(11) Número de Publicação: **PT 1594858 E**

(51) Classificação Internacional:
C07D 401/04 (2007.10) ***A61K 31/415*** (2007.10)
A61P 35/00 (2007.10)

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

(22) Data de pedido: **2003.08.14**

(30) Prioridade(s): **2002.08.28 US 406524 P**
2002.10.08 US 417047 P

(43) Data de publicação do pedido: **2005.11.16**

(45) Data e BPI da concessão: **2009.10.14**
240/2009

(73) Titular(es):
PFIZER PRODUCTS INC.
EASTERN POINT ROAD GROTON,
CONNECTICUT 06340 **US**

(72) Inventor(es):
JOHN CHARLES KATH **US**
JOSEPH PETER LYSSIKATOS **US**
HUIFEN FAYE WANG **US**

(74) Mandatário:
MANUEL ANTÓNIO DURÃES DA CONCEIÇÃO ROCHA
AV LIBERDADE, Nº. 69 1250-148 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **NOVOS DERIVADOS DE BENZOIMIDAZOL, ÚTEIS COMO AGENTES ANTIPROLIFERATIVOS**

(57) Resumo:

RESUMO

"NOVOS DERIVADOS DE BENZOIMIDAZOL, ÚTEIS COMO AGENTES ANTIPROLIFERATIVOS"

A presente invenção refere-se a compostos da fórmula 1 e a sais farmaceuticamente aceitáveis, pró-fármacos e respectivos solvatos, em que R<1>, R<2>, R<3> e R<4> são tal como presentemente definidos. A presente invenção refere-se também a métodos de tratamento do crescimento celular anómalo, tal como cancro, em mamíferos, por meio da administração de compostos da fórmula 1 e às composições farmacêuticas para o tratamento destas perturbações, as quais contêm os compostos da fórmula 1. A presente invenção refere-se também aos métodos de preparação dos compostos da fórmula 1.

DESCRIÇÃO

"NOVOS DERIVADOS DE BENZOIMIDAZOL, ÚTEIS COMO AGENTES ANTIPROLIFERATIVOS"

Descrição

Antecedentes da invenção

A presente invenção refere-se a novos derivados de benzimidazol que são úteis no tratamento do crescimento celular anómalo, tal como cancro, em mamíferos. A presente invenção refere-se também a um método para a utilização destes compostos no fabrico de um medicamento destinado ao tratamento do crescimento celular anómalo em mamíferos, em especial seres humanos, e às composições farmacêuticas que contêm estes compostos.

É sabido que uma célula se pode tornar cancerosa devido à transformação de uma porção do seu ADN num oncogene (isto é um gene que, se activado, conduz à formação de células tumorais malignas). Muitos oncogenes codificam proteínas que são tirosinas quinase aberrantes, capazes de causar a transformação celular. Em alternativa, a sobre-expressão de uma tirosina quinase proto-oncogénica normal pode também provocar perturbações proliferativas, resultando por vezes em fenotipos malignos.

As tirosina quinases receptoras são enzimas que expandem a membrana celular e possuem um domínio de ligação extracelular para factores de crescimento, tal como factor de crescimento epidérmico, um domínio transmembranar e uma porção intracelular que funciona como uma quinase para fosforilar resíduos de tirosina em proteínas e influencia

assim a proliferação celular. Outras tirosina quinases receptoras incluem c-erbB-2, c-met, tie-2, PDGFr, FGFr e VEGFR. É sabido que estas quinases são frequentemente expressas de forma aberrante em cancros comuns em seres humanos, tal como o cancro da mama, cancro gastrointestinal, tal como cancro do cólon, cancro do recto ou do estômago, leucemia e cancro dos ovários, dos brônquios ou do pâncreas. Foi também demonstrado que o receptor do factor de crescimento epidérmico (epidermal growth factor receptor - EGFR) se encontra mutado e/ou sobre-expresso em muitos dos cancros do ser humano, tais como os do cérebro, pulmões, células escamosas, bexiga, do estômago, mama, cabeça e pescoço, esófago, tumores ginecológicos e da tiróide.

Assim, reconheceu-se que os inibidores das tirosina quinases receptoras são úteis como inibidores selectivos do crescimento das células cancerígenas de mamífero. Por exemplo, a erbstatina, um inibidor da tirosina quinase, atenua selectivamente, em ratinhos nude atímicos, o crescimento de um carcinoma da mama humano, transplantado, que expressa a tirosina quinase receptora do factor de crescimento epidérmico (EGFR), mas não afecta o crescimento de outro carcinoma que não expresse o receptor EGF. Deste modo, os compostos da presente invenção, que são inibidores selectivos de certas tirosinas quinases receptoras, em particular PDGFr, são úteis no tratamento do crescimento celular anómalo, especificamente do cancro, em mamíferos.

Tem-se também demonstrado que vários outros compostos, tal como derivados de estireno, possuem propriedades inibidoras da tirosina quinase. Mais recentemente, cinco publicações da Patente Europeia, nomeadamente a EP 0 566 226 Al

(publicada em 20 de Outubro de 1993), a EP 0 602 851 Al (publicada a 22 de Junho de 1994), a EP 0 635 507 Al (publicada em 25 de Janeiro de 1995), EP 0 635 498 Al (publicada em 25 de Janeiro de 1995) e a EP 0 520 722 Al (publicada em 30 de Dezembro de 1992) referem-se a determinados derivados bicíclicos, em particular derivados de quinazolina, como possuidores de propriedades anti-cancerígenas que resultam das suas propriedades inibidoras da tirosina quinase. Igualmente, o pedido de patente mundial WO 92/20642 (publicado em 26 de Novembro de 1992), refere-se a determinados compostos de arilo e heteroarilo bis-mono e bicíclicos como inibidores da tirosina quinase, úteis na inibição da proliferação celular anómala. Os pedidos de patente mundial WO 96/16960 (publicado em 6 de Junho de 1996), WO 96/09294 (publicado em 6 de Março de 1996), WO 97/30034 (publicado em 21 de Agosto de 1997), WO 98/02434 (publicado em 22 de Janeiro de 1998), WO 98/02437 (publicado em 22 de Janeiro de 1998) e WO 98/02438 (publicado em 22 de Janeiro de 1998) referem-se também a derivados bicíclicos heteroaromáticos substituídos como inibidores de tirosina quinase, que são úteis para os mesmos fins. Consultar também WO 99/16755, J. Med. Chem. 1998, 41, 5457-5465 and J. Med. Chem.1999, 42, 2373-2382. A WO 01/40217 refere-se a derivados de benzoimidazol, úteis como agentes antiproliferativos.

Resumo da invenção

A presente invenção refere-se a um composto seleccionado do grupo constituído por:

(±)-1-{2[5-(Tetra-hidro-furan-3-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina;

1-{2[5-(3-metil-oxetan-3-ilmetoxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina;

1-{2[5-(tetra-hidro-piran-4-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina e os sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos e solvatos dos compostos anteriores.

Numa forma de concretização preferida, o composto é seleccionado do grupo constituído por:

(±)-1-{2[5-(Tetra-hidro-furan-3-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina;

(-)-1-{2[5-(tetra-hidro-furan-3-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina e os sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos e solvatos dos compostos anteriores.

Noutra forma de concretização preferida o composto é seleccionado do grupo constituído por 1-{2[5-(3-metil-oxetan-3-ilmetoxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina e os sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos e solvatos do composto anterior.

Noutra forma de concretização preferida o composto é seleccionado do grupo constituído por 1-{2-[5-(tetra-hidro-piran-4-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina e os sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos e solvatos do composto anterior.

Numa forma de concretização preferida, o composto da presente invenção é o sal benzenossulfonato de qualquer um dos compostos anteriormente mencionados.

A presente invenção refere-se também à utilização dos compostos anteriormente mencionados, num método para o

tratamento do crescimento celular anómalo num mamífero, compreendendo a administração ao dito mamífero de uma porção de um composto da fórmula 1 que é eficaz no tratamento do crescimento celular anómalo.

Numa forma de concretização preferida da presente invenção, o crescimento celular anómalo é cancro.

Numa concretização da presente invenção o cancro é seleccionado de entre cancro do pulmão, cancro ósseo, cancro pancreático, gástrico, cancro dérmico, cancro da cabeça ou do pescoço, cutâneo ou melanoma intra-ocular, cancro uterino, do ovário, ginecológico, cancro do recto, cancro da região anal, cancro do estômago, cancro do cólon, cancro da mama, cancro do útero, carcinoma das trompas de Falópio, carcinoma do endométrio, carcinoma do cérvix, carcinoma da vagina, carcinoma da vulva, doença de Hodgkin, cancro do esófago, cancro do intestino delgado, cancro do sistema endócrino, cancro da tiróide, cancro da paratiróide, cancro da cápsula supra-renal, sarcoma dos tecidos moles, cancro da uretra, cancro do pénis, células escamosas, cancro da próstata, leucemia crónica ou aguda, linfomas linfocíticos, cancro da bexiga, cancro do rim ou da uretra, carcinoma das células renais, carcinoma da pélvis renal, neoplasmas do sistema nervoso central (SNC) linfoma primário do SNC, tumores do eixo espinal, adenoma da pituitária ou uma combinação de um ou mais dos cancros anteriores.

Numa forma de concretização preferida da presente invenção, o cancro é seleccionado do grupo constituído pelos cancros do cérebro, das células escamosas, da bexiga, gástrico, pancreático, da mama, cabeça, pescoço, esofágico, da

próstata, colo-rectal, do pulmão, renal, rim, ovário, ginecológico e da tiróide.

Numa forma de concretização preferida da presente invenção, o cancro é seleccionado do grupo constituído pelo cancro da próstata, mama, pulmão, cólon e ovários.

Numa outra forma de concretização preferida da presente invenção, o cancro é seleccionado do grupo constituído pelo cancro da próstata, mama e pulmão.

Numa forma de concretização mais preferida, o cancro da mama é um cancro da mama metastático.

Numa forma de concretização mais preferida, o cancro do pulmão é um cancro do pulmão das células não pequenas.

Noutra forma de concretização da presente invenção, o crescimento celular anómalo não é canceroso.

Numa outra concretização da presente invenção, o crescimento celular anómalo não canceroso é hiperplasia benigna da pele ou da próstata.

Numa concretização, a presente invenção refere-se à utilização dos compostos anteriormente mencionados num método destinado ao tratamento de uma doença hiperproliferativa num mamífero, a qual compreende a administração ao mamífero mencionado de uma porção com eficácia terapêutica de um composto da fórmula 1 ou de um sal farmaceuticamente aceitável, pro-fármaco ou hidrato em combinação com um agente anti-tumoral seleccionado do grupo constituído por inibidores mitóticos, agentes de alquilação, antimetabolitos, antibióticos intercalantes, inibidores do factor de crescimento, inibidores do ciclo celular, enzimas, inibidores da topoisomerase,

modificadores da resposta biológica, anti-hormonas, inibidores da angiogénese e anti-androgénicos.

A presente invenção refere-se também a uma composição farmacêutica para o tratamento do crescimento celular anómalo num mamífero, compreendendo uma porção de um composto tal como anteriormente definido, que seja eficaz no tratamento do crescimento celular anómalo e um veículo farmaceuticamente aceitável.

Numa forma de concretização da presente invenção, a composição farmacêutica da fórmula 1 é utilizada para o tratamento do crescimento celular anómalo, tal como o cancro.

A presente invenção refere-se ainda a um processo para a preparação de um composto tal como anteriormente definido ou um sal farmaceuticamente aceitável, um hidrato ou solvato respectivo, o qual compreende o tratamento da amina protegida com N-BoC correspondente com um ácido.

A presente invenção refere-se também a uma composição farmacêutica destinada ao tratamento de uma doença hiperproliferativa num mamífero, a qual compreende uma porção com eficácia terapêutica de um composto tal como anteriormente definido ou um sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato respectivo e um veículo farmaceuticamente aceitável. Numa concretização, a composição farmacêutica mencionada destina-se ao tratamento de cancro tal como cancro do cérebro, do pulmão, das células escamosas, da bexiga, gástrico, pancreático, da mama, da cabeça, pescoço, das células renais, do rim, dos ovários, da próstata, colo-rectal, esofágico, testicular, ginecológico ou da tiróide. Noutra concretização, a

composição farmacêutica mencionada destina-se ao tratamento de uma doença hiperproliferativa não-cancerosa, tal como hiperplasia benigna da pele (por exemplo psoríase), restenose ou da próstata (por exemplo hipertrofia prostática benigna (benign prostatic hypertropy - BPH).

A presente invenção refere-se também a uma composição farmacêutica destinada ao tratamento da pancreatite ou doença renal (incluindo glomerulonefrite proliferativa e doenças renais induzidas pela diabetes) num mamífero, a qual compreende uma porção com eficácia terapêutica de um composto tal como anteriormente definido ou um sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato respectivo e um veículo farmaceuticamente aceitável.

A presente invenção refere-se também a uma composição farmacêutica destinada à prevenção do implante de blastócitos num mamífero, a qual compreende uma porção com eficácia terapêutica de um composto tal como anteriormente definido ou um sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato respectivo e um veículo farmaceuticamente aceitável.

A presente invenção refere-se também a uma composição farmacêutica destinada ao tratamento de uma doença relacionada com vasculogénese, restenose, aterosclerose ou angiogénese num mamífero, a qual compreende uma porção com eficácia terapêutica de um composto tal como anteriormente definido ou um sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato respectivo e um veículo farmaceuticamente aceitável. Numa forma de concretização, a composição farmacêutica mencionada destina-se ao tratamento de uma doença seleccionado do grupo constituído por angiogénese tumoral, doença inflamatória crónica, tal como artrite reumatóide,

aterosclerose, doenças da pele tal como psoríase, eczema e escleroderma, diabetes, retinopatia diabética, retinopatia do prematuro, degeneração macular associada à idade, hemangioma, glioma, melanoma, sarcoma de Kaposi e cancro d ovário, da mama, do pulmão, pancreático, próstata, cólon e epidermóide.

A presente invenção refere-se também a um método de tratamento da doença hiperproliferativa num mamífero, que inclui a administração ao dito mamífero de uma porção com eficácia terapêutica do composto tal como anteriormente definido ou de um sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato respectivo. Numa concretização, o método mencionado refere-se ao tratamento de cancro, tal como cancro do cérebro, das células escamosas, da bexiga, gástrico, pancreático, da mama, da cabeça, pescoço, esofágico, da próstata, colo-rectal, do pulmão, das células renais, do rim, dos ovários, testicular, ginecológico ou da tiróide. Noutra concretização, o método mencionado refere-se ao tratamento de uma doença hiperproliferativa não-cancerosa, tal como hiperplasia benigna da pele (por exemplo psoríase), restenose ou da próstata (por exemplo hipertrofia prostática benigna (benign prostatic hypertropy - BPH).

A presente invenção refere-se a um método de tratamento de uma doença hiperproliferativa num mamífero, a qual compreende a administração ao mamífero mencionado de uma porção com eficácia terapêutica de um composto tal como anteriormente definido ou de um sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato em combinação com uma porção com eficácia terapêutica de um agente anti-tumoral seleccionado do grupo constituído por inibidores mitóticos, agentes de

alquilação, antimetabolitos, antibióticos intercalantes, inibidores do factor de crescimento, inibidores do ciclo celular, enzimas, inibidores da topoisomerase, modificadores da resposta biológica, anti-hormonas, inibidores da angiogénese e anti-androgénicos.

A presente invenção refere-se também a um método de tratamento da pancreatite ou doença renal num mamífero, o qual inclui a administração ao dito mamífero de uma porção com eficácia terapêutica de um composto tal como anteriormente definido ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato.

A presente invenção refere-se também a um método de prevenção da implantação de blastócitos num mamífero, o qual inclui a administração ao dito mamífero de uma porção com eficácia terapêutica de um composto tal como anteriormente definido ou de um sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato respectivo.

A presente invenção refere-se também a um método de tratamento da vasculogénese ou angiogénese num mamífero, o qual inclui a administração ao dito mamífero de uma porção com eficácia terapêutica de um composto tal como anteriormente definido ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato. Numa forma de concretização, o método mencionado destina-se ao tratamento de uma doença seleccionado do grupo constituído por angiogénese tumoral, doença inflamatória crónica, tal como artrite reumatóide, aterosclerose, doenças da pele tais como psoríase, eczema e escleroderma, diabetes, retinopatia diabética, retinopatia do prematuro, degeneração macular associada à idade, hemangioma, glioma, melanoma, sarcoma de Kaposi e cancro do

ovário, da mama, do pulmão, pancreático, próstata, cólon e epidermóide.

Os pacientes que podem ser tratados com um composto tal como anteriormente definido e os sais farmaceuticamente aceitáveis e hidratos dos compostos mencionados, de acordo com os métodos da presente invenção, incluem por exemplo pacientes a quem foi diagnosticado psoríase, restenose, aterosclerose, BPH, cancro do pulmão, cancro ósseo, CMML, cancro pancreático, cancro da pele, cancro da cabeça e pescoço, melanoma cutâneo e intra-ocular, cancro uterino, cancro do ovário, cancro rectal, cancro da região anal, cancro do estômago, cancro do cólon, cancro da mama, cancro testicular, tumores ginecológicos (por exemplo sarcomas uterinos, carcinoma das trompas de falópio, carcinoma do endométrio, carcinoma do cérvix, carcinoma da vagina ou carcinoma da vulva), doença de Hodgkin, cancro do esófago, cancro do intestino delgado, cancro do sistema endócrino (por exemplo, cancro da tiróide, paratiróide ou das supra-renais, sarcoma dos tecidos moles, cancro da uretra, cancro do pénis, cancro da próstata, leucemia crónica ou aguda, tumores sólidos da infância, linfomas linfocíticos, cancro da bexiga, cancro do rim ou da uretra (por exemplo, carcinoma das células renais, carcinoma da pélvis renal), neoplasmas do sistema nervoso central (linfoma primário do SNC, tumores do eixo espinal, gliomas do tronco cerebral ou adenoma da pituitária).

A presente invenção refere-se também a uma composição farmacêutica destinada à inibição do crescimento celular anómalo num mamífero, a qual inclui uma porção de um composto tal como anteriormente definido ou um sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato respectivo, em

combinação com uma porção de um agente quimioterapêutico, em que as quantidades do composto, sal, solvato ou pro-fármaco e do agente quimioterapêutico são conjuntamente eficazes na inibição do crescimento celular anómalo. Actualmente, são conhecidos na técnica muitos agentes quimioterapêuticos. Numa concretização, o agente quimioterapêutico é seleccionado do grupo constituído por inibidores mitóticos, agentes de alquilação, antimetabolitos, antibióticos intercalantes, inibidores do factor de crescimento, inibidores do ciclo celular, enzimas, inibidores da topoisomerase, modificadores da resposta biológica, anti-hormonas, por exemplo anti-androgénicos.

A presente invenção refere-se ainda a um método de inibição do crescimento celular anómalo num mamífero ou tratamento de uma doença hiperproliferativa, compreendendo este método a administração ao mamífero de uma porção de um composto tal como anteriormente definido ou um sal farmaceuticamente aceitável ou solvato respectivo, em combinação com radioterapia, em que a quantidade do composto, sal, solvato ou pro-fármaco, combinado com a radioterapia, é eficaz na inibição do crescimento celular anómalo ou tratamento de doença hiperproliferativa no mamífero. As técnicas para a administração da radioterapia são conhecidas da técnica e estas tecnologias podem ser utilizadas na terapia combinada presentemente descrita. A administração do composto da presente invenção nesta terapia combinada pode ser determinada tal como presentemente descrita.

Acredita-se que os compostos da presente invenção podem tornar as células anómalas mais sensíveis ao tratamento com radiação, com o objectivo de matar e/ou inibir o

crescimento destas células. Em conformidade, a presente invenção refere-se ainda a um método de sensibilização de células anómalas num mamífero ao tratamento com radiação, o qual compreende a administração ao mamífero de uma porção de um composto tal como anteriormente definido ou sal farmaceuticamente aceitável ou solvato respectivo, porção essa que é eficaz na sensibilização de células anómalas no tratamento com radiação. A quantidade do composto, sal ou solvato no presente método pode ser determinada de acordo com os meios para verificar as quantidades eficazes destes compostos presentemente descritos.

A presente invenção refere-se também a um método de e para uma composição farmacêutica destinada à inibição do crescimentos celular anómalo num mamífero, o qual compreende uma porção de um composto tal como anteriormente definido, um sal farmaceuticamente aceitável ou solvato respectivo, ou uma poção de um derivado respectivo isotopicamente marcado e uma quantidade de uma ou várias substâncias seleccionadas de entre agentes anti-angiogénese, inibidores de transdução do sinal e agentes antiproliferativos.

Os agentes anti-angiogénese, tais como inibidores de MMP-2 (metaloproteinases da matriz 2), inibidores de MMP-9 (metaloproteinases da matriz 9) e inibidores de COX-II (ciclooxigenase II) podem ser utilizados em conjunto com um composto da presente invenção e composições farmacêuticas presentemente descritas. Exemplos de inibidores de COX-II úteis incluem CELEBREX™ (alecoxib), valdecoxib e rofecoxib. Exemplos de inibidores de metaloproteinases da matriz úteis são descritos em WO 96/33172 (publicado em 24 de Outubro de 1996), WO 96/27583 (publicado em 7 de Março

de 1996), pedido de patente europeia n° 97304971.1 (requerido a 8 de Julho de 1997), pedido de patente europeia n° 99308617.2 (requerido a 29 de Outubro de 1999), WO 98/07697 (publicado em 26 de Fevereiro de 1998), WO 98/03516 (publicado em 29 de Janeiro de 1998), WO 98/34918 (publicado em 13 de Agosto de 1998), WO 98/34915 (publicado em 13 de Agosto de 1998), WO 98/33768 (publicado em 6 de Agosto de 1998), WO 98/30566 (publicado em 16 de Julho de 1998), publicação de patente europeia 606,046 (publicado em 13 de Julho de 1994), publicação de patente europeia 931,788 (publicado em 28 de Julho de 1999), WO 90/05719 (publicado em 331 de Maio de 1990), WO 99/52910 (publicado em 21 Outubro de 1999), WO 99/52889 (publicado em 21 de Outubro de 1999), WO 99/29667 (publicado em 17 de Junho de 1999), pedido internacional PCT N°. PCT/IB98/01113 (requerido em 21 de Julho de 1998), pedido de patente europeia n° 99302232.1 (requerido em 25 de Março de 1999), pedido de patente britânica número 9912961.1 (requerida em Junho de 3, 1999), pedido provisório norte-americano n° 60/148,464 (requerida em 12de Agosto de 1999), patente norte-americana 5,863,949 (publicada em 26 de Janeiro de 1999), patente norte-americana 5,861,510 (publicada em 19 de Janeiro de 1999) e publicação de patente europeia 780,386 (publicado em 25 de Junho de 1997). Os inibidores MMP-2 e MMP-9 preferidos são aqueles com pouca ou nenhuma actividade inibidora de MMP-1. São mais preferidos os que inibem selectivamente MMP-2 e/ou MMP-9 relativamente a outras metaloproteinases da matriz (isto é MMP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12 e MMP-13).

Alguns exemplos específicos de inibidores de MMP, úteis na presente invenção são AG-3340, RO 32-3555, RS 13-0830 e os compostos enumerados na lista seguinte:

ácido 3[[4-(4-fluoro-fenoxi)-benzenossulfonil]-(1-hidroxicarbamoil-ciclopentil)-amino]-propiónico;

hidroxiamida do ácido 3-exo-3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-benzenossulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octano-3-carboxílico;

hidroxiamida do ácido (2r, 3r) 1[4-(2-cloro-4-fluoro-benziloxi)-benzenossulfonil]-3-hidroxi-3-metilpiperidina-2-carboxílico;

hidroxiamida do ácido 4-[4-(4-fluoro-fenoxi)-benzenossulfonilamino]-tetrahidro-piran-4-carboxílico;

ácido 3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-benzenossulfonil]-(1-hidroxicarbamoil-ciclobutil)-amino]-propiónico;

hidroxiamida do ácido 4-[4-(4-cloro-fenoxi)-benzenossulfonilamino]-tetra-hidro-piran-4-carboxílico;

hidroxiamida do ácido (r) 3-[4-(4-cloro-fenoxi)-benzenossulfonilamino]-tetra-hidro-piran-3-carboxílico;

hidroxiamida do ácido (2r, 3r) 1-[4-(4-fluoro-2-metil-benziloxi)-benzenossulfonil]-3-hidroxi-3-metilpiperidina-2-carboxílico;

ácido 3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-benzenossulfonil]-(1-hidroxicarbamoil-1-metil-etil)-amino]-propiónico;

ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-benzenossulfonil]-(4-hidroxicarbamoil-tetra-hidro-piran-4-il)-amino]-propiónico;

hidroxiamida do ácido 3-exo-3-[4-(4-cloro-fenoxi)-benzenossulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octano-3-carboxílico;

hidroxiamida do ácido 3-endo-3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-benzenossulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octane-3-carboxílico e

hidroxiamida do ácido (r) 3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-benzenossulfonilamino]-tetra-hidro-furan-3-carboxílico;

e sais farmaceuticamente aceitáveis e solvatos dos compostos mencionados.

Outros agentes anti-angiogénese, incluindo outros inibidores COX-II e outros inibidores MMP podem também ser utilizados na presente invenção.

Um composto da presente invenção pode também ser utilizado com inibidores da transdução do sinal, tal como agentes que podem inibir respostas de EGFR (epidermal growth factor receptor - receptor do factor de crescimento epidérmico), tal como anticorpos EGFR, anticorpos EGF e moléculas que são inibidores de EGFR; inibidores de VEGF (vascular endothelial growth factor - factor de crescimento endotelial vasculares), tal como receptores de VEGF e moléculas que podem inibir VEGF e inibidores do receptor erbB2, tais como moléculas orgânicas ou anticorpos que ligam ao receptor erbB2, por exemplo HERCEPTINTM (Genentech, Inc. of South San Francisco, California, EUA).

Os inibidores de EGFR estão descritos em, por exemplo WO 95/19970 (publicado em 27 de Julho de 1995), WO 98/14451 (publicado em 9 de Abril de 1998), WO 98/02434 (publicado em 22 de Janeiro de 1998) e patente norte-americana 5,747,498 (publicada em 5 de Maio de 1998) e estas substâncias podem ser utilizadas na presente invenção tal como presentemente descrito. Os agentes de inibição EGFR incluem, sem se limitarem a, anticorpos monoclonais C225, anti-EGFR 22Mab (ImClone Systems Incorporated of New York, Nova Iorque, EUA) e ABX-EGF (anticorpo Abgenix) os compostos ZD-1839 (AstraZeneca), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim), MDX-447 (Medarex Inc. of Annandale, Nova Jérsia, EUA) e OLX-103 (Merck & Co. of Whitehouse Station, Nova Jérsia, EUA), VRCTC-310 (Ventech Research) e toxina de fusão EGF (Seragen Inc. of Hopkinton, Massachusettes). Estes e outros agentes inibidores de EGFR podem ser utilizados na presente invenção.

Inibidores de VEGF, por exemplo SU-5416 e SU-6668 (Sugen Inc. de São Francisco Sul, Califórnia, EUA), podem também ser combinados com o composto da presente invenção. Inibidores de VEGF encontram-se descritos, por exemplo em WO 99/24440 (publicado em May 20, 1999), pedido de patente internacional PCT PCT/IB99/00797 (requerido em 3 de Maio de 1999), na WO 95/21613 (publicado em 17 de Agosto de 1995), WO 99/61422 (publicado em 2 de Dezembro de 1999), patente norte-americana 5,834,504 (divulgado em 10 de Novembro de 1998), WO 98/50356 (publicado em 12 Novembro de 1998), patente norte-americana 5,883,113 (divulgado em 16 de Março de 1999), patente norte-americana 5,886,020 (divulgado em 23 de Março de 1999), patente norte-americana 5,792,783 (divulgado em 11 de Agosto de 1998), WO 99/10349 (publicado

em 4 de Março de 1999), WO 97/32856 (publicado em 12 de Setembro de 1997), WO 97/22596 (publicado em 26 de Junho de 1997), WO 98/54093 (publicado em 3 de Dezembro de 1998), WO 98/02438 (publicado em 22 de Janeiro de 1998), WO 99/16755 (publicado em 8 de Abril de 1999) e WO 98/02437 (publicado em 22 de Janeiro de 1998). Outros exemplos de alguns inibidores específicos de VEGF, úteis na presente invenção são I M862 (Cytran Inc. de Kirkland, Washington, EUA); anticorpo ImClone IMC-1C11, anticorpo monoclonal anti-VEGF da Genentech, Inc. de South São Francisco, Califórnia e angiozima, uma ribozima sintética da Ribozyme (Boulder, Colorado) e Chiron (Emeryville, Califórnia). Este e outros inibidores VEGF podem ser utilizados na presente invenção tal como presentemente descritos.

Os inibidores do receptor ErbB2, tal como GW-282974 (Glaxo Wellcome plc) e os anticorpos monoclonais AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc. The Woodlands, Texas, EUA) e 2B-1 (Chiron) podem ainda ser combinados com o composto da presente invenção, por exemplo os indicados na WO 98/02434 (publicado em 22 de Janeiro de 1998), WO 99/35146 (publicado em 15 de Julho de 1999), WO 99/35132 (publicado em 15 de Julho de 1999), WO 98/02437 (publicado em 22 de Janeiro de 1998), WO 97/13760 (publicado em 17 de Abril de 1997), WO 95/19970 (publicado em 27 de Julho de 1995), patente norte-americana 5,587,458 (divulgada em 24 de Dezembro de 1996) patente norte-americana 5,877,305 (divulgada em 2 de Março de 1999). Os inibidores do receptor ErbB2 úteis na presente invenção são também descritos no pedido provisório de patente norte-americana nº 60/117.341, requerido a 27 de Janeiro de 1999, e no pedido provisório de patente norte-americana nº 60/117.346,

requerido a 27 de Janeiro de 1999. Os compostos inibidores do receptor erbB2 e a substância descrita nos pedidos de patente PCT, patente norte-americana e pedidos provisórios de patente norte-americana anteriormente mencionados, bem como outros compostos e substâncias que inibem o receptor erbB2, podem ser utilizados com o composto da presente invenção de acordo com a presente invenção.

O composto da presente invenção pode ser também utilizado com outros agentes úteis no tratamento do crescimento celular anómalo ou cancro, incluindo, sem constituir limitação, agentes capazes de intensificar as respostas imunitárias anti-tumor, tal como anticorpos CTLA4 (antigénio 4 do linfócito citotóxico) e outros agentes capazes de bloquear o CTLA4; e agentes anti-proliferativos, tais como os inibidores da transferase da proteína farnesil e inibidores αvβ3, tais como o anticorpo avβ3 vitaxina e inibidores αvβ5 e semelhantes. Os anticorpos CTLA4 específicos que podem ser utilizados na presente invenção incluem os descritos no pedido provisório de patente norte-americana 60/113.647 (requerido em 23 de Dezembro de 1998), no entanto podem ser utilizados outros anticorpos CTLA4 na presente invenção.

Cada um dos compostos da presente invenção e respectivos sais farmaceuticamente aceitáveis e solvatos podem ser utilizados independentemente também adicionalmente numa terapia paliativa neo-adjuvante/adjuvante, para alívio dos sintomas associados às doenças indicadas presentemente, bem como os sintomas associados ao crescimento celular anómalo. Este tipo de terapia pode ser uma monoterapia ou pode ser combinado com quimioterapia e/ou imunoterapia.

Os termos "crescimento celular anómalo" e "doença hiperproliferativa são utilizados indiferentemente no presente pedido de patente.

"Crescimento celular anómalo", tal como presentemente utilizado, refere-se ao crescimento celular que é independente dos mecanismos reguladores normais (por exemplo perda de inibição por contacto). Está incluído o crescimento anómalo de: (1) células tumorais (tumores) que proliferam por meio da expressão de tirosina quinase mutada ou sobre-expressão de uma tirosina quinase receptora; (2) células benignas e malignas de outras doenças proliferativas em que ocorre a activação aberrante de tirosina quinase; (4) quaisquer tumores que proliferam por meio de tirosinas quinases receptoras; (5) quaisquer tumores que proliferam por meio de activação aberrante de serina/treonina quinase e (6) células benignas e malignas de outras doenças proliferativas em que ocorre activação aberrante de serina/treonina quinase.

O termo "tratamento", tal como presentemente utilizado, excepto no caso de indicação em contrário, significa reverter, aliviar, inibir o progresso ou prevenir a doença ou estado a que se aplica este termo, ou um ou mais sintomas desta doença ou estado. O termo "tratamento", tal como presentemente utilizado, excepto no caso de indicação em contrário, refere-se ao acto de tratar segundo o sentido de "tratamento" tal como anteriormente definido.

A frase "sal/sais farmaceuticamente aceitável/aceitáveis", tal como presentemente utilizado, excepto no caso de indicação em contrário, inclui sais dos grupos ácido ou básico, que podem estar presentes nos compostos da presente

invenção. Os compostos da presente invenção que são básicos por natureza, são capazes de formar uma grande variedade de sais com vários ácidos inorgânicos e orgânicos. Os ácidos que podem ser utilizados para preparar os sais de adição de ácido farmaceuticamente aceitáveis destes compostos básicos da presente invenção são aqueles que foram sais de adição de ácido não-tóxicos, isto é, sais contendo aniões farmacologicamente aceitáveis tal como os sais de acetato, benzenossulfonato, benzoato, bicarbonato, bissulfato, bitartarato, borato, brometo, edetato de cálcio, camsilato, carbonato, cloreto, clavulanato, citrato, dicloridrato, edetato, edisliato, estolato, esilato, etilsuccinato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromidrato, cloridrato, iodeto, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, oleato, oxalato, pamoato (embonato), palmitato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, tanato, tartrato, teoclato, tosilato e valerato. Dado que um único composto da presente invenção pode incluir mais do que uma fracção ácida ou básica, os compostos da presente invenção podem incluir mono sais, di sais ou tri sais num único composto.

Estes compostos da presente invenção, que são de natureza ácida, são capazes de formar sais básicos com vários catiões farmacologicamente aceitáveis. Exemplos destes sais incluem sais de metais alcalinos ou de metais alcalino-terrosos e, particularmente, os sais de cálcio, magnésio, sódio e potássio dos compostos da presente invenção.

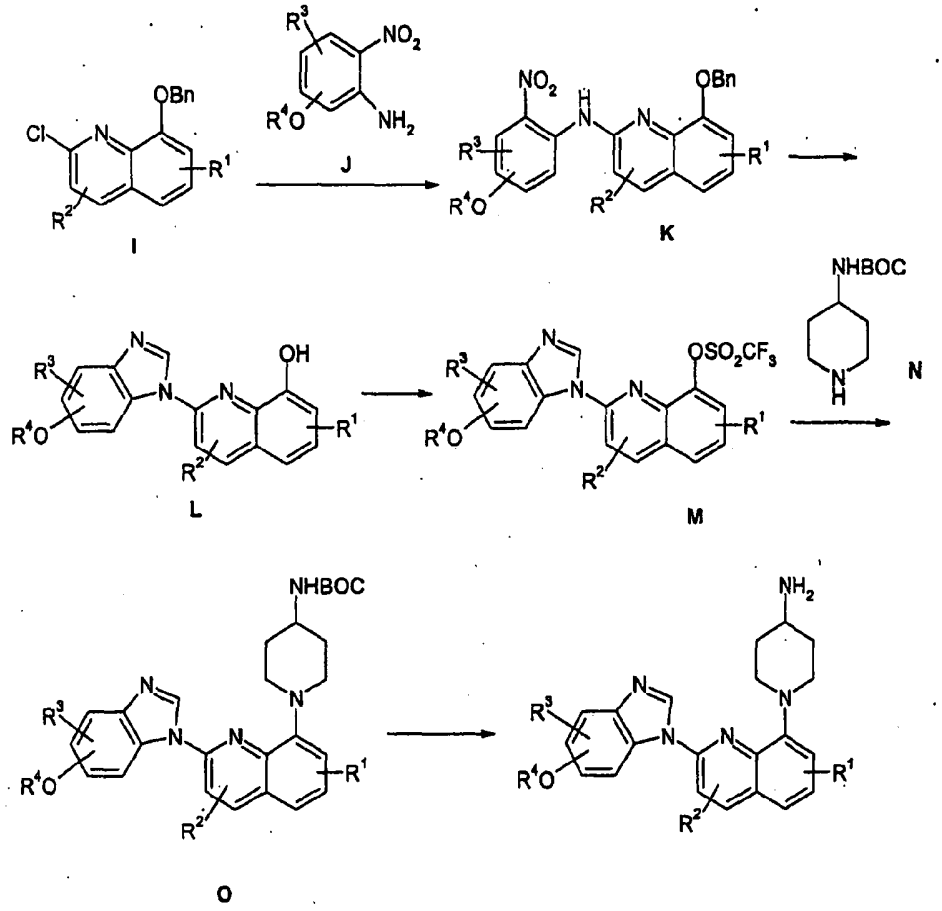
Os compostos de acordo com a presente invenção têm um ou mais centros assimétricos e, assim, podem ambos existir como enantiómeros e como diastereoisómeros. Pressupõe-se que todos estes isómeros e respectivas misturas estão incluídos no âmbito da presente invenção.

Certos compostos da presente invenção podem ter centros assimétricos e por conseguinte existem em diferentes formas enantioméricas. Todos os isómeros e estereoisómeros ópticos dos compostos da presente invenção e respectivas misturas são considerados como estando incluídos no âmbito da presente invenção. No que respeita aos compostos da presente invenção, a presente invenção inclui a utilização de um racemato, uma ou várias formas enantioméricas, uma ou mais formas diastereoméricas ou misturas destes. Os compostos da presente invenção podem também existir como tautómeros. A presente invenção refere-se à utilização de todos esses tautómeros e respectivas misturas.

O objecto da presente invenção inclui também compostos com marcação isotópica, que são idênticos aos compostos da presente invenção com excepção de um ou vários átomos serem substituídos por um átomo com uma massa atómica ou número de massa diferente do número de massa atómica ou número de massa normalmente encontrados na natureza. Exemplos de isótopos que podem ser incluídos nos compostos da presente invenção incluem isótopos de hidrogénio, carbono, azoto, oxigénio, fósforo, flúor e cloro, tal como ^{2}H, ^{3}H, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}O, ^{17}O, ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{18}F e ^{38}Cl respectivamente. Os compostos da presente invenção e os sais farmaceuticamente aceitáveis destes compostos que contêm os isótopos anteriormente mencionados e/ou outros isótopos de outros átomos estão incluídos no âmbito da presente invenção.

Certos compostos com marcação isotópica da presente invenção, por exemplo aqueles em que são incorporados isótopos radioactivos, tais como ^{3}H e ^{14}C, são úteis em análises da distribuição do medicamento e/ou tecido substrato. Isótopos tritiados, isto é ^{3}H e carbono 14, são particularmente preferidos pela sua facilidade de preparação e de detecção. Adicionalmente, a substituição com isótopos mais pesados, tal como deutério, isto é ^{2}H, pode proporcionar certas vantagens terapêuticas resultantes da maior estabilidade metabólica, por exemplo maior tempo de semivida *in vivo* ou requisitos de dosagem reduzidos e, portanto, pode ser preferida nalgumas circunstâncias. Geralmente, os compostos da presente invenção com marcação isotópica podem ser preparados por meio da execução dos procedimentos revelados no capítulo Esquemas e/ou Exemplos e Preparações abaixo, por meio da substituição de um reagente com marcação isotópica, facilmente disponível por um reagente sem marcação isotópica.

Esquema 1



Descrição Pormenorizada da Presente Invenção

Métodos de síntese gerais, que poderão ser referidos acerca da preparação dos compostos da presente invenção encontram-se na patente norte-americana 5.990.146 (publicada em 23 de Novembro de 1999)(Wamer-Lambert Co.) e números de pedidos de patente PCT publicados WO 99/16755 (publicado em 8 de Abril de 1999)(Merck & Co.) e WO 01/40217 (publicado em 7 Julho de 2001) (Pfizer, Inc.).

Em alternativa, os compostos da presente invenção podem ser preparados de acordo com o esquema 1, a partir de 2-cloro-8-benziloxiquinolina (I) e um 2-amino-nitrobenzeno (J) e

segundo o método delineado no esquema 1. R^1, R^2 e R^3 são hidrogénio e R^4 é tetra-hidrofuranilo, tetra-hidropiranilo ou 3-metiloxietanilmetilo. A aminação catalisada com paládio de I e J proporciona quinolina K. A redução do grupo nitro e remoção do grupo benzilo através de hidrogenação catalítica proporciona o benzimidazol L, o qual pode então ser transformado no triflato M correspondente. Uma segunda aminação catalisada com paládio, com amina N, proporciona piperidinilo quinolina O e subsequente remoção do grupo t-butiloxi-carbonilo proporciona o produto desejado.

Os compostos da presente invenção podem ter átomos de carbono assimétricos. As misturas diastereoméricas podem ser separadas nos diastereómeros individuais com base nas respectivas diferenças fisico-químicas, por meio de métodos conhecidos dos peritos na especialidade, por exemplo, por meio de cromatografia ou cristalização fraccional. Os enantiómeros podem ser separados por meio da conversão das misturas enantioméricas numa mistura de diastereómeros, por meio da reacção com um composto opticamente activo adequado (por exemplo álcool), separando os diastereómeros e convertendo (por exemplo por hidrolisação) os diastereómeros individuais nos enantiómeros puros correspondentes. Todos estes isómeros, incluindo as misturas de diastereómeros e de enantiómeros puros, são considerados como parte da presente invenção.

Os compostos da presente invenção são básicos por natureza e são capazes de formar uma grande variedade de sais diferentes com vários ácidos inorgânicos e orgânicos. Embora estes sais tenham de ser farmaceuticamente aceitáveis para administração a animais, é frequentemente

desejável, na prática, isolar inicialmente o composto da presente invenção a partir da mistura reaccional como um sal farmaceuticamente inaceitável e depois converter simplesmente este último novamente no composto base livre por meio de tratamento com um reagente alcalino e convertendo depois esta base livre no sal de adição de ácido farmaceuticamente aceitável. Os sais de adição de ácido dos compostos base da presente invenção são facilmente preparados por meio do tratamento do composto base com uma porção substancialmente equivalente do ácido mineral ou orgânico num meio solvente aquoso ou num solvente orgânico adequado, tal como metanol ou etanol. Com uma cuidadosa evaporação do solvente obtém-se facilmente o sal sólido desejado. O sal do ácido desejado pode também ser precipitado a partir de uma solução da base livre num solvente orgânico por meio da adição de um ácido mineral ou orgânico apropriado à solução.

A actividade dos compostos da presente invenção pode ser determinada por meio do procedimento seguinte.

Método ELISA Quinase PGT Geral

São utilizados o reagente e soluções mãe seguintes:

adenosina trifosfato (ATP)	Sigma, cat. # A-2383
albumina de soro de bovino (BSA)	Sigma, cat. # A-3294
PBS de Dulbecco (dPBS)	Gibco-BRL, cat. # 1 41 90-1 36
placas MaxiSorp	Nunc, cat. # 439454
$MgCl_2$	Sigma, cat. # M-1028
Poly-Glu-Tyr (PGT)	Sigma, cat. #. P-0275

Substrato micropoço TMB Kirkegaard & Perry, cat. # 50-76-05

Tween 20 Sigma, cat. # P-1379

anticorpo HRP-PY54 OSI Pharmaceuticals, Inc.

Tampão de fosforilação (TF): 50 mM HEPES, pH 7.3, 125 mM NaCl, 24 mM $MgCl_2$;

Tampão de lavagem (TL): dPBS + 0,1 % de Tween 20 (polioxietileno sorbitano) e

Tampão de bloqueio: 3 % de BSA, 0,05 % de Tween 20 em dPBS.

Procedimento de ensaio:

(a) para cobrir a placa, encher uma placa Nunc MaxiSorp com 100 µl de Poly-Glu-Tyr (PGT) diluído em dPBS (várias concentrações). A placa é incubada de um dia para o outro a 31 °C. O PGT sobrenadante é depois eliminado e as placas são lavadas 3x com tampão de lavagem.

(b) A enzima PDGF é depois diluída em TF até atingir uma concentração apropriada e adiciona-se 25 µl desta solução mãe por poço.

(c) é então diluído ATP (a partir de 20 mM de solução mãe) até atingir uma concentração apropriada (0,5 nM - 2 uM) com TF. A reacção de fosforilação é iniciada por meio da adição de 25 µl de solução de ATP a cada poço da placa de análise. Prossegue-se com a incubação durante cerca de 10 minutos, com agitação à temperatura ambiente.

(d) A reacção é parada por meio de aspiração da mistura reaccional. A placa é depois lavada 4x com TL.

(e) O anticorpo HRP-PY54 é diluído até atingir uma concentração apropriada no tampão de bloqueio. Adiciona-se então 50 µ desta solução por poço, seguido de incubação durante 25 a 35 minutos à temperatura ambiente. A solução contendo anticorpos é removida por aspiração e a placa é novamente lavada 4 x com TL.

(f) A extensão da reacção é determinada por meio da medição da absorvância da luz a 450 nm. Primeiro, a cor é revelada por meio da adição de solução TMB, 50 µl por micropoço, e a reacção é deixada evoluir até os poços com sinais positivos atingirem cerca de 0,6 a 1,2 unidades OD450. A revelação da cor é então parada por meio da adição de 50 µl por poço de 0,09 M de H_2SO_4. Os controlos são poços sem PGT, mas com todos os outros componentes incluídos. Tal como anteriormente mencionado, o sinal preferido situa-se, geralmente, entre 0,6 e 1,2 unidades OD essencialmente sem antecedente.

A actividade *in vitro* dos compostos da presente invenção, na inibição do receptor PDGF pode ser determinada por meio do procedimento seguinte.

A inibição da actividade da tirosina quinase pode ser medida recorrendo a uma enzima recombinante num ensaio que mede a capacidade dos compostos inibirem a fosforilação do substrato exógeno poly-Glu-Tyr (PGT, Sigma™, 4:1). O domínio citoplasmático do ser receptor PDG F13 humano (aminoácidos 559-1106) (Ishikawa, F., et al. Nature 338: 557-562, 1989) é expresso em células de insecto Sf9 como uma proteína de fusão (GST) S-transferase glutationa, utilizando o sistema de expressão do baculovírus. A

proteína é então purificada a partir dos lisados destas células, utilizando colunas de afinidade de agarose para glutationa.

A análise enzimática é executada em placas de 96 poços, que são cobertos com o substrato PGT (0,625 µg PGT por poço). Os compostos de ensaio são diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) e são depois adicionados às placas PGT de modo a que a concentração final de DMSO no ensaio seja 1,6 % (v/v). A enzima recombinante é diluída em tampão de fosforilação (50 mM Hepes, pH 7.3, 125 mM NaCl, 24 mM $MgCl_2$). A reacção é iniciada por meio da adição de ATP a uma concentração final de 10 µM. Após incubação durante 10 minutos à temperatura ambiente com agitação, a reacção é aspirada e as placas são lavadas com tampão de lavagem (PBS contendo 0,1 % de Tween-20). A porção de PGT fosforilado é quantificada por meio de incubação com conjugado de peroxidase de rábano-silvestre (HRP) PY-54 (Transduction Labs), revelação com peroxidase TMB (TMB é 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) e detecção num leitor de microplaca BioRad™ a 450 nM. A inibição do efeito enzimático da quinase pelo composto de ensaio é detectada como uma absorvência reduzida e a concentração do composto que é necessária para inibir o sinal em 50 % (nas circunstâncias da análise) é declarado como o valor IC_{50} do composto de ensaio.

Para a medição da capacidade dos compostos para inibir a actividade tirosina quinase PDGFRß para a totalidade da proteína existente num contexto celular podem ser empregues células endoteliais aórticas porcinas (porcine aortic endothelial - PAE) transfectadas com o PDGFRβ humano (Westermark, Bengt, et. al., PNAS 87, pp 128-132, 1990). As células são colocadas em placas e deixadas fixar-se às

placas de 96 poços no mesmo meio (Ham's F12) com 10 % de FBS (soro fetal de bovino) durante 6 a 8 horas. As células são lavadas, reabastecidas com meio isento de soro e deixadas incubar de um dia para outro. Imediatamente antes da dosagem com composto, as células são reabastecidas com meio isento de soro. Os compostos de ensaio dissolvidos em DMSO, são diluídos no meio, (concentração final de DMSO 0,5 % (v/v). Ao fim de uma incubação de 10 minutos, adiciona-se PDGF-BB (concentração final 100 ng/ml) ao meio para uma incubação de 8 minutos. As células são lavadas com solução salina tamponizada com Hepes (HBSS) e lisadas em 50 ul de tampão HNTG (20 mM de Hepes, pH 7.5, 150 mM de NaCl, 0,2 % de Triton™ X-100, 10 % de glicerol mais 0,2 mM de PMSF (fluoreto de fenilmetilsulfonilo), 1 µg /ml de pepstatina, 1 µg/ml de leupeptina, 1 µg/ml de aprotonina, 2 mM de pirofosfato de sódio, 2 mM de ortovanadato de sódio) e depois são diluídas com 50 ul de tampão de diluição HG (20 mM de Hepes, pH 7.5, 10 % de glicerol, 0,2 mM de PMSF (fluoreto de fenilmetilsulfonilo), 1 µg/ml de pepstatina, 1 µg/ml de leupeptina, 1 µg/ml de aprotonina, 2 mM de pirofosfato de sódio, 2 mM de ortovanadato de sódio. A extensão da fosforilação de PDGFRβ é medida por meio de um teste ELISA. As placas de 96 poços, cobertas com proteína A são bloqueadas com Superblock (Pierce) e são revestidas com 0,5 µg por poço de anticorpo anti-PDFGβ P20 (Santa Cruz, catálogo n° SC-339).

Qualquer anticorpo não ligado é removido das placas por lavagem antes da adição do lisado de células. Após incubação durante 2 horas à temperatura ambiente dos lisados (50 ul) com o anticorpo PDGFRβ, é quantificada a fosfotirosina associada ao PDGFβ por meio de revelação com

o anticorpo PY-54 conjugado com HRP e TMB, tal como descrito anteriormente. A capacidade dos compostos para inibir a reacção de autofosforilação estimulada com PDGF-BB em 50 % nas condições empregues, relativamente aos controlos estimulados com F-BB, é descrita como o valor IC_{50} para o composto de ensaio. Os compostos da presente invenção, incluindo os exemplos indicados seguidamente, têm geralmente valores IC_{50} utilizando o procedimento anterior, dentro dos limites seguintes: 1-1000 nM.

A actividade *in vitro* dos compostos da presente invenção, na inibição do receptor KDR/VEGF pode ser determinada por meio do procedimento seguinte.

A capacidade dos compostos da presente invenção para inibir a actividade da tirosina quinase pode ser medida recorrendo a uma enzima recombinante num ensaio que mede a capacidade dos compostos inibirem a fosforilação do substrato exógeno polyGluTyr (PGT, Sigma™, 4:1). O domínio quinase do receptor KDR/VEGF humano (aminoácidos 805-1350) é expresso em células de insecto Sf9 como uma proteína de fusão (GST) S-transferase de glutationa, utilizando o sistema de expressão baculovírus. A proteína é então purificada a partir dos lisados destas células, utilizando colunas de afinidade de agarose para glutationa. A análise enzimática é executada em placas de 96 poços, que são cobertos com o substrato PGT (0,625 µg PGT por poço). Os compostos de ensaio são diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) e são depois adicionados às placas PGT de modo a que a concentração final de DMSO no ensaio seja 1,6 % (v/v). A enzima recombinante é diluída em tampão de fosforilação (50 mM Hepes, pH 7.3, 125 mM NaCl, 24 mM $MgCl_2$). A reacção é iniciada por meio da adição de ATP a uma concentração final

de 10 μM. Após incubação durante 30 minutos à temperatura ambiente com agitação, a reacção é aspirada e as placas são lavadas com tampão de lavagem (PBS contendo 0,1 % de Tween-20). A porção de PGT fosforilado é quantificada por meio de incubação com um conjugado de HRP (HRP é peroxidase de rábano silvestre) PY-54 (Transduction Labs), revelada com peroxidase TMB (TMB é 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) e a reacção é quantificada num leitor de microplaca BioRad™ a 450 nM. A inibição do efeito enzimático da quinase pelo composto de ensaio é detectada como uma absorvência reduzida e a concentração do composto que é necessária para inibir o sinal em 50 % é declarado como o valor IC_{50} do composto de ensaio.

A medição da capacidade dos compostos para inibir a actividade tirosina quinase KDR para a totalidade da proteína existente num contexto celular podem ser empregues células endoteliais aórticas porcinas (porcine aortic endothelial - PAE) transfectada com o KDR humano (Waltenberger et al., J. Biol. Chem. 269:26988, 1994). As células são colocadas em placas e deixadas fixar-se às placas de 96 poços no mesmo meio (Ham's F12) com 10 % de FBS (soro fetal de bovino). As células são então lavadas, reabastecidas com meio isento de soro, contendo 0,1 % (v/v) de albumina de soro de bovino (bovine serum albumin - BSA) e deixadas incubar durante 24 horas. Imediatamente antes da dosagem com composto, as células são reabastecidas com meio isento de soro (sem BSA). Os compostos de ensaio dissolvidos em DMSO, são diluídos no meio, (concentração final de DMSO 0,5 % (v/v). Ao fim de uma incubação de 2 horas, adiciona-se VEGF165 (concentração final 50 ng/ml) ao meio para uma incubação de 8 minutos. As células são

lavadas e lisadas em tampão HNTG (20 mM de Hepes, pH 7,5, 150 mM de NaCl, 0,2 % de Triton™ X-100, 10 % de glicerol, 0,2 mM de PMSF (fluoreto de fenilmetilsulfonilo), 1 g/ml de pepstatina, 1 g/ml de leupeptina, 1 g/ml de aprotonina, 2 mM de pirofosfato de sódio, 2 mM de ortovanadato de sódio). A extensão da fosforilação de KDR é medida por meio de um teste ELISA. As placas de 96 poços são cobertas com 1 g por poço de anticorpo de cabra anti-coelho. Os anticorpos não ligados são removidos da placa por lavagem e os sítios restantes são bloqueados com tampão Superblock (Pierce) antes da adição do anticorpo anti-flk-1 C-20 (0,5 µg por placa, Santa Cruz). Qualquer anticorpo não ligado é removido das placas por lavagem antes da adição do lisado de células. Após incubação durante 2 horas dos lisados com o anticorpo flk-1, é quantificada a fosfotirosina associada ao KDR por meio de revelação com o anticorpo PY-54 conjugado com HRP e TMB, tal como descrito anteriormente. A capacidade dos compostos para inibir a reacção de autofosforilação estimulada com VEGF em 50% relativamente aos controlos estimulados com VEGF, é descrita como o valor IC_{50} para o composto de ensaio.

As incubações de citosol hepático humano foram conduzidas utilizando citosol criopreservado, disponível comercialmente (Tissue Transformation Technologies, 20 mg/ml de proteína, lote #HHC-0255). O citosol hepático humano foi descongelado lentamente e diluído em 100 mM de tampão de fosfato de potássio (pH 7,4) até atingir uma concentração final de proteína de 3,1 mg/ml e foi aquecido a 37 °C. As incubações foram iniciadas com a adição da solução mãe do composto dissolvido em metanol. A concentração total de metanol foi mantida a 1 % ou abaixo

deste valor. Após o início da reacção, a incubação foi misturada suavemente e foi recolhida uma aliquota de amostra 0 min e atenuada em igual volume de acetonitrilo, contendo um padrão interno. Foram recolhidos momentos subsequentes a 5, 10, 15 e 30 minutos e atenuados do mesmo modo. As amostras foram centrifugadas e os sobrenadantes forma analisados por meio de HPLC/MS/MS utilizando a proporção da resposta da área do pico do analito para com a do padrão interno. Foi ajustada uma regressão linear nos dados e foram calculadas semividas a partir do declive da linha. Os cálculos percentuais restantes foram executados utilizando a semivida dos dados ajustados. As incubações de controlo foram incluídas para supervisionar as variações de dia para dia e as perdas mediadas não-citosólicas. Os compostos da presente invenção eram estáveis no ensaio citosol hepático humano descrito anteriormente.

A administração dos compostos da presente invenção (doravante o(s) "composto(s) activo(s)") pode ser efectuada por meio de qualquer método que permita a libertação dos compostos no local da acção. Estes métodos incluem vias orais, vias intraduodenais, injecção parentérica (incluindo intravenosa, subcutânea, intramuscular, intravascular ou perfusão), administração intraocular, intraperitoneal, intravesicular, intravaginal, tópica e rectal.

A quantidade do composto activo administrado irá depender do sujeito em tratamento, a gravidade da doença ou do estado, a velocidade de administração, a disposição do composto e a opinião do médico responsável. No entanto, uma dosagem eficaz situa-se entre cerca de 0,001 a 100 mg por kg de peso corporal diariamente, de preferência cerca de 1 a cerca de 35 mg/kg/dia, em doses únicas ou divididas. Para

um ser humano de 70 kg, iria perfazer cerca de 0,05 a cerca de 7 g/dia, de preferência cerca de 0,2 a cerca de 2,5 g/dia. Nalguns casos, os níveis de dosagem abaixo do limite inferior do intervalo anteriormente mencionado podem ser mais do que adequados, enquanto que, noutros casos, poderão ser empregues doses superiores sem causar efeitos secundários prejudiciais, desde que essas doses superiores sejam primeiro divididas em várias pequenas doses para administração ao longo do dia.

O composto activo pode ser aplicado como única terapia ou poderá envolver uma ou várias substâncias anti-tumorais, por exemplo as seleccionadas de entre, por exemplo, inibidores mitóticos, por exemplo vinblastina, agentes de alquilação, por exemplo cis-platina, carboplatina e ciclofosfamida; antimetabolitos, por exemplo 5-fluorouracilo, citosina arabinosídeo e hidroxiureia ou por exemplo um dos antimetabolitos preferidos apresentados no pedido de Patente Europeia nº 239362, tal como ácido N-(5-[N-3,4-di-hidro-2-metil-4-oxoquinazolina-6-ilmetil)-N-metilamino]-2-tenoílo)-L-glutâmico, inibidores do factor de crescimento, inibidores do ciclo celular, antibióticos intercalantes, por exemplo adriamicina e bleomicina, enzimas, por exemplo interferão; e anti-hormonas, por exemplo anti-estrogénios tais como Nolvadex™ (tamoxifen) ou, por exemplo anti-androgénicos tais como Casodex™ (4'-ciano-3-(4-fluorofenilsulfonil)-2-hidroxi-2-metil-3'-(trifluorometil)propionanilida). Estes tratamentos conjuntos podem ser atingidos por meio de dosagem simultânea, sequencial ou separada dos componentes individuais do tratamento.

A composição farmacêutica pode, por exemplo, encontrar-se sob uma forma adequada para administração oral, como um comprimido, cápsula, pílula, pó, formulações de libertação sustentada, solução, suspensão, solução, suspensão ou emulsão estéril destinada a injecção parentérica, para administração tópica como unguento ou creme ou para administração rectal, como supositório. A composição farmacêutica pode encontrar-se em formas de dosagem unitárias adequadas para uma administração única de doses precisas. A composição farmacêutica incluirá um veículo ou excipiente farmacêutico convencional e um composto de acordo com a presente invenção como ingrediente activo. Para além disso, pode incluir outros agentes, veículos, adjuvantes, etc. medicinais ou farmacêuticos.

Exemplos de formas de administração parentérica incluem soluções ou suspensões de compostos activos em soluções aquosas estéreis, por exemplo soluções de propilenoglicol ou dextrose. Estas formas de dosagem podem ser adequadamente tamponizadas, se assim se desejar.

Veículos farmacêuticos adequados incluem diluentes inertes ou agentes de carga, água e diferentes solventes orgânicos. Se assim se desejar, as composições farmacêuticas podem conter ingredientes adicionais, tal como aromatizantes, aglutinantes, excipiente e semelhantes. Deste modo, para administração oral, podem ser empregues comprimidos contendo vários excipientes, tal como ácido cítrico, em conjunto com vários desintegrantes, tal como amido, ácido algínico e certos silicatos complexos e com agentes aglutinantes, tal como sucrose, gelatina e acácia. Adicionalmente, agentes lubrificantes tal como estearato de magnésio, laurilsulfato de sódio e talco são frequentemente

úteis para o fabrico de comprimidos. Composições sólidas de um tipo semelhante podem também ser empregues em cápsulas de gelatina mole e rígida. Materiais preferidos incluem, por conseguinte, lactose ou açúcar do leite e polietilenoglicois de elevado peso molecular. Quando se desejam suspensões aquosas ou elixires para administração oral, o composto activo incluído nestas pode ser combinado com vários agentes adoçantes ou aromatizantes, substâncias colorantes ou pigmentos e, se assim se desejar, agentes emulsionantes ou agentes de suspensão, em conjunto com diluentes tais como água, etanol, propilenoglicol, glicerina ou combinações destes.

Métodos para a preparação de várias composições farmacêuticas com uma quantidade específica do composto activo são conhecidos ou serão evidentes para os peritos nesta especialidade. Encontram-se exemplos em Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easter, Pa., 15ª Edição (1975).

Os exemplos e preparações fornecidos em seguida ilustram e exemplificam ainda os compostos da presente invenção e métodos para a preparação destes compostos. Pressupõe-se que o âmbito da presente invenção não é limitado, de forma alguma, pelo âmbito dos exemplos e preparação seguintes. Nos exemplos seguintes, as moléculas com um único centro quiral existem como mistura racémica, excepto se houver indicação em contrário. Estas moléculas com dois ou mais centros quirais encontram-se como uma mistura racémica de diastereómeros, excepto se houver indicação em contrário. Podem ser obtidos enantiómeros/diastereómeros individuais por meio de métodos conhecidos dos peritos na especialidade.

Preparação de Intermediários Gerais:

8-Benziloxi-2-cloro-quinolina.

2,8-quinolinediol (133,3 g, 0,827 mol) foi dissolvido em 800 ml de DMF anidro sob atmosfera de N_2 seco. A esta solução foi adicionado carbonato de potássio (183 g, 1,32 mol) seguido de brometo de benzilo (110 ml, 0,909 mol) e a solução foi depois aquecida até 65 °C e deixada reagir a esta temperatura de um dia para o outro. A mistura reaccional foi então vertida em 9 l de água e a solução resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 5,5 horas, após o que foi filtrada. O sólido foi lavado com água, recolhido e suspenso em tolueno e, finalmente, a solução foi concentrada sob vácuo para se obter 142 g de 8-benziloxiquinolin-2-ol. Este material (142 g, 0,565 mol) foi dissolvido em 500 ml de DCE, sob uma atmosfera de N_2 seco. Cloreto de oxalilo (99 ml, 1,13 mol) foi adicionado gota a gota a esta solução, seguido de 1 ml de DMF. Uma vez completa a adição, a reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 30 minutos, passado este tempo a reacção foi aquecida a 84 °C. A mistura reaccional foi agitada a esta temperatura durante 10 horas e depois foi concentrada sob vácuo. O resíduo resultante foi dividido entre DCM e $NaHCO_3$ aquoso, saturado. A fase de DCM foi lavada de novo com $NaHCO_3$ saturado, seca sobre Na_2SO_4, filtrada e concentrada sob vácuo para se obter um sólido castanho. O sólido foi recristalizado a partir de tolueno para se obter dois produtos (68,3 g e 38,3 g) de 8-benziloxi-2-cloro-quinolina.

Piperidin-4-il-carbamato de terc-butilo pode ser preparado segundo os métodos encontrados em Carling et. Al. J. Med.

Chem. 42(14), (1999) p. 2706 ou Mase et. Al. J. Org. Chem. 66(20), (2001) p. 6775.

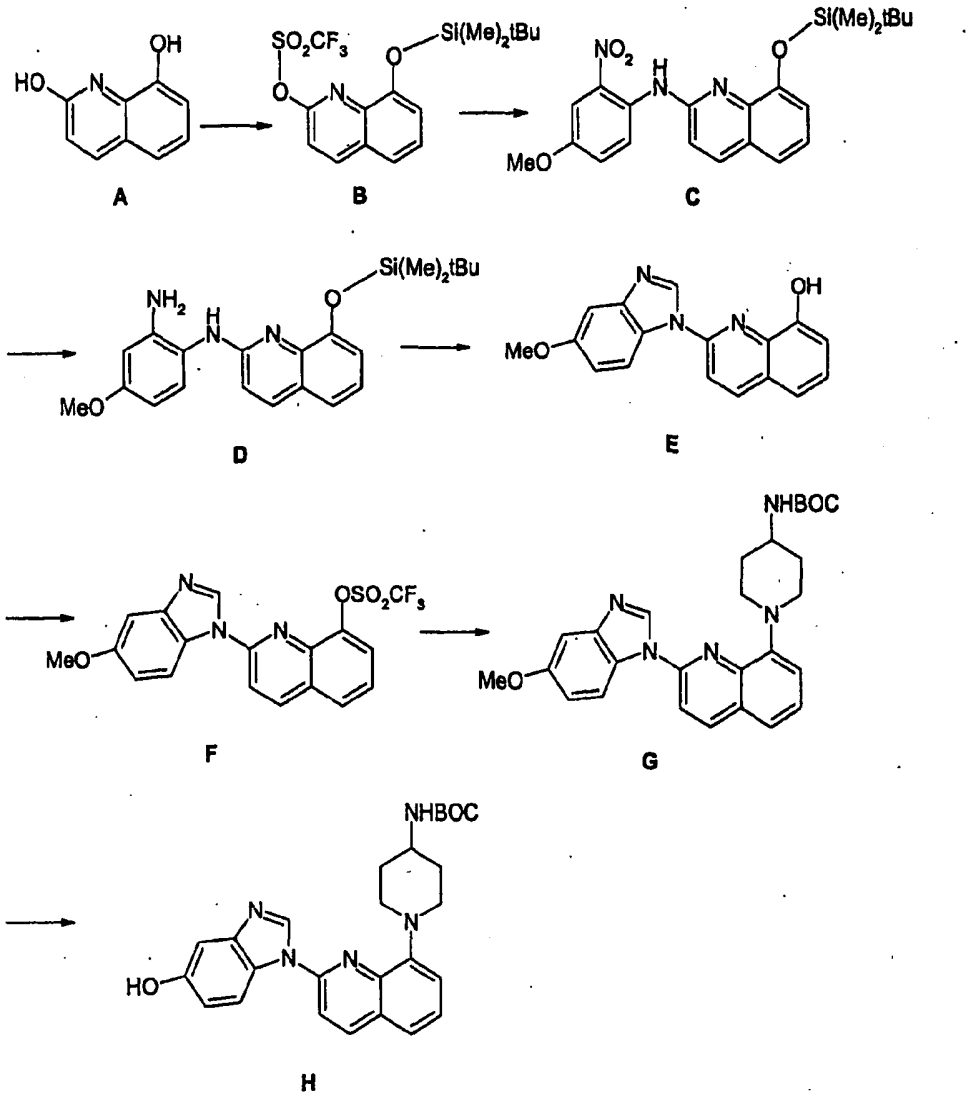
Os compostos da presente invenção podem ser preparados a partir do intermediário H (exemplo 1), segundo o método delineado no esquema 1 e exemplificado pela preparação de 1-[2-(5-ciclopropilmetoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-ilamina no exemplo 2.

Exemplo 1

Preparação de {1-[2-(5-hidroxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-il}-carbamato de terc-butilo (composto H)

O intermediário H, 5-hidroxi-benzimidazol, pode ser preparado por meio do método delineado no esquema 2.

ESQUEMA 2



Preparação do Composto B

Trifluorometanossulfonato de 8-(terc-butilo-dimetil-silaniloxi)-quinolin-2-ilo,

2,8-quinolinediol (A) (20,0 g, 124 mmol) foi suspenso em 500 ml de diclorometano (DCM) sob uma atmosfera de azoto (N_2) seco. A esta solução adicionou-se imidazol (20,3 g, 298 mmol) seguido de cloreto de terc-butil-dimetilsililo (20,6 g, 137 mmol) e 4-dimetilaminopiridina (1,50 g, 12,4

mmol). A mistura reaccional foi agitada de um dia para o outro à temperatura ambiente, passado este tempo foi dividida por DCM e bissulfato de sódio aquoso 1 % ($NaHSO_4$). A fase DCM foi recolhida e lavada mais duas vezes com $NaHSO_4$ aquoso a 1 %, depois com bicarbonato de sódio saturado aquoso ($NaHCO_3$) e finalmente com salmoura. A fase DCM foi seca sobre sulfato de sódio (Na_2SO_4), filtrada e concentrada sob vácuo para se obter o produto bruto (40 g) sob a forma de um sólido branco. O sólido foi dissolvido em 500 ml de tetra-hidrofurano anidro (THF) sob uma atmosfera de N_2 seco. A esta solução adicionou-se N-fenil-bis(trifluorometanossulfonimida) (48,7 g, 136 mmol) e a solução foi arrefecida a 0 °C. A esta solução adicionou-se lentamente (3,2 g, 136 mmol) de hidreto de sódio (60 % em óleo). Uma vez completa a adição, a mistura reaccional foi aquecida à temperatura ambiente. Adicionou-se mais 1,00 g de hidreto de sódio (60 % em óleo), passada uma hora e agitou-se durante mais 30 minutos. A mistura foi concentrada sob vácuo e tomada em DCM. Adicionou-se lentamente água (1,0 ml) gota a gota para atenuar qualquer hidreto de sódio por reagir e depois extraiu-se a mistura reaccional por duas vezes a partir de hidróxido de sódio aquoso 0,1 N (NaOH) e depois lavou-se com salmoura. A fase DCM foi seca sobre Na_2SO_4, filtrada e concentrada sob vácuo para se obter 57 g do triflato B em bruto sob a forma de um óleo amarelo.

Preparação do Composto C

([8-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-quinolin-2-il]-(4-metoxi-2-nitro-fenil)-amina.

Trifluorometanossulfonato de 8-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-quinolin-2-ilo B (9,81 g, 24,1 mmol) e 4-metoxi-2-nitroanilina (4,86 g, 28,9 mmol) foram dissolvidos em 100 ml de dioxano sob uma atmosfera de N_2 seco. Adicionou-se a esta solução (11,0 g, 33,7 mmol) de carbonato de césio (Cs_2CO_3), (900 mg, 1,45 mmol) 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo racémico (BINAP) e tris(dibenzildenoacetona)dipaládio (0) (883 mg, 0,964 mmol) e a mistura reaccional foi aquecida a 100 °C e deixada reagir a esta temperatura durante 4 horas. A mistura foi então deixada arrefecer à temperatura ambiente, concentrada sob vácuo, tratada com DCM, filtrada e concentrada sob vácuo para se obter um sólido vermelho. O sólido foi cromatografado em gel de sílica relâmpago, eluição com hexanos/DCM (3:1) para se obter 7,25 g de C sob a forma de um sólido vermelho.

Preparação do Composto D

N^1-([8-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-quinolin-2-il]-4-metoxi-benzeno-1,2-diamina.

([8-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-quinolin-2-il]-(4-metoxi-2-nitro-fenil)-amina C (21,9 g, 51,3 mmol) foi dissolvido em 200 ml de etanol (EtOH) e 70 ml de THF sob uma atmosfera de N_2 seco. A esta solução adicionou-se 10 % de paládio em carbono (2,18 g) seguido pela adição gota a gota de 10 ml de hidrazina anidra. A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas, passado este tempo foi filtrada através de Celite™ e a Celite™ foi lavada com DCM. Os filtrados combinados foram concentrados sob vácuo e o resíduo resultante foi dividido por DCM e $NaHCO_3$ saturado aquoso. A fase de DCN foi depois lavada de

novo com $NaHCO_3$ saturado e depois com salmoura, seco sobre Na_2SO_4, filtrado e concentrado sob vácuo para se obter 18,3 g de um sólido castanho-amarelado como o composto em epígrafe D.

Preparação do Composto E

2-(5-Metoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-ol,

N^1-[8-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-quinolin-2-il]-4-metoxi-benzeno-1,2-diamina D (18,3 g, 46,1 mmol) foi dissolvido em 40 ml de 2-metoxietanol, sob uma atmosfera de N_2 seco. A esta solução adicionou-se acetato de formamidina (5,28 g, 50,7 mmol) e a mistura reaccional foi aquecida a 125 °C e foi feita reagir a esta temperatura durante 1,5 horas. O solvente foi removido sob vácuo e o sólido resultante foi triturado com éter etílico (Et_2O), seco sob vácuo para se obter 13,3 g de E, sob a forma de um sólido cor-de-rosa.

Preparação do Composto F

Éster 2-(5-Metoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8 do ácido trifluorometanossulfónico

2-(5-Metoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-ol E (13,9 g, 47,8 mmol) foi dissolvido em 100 ml de THF anidro sob uma atmosfera de N_2 seco. A esta solução adicionou-se N-fenil-bis(trifluorometanossulfonimida) (20,3 g, 47,8 mmol) e a solução foi depois arrefecida a 0 °C. A esta solução adicionou-se lentamente (1,31 g, 54,9 mmol) de hidreto de sódio (60 % em óleo). Uma vez completa a adição, a mistura reaccional foi aquecida à temperatura ambiente. Passados 30 minutos, adicionou-se mais 500 mg de hidreto de sódio (60 % em óleo), seguido de 3,50 g de N-fenil-

bis(trifluorometanossulfonimida) e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora. O solvente foi então removido sob vácuo e o resíduo resultante foi tomado em DCM. A esta solução adicionou-se lentamente 1,0 ml de água para decompor qualquer hidreto de sódio por reagir. A mistura foi depois dividida por DCM e NaOH aquoso 0,1 N. A fase DCM foi depois lavada novamente com NaOH aquoso 0,1 N, seguido de salmoura e depois foi seca sobre sulfato de magnésio ($MgSO_4$), filtrado e concentrado sob vácuo para se obter 20,7 g de F em bruto sob a forma de um sólido cor-de-rosa, utilizado imediatamente na reacção seguinte.

Preparação do Composto G

1-[2-(5-metoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-il)-carbamato de terc-butilo

Éster 2-(5-Metoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8 do ácido trifluorometanossulfónico F (15,0 g, 35,4 mmol) e piperidin-4-il-carbamato de terc-butilo (14,2 g, 70,9 mmol) foram dissolvidos em 200 ml de dioxano sob uma atmosfera de N_2 seco. A esta solução adicionou-se Cs_2CO_3 (16,2 g, 49,6 mmol) de BINAP racémico (1,28 g, 2,12 mMol) e tris(dibenzilidenoacetona)dipaládio (0) (1,29 g, 1,41 mMol) e a mistura reaccional foi aquecida a 100 °C e deixada reagir a esta temperatura de um dia para o outro. A mistura foi então deixada arrefecer até à temperatura ambiente, filtrada e concentrada sob vácuo para se obter uma espuma cor-de-laranja. A espuma foi cromatografada em gel de sílica relâmpago com eluição com um gradiente de acetato de etilo (EtOAc)/DCM (1:5) para EtOAc/DCM (7:3) para se obter 12,3 g de G sob a forma de um sólido ligeiramente amarelo.

Preparação do Composto H

1-[2-(5-hidroxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-il)-carbamato de terc-butilo.

{1-[2-(5-metoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-il)-carbamato de terc-butilo G (8,40 g, 17,7 mmol) foi dissolvido em 50 ml de ácido trifluoroacético (TFA sob uma atmosfera de N_2 seco. A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 15 minutos, Passado este tempo foi concentrada sob vácuo para se obter um óleo amarelo. O óleo foi depois dividido por DCM e NaOH aquoso 0,1 N. A fase DCM foi lavada de novo com NaOH aquoso 0,1 N. A fase DCM foi seca sobre Na_2SO_4, filtrada e concentrada para se obter 5,85 g e 1-[2-(5-metoxibenzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-ilamina sob a forma de um sólido amarelo. C.I. m/z 374 [M+1]; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8.66 (s, 1 H), 8.37 (d, J = 8.9 Hz, 1 H), 8.30 (d, J = 8.7 Hz, 1 H), 7.68 (d, J = 8.9 Hz, 1 H), 7.47 (m, 2 H), 7.35 (d, J = 2.3 Hz, 1 H), 7.25 (m, 1 H), 7.06 (dd, J = 2.5, 8.9 Hz, 1 H), 3.91 (s, 3 H), 3.88 (m, 2 H), 2.90 (m, 3 H), 2.05 (m, 2 H), 1.83 (m, 2 H), 1.50 (brs, 2 H).

1-[2-(5-Metoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]piperidin-4-ilamina (500 mg, 1,10 mmol) foi dissolvido em 10 ml de DCM sob uma atmosfera de N_2 seco. A esta solução adicionou-se tribrometo de boro (300 ml, 3,30 mmol) e a mistura foi agitada de um dia para o outro à temperatura ambiente. Depois, adicionou-se mais 200 ml de tribrometo de boro e a mistura foi agitada durante duas horas. A mistura reaccional foi então vertida sobre gelo esmagado e o pH da solução resultante foi ajustado a 9 com a adição cuidadosa de carbonato de sódio (Na_2CO_3). A suspensão foi filtrada e

o sólido foi lavado com água, seguida de Et_2O e depois foi seca sob vácuo para se obter 1-[8-(a-Amino-piperidin-1-il)-quinolin-2-il]-1H-benzoimidazol-5-ol sob a forma de um sólido amarelo. C.I. m/z 360 [M+1]; ^1H NMR (DMSO) δ 9.07 (s, 1 H), 8.76 (d, J = 8.9 Hz, 1 H), 8.48 (d, J = 8.9 Hz, 1 H), 8.10 (d, J = 8.9 Hz, 1 H), 7.56 (d, J = 7.4 Hz, 1 H), 7.45 (m, 1 H), 7.26 (d, J = 7.4 Hz, 1 H), 7.01 (d, J = 2.2 Hz, 1 H), 6.95 (dd, J = 2.2, 8.9 Hz, 1 H), 3.72 (m, 2 H), 2.76 (m, 3 H), 1.88 (m, 2 H), 1.65 (m, 2 H).

1-[8-(4-amino-piperidin-1-il)-quinolin-2-il]-1H-benzoimidazol-5-ol (460 mg, 1,30 mmol) foi dissolvido em 5 ml de DMF anidro sob uma atmosfera de N_2 seco. A esta solução adicionou-se dicarbonato de di-terc-butil (279 mg, 1,30 mmol) e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura reaccional foi depois concentrada sob vácuo e dividida por DCM e $NaHCO_3$ saturado aquoso. A fase DCM foi seca sobre Na_2SO_4, filtrada e concentrada sob vácuo para se obter um sólido amarelo. O sólido foi cromatografado em gel de sílica relâmpago, eluindo com EtOAc para se obter 273 mg de H sob a forma de um sólido amarelo.

Exemplo 2 (referência)

Preparação de 1-[2-(5-ciclopropilmetoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-ilamina.

{1-[2-(5-metoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-il)-carbamato de terc-butilo H (200 mg, 0,435 mmol) foi dissolvido em 1,5 ml de DMF anidro sob uma atmosfera de N_2 seco. A esta solução adicionou-se Cs_2CO_3 (170 mg, 0,520 mmol) seguido de brometo de ciclopropilmetilo (46 ml, 0,48 mmol). A mistura reaccional

foi depois aquecida a 6 °C e agitada a esta temperatura durante 4 horas. A mistura reaccional foi então arrefecida até à temperatura ambiente e dividida por EtOAc e água. A fase EtOAc foi lavada mais 4 vezes com água e depois com salmoura. O EtOAc foi depois seco sobre Na_2SO_4, filtrado e concentrado sob vácuo e o óleo verde resultante foi cromatografado em gel de sílica relâmpago, eluíndo com meOH/diclorometano (DCM) (2:98) para se obter um óleo verde. O óleo foi dissolvido em 1,5 ml de TFA anidro sob uma atmosfera de N_2 seco. A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 10 minutos, passado este tempo foi concentrada sob vácuo e o resíduo resultante foi dividido por DCM e NaOH 0,1 N aquoso. A fase DCM foi depois lavada com salmoura básica (pH = 10), seca sobre Na_2SO_4, filtrada e concentrada sob vácuo para se obter 118 mg de 1-[2-(5-ciclopropilmetoxibenzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-ilamina sob a forma de um sólido amarelo. C.I. m/z 414 [M+1]; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8.63 (s, 1H), 8.37 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 8.27 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.44 (m, 2H), 7.30 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.24 (m, 1H), 7.09 (dd, J = 2.5, 8.9 Hz, 1H), 3.87 (m, 4H), 2.87 (m, 3H), 2.03 (m, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.56 (brs, 2H), 1.32 (m, 1H), 0.66 (m, 2H), 0.39 (m, 2H).

Exemplo 3 (referência)

Preparação do sal besilato de 1-[2-(5-ciclopropilmetoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-ilamina

O sal besilato de 1-[2-(5-ciclopropilmetoxi-benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-ilamina é preparado fazendo reagir um equivalente de ácido benzenossulfónico com um equivalente de 1-[2-(5-ciclopropilmetoxi-

benzoimidazol-1-il)-quinolin-8-il]-piperidin-4-ilamina. O produto é recuperado utilizando qualquer uma das técnicas bem conhecidas, empregues na preparação dos sais de compostos orgânicos.

Exemplo 4

Preparação de 1(+)-1-{2-[5-(tetra-hidro-furan-3-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina

1(+)-1-{2-[5-(tetra-hidro-furan-3-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina foi preparado de acordo com o modo descrito no exemplo de referência 2 e determinou-se ter LRMS (MH+) de 430,4. O racemato de 1-{2-[5-(tetra-hidro-furan-3-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina pode ser separado nos respectivos enantiómeros recorrendo a técnicas bem conhecidas dos com formação ordinária na técnica.

Exemplo 5

Preparação de 1-{2-[5-(3-metil-oxetan-3-ilmetil)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina

1-{2-[5-(3-metil-oxetan-3-ilmetil)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina foi preparado de acordo com o modo descrito no exemplo de referência 2 e determinou-se ter LRMS (MH+) de 444,4.

Exemplo 6

Preparação de 1-{2-[5-(tetra-hidro-piran-4-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina

1-{2-[5-(tetra-hidro-piran-4-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina foi preparado de acordo

com o modo descrito no exemplo de referência 2 e determinou-se ter LRMS (MH+) de 444,4.

DOCUMENTOS REFERIDOS NA DESCRIÇÃO

A lista de documentos referidos pelo autor do presente pedido de patente foi elaborada apenas para informação do leitor, não sendo parte integrante do documento de patente europeia. Não obstante o cuidado na sua elaboração, o IEP não assume qualquer responsabilidade por eventuais erros ou omissões.

Documentos de patente referidos na descrição

- EP 0566226 A1 [0005]
- EP 0602851 A1 [0005]
- EP 0635507 A1 [0005]
- EP 0635498 A1 [0005]
- EP 0520722 A1 [0005]
- WO 9220642 A [0005]
- WO 9616960 A [0005]
- WO 9609294 A [0005]
- WO 9730034 A [0005]
- WO 9802434 A [0005] [0043] [0045]
- WO 9802437 A [0005] [0044] [0045]
- WO 9802438 A [0005] [0044]
- WO 9916755 A [0005] [0044] [0056]
- WO 0140217 A [0005] [0056]
- WO 9633172 A [0039]
- WO 9627583 A [0039]
- EP 97304971 A [0039]
- EP 99308617 A [0039]
- WO 9807697 A [0039]
- WO 9803516 A [0039]
- WO 9834918 A [0039]

- WO 9834915 A [0039]
- WO 9833768 A [0039]
- WO 9830566 A [0039]
- EP 606046 A [0039]
- EP 931788 A [0039]
- WO 9005719 A [0039]
- WO 9952910 A [0039]
- WO 9952889 A [0039]
- WO 9929667 A [0039]
- WO 9801113 W [0039]
- EP 99302232 A [0039]
- GB 9912961 A [0039]
- US 60148464 B [0039]
- US 5863949 A [0039]
- US 5861510 A [0039]
- EP 780386 A [0039]
- WO 9519970 A [0043] [0045]
- WO 9814451 A [0043]
- US 5747498 A [0043]
- WO 9924440 A [0044]
- WO 9900797 W [0044]
- WO 9521613 A [0044]
- WO 9961422 A [0044]
- US 5834504 A [0044]
- WO 9850356 A [0044]
- US 5883113 A [0044]
- US 5886020 A [0044]
- US 5792783 A [0044]
- WO 9910349 A [0044]
- WO 9732856 A [0044]
- WO 9722596 A [0044]

- WO 9854093 A [0044]
- WO 9935146 A [0045]
- WO 9935132 A [0045]
- WO 9713760 A [0045]
- US 5587458 A [0045]
- US 5877305 A [0045]
- US 60117341 B [0045]
- US 60117346 B [0045]
- US 60113647 B [0046]
- US 5990146 A [0056]
- EP 239362 A [0074]

Literatura não relacionada com patentes referida na descrição

- J. Med. Chem., 1998, vol. 41, 5457-5465 [0005]
- J. Med. Chem., 1999, vol. 42, 2373-2382 [0005]
- Ishikawa, F. et al. Nature, 1989, vol. 338, 557-562 [0064]
- Westermark, Bengt. PNAS, 1990, vol. 87, 128-132 [0066]
- Waltenberger et al. J. Biol. Chem., 1994, vol. 269, 26988 [0070]
- Remington's Pharmaceutical Sciences. Mack Publishing Company, 1975 [0078]
- Carling. J. Med. Chem., 1999, vol. 42 (14), 2706 [0081]
- Mase. J. Org. Chem., 2001, vol. 66 (20), 6775 [0081]

Lisboa, 4/12/2009

REIVINDICAÇÕES

1. Composto seleccionado do grupo constituído por:
(±)-1-{2[5-(Tetra-hidro-furan-3-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina;
1-{2[5-(3-metil-oxetan-3-ilmetoxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina;
1-{2[5-(tetra-hidro-piran-4-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina e
os sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos e solvatos dos compostos anteriores.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1 seleccionado do grupo constituído por:
(+)-1-{2-[5-(tetra-hidro-furan-3-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina;
(-)1-{2-[5-(tetra-hidro-furan-3-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina;
e os sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos e solvatos dos compostos anteriores.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1 seleccionado do grupo constituído por:
1-{2-[5-(3-metil-oxetan-3-ilmetil)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina e
os sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos e solvatos dos compostos anteriores.

4. Composto de acordo com a reivindicação 1 seleccionado do grupo constituído por:

1-{2-[5-(tetra-hidro-piran-4-iloxi)-benzoimidazol-1-il]-quinolin-8-il}-piperidin-4-ilamina e
os sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos e solvatos dos compostos anteriores.

5. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, em que o sal mencionado é o sal benzenossulfonato.

6. Composto de acordo com a reivindicação 1 ou um seu sal farmaceuticamente aceitável destinado a utilização como medicamento.

7. Composto de acordo com a reivindicação 1 ou um seu sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato, destinado a utilização no tratamento do crescimento celular anómalo num mamífero.

8. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1 ou um seu sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato no fabrico de um medicamento destinado ao tratamento do crescimento celular anómalo num mamífero.

9. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1 ou um seu sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato no fabrico de um medicamento destinado ao tratamento de uma doença hiperproliferativa num mamífero em combinação com um agente anti-tumoral seleccionado do grupo constituído por inibidores mitóticos, agentes de alquilação, antimetabolitos, antibióticos intercalantes, inibidores do factor de crescimento,

inibidores do ciclo celular, enzimas, inibidores da topoisomerase, modificadores da resposta biológica, anti-hormonas, inibidores da angiogénese e anti-androgénicos.

10. Composição farmacêutica compreendendo uma quantidade de um composto da reivindicação 1 ou um seu sal farmaceuticamente aceitável ou hidrato e um veículo farmaceuticamente aceitável.

Lisboa, 4/12/2009