), 6,44 (1H, d), 6,52 (1H, t), 7,17 (1 H, t), 7,47 (1H, d), 8,93 (1H, br t).

INTERMEDIÁRIO B7

5-(1-(2,3-Difluorobenziltio)-1-fenilaminometileno)-2,2-dimetil-[1,3]dioxano-4,6-diona

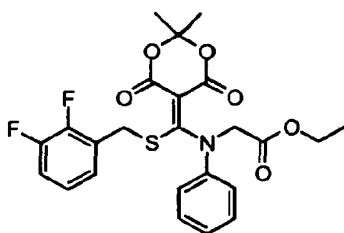


A hidreto de sódio (7,45 g, 60% em óleo) lavado em hexano sob árgon, foi adicionada N-metilpirrolidona (NMP) (270 mL) e a mistura arrefecida num banho de gelo-sal. 2,2-Dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona (26,8 g) foi adicionada em porções ao longo de 20 min mantendo a temperatura entre 5-10 °C. Foi notada efervescência durante a adição. A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h e isotiocianato de fenilo (25,2 g) foi adicionado ao longo de 15 min. A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 2,5 h e arrefecida até 15 °C

num banho frio de água. Brometo de 2,3-difluorobenzilo (38,6 g) foi adicionado ao longo de 10 min e agitado à temperatura ambiente durante a noite. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo repartido entre acetato de etilo (1,2 L) e água. A camada orgânica foi lavada com mais água e em seguida água salgada e seca sobre MgSO_4 . O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo triturado com petróleo a 40-60 °C e o sólido recolhido por filtração. A cristalização em éter metílico e *t*-butílico deu o composto mencionado em título na forma de um sólido amarelo pálido (51,4 g). $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) δ 1,64 (6H, s), 4,16 (2H, d), 7,1-7,25 (2H, m), 7,25-7,5 (6H, m), 12,12 (1H, br s); MS (APCI-) encontrado (M-1) = 404; $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{NO}_4\text{S}$ requer 405.

INTERMEDIÁRIO B8

**2-(1-(2,3-Difluorobenziltio)-1-(2,2-dimetil-4,6-dioxo-
-[1,3]dioxan-5-ilideno)-metil)fenilamino)acetato de etilo**

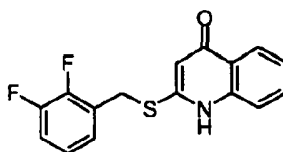


A hidreto de sódio lavado em hexano (1,0 g, 60% em óleo) sob árgon, foi adicionada NMP (30 mL). Uma solução de 5-(1-(2,3-difluorobenziltio)-1-fenilaminometileno)-2,2-dimetil-[1,3]dioxano-4,6-diona (10,0 g) (Intermediário B7) em NMP (20 mL) foi adicionada por seringa ao longo de

15 min à temperatura ambiente e agitada durante 30 min. Bromoacetato de etilo (4,5 g) foi adicionado e a mistura aquecida a 60 °C durante 6 h. A mistura foi repartida entre acetato de etilo e água e a camada aquosa extraída com mais acetato de etilo. As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com mais água e água salgada, secos sobre MgSO₄ e o solvente removido sob pressão reduzida. O óleo laranja assim obtido foi triturado com éter dietílico/petróleo a 40-60 °C para dar um sólido que foi recolhido por filtração. Este sólido foi recristalizado em éter metílico e *t*-butílico para dar o composto mencionado em título (7,37 g). ¹H-NMR (d₆-DMSO) δ 1,24 (3H, t), 1,55 (6H, br s), 4,19 (2H, q), 4,37 (2H, d), 4,81 (2H, br s), 6,85-7,5 (8H, 2xm).

INTERMEDIÁRIO C1

2-(2,3-Difluorobenziltio)-1H-quinolin-4-ona

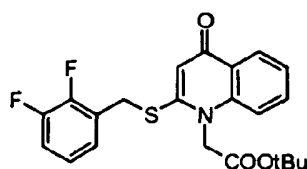


Uma mistura de 4-aliloxi-2-(2,3-difluorobenziltio)quinolina (Int. B5) (2,24 g), cloreto de trifetilfosfina-ródio (I) (0,302 g, 5 mol %) e 1,4-diazobiciclo[2,2,2]octano (0,147 g, 20 mol %) em etanol (30 mL) e água (1,5 mL) foi aquecida em refluxo durante 4 h. O solvente foi removido e o resíduo repartido entre água e diclorometano, a fase orgânica seca e evaporada. A cromatografia

(sílica, metanol 4% em diclorometano) produziu o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (1,25 g). $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) δ 4,55 (2H, s), 6,37 (1H, br s), 7,15 (1H, m), 7,31 (3H, m), 7,65 (2H, m), 8,02 (1H, d), 11,75 (1H, br s); MS (APCI+) encontrado (M+1) = 304; $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{F}_2\text{NOS}$ requer 303.

INTERMEDIÁRIO D1

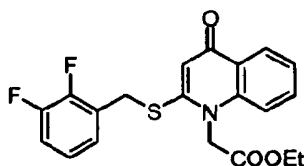
Éster de *terc*-butilo do ácido [2-(2,3-difluorobenziltio)-4-oxo-4*H*-quinolin-1-il]acético



Butil-lítio (2,5 M em hexanos, 1,52 mL, 1,05 eq) foi adicionado gota a gota a uma solução de 2-(2,3-difluorobenziltio)-1*H*-quinolin-4-ona (Int. C1) (1,1 g, 1 eq) em tetra-hidrofurano (20 mL) a 0 °C sob árgon. A mistura reacional foi agitada durante 10 min antes da adição de bromoacetato de *t*-butilo (1,76 mL), 3 eq) e a agitação continuou durante 60 h a 45 °C. A solução foi diluída com diclorometano (40 mL) e lavada com cloreto de amónio aquoso e bicarbonato de sódio aquoso, seca e evaporada. A cromatografia (sílica, [amónia 2 M em metanol] 5% em diclorometano) produziu o composto mencionado em título na forma de uma espuma amarela (0,193 g). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1,44 (9H, s), 4,29 (2H, s), 5,30 (2H, br s), 6,45 (1H, s), 7,06-7,24 (4H, m), 7,39 (1H, t), 7,63 (1H, dt), 8,41 (1H, dd); MS (APCI+) encontrado (M+1) = 418; $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{F}_2\text{NO}_3\text{S}$ requer 417.

INTERMEDIÁRIO D2

(2-(2,3-Difluorobenziltio)-4-oxo-4H-quinolin-1-il)acetato
de etilo

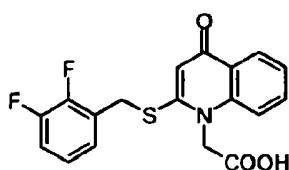


(a) Uma mistura de metileto de dimetiloxossulfônio-2-(etoxicarbonilmetilamino)benzoílo (0,30 g, 1,01 mmol) (Intermediário B6), dissulfureto de carbono (0,13 mL, 2,05 mol) e diisopropiletilamina (0,35 mL, 2,02 mmol) em DMF (4 mL) foi agitada sob árgon durante 18 h e em seguida brometo de 2,3-difluorobenzilo (0,42 g, 2,02 mmol) foi adicionado e a reação agitada durante mais 7 h. A solução foi concentrada e os resíduos separados entre acetato de etilo e água. As camadas orgânicas foram isoladas, secas (MgSO_4) e concentradas. A purificação por cromatografia sobre sílica eluindo usando um gradiente desde diclorometano até diclorometano/éter 3:1 produziu o composto mencionado em título (0,14 g, 36%). $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) δ 1,2 (3H, t, $J=7\text{Hz}$), 4,18 (2H, q, $J=7\text{Hz}$), 4,5 (2H, s), 5,3 (2H, s), 6,3 (1H, s), 7,18 (1H, m), 7,3 (1H, m), 7,4 (2H, m), 7,6 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 7,7 (1H, t, $J=7\text{Hz}$), 8,1 (1H, d, $J=8\text{Hz}$). MS (APCI+) encontrado $(M+1) = 390$; $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{NO}_3\text{S}$ requer 389.

(b) (1-(2,3-Difluorobenziltio)-1-(2,2-dimetil-4,6-di-oxo-[1,3]dioxan-5-ilideno)-metil)-fenilamino)acetato de etilo (Intermediário B8) (0,85 g) sob árgon foi agitado com ácido trifluoroacético (10 mL) à temperatura ambiente durante a noite. A mistura foi evaporada sob pressão reduzida, dissolvida em diclorometano, lavada com solução de bicarbonato de sódio e seca sobre Na₂SO₄. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto mencionado em título (0,43 g). ¹H-NMR (CDCl₃) δ 1,27 (3H, t), 4,26 (2H, q), 4,29 (2H, s), 5,1 (2H, br s), 6,45 (1H, s), 6,95-7,25 (4H, m), 7,39 (1H, t), 7,64 (1H, dt), 8,42 (1H, dd). Espetro de massa como acima.

INTERMEDIÁRIO E1

Ácido [2-(2,3-difluorobenziltio)-4-oxo-4*H*-quinolin-1-il]acético

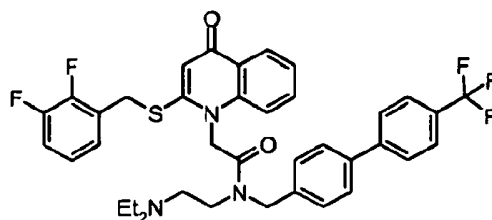


(a) Ácido trifluoroacético (0,5 mL) foi adicionado a uma solução de Int. D1 (0,193 g) em diclorometano (5 mL) sob árgon, e agitado durante a noite à temperatura ambiente. A evaporação do solvente e a trituração com éter deu o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (0,153 g).

(b) A uma solução de Int. D2 (21,56 g, 0,055 mol) em dioxano (200 mL) foi adicionado hidróxido de sódio (6,0 g, 0,15 mol) em água (200 mL) e a solução foi agitada durante 2,5 h e em seguida concentrada. Os resíduos foram dissolvidos em água e acidificados até pH 2 com ácido clorídrico 2 M e o precipitado recolhido e lavado sequencialmente com água, éter e em seguida hexano. Os sólidos foram secos em vácuo a 40 °C para produzir o composto mencionado em título (20,0 g, 100%). ¹H-NMR (d₆-DMSO) δ 4,5 (2H, s), 5,2 (2H, br s), 6,3 (1H, s), 7,18 (1H, m), 7,3 (1H, m), 7,4 (2H, m), 7,6 (1H, d, J=8,5Hz), 7,7 (1H, t, J=8Hz), 8,1 (1H, d, J=8Hz). MS (APCI+) encontrado (M+1) = 362; C₁₈H₁₃F₂NO₃S requer 361.

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 1

***N*-(2-Dietilaminoetil)-2-(2-(2,3-difluorobenziltio)-4-oxo-4*H*-quinolin-1-il)-*N*-(4'-trifluorometilbifenil-4-ilmetil)acetamida bitartarato**

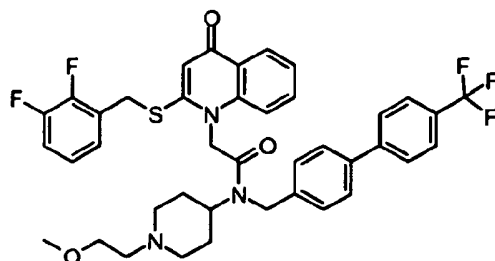


Uma mistura de ácido 2-(2-(2,3-difluorobenziltio)-4-oxo-4*H*-quinolin-1-il)acético (Int. E1) (0,15 g, 1 eq), *N,N*-dietil-*N'*-(4'-trifluorometilbifenil-4-ilmetil)-etano-1,2-diamina (Ref. Int. A2) (0,145 g, 1 eq), hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-

-tetrametilurônio (HATU) (0,154 g, 1,2 eq) e diisopropilamina (0,174 mL, 2,4 eq) em diclorometano (10 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante a noite, em seguida lavada com cloreto de amônio aquoso e bicarbonato de sódio aquoso. A camada orgânica foi seca e evaporada, e o produto purificado por cromatografia em coluna (sílica, [amônia 2 M em metanol] 4% em diclorometano). As frações de produto foram evaporadas até uma espuma esbranquiçada (0,201 g). Esta base livre (0,201 g) foi dissolvida em metanol (10 mL), ácido tartárico (0,044 g) foi adicionado, a mistura foi agitada durante 5 min e em seguida evaporada. A trituração com éter deu o sal bitartarato na forma de um sólido branco (0,209 g). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$, mistura ca. 2:1 de rotâmeros) δ 1,03 (6H, m), 2,59 (6H, m), 3,41-3,62 (2H, m), 4,26 (2H, 2x s), 4,65-4,83 (2H, m), 5,12-5,56 (2H, m), 6,44 (1H, 2xs), 6,93-7,12 (3H, m), 7,30-7,75 (11H, m), 8,41 (1H, 2xd); MS (APCI+) encontrado (M+1) = 694; $\text{C}_{38}\text{H}_{36}\text{F}_5\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ requer 693.

EXEMPLO 2

***N*-(1-(2-Metoxietil)piperidin-4-il)-2-[2-(2,3-difluorobenziltio)-4-oxo-4*H*-quinolin-1-il]-*N*-(4'-trifluorometilbifenil-4-ilmetil)acetamida**

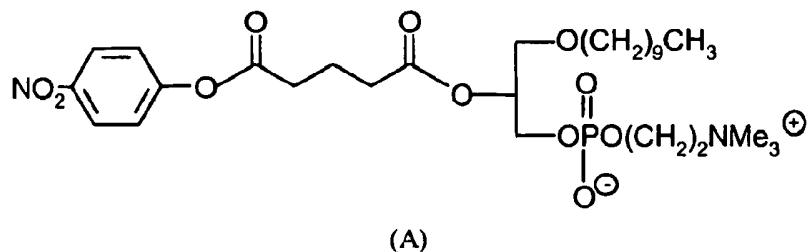


A base livre foi preparada a partir de Int. E1 e Int. A6 pelo método do Exemplo de Referência 1, exceto a utilização de DMF como solvente em vez de diclorometano. 1,97 g deste material foi cristalizado em acetato de *n*-butilo (10 mL) para dar o composto mencionado em título (1,35 g). $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 1,7-2,05 (4H, m), 2,05-2,3 (2H, 2xt), 2,5-2,65 (2H, m), 2,95-3,1 (2H, m), 3,3 (3H, s), 3,45-3,55 (2H, m), 3,9-4,05 + 4,4-4,5 (1H, 2xm), 4,37 + 4,48 (2H, 2xs), 4,71 + 4,87 (2H, 2xbr s), 5,31 + 5,68 (2H, 2xs), 6,44 + 6,52 (1H, 2xs), 6,95-7,3 (3H, m), 7,35-7,85 (11H, m), 8,2-8,35 (1H, m); MS (APCI+) encontrado (M+1) 736; $\text{C}_{40}\text{H}_{38}\text{F}_5\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ requer 735.

DADOS BIOLÓGICOS

1. Rastreo para a inibição de Lp-PLA₂

A atividade de enzima foi determinada por medição da velocidade de renovação do substrato artificial (A) a 37 °C em tampão HEPES (ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanossulfônico) 50m M contendo NaCl 1500 mM, pH 7,4.



Os ensaios foram realizados em placas de titulação de 96 cavidades.

LpPLA2 recombinante foi purificada até à homogeneidade a partir de células Sf9 infetadas com baculovírus, usando uma coluna quelante de zinco, cromatografia de afinidade de Sepharose azul e uma coluna de permuta iónica. A seguir à purificação e ultrafiltração, a enzima foi guardada a 6 mg/mL a 4 °C. As placas de ensaio de composto ou veículo mais tampão foram reguladas usando robótica automatizada até um volume de 170 µL. A reação foi iniciada pela adição de 20 µL de 10× substrato (A) para dar uma concentração final de substrato de 20 µM e 10 µL de enzima diluída até LpPLA2 0,2 nM final.

A reação foi seguida em 405 nm e 37 °C durante 20 minutos usando um leitor de placa com mistura automática. A velocidade de reação foi medida como a velocidade de mudança da absorvância.

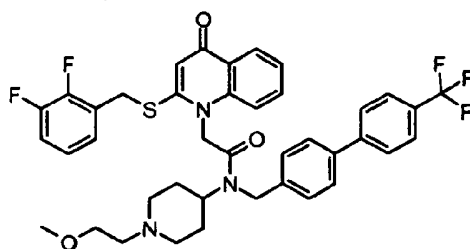
RESULTADOS

Os compostos descritos nos Exemplos foram testados conforme descrito acima e tinham valores CI_{50} no intervalo <0,1 a 100 nM.

Lisboa, 27 de Fevereiro de 2012

REIVINDICAÇÕES

1. Um composto de fórmula (I) o qual é *N*-(1-(2-metoxietil)piperidin-4-il)-2-[2-(2,3-difluorobenziltio)-4-oxo-4*H*-quinolin-1-il]-*N*-(4'-trifluorometilbifenil-4-ilmetil)acetamida;

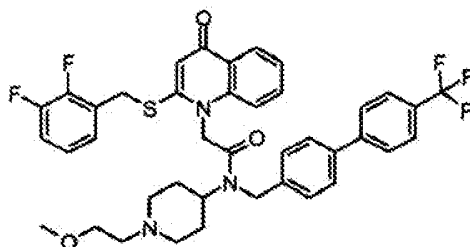


(I)

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

2. Um sal farmaceuticamente aceitável do composto de fórmula (I) de acordo com a reivindicação 1 em que o sal é qualquer um dos sais bitartarato, hidrocloreto, dihidrocloreto ou *para*-toluenossulfonato.

3. Um composto de fórmula (I) de acordo com a reivindicação 1 o qual é *N*-(1-(2-metoxietil)piperidin-4-il)-2-[2-(2,3-difluorobenziltio)-4-oxo-4*H*-quinolin-1-il]-*N*-(4'-trifluorometilbifenil-4-ilmetil)acetamida



(I).

4. Uma composição farmacêutica compreendendo um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 e um agente de suporte farmaceuticamente aceitável.

5. Um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 para uso em terapia.

6. Um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 para uso no tratamento de aterosclerose, diabetes, hipertensão, angina *pectoris*, isquemia, artrite reumatoide, acidente vascular cerebral, doença de Alzheimer, enfarte do miocárdio, lesão de reperfusão, sepsia, inflamação aguda, inflamação crônica ou psoríase.

7. Um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 para uso no tratamento de aterosclerose.

8. Um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 para uso no tratamento de doença de Alzheimer.

9. Uma combinação de um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmacêuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 e uma estatina.

Lisboa, 27 de Fevereiro 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 9500649 A | * WO 9924420 A |
| * WO 9509821 A | * WO 0010980 A |
| * WO 9612963 A | * WO 0066566 A |
| * WO 9613484 A | * WO 0066567 A |
| * WO 9619451 A | * WO 0068208 A |
| * WO 9702242 A | * WO 9702037 A |
| * WO 97217675 A | * WO 9828310 A |
| * WO 97217676 A | * WO 9828311 A |
| * WO 9841088 A | * WO 9828312 A |
| * WO 9741099 A | |

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- | | |
|---|--|
| * TEW D et al. <i>Arterioscler Thromb Vas Biol</i> , 1996, vol. 16, 581-3 | * PACKARD et al. <i>N. Engl. J. Med.</i> , 2000, vol. 343, 1148-1155 |
| * TJOELKER et al. <i>Nature</i> , 06 April 1995, vol. 374, 549 | * TEW et al. <i>Biochemistry</i> , 1998, vol. 37, 10067 |
| | * BERGE ; BIGHLEY ; MONKHOUSE. <i>J. Pharm. Sci.</i> , 1977, vol. 66, 1-19 |