

(11) Número de Publicação: **PT 1580188 E**

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

(51) Classificação Internacional:

C07D 213/79 (2011.01) **C07D 213/81** (2011.01)

C07D 213/89 (2011.01) **A61K 31/44** (2011.01)

A61P 11/00 (2011.01) **A61P 19/00** (2011.01)

A61P 25/00 (2011.01) **A61P 29/00** (2011.01)

(22) Data de pedido: **2003.02.11**

(30) Prioridade(s): **2002.02.11 US 354937 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2005.09.28**

(45) Data e BPI da concessão: **2011.10.19**
018/2012

(73) Titular(es):

BAYER HEALTHCARE, LLC

555 WHITE PLAINS ROAD TARRYTOWN, 10591
NEW YORK US

(72) Inventor(es):

WILLIAM J. SCOTT

US

BERND RIEDL

DE

WENDY LEE

US

JACQUES DUMAS

US

DU-SCHIENG CHIEN

US

(74) Mandatário:

JOSÉ EDUARDO LOPES VIEIRA DE SAMPAIO

R DO SALITRE 195 RC DTO 1250-199 LISBOA

PT

(54) Epígrafe: **ARIL-UREIAS COMO INIBIDORES DE CINASES**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO TEM POR OBJECTO NOVAS ARIL-UREIAS DE FÓRMULA (I) E OS PROCESSOS PARA A SUA SÍNTESE. OS COMPOSTOS SÃO ÚTEIS PARA O TRATAMENTO DE (I) DOENÇAS MEDIADAS POR RAF, POR EXEMPLO, CANCRO, (II) DOENÇAS MEDIADAS POR P38 TAL COMO INFLAMAÇÃO E OSTEOPOROSE E (III) DOENÇAS MEDIADAS POR FCEV TAL COMO DISTÚRBIOS DE ANGIOGÉNESE.

RESUMO

ARIL-UREIAS COMO INIBIDORES DE CINASES

A presente invenção tem por objecto novas aril-ureias de fórmula (I) e os processos para a sua síntese. Os compostos são úteis para o tratamento de (i) doenças mediadas por raf, por exemplo, cancro, (ii) doenças mediadas por p38 tal como inflamação e osteoporose e (iii) doenças mediadas por FCEV tal como distúrbios de angiogénese.

DESCRIÇÃO

ARIL-UREIAS COMO INIBIDORES DE CINASE

Domínio da invenção

A presente invenção tem por objecto aril-ureias e processos para sua síntese. Os compostos da presente invenção são úteis no tratamento de

- (i) doenças mediadas por raf, por exemplo, cancro,
- (ii) doenças mediadas por p38 tais como inflamação e osteoporose e
- (iii) doenças mediadas por FCEV (*factor de crescimento endotelial vascular; VEGF em inglês*) como distúrbios da angiogénese.

Antecedentes da invenção

A activação da via de transdução do sinal Ras indica uma cascata de eventos que têm um profundo impacto na proliferação, diferenciação e transformação celulares. A cinase Raf, um efector a jusante de Ras, é um mediador-chave detes sinais a partir de receptores da superfície celular para os núcleos das células (Lowy, D. R.; Willumsen, B. M. *Ann. Rev. Biochem.* 1993, 62, 851; Bos, J. L. *Cancer Res.* 1989, 49, 4682). Tem sido demonstrado que a inibição do efeito de ras activo, por inibição da via de sinalização da cinase raf, pela administração de anticorpos para desactivar a cinase raf ou por co-expressão de cinase raf dominante negativa ou MEC (*metil-etil cinase ou butanona, em inglês MEK*) dominante negativa, o substrato da cinase raf, leva à reversão de células transformadas para o fenótipo de crescimento normal (ver: Daum et al. *Trends*

Biochem. Sci. 1994, 19, 474-80; Fridman et al. J. Biol. Chem. 1994, 269, 30105-8. Kolch et al. (Nature 1991, 349, 426-28), têm indicado ainda que a inibição da expressão de raf por ARN anti-paralelo bloqueia a proliferação celular nos oncogenes associados à membrana. Da mesma forma, a inibição da cinase raf (por oligodeoxinucleótidos anti-paralelos) tem sido correlacionada, *in vitro* e *in vivo*, com a inibição do crescimento de uma variedade de tipos de tumores humanos (Monia et al., Nat. Med. 1996, 2, 668-75). Assim, os inibidores, de moléculas pequenas, da actividade da cinase Raf são agentes importantes para o tratamento do cancro (Naumann, U.; Eisenmann-Tappe, I.; Rapp, U. R. Recent Results Cancer Res. 1997, 143, 237; Monia, B. P.; Johnston, J. F.; Geiger, T.; Muller, M.; Fabbro, D. Nature Medicine 1996, 2, 668).

A inibição de p38 tem demonstrado que inibe tanto a produção de citocinas (por exemplo, FNT- α , IL-1, IL-6, IL-8) como a produção de enzimas proteolíticas (por exemplo, MMP-1, MMP-3) *in vitro* e/ou *in vivo*. A proteína cinase activada por um agente mitogénico (PAM, *em inglês* MAP) está envolvido nas vias de sinalização de IL-1 e de FNT (Lee, J. C.; Laydon, J. T.; McDonnell, P. C.; Gallagher, T-F.; Kumar, S.; Green, D.; McNulty, D.; Blumenthal, M. J.; Heys, J. R.; Landvatter, S. W.; Stricker, J. E.; McLaughlin, M. M.; Siemens, I. R.; Fisher, S. M.; Livi, G. P.; White, J. R.; Adams, J. L.; Yound, P. R. Nature 1994, 372, 739).

Estudos clínicos têm ligado a produção e/ou a sinalização de FNT α a uma série de doenças, incluindo a artrite reumatóide (Maini. J. Royal Coll. Physicians London 1996, 30, 344). Além disso, níveis excessivos de FNT α têm sido implicados numa ampla variedade de doenças inflamatórias e/ou imunomoduladoras, incluindo febre

reumática aguda (Yegin et al. Lancet 1997, 349, 170), reabsorção óssea (Pacifichi et al. J. Clin. Endocrinol. Metabol. 1997, 82, 29), osteoperose da pós-menopausa (Pacifichi et al. J. Bone Mineral Res. 1996, 11, 1043), septicémia (Blackwell et al. Br. J. Anaesth. 1996, 77, 110), septicémia gram negativa (Debets et al. Prog. Clin. Biol. Res. 1989, 308, 463), choque séptico (Tracey et al. Nature 1987, 330, 662; Girardin et al. New England J. Med. 1988, 319, 397), choque endotóxico (Beutler et al. Science 1985, 229, 869; Ashkenasi et al Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 1991, 88, 10535), síndrome do choque tóxico, (Saha et al. J. Immunol. 1996, 157, 3869; Lina et al. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1996, 13, 81), síndrome da resposta inflamatória sistêmica (Anon. Crit. Care Med. 1992, 20, 864), doenças inflamatórias intestinais (Stokkers et al. J. Inflamm 1995-6, 47, 97) incluindo a doença de Crohn (van Deventer et al. Aliment. Pharmacol. Therapeu. 1996, 10 (Supl. 2), 107; van Dullemen et al. Gastroenterology 1995, 109, 129) e colite ulcerosa (Masuda et al. J. Clin. Lab. Immunol. 1995, 46, 111), reações de Jarisch-Herxheimer (Fekade et al. New England J. Med. 1996, 335, 311), asma (Amrani et al. Rev. Malad. Respir. 1996, 13, 539), síndrome da insuficiência respiratória do adulto (Roten et al. Am. Rev. Respir. Dis. 1991, 143, 590; Suter et al. Am. Rev. Respir. Dis. 1992, 145, 1016), doenças pulmonares fibróticas agudas (Pan et al. Pathol. Int. 1996, 46, 91), sarcoidose pulmonar (Ishioka et al. Sarcoidosis Vasculitis Diffuse Lung Dis. 1996, 13, 139), doenças respiratórias alérgicas (Casale et al. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1996, 15, 35), silicose (Gossart et al. J. Immunol. 1996, 156, 1540; Vanhee et al. Eur. Respir. J. 1995, 8, 834), pneumoconiose dos trabalhadores do carvão (Borm et al. Am. Rev. Respir. Dis. 1988, 138, 1589), lesão alveolar (Horinouchi et al. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1996, 14, 1044), insuficiência

hepática (Gantner et al. J. Pharmacol. Exp. Therap. 1997, 280, 53), doença hepática durante a inflamação aguda (Kim et al. J. Biol. Chem. 1997, 272, 1402), hepatite alcoólica grave (Bird et al. Ann. Intern. Med. 1990, 112, 917), malária (Grau et al, Immunol. Rev. 1989. 112, 49; Taverne et al. Parasitol. Today 1996, 12, 290) incluindo malária por *Plasmodium falciparum* (Perlmann et al. Infect. Immunit. 1997, 65, 116) e malária cerebral (Rudin et al. Am. J. Pathol. 1997, 150, 257), diabetes mellitus não dependente de insulina (NIDDM; Stephens et al J. Biol. Chem. 1997, 272, 971 ; Ofei et al. Diabetes 1996, 45, 881), insuficiência cardíaca (Doyama et al. Int. J. Cardiol. 1996, 54, 217 ; McMurray et al. Br. Heart J. 1991, 66, 356), insuficiência cardíaca congestiva (Malkiel et al. Mol. Med. Today 1996, 2, 336), aterosclerose (Parums et al. J. Pathol. 1996, 179, A46), doença de Alzheimer (Fagarasan et al. Brain Res. 1996, 723, 231; Aisen et al. Gerontology 1997, 43, 143), encefalite aguda (Ichiyama et al. J. Neurol. 1996, 243, 457), lesão cerebral (Cannon et al. Crit. Care Med. 1992, 20, 1414; Hansbrough et al. Surg. Clin. N. Am 1987, 67, 69; Marano et al. Surg. Gynecol. Obstetr. 1990, 170, 32), esclerose múltipla (M.S.; Coyle. Adv. Neuroimmunol. 1996, 6, 143; Matusevicius et al. J Neuroimmunol. 1996, 66, 115) incluindo desmielização e perda de oligodendrócitos na esclerose múltipla (Brosnan et al. Brain Pathol. 1996, 6, 243), cancro avançado (MucWierzgon et al. J. Biol. Regulators Homeostatic Agents 1996, 10, 25), neoplasias linfóides (Levy et al. Crit. Rev. Immunol. 1996, 16, 3 1), pancreatite (Exley et al. Gut 1992, 33, 1126) incluindo complicações sistémicas na pancreatite aguda (McKay et al Br. J. Surg. 1996, 83, 919), cicatrização prejudicada em inflamações infecciosas e cancro (Buck et al. Am. J. Pathol. 1996, 149, 195), síndromes mielodisplásicas (Raza et al Int. J. Hematol.

1996, 63, 265), lúpus eritematoso sistémico (Maury et al. Arthritis Rheum. 1989, 32, 146), cirrose biliar (Miller et al. Am. J. Gastroenterolog. 1992, 87, 465), necrose intestinal (Sun et al. J. Clin. Invest. 1988, 81, 1328), psoríase (Christophers. Austr. J Dermatol. 1996, 37, S4), lesões resultantes de radiação (Redlich et al. J. Immunol. 1996, 157, 1705) e toxicidade após a administração de anticorpos monoclonais tais como o OKT3 (Brod et al. Neurology 1996, 46, 1633). Os níveis de FNT α também têm sido relacionados com as reacções de hospedeiro-versus-enxerto (Piguet et al. Immunol. Ser. 1992, 56, 409) incluindo lesões isquémicas de reperfusão (Colletti et al. J. Clin Invest. 1989, 85, 1333) e rejeições do aloenxerto incluindo as do rim (Maury et al. J. Exp. Med. 1987, 166, 1132), fígado (Imagawa et al. Transplantation 1990, 50, 219), coração (Bolling et al. Transplantation 1992, 53, 283) e pele (Stevens et al. Transplant. Proc. 1990, 22, 1924), rejeição do alotransplante do pulmão (Grossman et al. Immunol. Allergy Clin. N. Am. 1989, 9, 153) incluindo rejeição crónica do alotransplante do pulmão (obliterative bronchitis; LoCicero et al. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 1990, 99, 1059), bem como as complicações devidas à substituição total da anca (Cirino et al. Life Sci. 1996, 59, 86). O FNT α também tem sido associado a doenças infecciosas (revisão: Beutler et al. Crit. Care Med. 1993, 21, 5423; Degre. Biotherapy 1996, 8, 219) incluindo a tuberculose (Rook et al. Med. Malad. Infect. 1996, 26, 904); infecção por *Helicobacter pylori* durante a úlcera péptica (Beales et al. Gastroenterology 1997, 112, 136), doença de Chaga resultante da infecção por *Trypanosoma cruzi* (Chandrasekar et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1996, 223, 365), efeitos da toxina semelhante a Shiga resultante da infecção por *E. coli* (Harel et al. J. Clin. Invest. 1992, 56, 40), os efeitos da enterotoxina A

resultantes de infecção por *Staphylococcus* (Fischer et al. J. Immunol. 1990, 144, 4663), infecção meningocócica (Waage et al. Lancet 1987, 355; Ossege et al. J. Neurolog. Sci 1996, 144; 1) e infecções por *Borrelia burgdorferi* (Brandt et al. Infect. Immunol. 1990, 58, 983), *Treponema pallidum* (Chamberlin et al. Infect. Immunol 1989, 57, 2872), citomegalovírus (CMV; Geist et al. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1997, 16, 31), vírus da gripe (Beutler et al. Clin. Res. 1986, 34, 491a), vírus Sendai (Goldfield et al. Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 1989, 87, 1490), vírus da encefalomielite de Theiler (Sierra et al. Immunology 1993, 78, 399) e o vírus da imunodeficiência humana (HIV; Poli. Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 1990, 87, 782; Vyakaram et al. AIDS 1990, 4. 21; Badley et al. J. Exp. Med. 1997, 185, 55).

Pensa-se que há um certo número de doenças mediadas por excesso de actividade ou por uma actividade indesejada da metaloprotease (MMP) que destrói a matriz ou por um desequilíbrio na relação entre as MMP e os inibidores teciduais das metaloproteinases (ITMP, em inglês TIMPs). Incluem osteoartrite (Woessner et al. J. Biol. Chem. 1984, 259, 3633), artrite reumatóide (Mullins et al. Biochim. Biophys-Acta 1983, 695, 117; Woolley et al. Arthritis Rheum. 1977, 20, 1231; Gravallesse et al. rthritis Rheum. 1991, 34, 1076), artrite séptica (Williams et al. Arthritis Rheum. 1990, 33, 533), metástases de tumor (Reich et al. Cancer Res. 1988, 48, 3307; Matrisian et al. Proc Nat'l. Acad. Sci., EUA 1986, 83, 9413), doenças periodontais (Overall et al. J. Periodontal Res. 1987, 22, 81), úlcera da córnea (Burns et al. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1989, 30, 1569), proteinúria (Baricos et al Biochem. J. 1988, 254, 609), trombose coronária da ruptura da placa aterosclerótica (Henney et al. Proc. Nat'l. Acad. Sci., EUA

1991, 88, 8154), doença da aorta aneurismática (Vine et al. Clin. Sci. 1991, 81, 233), controlo de natalidade (Woessner et al. Steroids 1989, 54, 491), epidermólise distrofóbica bolhosa (Kronberger et al. J. Invest. Dermatol. 1982, 79, 208), perda da cartilagem degenerativa após uma lesão traumática das articulações, osteopénias mediadas pela actividade de MMP, doença da articulação temporo-mandibular e doenças de desmielização do sistema nervoso (Chantry et al. J. Neurochem. 1988, 50, 688).

Como a inibição do p38 leva à inibição da produção do FNT α e da produção de MMP, a inibição da proteína cinase p38 activada por um agente mitogénico (PAM) a enzima providencia uma abordagem ao tratamento das doenças listadas antes, incluindo a osteoporose e doenças inflamatórias como a artrite reumatóide e DPOC (Badger, A. M.; Bradbeer, J. N.; Votta, B.; Lee, J. C.; Adams. J. L.; Griswold, D. E. J. Pharm. Exper. Ther. 1996, 279, 1453).

A vasculogénese envolve a formação *de novo* dos vasos sanguíneos a partir de precursores de células endoteliais ou angioblastos. As primeiras estruturas vasculares no embrião são formadas por vasculogénese. A angiogénese envolve o desenvolvimento de capilares dos vasos sanguíneos existentes e é o principal mecanismo pelo qual os órgãos, tais como o cérebro e os rins, são vascularizados. Embora a vasculogénese seja restrita ao desenvolvimento embrionário, a angiogénese pode ocorrer no adulto, por exemplo, durante a gravidez, o ciclo menstrual ou a cicatrização de feridas.

Um dos principais reguladores da angiogénese e da vasculogénese tanto no desenvolvimento embrionário como nalgumas doenças dependentes da angiogénese é o factor de crescimento endotelial vascular (FCEV, também chamado

factor de permeabilidade vascular, FPV). O FCEV representa uma família de isoformas de agentes mitogénicos existentes em formas homodiméricas devido a excisão-união alternativa do ARN. As isoformas do FCEV são altamente específicas para as células endoteliais vasculares (para revisões, ver: Farrara et al. *Endocr. Rev.* 1992, 13, 18; Neufield et al. *FASEB J.* 1999, 13, 9). A expressão do FCEV é induzida por hipóxia (Sbweiki et al. *Nature* 1992, 359, 843), bem como por uma variedade de citocinas e factores de crescimento, tal como a interleucina-1, a interleucina-6, o factor de crescimento epidérmico e o factor de transformação do crescimento.

Até à data, o FCEV e os membros da família do FCEV têm sido relatados por se ligarem a uma ou mais das três cinases da transmembrana do receptor de tirosina (Mustonen et al. *J. Cell Biol.*, 1995, 129, 895), o receptor 1 de FCEV (também conhecido como *flt-1* (tirosina-cinase-1 como fins)), R-2 de FCEV (também conhecido como um domínio de inserção da cinase contendo o receptor (DCR, *em inglês KDR*); o análogo de murino do DCR é conhecido como cinase 1 do fígado fetal (*fik-1*) e R-3 de FCEV (também conhecido como *flt-4*). DCR e *flt-1* têm demonstrado que têm propriedades diferentes de transdução do sinal (Waltenberger et al. *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 26988); Park et al. *Oncogene* 1995, 10, 135). Assim, o DCR sofre uma forte fosforilação da tirosina, dependente do ligando, nas células intactas, enquanto o *flt-1* exibe uma resposta fraca. Assim, a ligação ao DCT é um requisito crítico para a indução de todo o espectro de respostas biológicas mediadas por FCEV.

In vivo, o FCEV desempenha um papel central na vasculogénese e induz a angiogénese e a permeabilização dos

vasos sanguíneos. Uma expressão desregulada de FCEV contribui para o desenvolvimento de um certo número de doenças que são caracterizada por angiogéneses anormal e/ou por processos de hiperpermeabilidade. A regulação da cascata de transdução do sinal mediada por FCEV irá assim providenciar um modo útil para o controlo de angiogénese anormal e/ou processos de hiperpermeabilidade.

A angiogénese é considerada como um pré-requisito absoluto para o crescimento de tumores para além de cerca de 1-2 mm. Pode fornecer-se oxigénio e nutrientes às células em tumores menores que este limite através da difusão. No entanto, cada tumor é dependente da angiogénese para o crescimento continuado depois de ter atingido um determinado tamanho. As células tumorigénicas, dentro das regiões hipóxicas dos tumores, respondem por estimulação da produção de FCEV, o que estimula a activação de células endoteliais quiescentes para estimular a formação de novos vasos sanguíneos. (Shweiki et al. Proc. Nat'l. Acad. Sci., 1995, 92, 768). Além disso, a produção de FCEV em regiões do tumor onde não há angiogénese pode prosseguir através da via de transdução de sinais ras (Grugel et al. J. Biol. Chem, 1995, 270, 25915; Rak et al. Cancer Res. 1995, 55, 4575). Estudos de hibridação *in situ* têm demonstrado que o ARNm de FCEV é fortemente estimulado numa vasta variedade de tumores humanos, incluindo nos carcinomas do pulmão (Mattern et al- Br. J. Cancer 1996, 73, 931), tiróide (Viglietto et al, Oncogene 1995, 11, 1569), mama (Brown et al. Human Pathol. 1995, 26, 86), tracto gastrointestinal (Brown et al. Cancer Res. 1993, 53. 4727; Suzuki et al. Cancer Res. 1996, 56, 3004), rim e bexiga (Brown et al. Am. J. Pathol. 1993, 143I, 1255), ovários (Olson et al. Cancer Res. 1994, 54, 1255) e cervical (Guidi et al. J. Nat'l Cancer Inst. 1995, 87, 12137), assim como no angiossarcoma

(Hashimoto et al. *Lab. Invest* 1995, 73, 859) e em vários tumores intracranianos (Plate et al. *Nature* 1992, 359, 845; Phillips et al. *Int. J. Oncol.* 1993, 2, 913; Berkman et al. *J. Clin. Invest.*, 1993, 91, 153). A neutralização de anticorpos monoclonais de DCR tem mostrado ser eficaz no bloqueio da angiogénese do tumor (Kim et al. *Nature* 1993, 362, 841; Rockwell et al. *Mol. Cell. Differ.* 1995, 3, 315).

A super-expressão de FCEV, por exemplo, em condições de hipóxia extrema, pode levar à angiogénese intra-ocular, resultando em hiperproliferação dos vasos sanguíneos, levando eventualmente à cegueira. Essa cascata de eventos tem sido observada num certo número de retinopatias, incluindo retinopatia diabética, oclusão isquémica da veia da retina, retinopatia da prematuridade (Aiello et al. *New Engl. J. Med.* 1994, 331, 1480; Peer et al. *Lab. Invest.* 1995, 72, 638) e degeneração macular relacionada com a idade (DMI, AMD em inglês; ver, Lopez et al. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1996, 37, 855).

Na artrite reumatóide (AR), o crescimento do pannus vascular pode ser mediado pela produção de factores angiogénicos. Os níveis de FCEV imunorreactivo são altos no fluido sinovial de pacientes com AR, enquanto os níveis de FCEV são baixas no líquido sinovial de pacientes com outras formas de artrite ou com doença articular degenerativa (Koch et al. *J. Immunol.* 1994, 152, 4149). O inibidor de angiogénese AGM-170 tem mostrado que impede a neovascularização da articulação no modelo de artrite do colagénico de ratos (Peacock et al. *J. Exper. Med.* 1992, 175, 1135).

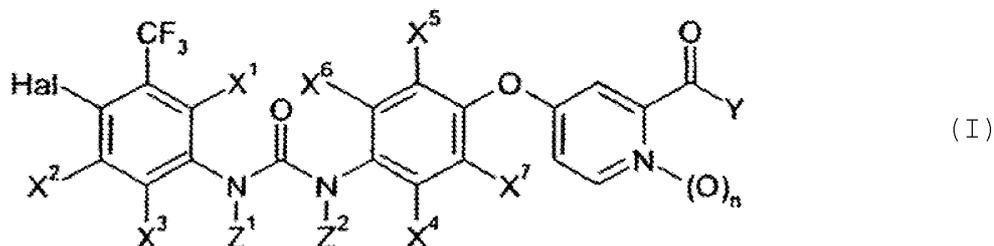
O aumento da expressão do FCEV também tem sido exibido na pele psoriática, assim como em distúrbios bolhosos

associados à formação de bolhas subepidérmicas, como penfigóide bolhoso, eritema multiforme e dermatite herpetiforme (Brown et al. J. Invest. Dermatol. 1995, 104, 744).

Como a inibição do DCR leva à inibição da angiogénese e à permeabilização mediadas pelo FCEV, os inibidores de DCR serão úteis no tratamento de doenças caracterizadas por angiogénese anormal e/ou processos de hiperpermeabilidade, incluindo as doenças listadas antes.

Sumário da invenção

A presente invenção tem por objecto um composto de fórmula (I)



em que

Y representa OR^1 ou NHR^2 ,

Hal representa cloro ou bromo,

R^1 representa H ou alquilo C_1-C_6

R^2 representa H, OH, CH_3 ou CH_2OH ,

Z^1 e Z^2 representam, cada um, H ou OH, em que apenas um de Z^1 ou Z^2 pode representar OH.

X^1 a X^7 representam, cada um, independentemente, H, OH ou $O(CO)$ -alquilo C_1-C_4 e

n representa 0 ou 1,

com a ressalva de que pelo menos uma das condições a-c seja

preenchida,

a) Z^1 ou Z^2 representa OH,

b) R^2 representa OH,

c) n representa 1

ou um seu sal, por exemplo, um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico ou um seu estereoisómero isolado (colectivamente denominados a seguir como os compostos da presente invenção). O termo estereoisómero é entendido como abrangendo diastereoisómeros, enantiómeros, isómeros geométricos, etc.

Um especialista na matéria reconhecerá que alguns dos compostos de fórmula (I) podem existir em diferentes formas geométricas isoméricas. Além disso, alguns dos compostos da presente invenção possuem um ou mais átomos de carbono assimétricos e são, portanto, capazes de existirem sob a forma de isómeros ópticos, bem como sob a forma de misturas racémicas ou não racémicas e na forma de diastereoisómeros e misturas diastereoméricas. Todos estes compostos, incluindo os isómeros *cis*, os isómeros *trans*, as misturas de diastereómeros, racematos, as misturas de enantiómeros não racémicas, enantiómeros puros e praticamente puros, são considerados dentro do âmbito da presente invenção. Aqui, enantiómeros praticamente puros pretende significar que não está presente mais que 5 % p/p do enantiómero oposto correspondente.

Os isómeros ópticos podem obter-se pela resolução de misturas racémicas, de acordo com os processos convencionais, por exemplo, pela formação de sais diastereoisoméricos usando um ácido ou uma base opticamente activos. Exemplos de ácidos apropriados são os ácidos tartárico, diacetiltartárico, dibenzoiltartárico, di-

toluoiltartárico e canforsulfónico. As misturas de diastereoisómeros podem ser separadas nos seus diastereoisómeros individuais com base nas suas diferenças físico-químicas, por processos conhecidos dos especialistas na técnica, por exemplo, por cromatografia ou cristalização fraccionada. As bases ou os ácidos opticamente activos são libertados a partir dos sais diastereoméricos separados. Um processo diferente, para a separação de isómeros ópticos, envolve o uso de uma coluna de cromatografia quiral (por exemplo, colunas quirais de CLAR) escolhidas de forma otimizada para maximizar a separação dos enantiómeros. As colunas quirais de CLAR apropriadas são fabricadas pela Diacel, por exemplo Chiracel OD e Chiracel OJ. Os compostos opticamente activos, de fórmula (I), pode também ser obtidos através da utilização de matérias-primas opticamente activas.

Considerando os compostos da presente invenção em que n representa 1. Estes compostos incluem particularmente os compostos da presente invenção em que n representa 1 na fórmula (I), Y representa NHR^2 e R^2 representa H ou CH_3 , os compostos da presente invenção em que n representa 1, na fórmula (I) e X^1 a X^7 representam cada um H, os compostos da presente invenção em que n representa 1 na fórmula (I) e Z^1 e Z^2 representam, cada um, H, compostos da presente invenção em que n representa 1 na fórmula (I) e Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H, os compostos da presente invenção em que n representa 1 na fórmula (I) e pelo menos um de X^1 a X^7 representa OH ou O(CO)-alquilo C_1-C_4 , os compostos da presente invenção em que n representa 1 na fórmula (I), Y representa NHR^2 e R^2 representa CH_2OH , os compostos da presente invenção em que n representa 1 na fórmula (I), Y representa NHR^2 e R^2 representa OH e os compostos da

presente invenção em que n representa 1 na fórmula (I) e Y representa OH.

Outros compostos da presente invenção, de interesse, são aqueles em que, na fórmula (I), Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H. Incluem, particularmente, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I) Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H e n representa 0, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H, n representa 0, Y representa NHR^2 e R^2 representa H ou CH_3 , os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H e n representa 0 e X^1 a X^7 representam, cada um, H, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H e n representa 0 e pelo menos um de X^1 a X^7 representa OH ou O(CO)-alquilo C_1 - C_4 , os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H, n representa 0, Y representa NHR^2 e R^2 representa CH_2OH , os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H, n representa 0. Y representa NHR^2 e R^2 representa OH e os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H e n representa 0 e Y representa OH.

Outros compostos da presente invenção de interesse são aqueles em que, na fórmula (I), Y representa NHR^2 e R^2 representa OH. Estes compostos incluem, particularmente, os compostos da presente invenção em que na fórmula (I), Y

representa NHR^2 e R^2 representa OH e n representa 0, os compostos da presente invenção em que na fórmula (I), Y representa NHR^2 e R^2 representa OH e n representa 0 e X^1 a X^7 representam, cada um, H, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Y representa NHR^2 e R^2 representa OH e n representa 0 e Z^1 e Z^2 representam, cada um, H, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Y representa NHR^2 e R^2 representa OH e n representa 0 e Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H e os compostos da presente invenção em que na fórmula (I) Y representa NHR^2 e R^2 representa OH e n representa 0 e pelo menos um de X^1 a X^7 representa OH ou O(CO)alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$.

Compostos da presente invenção de interesse são também aqueles em que, na fórmula (I), Y representa OH. Estes compostos incluem, particularmente, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Y representa OH e n representa 0, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Y representa OH e n representa 0 e X^1 a X^7 representam, cada um, H, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Y representa OH e n representa 0 e Z^1 e Z^2 representam, cada um, H, os compostos da presente invenção em que na fórmula (I), Y representa OH e n representa 0 e Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H e os compostos da presente invenção em que, na fórmula (I), Y representa OH e n representa 0 e pelo menos um de X^1 a X^7 representa OH ou O(CO)alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$.

Os compostos particularmente preferidos incluem:

1-óxido de 4-{4-[[4-cloro-3-(trifluorometil)-fenil]-amino]carbonil}amino]fenoxi}-N-metil-2-piridino-carboxamida.

1-óxido de 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]-amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridino-carboxamida.

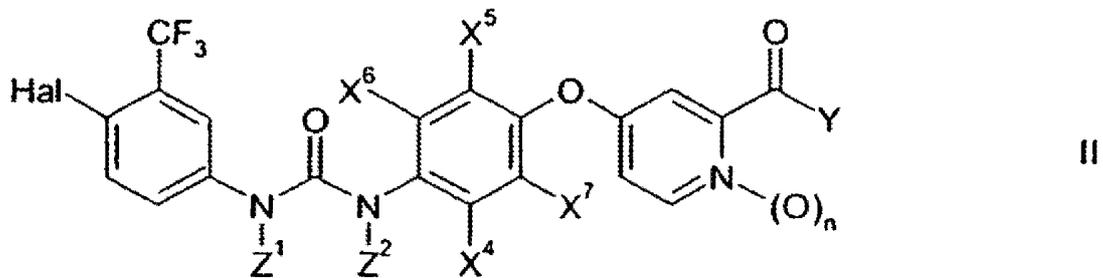
1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-amino}carbonil)amino]fenoxi}-2-piridina-carboxamida.

1-óxido de 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]-amino}carbonil)amino]fenoxi}-2-piridina-carboxamida.

1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-hidroximetil-2-piridino-carboxamida.

1-óxido de 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]-amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-hidroximetil-2-piridino-carboxamida e os seus sais, estereoisómeros e pró-fármacos.

Um subgrupo dos compostos da presente invenção que tem interesse inclui os compostos de fórmula (II) ou um seu sal ou estereoisómero



em que,

Y representa OR^1 ou NHR^2 ,

Hal representa cloro ou bromo,

R^1 representa H ou alquilo C_1-C_6

R^2 representa H, OH, CH_3 ou CH_2OH ,

Z^1 e Z^2 representam, cada um H ou OH, em que apenas um de Z^1 ou Z^2 pode representar OH,

X^2 a X^7 representam, cada um, independentemente, H, OH ou O(CO)-alquilo C_1-C_4 e
n representa 0 ou 1,

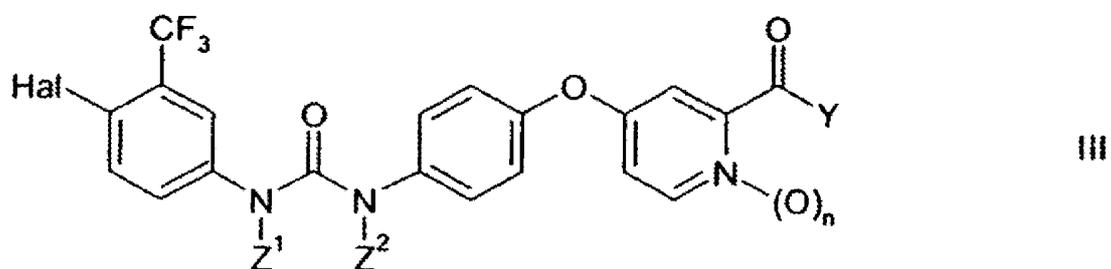
com a ressalva de que pelo menos uma das condições a-c seja preenchida,

- a) Z^1 ou Z^2 representa OH,
- b) R^2 representa OH,
- c) n representa 1.

Incluem os compostos da presente invenção em que, na fórmula (II), n representa 1, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (II), n representa 1 e Z^1 e Z^2 representam, cada um, H, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (II), n representa 1, Z^1 e Z^2 representam H e pelo menos um de X^4 a X^7 representa OH, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (II), n representa 1, Z^1 e Z^2 representam H e Y representa NHR^2 e R^2 representa H ou CH_3 , os compostos da presente invenção em que, na fórmula (II), n representa 0, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (II), n representa 0 e Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (II), n representa 0, Z^1 e Z^2 representam, cada um, H e pelo menos um de X^4 a X^7 representa OH, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (II), n representa 0 e Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H e pelo menos um de X^4 a X^7 representa OH, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (II), n representa 0 e Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H e Y representa NHR^2 e R^2 representa H ou CH_3 , os compostos da presente invenção em que na fórmula (II) n representa 0 e Z^1 representa H e Z^2

representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H, Y representa NHR^1 , R^2 representa OH e os compostos da presente invenção em que na fórmula (II), Y representa NHR^2 , R^2 representa OH, n representa 0 e pelo menos um de X^4 a X^7 representa OH.

Um outro subgrupo dos compostos da presente invenção que tem interesse inclui compostos de fórmula (III) ou um seu sal ou um seu estereoisómero isolado



em que,

- Y representa OR^1 ou NHR^2 ,
- Hal representa cloro ou bromo,
- R^1 representa H ou alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$
- R^2 representa H, OH, CH_3 ou CH_2OH ,
- Z^1 e Z^2 representam, cada um, H ou OH, em que apenas um de Z^1 ou Z^2 pode representar OH e
- n representa 0 ou 1,

com a ressalva de que pelo menos uma das condições a-c seja verificada,

- a) Z^1 ou Z^2 representam OH,
- b) R^2 representa OH,
- c) n representa 1.

Incluem compostos da presente invenção em que, na fórmula (III), n representa 1 e Z¹ e Z² representam, cada um, H, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (III), n representa 1, Z¹ e Z² representam, cada um, H, Y representa NHR² e R² representa H ou CH₃, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (III), n representa 0 e Z¹ representa H e Z² representa OH ou Z¹ representa OH e Z² representa H, os compostos da presente invenção em que, na fórmula (III), n representa 0, Z¹ representa H e Z² representa OH ou Z¹ representa OH e Z² representa H, Y representa NHR² e R² representa H ou CH₃ e os compostos da presente invenção em que, na fórmula (III), Y representa OH.

A presente invenção ainda tem por objecto processos e métodos para preparar os novos compostos da presente invenção. Tais processos e métodos incluem, mas não se limitam à oxidação do anel de piridilo de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida e 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida para os seus correspondentes 1-óxidos de piridina, a oxidação formal de qualquer um dos azotos da ureia dos compostos da presente invenção para uma N-hidroxiureia, a oxidação de qualquer uma das posições representadas por X¹ a X⁷ dos compostos da presente invenção em que um átomo de hidrogénio é substituído por um grupo hidroxilo, a hidroxilação das N-metil-amidas da 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)-amino]fenoxi}-N-metil-2-piridino-carboxamida e 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-amino-piridina-carboxamida nas correspondente hidroximetil-amidas, a hidroxilação das referidas N-metil-amidas em ácidos hidroxâmicos, a desmetilação das referidas

N-metil-amidas em amidas insubstituídas, a hidrólise das referidas N-metil-amidas em ácidos carboxílicos e as suas combinações. Além disso, a presente invenção tem por objecto a esterificação de grupos hidroxilo nas posições X¹ a X⁷, por exemplo, acetatos.

Os processos de interesse incluem um processo para preparar 1-óxido de carboxamida e 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina ou 1-óxido de carboxamida e 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonilo)amino]fenoxi}-N-metil-2-apiridina ou um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico ou um seu estereoisómero isolado compreendendo a oxidação de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina ou 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)carboxamida]fenoxi}-N-metil-2-amino-piridina nos correspondentes 1-óxidos de piridina e um processo para preparar 1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}2-piridina e carboxamida ou 1-óxido de 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil}aminocarbonil)amino]fenoxi}2-piridina e carboxamida ou um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico ou um seu estereoisómero isolado compreendendo a oxidação de 4-(4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)-amino]fenoxi)-2-piridina-carboxamida ou 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-2-carboxamida nos 1-óxidos de piridina correspondentes.

Os compostos preparados por estes processos estão incluídos na presente invenção. Também estão incluídos os compostos obtidos por transformação, incluindo a transformação metabólica de 4-(4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino-carbonil})amino]fenoxi)-N-metil-2-

piridina-carboxamida ou 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida, quer para:

- a) substituir um ou mais dos hidrogénios do fenilo com um grupo hidroxilo,
- b) hidroxilar a N-metil-amida numa hidroximetil-amida ou num ácido hidroxâmico,
- c) desmetilar a N-metil-amida numa amida insubstituída,
- d) oxidar um ou mais dos azotos da ureia de =NH para =NOH,
- e) hidrolisar a N-metil-amida num ácido carboxílico,
- f) oxidar o azoto da piridina para piridina-1-óxido ou
- g) uma combinação de a-f,

com a ressalva de que se realiza pelo menos uma das etapas b), d) e f) .

São de particular interesse os compostos obtidos por transformação, incluindo a transformação metabólica de 4-(4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino-carbonil})-amino]fenoxi)-N-metil-2-piridina-carboxamida ou 4-{4-[[[4-bromo-3-N-metil-2-piridina-carboxamida, quer para:

- a) hidroxilar a N-metil-amida numa hidroximetil-amida ou num ácido hidroxâmico,
- b) desmetilar a N-metil-amida numa amida insubstituída,
- c) oxidar um ou mais dos azotos da ureia de =NH para =NOH,
- d) hidrolisar a N-metil-amida num ácido carboxílico,
- e) oxidar o azoto da piridina para piridina-1-óxido ou
- f) uma combinação de a-e,

com a ressalva de que se realiza pelo menos uma das etapas

a), c) e e). Entende-se que o termo "piridina-1-óxido", utilizado ao longo do documento inclui 1-oxo-piridina e 1-hidroxi-piridina e que, para os efeitos deste documento, os três termos são considerados intermutáveis. Por exemplo, o ChemInnovation Software, Inc. Nomenclator™ v. 3.01 identifica compostos de fórmula III em que Y = NHCH₃, Hal= Cl, Z¹ e Z⁷ - H e n=1, desenhado nos ChemDraw, como N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]({4-[1-hidroxi-2-(N-metil-carbamoil)(4-piridiloxi)]fenil}amino)carboxamida.

A presente invenção ainda tem por objecto uma composição farmacêutica compreendendo um ou mais dos compostos da presente invenção.

Incluem uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade eficaz de pelo menos um composto da presente invenção e um veículo aceitável sob o ponto de vista fisiológico. É dada preferência a uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade eficaz de 1-óxido de 4-{4-[(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)amino]carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida, 1-óxido de 4-(4-[(4-bromo-3-(trifluorometil)fenil)amino]carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida, 1-óxido de 4-{4-[(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)amino]carbonil)amino]fenoxi}2-piridina-carboxamida ou 1-óxido de 4-4-[(4-bromo-3-(trifluorometil)fenil)amino]amino]fenoxi}2-piridina-carboxamida ou um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, um estereoisómero isolado ou uma mistura dos mesmos e um veículo aceitável sob o ponto de vista fisiológico.

Os sais, aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, destes compostos estão também dentro do âmbito da presente invenção.

Os sais da presente invenção são especialmente os sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico dos compostos de fórmula (I), tais como, por exemplo, sais de adição de ácidos orgânicos ou inorgânicos dos compostos de fórmula (I). Os ácidos inorgânicos apropriados incluem, mas não se limitam aos ácidos de halogéneos (como o ácido clorídrico), ácido sulfúrico ou ácido fosfórico. Os ácidos orgânicos apropriados incluem, mas não se limitam aos ácidos carboxílico, fosfônico, sulfônico ou sulfâmico, com os exemplos incluindo ácido acético, ácido propiônico, ácido octanóico, ácido decanóico, ácido dodecanóico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido 2- ou 3-hidroxi-butírico, ácido γ -aminobutírico (GABA), ácido glucónico, ácido glicose-monocarboxílico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azeiaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido glucárico, ácido galactárico, aminoácidos (tal como ácido glutâmico, ácido aspártico, N-metilglicina, ácido acetilaminoacético, N-acetilaspargina ou N-acetilcisteína), ácido pirúvico, ácido acetoacético, ácido metano-sulfônico, ácido 4-tolueno-sulfônico, ácido benzeno-sulfônico, fosfoserina e ácido 2- ou 3-glicerofosfórico.

A formação de pró-fármacos é bem conhecida na técnica, para melhorar as propriedades do composto original; tais propriedades incluem solubilidade, absorção, bio-estabilidade e tempo de libertação (ver "Pharmaceutical Dosage Form and Drug Delivery Systems" (6ª edição), editada por Ansel et al., publicada por Williams & Wilkins, páginas 27-29, (1995)). Os pró-fármacos normalmente utilizados para os compostos de oxazolil-fenil-2,4-diamino-pirimidina descritos são concebidos para tirar proveito das principais reacções de biotransformação de fármacos e também devem ser considerados dentro do âmbito da presente invenção. As

principais reacções de biotransformação de fármacos incluem N-desalquilação, O-desalquilação, hidroxilação alifática, hidroxilação aromática, N-oxidação, S-oxidação, desaminação, reacções de hidrólise, glicuronidação, sulfatação e acetilação (ver Goodman e Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (nona edição), editor Molinoff et al., publ. por McGraw-Hill, páginas 11-13, (1996)).

A presente invenção também tem por objecto a utilização de um composto da presente invenção ou de uma composição farmacêutica contendo um composto da presente invenção para o fabrico de um medicamento para tratar e prevenir doenças, por exemplo, doenças inflamatórias e angiogénese e osteoporose em mamíferos.

Isto inclui a utilização de uma quantidade eficaz de um composto da presente invenção para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de osteoporose, inflamação e distúrbios da angiogénese (excepto o cancro) num mamífero. É dada preferência à utilização de uma quantidade eficaz de 1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]-fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida, 1-óxido de 4-(4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]-fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida, 1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]-fenoxi}2-piridina-carboxamida ou 1-óxido de 4-4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil}]amino-carbonil)amino]-fenoxi}2-piridina-carboxamida ou um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, um seu estereoisómero isolado ou uma sua mistura, para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de osteoporose, inflamação e distúrbios da angiogénese (excepto o cancro) num mamífero.

A presente invenção também tem por objecto a utilização de um composto da presente invenção ou de uma composição farmacêutica contendo um ou mais compostos da presente invenção, em combinação com um agente citotóxico, para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de cancro ou de outros distúrbios hiperproliferativos.

Isto inclui a utilização de uma quantidade eficaz de um composto da presente invenção para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de distúrbios hiperproliferativos num mamífero. É dada preferência à utilização de uma quantidade eficaz de 1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]-fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida, 1-óxido de 4-(4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]-fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida, 1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]-fenoxi}2-piridina-carboxamida ou 1-óxido de 4-4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil}]amino-carbonil)amino]-fenoxi}2-piridina-carboxamida ou um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, um seu estereoisómero isolado ou uma sua mistura para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de um distúrbio hiperproliferativo num mamífero.

Pode-se administrar, a um mamífero, um ou mais compostos ou composições adicionais, tais como, por exemplo, um composto ou uma composição anticancro, que não é um composto nem uma composição de acordo com a presente invenção, que é, de preferência, um composto ou uma composição citotóxicos. A composição farmacêutica também inclui uma quantidade eficaz de 1-óxido de 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-

N-metil-2-piridina-carboxamida, 1-óxido de 4-(4-(((4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino)carbonil)amino]fenoxi)-N-metil-2-piridina-carboxamida, 1-óxido de 4-{4-(((4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]-fenoxi}2-piridina-carboxamida ou 1-óxido de 4-4-(((4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]}amino-carbonil)amino]-fenoxi}2-piridina-carboxamida ou um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, um seu estereoisômero isolado ou uma sua mistura em conjunto com um composto ou uma composição citotóxicos.

Os agentes anti-proliferativos opcionais que podem ser adicionados à composição incluem, mas não se limitam a compostos listados nos regimes de quimioterapia do cancro na 11^a edição do Índice Merck, (1996), tal como asparaginase, bleomicina, carboplatina, carmustina, clorambucilo, cisplatina, colaspase, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina (adriamicina), epirubicina, etopósido, 5-fluorouracilo, hexametilmelamina, hidroxíureia, ifosfamida, irinotecano, leucovorina, lomustina, mecloretamina, 6-mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, prednisolona, prednisona, procarbazona, raloxifeno, estreptozocina, tamoxifeno, tioguanina, topotecano, vinblastina, vincristina e vindesina.

Outros agentes anti-proliferativos adequados para serem utilizados com a composição da presente invenção incluem, mas não se limitam aos compostos conhecidos por serem usados no tratamento de doenças neoplásicas em Goodman e Gilman The Pharmacological Basis of Therapeutics (nona edição), editor Molinoff et al., publ. por McGraw-Hill, páginas 1225-1287, (1996), tal como aminoglutetimida, L-asparaginase, azatioprina, 5-azacitidina-cladribina,

bussulfarto, dietilestilbestrol, 2',2'-difluoro-desoxi-citidinas, docetaxel, eritro-hidroxinoniladenina, etinil-estradiol, 5-fluorodesoxiuridina, monofosfato de 5-fluoro-desoxiuridina, fosfato de fludarabina, fluoximesterona, flutamida, caproato de hidroxiprogesterona, idarrubicina, interferão, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalano, mitotano, paclitaxel, pentostatina, N-fosfonoacetil-L-aspartate (PALA), plicamicina, semustina, tenipósido, propionato de testosterona, tiotepa, trimetil-melamina, uridina e vinorelbina.

Outros agentes anti-proliferativos adequados para serem utilizados com a composição da presente invenção incluem, mas não se limitam a outros agentes anticancerígenos, tais como oxaliplatina, gencitabona, gefinitib, taxotero, BCNU, CCNU, DTIC, ara A, ara C, herceptina, actinomicina D, epotilona, irinotecano, raloxifeno e topotecanos.

Descrição do tratamento de distúrbios hiperproliferativos

O cancro e as doenças hiperproliferativas são definidos como se segue. Estes distúrbios incluem, mas não se limitam a tumores sólidos, como os cancros da mama, do tracto respiratório, do cérebro, dos órgãos reprodutores, do aparelho digestivo, do aparelho urinário, dos olhos, do fígado, da pele, da cabeça e pescoço, da tiróide, da paratiróide e as suas metástases à distância. Essas doenças também incluem linfomas, sarcomas e leucemias.

Exemplos de cancro de mama incluem, mas não se limitam a carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, carcinoma ductal *in situ* e carcinoma lobular *in situ*.

Exemplos de cancros do tracto respiratório incluem, mas não se limitam a carcinoma do pulmão de células pequenas e

carcinoma do pulmão de células não pequenas, bem como adenoma brônquico e blastoma pleuropulmonar.

Exemplos de cancros cerebrais incluem, mas se limitam a glioma do tronco cerebral e hipofitálmico, astrocitoma cerebelar e cerebral, meduloblastoma, ependimoma, bem como tumor neuroectodérmico e pineal.

Os tumores dos órgãos reprodutores masculinos incluem, mas não se limitam ao cancro da próstata e dos testículos.

Os tumores dos órgãos reprodutores femininos incluem, mas não se limitam a cancro endometrial, cervical, do ovário, vaginal e vulvar, bem como sarcoma do útero.

Tumores do tracto digestivo incluem, mas não se limitam a cancro anal, do cólon, colo-rectal, do esófago, da vesícula biliar, gástrico, pancreático, rectal, do intestino delgado e cancro das glândulas salivares.

Os tumores do tracto urinário incluem, mas não se limitam a cancro da bexiga, do pénis, dos rins, do bacinete e dos ureteres.

Os cancros oculares incluem, mas não se limitam a melanoma intra-ocular e retinoblastoma.

Exemplos de cancros do fígado incluem, mas se limitam a carcinoma hepatocelular (carcinomas das células do fígado com ou sem variante fibrolamelar), colangiocarcinoma (carcinoma do ducto biliar intra-hepático) e colangiocarcinoma hepatocelular misto.

Os cancros de pele incluem, mas não se limitam a carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma maligno, cancro de pele das células de Merkel e cancro de pele não melanoma. Os cancros da cabeça e do pescoço incluem, mas não se limitam a cancros da laringe/hipofaringe/nasofaringe/orofaringe e cancro dos lábios e da cavidade oral.

Os linfomas incluem, mas não se limitam a linfoma relacionado com a SIDA linfoma, linfoma não Hodgkin, linfoma cutâneo das células T, doença de Hodgkin e linfoma

do sistema nervoso central.

Os sarcomas incluem, mas não se limitam a sarcoma dos tecidos moles, osteossarcoma, histiocitoma fibroso maligno, linfossarcoma e rabdomyossarcoma. As leucemias incluem, mas não se limitam a leucemia mielóide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crônica, leucemia mielóide crônica e leucemia de células pilosas.

Esses distúrbios têm sido bem caracterizados no homem, mas também existem com etiologia semelhante em outros mamíferos.

Geralmente, o uso de agentes citotóxicos e/ou citostáticos, em combinação com inibidores da cinase raf de um composto de aril-ureia, servirá para (1) originar uma melhor eficácia na redução do crescimento de um tumor ou mesmo eliminar o tumor em comparação com a administração de qualquer agente sozinho, (2) providenciar a administração de quantidades menores dos agentes quimioterapêuticos administrados, (3) providenciar um tratamento quimioterapêutico que é bem tolerado pelos pacientes, com menos complicações farmacológicas nocivas do que as observadas com quimioterapias com um único agente quimioterapêutico e outras terapias combinadas (4) providenciar o tratamento de um largo espectro de diferentes tipos de cancro em mamíferos, especialmente em seres humanos, (5) providenciar uma maior taxa de resposta entre os pacientes tratados, (6) providenciar um tempo de sobrevivência mais longo dos pacientes tratados, em comparação com os tratamentos padrão de quimioterapia, (7) providenciar mais tempo para a progressão do tumor e/ou (8) produzir resultados eficazes e com tolerabilidade, pelo menos tão bons quanto os dos agentes usados isoladamente, em comparação com casos conhecidos em que combinações de outros agentes do cancro produzem efeitos antagônicos.

A presente invenção tem por objecto uma combinação compreendendo (a) um composto de acordo com a presente invenção (b), pelo menos um outro agente quimioterapêutico citotóxico ou citostático; ou sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico de qualquer componente (a) ou (b).

A presente invenção também tem por objecto uma preparação farmacêutica que compreende (1) quantidades de (a), um composto de acordo com a presente invenção (b), pelo menos um outro agente citotóxico ou citostático em quantidades que são conjuntamente eficazes para tratar um cancro, em que qualquer componente (a) ou (b) também pode estar presente sob a forma de um sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, se estiver presente pelo menos um grupo de formação de sais, com (2) uma ou mais moléculas de um veículo aceitável sob o ponto de vista farmacêutico.

A presente invenção também tem por objecto a utilização de um composto, de acordo com a presente invenção e pelo menos um outro agente quimioterapêutico que é um agente citotóxico ou citostático, para o fabrico de um medicamento para o tratamento de cancro. O composto de acordo com a presente invenção e o agente citotóxico ou citostático estão em quantidades que, em conjunto, são eficazes, sob o ponto de vista terapêutico, contra doenças hiper-proliferativas, tal como definido antes. Assim, o composto de acordo com a presente invenção é eficaz em cancros mediados pela cinase raf. No entanto, estes compostos também são eficazes para cancros não mediados pela cinase raf.

Numa modalidade preferida, a presente invenção tem por objecto a utilização de um composto, de acordo com a presente invenção, eventualmente em combinação com um

agente quimioterapêutico citotóxico ou citostático incluindo, mas não se limitando aos inibidores I e II do ADN de topoisomerase, intercaladores de ADN, agentes de alquilação, agentes de rompimento de microtúbulos, agonistas ou antagonistas de hormonas e de receptores do factor de crescimento, outros inibidores de cinase e antimetabólitos, para o fabrico de um medicamento para o tratamento de cancro num mamífero, especialmente num doente humano.

Numa outra modalidade, a composição que compreende um composto de acordo com a presente invenção ou o agente citotóxico ou citostático, pode ser administrada a um doente sob a forma de um comprimido, um líquido, um gel de uso tópico, um inalador ou sob a forma de uma composição de libertação sustentada.

Numa modalidade da presente invenção, pode-se administrar um composto, de acordo com a presente invenção, simultaneamente com um agente citotóxico ou citostático, a um doente com cancro, na mesma formulação ou, mais vulgarmente, em formulações distintas e, muitas vezes, utilizando diferentes vias de administração. A administração também pode ser sequencial, em qualquer ordem.

Numa outra modalidade, um composto de acordo com a invenção pode ser administrado ao doente em tandem com o agente citotóxico ou citostático, em que um composto de acordo com a invenção pode ser administrado a um doente uma vez ou mais por dia, até 28 dias consecutivos, com a administração concomitante ou intermitente de um agente citotóxico ou citostático ao longo do mesmo período total de tempo.

Numa outra modalidade da presente invenção, um composto de acordo com a presente invenção pode ser administrado a um doente numa dose oral, intravenosa, intramuscular, subcutânea ou parentérica, que pode variar entre cerca de 0,1 e cerca de 200 mg/kg de peso total do corpo.

Numa outra modalidade, o agente citotóxico ou citostático pode ser administrado a um doente numa dose intravenosa, intramuscular, subcutânea ou parentérica, que pode variar de cerca de 0,1 mg a 200 mg/kg de peso corporal do doente.

Além disso, a presente invenção tem por objecto um processo de inibição da proliferação de células de cancro, compreendendo o contacto das células de cancro com uma preparação farmacêutica ou um produto da presente invenção, especialmente um processo para tratar uma doença proliferativa compreendendo o contacto de um indivíduo, das células, dos tecidos ou de um fluido corporal do referido indivíduo, com suspeita de ter cancro, com uma composição farmacêutica ou um produto da presente invenção.

A presente invenção também tem por objecto composições contendo tanto um composto de acordo com a presente invenção como outros agentes citotóxicos ou citostáticos, nas quantidades da presente invenção.

A presente invenção ainda tem por objecto kits compreendendo doses separadas dos dois agentes quimioterapêuticos mencionados, em embalagens separadas. As combinações da presente invenção também podem ser formadas *in vivo*, por exemplo, no corpo de um doente.

O termo "citotóxico" refere-se a um agente que pode ser administrado para matar ou eliminar uma célula cancerosa. O termo "citostático" refere-se a um agente que pode ser administrado para sustentar a proliferação do tumor, em vez de induzir a citorredução citotóxica produzindo uma eliminação das células de cancro a partir da população total de células viáveis do doente. Os agentes quimioterapêuticos descritos aqui, por exemplo, irinotecano, vinorelbina, gencitabina e paclitaxel são considerados agentes citotóxicos. Estes agentes citotóxicos e citostáticos ganharam um uso generalizado como agentes quimioterapêuticos no tratamento de vários tipos de cancro e são bem conhecidos.

Estes e outros agentes citotóxicos/citostáticos podem ser administrados nas formulações e regimes convencionais em que são conhecidos por serem utilizados isoladamente.

Processos gerais de preparação

Os compostos da presente invenção podem ser preparados para serem utilizados por meio de reacções e processos químicos conhecidos. No entanto, os processos gerais de preparação que se seguem são apresentados para ajudar o leitor na síntese dos compostos da presente invenção, com exemplos particulares mais detalhados que se apresentam a seguir na secção experimental que descreve os exemplos de trabalho.

Todos os grupos variáveis destes processos são tal como descrito na descrição genérica se eles não estiverem especificamente definidos a seguir. Quando um grupo variável ou um substituinte com um dado símbolo é usado mais do que uma vez numa dada estrutura, é preciso entender

que cada um destes grupos ou substituintes pode variar, independentemente, dentro da gama de definições para esse símbolo. Reconhece-se que os compostos da presente invenção com cada grupo funcional opcional reivindicado não podem ser preparados, com cada um dos processos listados a seguir. No âmbito de cada um dos processos, utilizam-se substituintes opcionais que são estáveis nas condições da reacção ou os grupos funcionais que podem participar nas reacções estão presentes numa forma protegida, sempre que necessário e a eliminação desses grupos de protecção é concluída em estágios apropriados por processos bem conhecidos pelos especialistas nesta técnica.

Os compostos da presente invenção podem ser preparados de acordo com processos químicos convencionais e/ou conforme descrito a seguir, a partir de matérias-primas que estejam comercialmente disponíveis ou que se possam produzir de acordo com processos químicos convencionais de rotina. Os processos gerais para a preparação dos compostos são dados a seguir e a preparação de compostos representativos está especificamente ilustrada nos exemplos 1 e 2.

As ureias e as hidroxureias de fórmula (I) podem ser preparadas por uma variedade de processos simples conhecidos na técnica. As abordagens gerais para a formação destes compostos podem ser encontradas em "Advanced Organic Chemistry" por J. March, John Wiley and Sons, 1985 e em "Comprehensive Organic Transformations", por R. C. Larock (VCH Publishers, 1989).

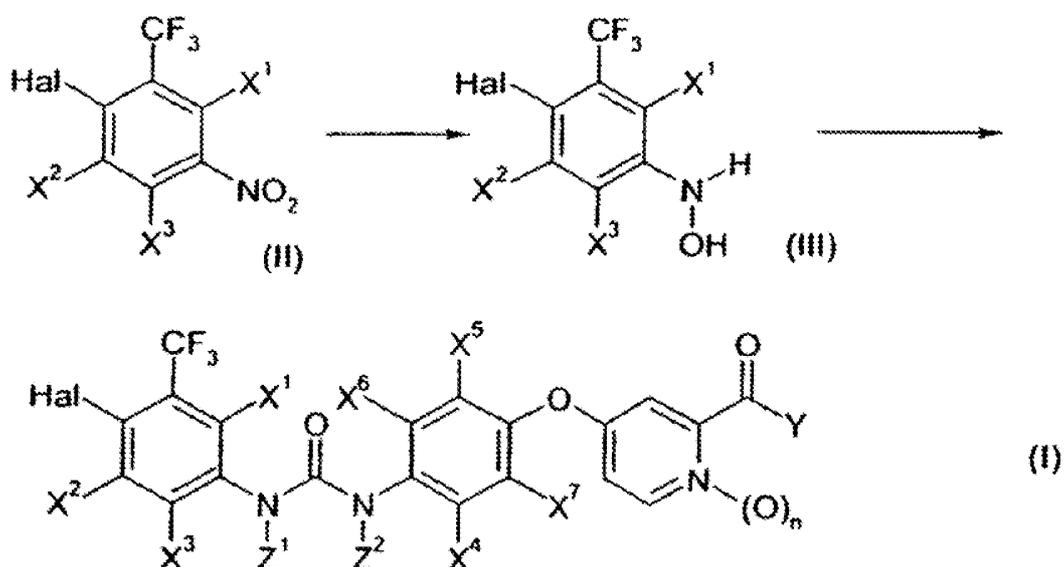
Mais especificamente, os piridina-1-óxidos ($n = 1$ na fórmula (I)) da presente invenção podem ser preparados a partir das piridinas correspondentes usando condições de

oxidação conhecidas na técnica. A seguir dão-se alguns exemplos:

- perácidos tais como ácidos meta-cloroperbenzóicos em solventes clorados, como diclorometano, dicloroetano ou clorofórmio (Markgraf et al., *Tetrahedron* 1991, 47, 183).
- $(\text{Me}_3\text{SiO})_2$ na presença de uma quantidade catalítica de ácido perhénico em solventes clorados, como diclorometano (Coperet et al., *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 761)
- Perfluoro-cis-2-butil-3-propiloxaziridina em várias combinações de solventes halogenados (Amone et al., *Tetrahedron* 1998, 54, 7831).
- Complexo de ácido hipofluórico - acetonitrilo em clorofórmio (Dayan et al., *Synthesis* 1999, 1427).
- Oxono, na presença de uma base tal como KOH, em água (Robker et al., *J Chem. Res., Synop.* 1993, 10, 412).
- Monoperoxiftalato de magnésio, na presença de ácido acético glacial (Klemm et al., *J. Heterocyclic Chem.* 1990, 6, 1537).
- Dimetildioxirano em acetona (Boyd et al., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1991, 9, 2189).

Os materiais iniciais para as oxidações mencionadas antes são bis-aryl-ureias, que contêm uma 2-acyl-piridina nas suas cadeias laterais. Preparações específicas destas ureias já estão descritas na literatura de patentes e podem ser adaptadas aos compostos da presente invenção. Por exemplo, Riedl, B., et al., "O-Carboxy Aryl Substituted Diphenyl Ureas as raf Kinase Inhibitors" *pedido de patente int. PCT WO 00 42012*, Riedl, B., et al., "O-Carboxy Aryl Substituted Diphenyl Ureas as raf Kinase Inhibitors" *pedido de patente int. PCT WO 0041698*.

As hidroxiiureias de fórmula (I), em que Z¹ representa OH e Z² representa H podem ser preparadas como se segue:



Os nitrobenzenos substituídos, de fórmula (II), que são conhecidos na técnica, são convertidos em hidroxianilinas de fórmula (III), usando uma variedade de condições conhecidas na técnica, por exemplo, boro-hidreto de sódio, na presença de catalisadores de metais de transição (Yanada et al., Chem. Lett. 1989, 951 e referências aí citadas) ou N-metildi-hidroacridina, na presença de ácido perclórico (Fukuzumi et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. II 1991, 9, 1393 e referências aí citadas).

Na segunda etapa, as hidroxianilinas de fórmula (III) podem ser convertidas nas hidroxiiureias correspondentes por reacção com um isocianato ou equivalente, da mesma forma que são preparadas as ureias. Exemplos dessas reacções podem ser encontrados na técnica (Hoffman et al., J. Med. Chem. 1964, 7, 665 e Stoffel et al., Ber. Disch. Chem. Ges. 1972, 105. 3115).

Da mesma forma, as hidroxiiureias de fórmula (I), em que Z^1 representa H e Z^2 representa OH podem ser preparadas de acordo com os mesmos processos, substituindo os reagentes de forma adequada.

Em ambos os casos, a preparação do fragmento de arilamina está ilustrada em detalhe na literatura de patentes. Por exemplo, Miller S. et al, "Inhibition of p38 Kinase using Symmetrical and Unsymmetrical Diphenyl Ureas" *pedido de pat. int. PCT WO 99 32463*, Miller, S et al. "Inhibition of raf Kinase using Symmetrical and Unsymmetrical Substituted. Diphenyl Ureas" *pedido de pat. int. WO 99 32436*, Dumas, J. et al., "Inhibition of p38 Kinase Activity using Substituted Heterocyclic Ureas" *pedido de pat. int. WO 99 32111* , Dumas, J. et al., "Method for the Treatment of Neoplasm by Inhibition of raf Kinase using N-Reteroaryl-N'-(hetero)arylureas" *pedido de pat. int. WO 99 32106*, Dumas, J. et al., "Inhibition of p38 Kinase Activity using Aryl- and Heteroaryl-Substituted Heterocyclic Ureas" *pedido de pat. int. WO 99 32110*, Dumas, J. et al., "Inhibition of raf Kinase using Aryl- and Heteroaryl-Substituted Heterocyclic Ureas" *pedido de pat. int. WO 99 32455* , Riedl, B., et al., "O-Carboxy Aryl Substituted Diphenyl Ureas as raf Kinase Inhibitors" *pedido de pat. int. PCT WO 00 42012*, Riedl, B., et al., "O-Carboxy Aryl Substituted Diphenyl Ureas as p38 Kinase Inhibitors" *pedido de pat. int. PCT WO 00 41698*.

As hidroximetil-amidas de fórmula (I) em que Y representa $NHCH_2OH$ podem ser preparadas por hidroxilação das amidas insubstituídas correspondentes ($Y = NH_2$) por uma variedade de processos conhecidos na técnica, por exemplo, formaldeído aquoso na presença de etanol e de hidróxido de sódio (Weaver et al., J. Org. Chem. 1951, 16, 1111) ou na

presença de carbonato de potássio (Haworth et al., J. Chem. Soc. 1946, 1003).

Os ácidos hidroxâmicos de fórmula (I), em que Y representa NHOH, podem ser preparados por amidação dos ésteres correspondentes (Y = O-alquilo) por uma variedade de processos conhecidos na técnica, por exemplo, hidroxilomina na presença de ácido acético e água (Boshagen, H., Ber. Disch. Chem. Ges. 1967, 100, 954). Os mesmos compostos podem ser obtidos a partir dos ácidos correspondentes (Y = OH) por activação, numa câmara, do ácido com cloroformiato de etilo, seguida da reacção com hidroxilomina em metanol (Reddy et al., Tetrahedron Lett. 2000, 41(33), 6285) ou por activação do ácido num 1-acilimidazol, seguido da reacção com cloridrato de hidroxilamina (Staab et al., Angewandte Chem., 1962, 74, 407).

Finalmente, as ureias ainda podem ser manipuladas utilizando processos familiares para os especialistas na matéria.

A presente invenção também inclui composições farmacêuticas incluindo um composto da presente invenção e um veículo aceitável sob o ponto de vista fisiológico.

O composto pode ser administrado por via oral, tópica, parentérica, por injeccção, por inalação ou nebulização ou por administração rectal em formulações de dose unitária. A administração por injeccção inclui, injeccção intravenosa, intramuscular, subcutânea e parentérica, assim como o uso de técnicas de infusão. Podem estar presentes um ou mais compostos, em associação com um ou mais veículos não tóxicos, aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico e, se se desejar, outros ingredientes activos.

As composições para uso oral podem ser preparadas de acordo com qualquer processo apropriado, conhecido na técnica, de fabrico de composições farmacêuticas. Essas composições podem conter um ou mais agentes seleccionados no grupo que consiste em diluentes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes corantes e agentes de conservantes, a fim de originar preparações com um bom sabor. Os comprimidos contêm o ingrediente activo misturado com excipientes não tóxicos, aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, que são adequados para o fabrico de comprimidos. Estes excipientes podem ser, por exemplo, diluentes inertes, tais como carbonato de cálcio, carbonato de sódio, lactose, fosfato de cálcio ou fosfato de sódio; agentes de granulação e de desintegração, por exemplo, amido de milho, ácido alginico; e agentes aglutinantes, por exemplo estearato de magnésio, ácido esteárico ou talco. Os comprimidos podem não estar revestidos ou podem ser revestidos por meio de técnicas conhecidas para atrasar a desintegração e a adsorção no tracto gastrointestinal e assim proporcionar uma acção sustentada durante um período mais longo, por exemplo, pode-se utilizar um material que se atrasa no tempo, tal como monoestearato de glicerilo ou diestearato de glicerilo. Estes compostos podem também ser preparados numa forma sólida de libertação rápida.

As formulações para uso oral também podem ser apresentadas como cápsulas de gelatina dura em que o ingrediente activo está misturado com um diluente sólido inerte, por exemplo, carbonato de cálcio, fosfato de cálcio ou caulino ou como cápsulas de gelatina mole em que o ingrediente activo está misturado com água ou um meio oleoso, por exemplo, óleo de amendoim, parafina líquida ou azeite.

As suspensões aquosas contêm os materiais activos misturados com excipientes adequados para o fabrico de suspensões aquosas. Esses excipientes são agentes de suspensão, por exemplo carboximetilcelulose sódica, metilcelulose, hidroxipropil-metilcelulose, alginato de sódio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto e goma de acácia; agentes dispersantes ou de molhagem podem ser um fosfatido de ocorrência natural, por exemplo, lecitina ou produtos de condensação de um óxido de alquilenos com ácidos gordos, por exemplo, estearato de polioxietileno ou produtos de condensação de óxido de etileno com álcoois alifáticos de cadeia longa, por exemplo, heptadecaetileno-oxicetanol ou produtos ou condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados de ácidos gordos e um hexitol tal como monooleato de polioxietileno e sorbitol ou produtos de condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados de ácidos gordos e anidridos de hexitol, por exemplo monooleato de polietileno e sorbitano. As suspensões aquosas também podem conter um ou mais conservantes, por exemplo etilo ou *p*-hidroxibenzoato de etilo ou *n*-propilo, um ou mais agentes corantes, um ou mais agentes aromatizantes e um ou mais agentes adoçantes, tal como sacarose ou sacarina.

Pós dispersíveis e grânulos adequados para a preparação de uma suspensão aquosa por adição de água providenciam o ingrediente activo em mistura com um agente de dispersão ou de molhagem, um agente de suspensão e um ou mais conservantes. Agentes dispersantes ou agentes de molhagem adequados e agentes de suspensão são exemplificados pelos já mencionados antes. Também podem estar presentes excipientes adicionais, por exemplo, agentes adoçantes, aromatizantes e corantes.

Os compostos também podem estar sob a forma de formulações líquidas não aquosas, por exemplo, suspensões oleosas, que podem ser formuladas suspendendo os ingredientes activos num óleo vegetal, por exemplo óleo de arachis, azeite, óleo de gergelim ou óleo de amendoim ou num óleo mineral, como parafina líquida. As suspensões oleosas podem conter um agente espessante, por exemplo cera de abelha, parafina sólida ou álcool cetílico. Também se pode adicionar agentes edulcorantes, tal como os referidos antes e agentes aromatizantes, para se obter preparações orais com bom sabor. Estas composições podem ser conservadas pela adição de um anti-oxidante tal como ácido ascórbico.

As composições farmacêuticas da presente invenção também podem estar sob a forma de emulsões de óleo em água. A fase oleosa pode ser um óleo vegetal, por exemplo, azeite ou óleo de arachis ou um óleo mineral, por exemplo, parafina líquida ou as suas misturas. Agentes emulsionantes apropriados podem ser gomas de ocorrência natural, por exemplo, goma de acácia ou goma de tragacanto, fosfatidos de ocorrência natural, por exemplo, sementes de soja, lecitina e ésteres ou derivados de ésteres parciais de ácidos gordos e anidridos de hexitol, por exemplo mono-oleato de sorbitano e produtos de condensação dos referidos ésteres parciais com óxido de etileno, por exemplo mono-oleato de polioxietileno e sorbitano. As emulsões podem também conter agentes adoçantes e aromatizantes.

Os xaropes e elixires podem ser formulados com agentes edulcorantes, por exemplo, glicerol, propileno-glicol, sorbitol ou sacarose. Estas formulações também podem conter um emoliente, um conservante e agentes aromatizantes e corantes.

Os compostos também podem ser administrados sob a forma de supositórios para administração rectal do fármaco. Estas composições podem ser preparadas pela mistura do fármaco com um excipiente não irritante adequado que é sólido a temperaturas normais, mas líquido à temperatura rectal e, portanto, derrete no recto para libertar o fármaco. Esses materiais incluem manteiga de cacau e polietileno-glicóis.

Para todos os regimes de utilização aqui descritos para os compostos da presente invenção, o regime de dosagem oral diária será preferencialmente de 0,01-200 mg/kg de peso corporal total. A dose diária para administração por injeção, incluindo injeções intravenosas, intramusculares, subcutâneas e parentéricas e usando técnicas de infusão será, preferencialmente, de 0,01-200 mg/kg de peso corporal total. O regime de dose diária rectal será preferencialmente de 0,01-200 mg/kg de peso corporal total. O regime de dose diária tópica será preferencialmente de 0,1-200 mg, administrada entre uma a quatro vezes por dia. O regime de dose diária por inalação será, preferencialmente, de 0,01 a 10 mg/kg de peso corporal total. As unidades de dosagem utilizadas para providenciar estes regimes de doses podem ser administradas numa base diária, uma ou mais vezes ou por longos períodos, tal como numa base semanal ou mensal.

Será evidente para os especialistas na técnica que o processo particular de administração dependerá de uma variedade de factores, todos considerados por rotina na administração de uma terapêutica. Também será evidente para os especialistas na técnica que o nível específico da dose para um determinado doente depende de uma variedade de factores, incluindo a actividade específica do composto

administrado, a idade, o peso corporal, o estado de saúde, o género, a dieta, o tempo e a via de taxa de administração, a taxa de excreção, etc. Será ainda mais evidente para os especialistas na técnica que o curso ideal do tratamento, ou seja, o modo de tratamento e o número de doses diárias de um composto da presente invenção para um número definido de dias, pode ser ajustado pelos especialistas na técnica por meio de ensaios de tratamento convencionais.

Os compostos podem ser produzidos a partir de compostos conhecidos (ou a partir de matérias-primas que, por sua vez, podem ser produzidas a partir de compostos conhecidos), por exemplo, através dos processos gerais de preparação descritos neste documento. A actividade de um determinado composto para inibir as cinases raf, p38 ou DCR (R2 de FCEV) pode ser analisada por rotina, por exemplo, de acordo com os procedimentos divulgados neste documento.

Sem mais elaboração acredita-se que um técnico no assunto pode, usando a descrição anterior, utilizar a presente invenção em toda a sua extensão. Os exemplos que se seguem são, por isso, para serem interpretados como meramente ilustrativos e não restritivos da parte restante da descrição, em nenhuma forma.

EXEMPLOS

Todas as reacções foram realizadas em material de vidro seco com chama ou seco no forno, a uma pressão positiva de árgon anidro ou azoto anidro e as agitações foram feitas magneticamente salvo indicação em contrário. Os líquidos e as soluções sensíveis foram transferidos via de uma seringa ou uma cânula e introduzidos nos recipientes

da reacção através de septos de borracha. Salvo disposição em contrário, a expressão "concentração a pressão reduzida" refere-se à utilização de um evaporador rotativo de Buchi a aproximadamente 15 mmHg. Salvo disposição em contrário, a expressão "em vácuo forte" refere-se a um vácuo de 0,4 - 1,0 mmHg.

Todas as temperaturas são indicadas sem correcção em graus Celsius (°C). Salvo indicação em contrário, todas as partes e percentagens são em peso. Os reagentes e os dissolventes de grau comercial foram utilizados sem mais purificação.

A cromatografia em camada fina (CCF) é realizada utilizando placas de gel sílica, de 250 µm, F-60^a, endurecidas com vídeo, pré-revestidas, da Whatman®. A visualização das placas é feita por uma ou mais das seguintes técnicas: (a) iluminação ultravioleta, (b) exposição a vapor de iodo, (c) imersão da placa numa solução a 10 % de ácido fosfomolibdico em etanol seguida de aquecimento, (d) imersão da placa numa solução de sulfato de cério seguida de aquecimento e/ou (e) imersão da placa numa solução de etanol ácido de 2,4-dinitrofenil-hidrazina seguida de aquecimento. Cromatografia em coluna (cromatografia rápida) é realizada utilizando gel de sílica com uma malha de 230-400 mesh da EM Science®.

Os pontos de fusão (pf) são determinados utilizando um aparelho de ponto de fusão de Thomas-Hoover ou um aparelho automatizado de ponto de fusão Mettler FP66 e não foram corrigidos. Os espectros de infravermelho da transformada de Fourier são obtidos usando um espectrofotómetro Mattson 4020 da série Galaxy. Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) do protão (¹H) são medidos com um

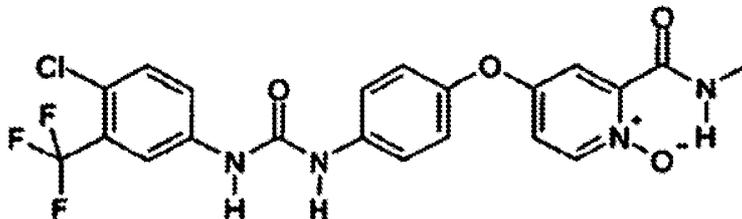
espectrómetro GN-Omega 300 (300 MHz) da General Electric, quer com um dissolvente de Me₄Si (δ 0,00) ou dissolvente residual protonado (CHCl₃ δ 7,26; MeOH δ 3,30; DMSO δ 2,49) como padrão. Os espectros de RMN do carbono (¹³C) são medidos com um espectrómetro GN-300 Omega (75 MHz) da General Electric com um dissolvente (CDCl₃ δ 77,0; MeOD-d₃; δ 49,0; DMSO-d₆ δ 39,5) como padrão. Os espectros de massa (EM) de baixa resolução e os espectros de massa de alta resolução (EMAR) ou são obtidas como espectros de massa do impacto de electrões (IE) ou como espectros de massa de bombardeio rápido com átomos (BRA). Os espectros de massa de impacto de electrões (EM-IE) são obtidos com um espectrómetro de massa 5989A, da Hewlett Packard, equipado com uma sonda de ionização química de desabsorção vacuométrica para a introdução da amostra. Mantém-se a fonte de iões a 250 °C. A ionização por impacto de electrões é feita com uma energia dos electrões de 70 eV e uma corrente de retenção de 300 μ A. Os espectros de massa de iões secundários de césio líquido (EM-BRA), uma versão actualizada do bombardeamento rápidos de átomos são obtidos utilizando um espectrómetro Concept 1-H da Kratos. Espectros de massas por ionização química (EM-IQ) são obtidos utilizando o MS-Engine (5989A) da Hewlett Packard tendo como gás reagente metano ou amónio (1×10^{-4} torr a $2,5 \times 10^{-4}$ torr). Os espectros são rastreados desde 50-800 amu a 2 seg por rastreio. Os espectros de CLAR - electro-pulverização (CLAR EM-EP) são obtidos utilizando uma CLAR 1100 da Hewlett-Packard equipado com uma bomba quaternária, um detector de comprimento de onda variável, uma coluna C-18 column e um espectrómetro de massa de retenção de iões LCQ da Finnigan com ionização por electropulverização. Os espectros são rastreados desde 120-800 amu utilizando um tempo de ionização variável, de acordo com o número de iões na fonte. A cromatografia em fase gasosa - os espectros de

massa selectivos dos iões (CG-EM) são obtidos com um cromatógrafo a gás 5890 da Hewlett Packard equipado com uma coluna de metil-silicone HP-1 (revestimento 0,33 mM; 25 mx 0,2 mm) e um detector selectivo de massa 5971 da Hewlett Packard (energia de ionização 70 eV). As análises elementares são realizadas pelo Robertson Microlit Labs, Madison NJ.

Todos os compostos apresentaram espectros de RMN, EMBR e qualquer análise elementar ou EMAR consistente com as estruturas atribuídas.

EXEMPLO 1

Preparação de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-(N-metilcarbamoil)-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil}ureia



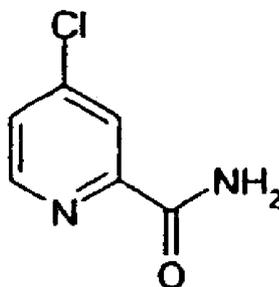
A uma mistura agitada de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-(N-metilcarbamoil)(4-piridiloxi)]-fenil}ureia (500 mg, 1,08 mmole), numa mistura de CH₂Cl₂ (2,2 mL) e THF (2,2 mL), adicionou-se ácido 3-cloroperbenzóico (77 % puro, 1,09 g, 4,86 mmole, 4,5 equiv.) e aqueceu-se a mistura resultante 40°C durante 33 h. Concentrou-se a mistura resultante a pressão reduzida e purificou-se o produto impuro por MPLC (Biotage®; gradiente de acetona a 20 %/hexano até acetona a 50%/hexano. A recristalização em AcOEt originou N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-(N-metilcarbamoil)-1-oxo-(4-

piridiloxi)]fenil}ureia sob a forma de um sólido branco (293 mg, 57 %): pf (não corrigido) 232-234 °C; CCF (acetona/hexano a 50 %) R_f 0,13; RMN do ^1H (DMSO- d_6) δ 11,48 (s largo, 1H), 9,19 (s, 1H), 8,98 (s, 1H), 8,38 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 8,10 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 7,64 (dd, $J = 8,2$ Hz, 2,6 Hz, 1H), 7,61 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,57 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,54 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 7,28 (dd, $J = 5,7$ Hz, 2,5 Hz, 1H), 7,18 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 2,86 (d, $J = 5,0$ Hz, 3H); CLAR EM-IE m/z 481 ((M+H) $^+$). Anal. calcd para $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{ClFN}_4\text{O}_4$: C 52,46 % H 3,33 % N 11,65 %. Encontrado: C 52,22% H 3,39% N 11,49%.

EXEMPLO 2

Preparação de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-carbamoil-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil}ureia

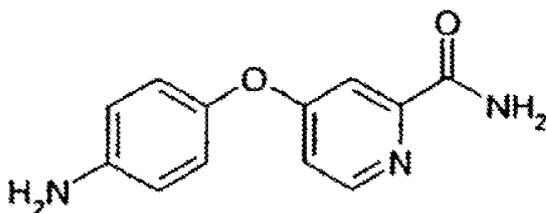
Etapa 1: Preparação de 4-cloro-2-pirindinocarboxamida



A uma mistura agitada de cloridrato de 4-cloro-2-piridincarboxilato de metilo (1,0 g, 4,81 mmole) dissolvido em amónia aquosa conc. (32 mL) adicionou-se cloreto de amónio (96,2 mg, 1,8 mmole, 0,37 equiv.) e agitou-se a mistura reaccional heterogénea, à temperatura ambiente, durante 16 h. Verteu-se a mistura reaccional em AcOEt (500 mL) e água (300 mL). Lavou-se a camada orgânica com água (2 x 300 mL) e uma solução saturada de NaCl (1 x 300 mL), secou-se (MgSO_4), concentrou-se em vácuo para se

obter 4-cloro-2-piridinocarboxamida sob a forma de um sólido bege (604,3 mg, 80,3 %): CCF (EtOAc/hexano a 50 %) R_f 0,20; RMN do 1H (DMSO- d_6) δ 8,61 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 8,20 (s largo, 1H), 8,02 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,81 (s largo, 1H), 7,76 a 7,73 (m, 1 H).

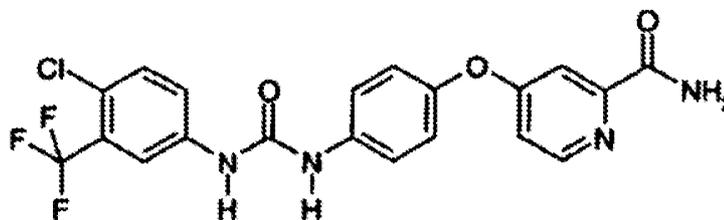
Etapa 2: Preparação de 4-(4-aminofenoxi)-2-piridinocarboxamida



A 4-aminofenol (418 mg, 3,83 mmole) em DMF (7,7 mL) adicionou-se *tert*-butóxido de potássio (447 mg, 3,98 mmole, 1,04 equiv.) numa porção. Agitou-se a mistura reaccional, à temperatura ambiente, durante 2 h e depois adicionou-se uma solução de 4-cloro-2-piridinocarboxamida (600 mg, 3,83 mmole, 1,0 equiv.) em DMF (4 mL). Agitou-se a mistura reaccional a 80 °C durante 3 dias e verteu-se numa mistura de AcOEt e uma solução saturada de NaCl. Lavou-se sucessivamente a camada orgânica com uma solução saturada NH_4Cl , em seguida com uma solução saturada de NaCl, secou-se ($MgSO_4$) e concentrou-se a pressão reduzida. Purificou-se o produto impuro utilizando cromatografia MPLC (Biotage®; gradiente de AcOEt a 100 % até 10 % seguido de MeOH a 10 %/AcOEt a 50 %/ hexano a 40 %) para se obter a 4-cloro-5-trifluorometilanilina sob a forma de um sólido castanho (510 mg, 58 %). RMN do 1H (DMSO- d_6) δ 8,43 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 8,07 (s largo, 1H), 7,66 (s largo, 1H), 7,31 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,07 (dd, $J = 5,7$ Hz, 2,7 Hz, 1H), 6,85 (d, $J = 9,0$ Hz, 2 H), 6,62 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 5,17 (s largo,

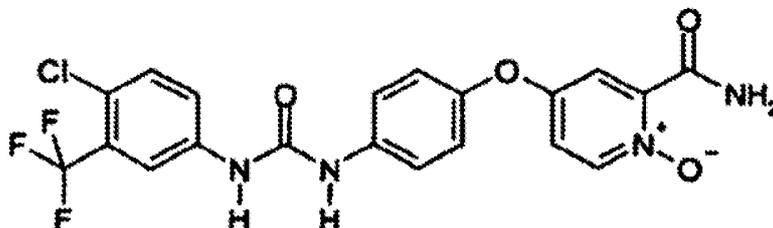
2H); CLAR EM-IE m/z 230 (M+H)⁺.

Etapa 3: Preparação de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-carbamoil-4-piridiloxi]}fenil}ureia



Agitou-se uma mistura de 4-cloro-5-trifluorometilalanina (451 mg, 2,31 mmole, 1.1 equiv.) e 1,1'-carbonil-di-imidazol (419 mg, 2,54 mmole, 1,2 equiv.) em dicloroetano (5,5 mL), em atmosfera de árgon, a 65 °C durante 16 h. Uma vez arrefecida para a temperatura ambiente, adicionou-se uma solução de 4-(4-aminofenoxi)-2-piridinocarboxamida (480 mg, 2,09 mmole) em THF anidro (4,0 mL) e agitou-se a mistura reaccional a 60 °C, durante 4 h. Verteu-se a mistura reaccional em AcOEt e lavou-se a camada orgânica com água (2x) e uma solução saturada de NaCl (1x), secou-se (MgSO₄), filtrou-se e evaporou-se *in vacuo*. A purificação utilizando cromatografia MPLC (Biotage®; gradiente de AcOEt a 100 % a MeOH/AcOEt a 2 %) originou N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-carbamoil-(4-piridiloxi)]fenil}ureia como um sólido branco (770 mg, 82 %): CCF (EtOAc) R_f 0,11, acetato de etilo a 100 % RMN do ¹H (DMSO-d₆) δ 9,21 (s, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,50 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 8,11 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,69 (s largo, 1H), 7,64 (dd, J = 8,2 Hz, 2,1 Hz, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,59 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,39 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 7,14 (m, 1H); EM EM-CL (MH⁺ = 451). Anal. calcd para C₂₀H₁₄ClF₃N₄O₃: C 53,29 % H 3,13 % N 12,43 %. Encontrado: C 53,33 % H 3,21 % N 12,60 %.

Etapa 4: Preparação de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-carbamoil-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil}ureia



Preparou-se N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-carbamoil-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil}ureia (125,6 mg, 51 %) sob a forma de um sólido branco a partir de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-carbamoil-(4-piridiloxi)]fenil}ureia (240,0 mg, 0,53 mmole), da maneira descrita para o N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-(N-metilcarbamoil)-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil}ureia: CCF (MeOH a 5 %/CH₂Cl₂) R_f 0,17; RMN do ¹H (DMSO-d₆) δ 10,72 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 9,21 (s, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,36 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 8,31 (d, J = 4,1 Hz, 1H), 8,10 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,65 (dd, J = 8,7 Hz, 2,3 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 7,57 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,54 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 7,28 (dd, J = 7,2 Hz, 3,8 Hz; 1H), 7,18 (d, J = 9,0 Hz, 2 H); CLAR EM-IE m/z 467 ((M+H)⁺; Anal. calcd para C₂₀H₁₄ClF₃N₄O₄ · 0,5H₂O: C 50,49 % H 3,18 % N 11,78%. Encontrado: C 50,69% H 2,86% N 11,47%.

EXEMPLOS BIOLÓGICOS

Ensaio da cinase P38 *in vitro*:

As propriedades inibidoras dos compostos, *in vitro*, foram determinados utilizando um ensaio de inibição da cinase p38. A actividade de P38 foi detectada através de um ensaio *in vitro* da cinase executado em placas de

microtitulação de 96 poços. Misturou-se p38 humana recombinante (0,5 µg/mL) com um substrato (proteína básica da mielina, 5 µg/mL) em tampão de cinase (Hepes 25 mM, MgCl₂ 20 mM e NaCl 150 mM) e um composto. Adicionou-se um µCi/poço de ATP marcado com ³³P (10 µM) até a um volume final de 100 µL. A reacção decorreu a 32 °C durante 30 min. e foi parada com uma solução 1M de HCl. A quantidade de radioactividade incorporada no substrato foi determinada pela captura do substrato marcado em papel de filtro de fibra de vidro carregado negativamente usando uma solução a 1 % de ácido fosfórico e lendo com um contador de cintilação. Os controlos negativos incluem substrato mais ATP sozinho.

Produção de FNTα em ratos, induzida por LPS:

As propriedades inibidoras, *in vivo*, de compostos seleccionados podem ser determinadas utilizando um modelo de produção de FNTα, *in vivo*, em murinos induzida por LPS. Trataram-se ratos BALB/c (Charles River Breeding Laboratories; Kingston, NY), em grupos de dez, quer com veículo ou com o composto, pela via assinalada. Passada uma hora, administrou-se endotoxina (lipopolissacárido (LPS) de *E. coli*, 100 µg) intraperitonealmente (i.p.). Após 90 min, os animais foram sacrificados por asfixia com dióxido carbono e obteve-se plasma dos animais, individualmente, por punção cardíaca para tubos heparinizados. As amostras foram clarificadas por centrifugação a 12.500 x g durante 5 min, a 4 °C. Os sobrenadantes foram decantados para novos tubos, que foram armazenados, conforme necessário, a -20 °C. Mediram-se os níveis de FNTα no soro utilizando um kit comercial de ensaios ELISA (Genzyme) para o FNT de murino. Os dois exemplos biológicos anteriores podem ser utilizados para demonstrar que os compostos são inibidores da cinase

p38 *in vitro* e *in vivo* e, portanto, estabelecem a sua utilidade no tratamento de doenças mediadas por p38, como a inflamação e a osteoporose.

Ensaio *in vitro* da cinase raf:

Num ensaio *in vitro* da cinase, incubou-se raf com MEK em Tris-HCl 20 mM, a pH 8,2 contendo 2-mercaptoetanol 2 mM e NaCl 100 mM. Esta solução de proteína (20 μ L) foi misturada com água (5 μ L) ou com compostos diluídos com água destilada a partir de soluções concentradas a 10 mM de compostos dissolvidos em DMSO. A reacção da cinase foi iniciada adicionando 25 μ L de [γ -³³P]ATP (1000-3000 dpm/pmole) em Tris-HCl 80 mM, a pH 7,5, NaCl 120 mM, DTT 1,6 mM, MgCl₂ 16 mM. As misturas reaccionais foram incubadas a 32 °C, geralmente durante 22 min. A incorporação de ³³P na proteína foi analisada pela colheita da reacção em tapetes de fosfocelulose, lavando as contagens de elementos livres com uma solução a 1 % de ácido fosfórico e quantificação da fosforilação pela contagem por cintilação líquida. Para a triagem de alto rendimento, utilizou-se ATP 10 μ M e MEK 0,4 μ M. Nalgumas experiências, a reacção da cinase é interrompida pela adição de uma quantidade igual de tampão da amostra Laemmli. As amostras são levadas à ebulição durante 3 min e as proteínas foram resolvidas por electroforese em géis de Laemmli a 7,5 %. Os géis foram fixados, secos e expostos a uma placa de visualização (Fuji). A fosforilação foi analisada usando um sistema de análise de bio-visualização da Fujix. Os compostos dos exemplos 1 e 2 mostram > 50 % de inibição a 10 micromolares neste ensaio, que é uma inibição acentuada da cinase raf *in vitro*.

Ensaio de proliferação de células tumorais:

Para o ensaio de crescimento *in vitro*, as linhas celulares tumorais humanas, incluindo, mas não se limitado a HCT116 e DLD-1, contendo os genes de K-ras mutados foram utilizados em ensaios padrão de proliferação para a ancoragem dependente do crescimento em plástico ou a ancoragem, independente do crescimento em ágar mole. As linhas de células tumorais humanas foram obtidas na ATCC (Rockville MD) e foram mantidas em RPMI com 10 % de soro bovino fetal inactivado pelo calor e glutamina 200 mM. Meios de cultura celular e os aditivos foram obtidos na Gibco/BRL (Gaithersburg, MD), excepto para o soro bovino fetal (JRH Biosciences, Lenexa, KS). Num ensaio padrão de proliferação para o crescimento dependente da ancoragem, semearam-se 3×10^3 células em placas de cultura de tecidos de 96 poços e permitiu-se que se ligassem durante a noite, a 37 °C, numa incubadora com CO₂ a 5 %. Os compostos foram titulados em meios de diluição em série e adicionaram-se às culturas de células de 96 poços. Deixou-se as células a crescer 5 dias normalmente com uma alimentação de meio contendo o composto fresco no terceiro dia.. A proliferação foi monitorizada através da medição da actividade metabólica com um padrão XTT de ensaio colorimétrico (Boehringer Mannheim), medido pela leitura padrão das placas de ELISA a uma DO de 490/560, colhendo as células em tapetes de fibra de vidro usando um equipamento de recolha de células e medindo a incorporação de ³H-timidina através da contagem por cintilação em líquido.

Para o crescimento das células independente da ancoragem, as células foram semeadas em placas a 1×10^3 a 3×10^3 em agarose Seaplaque a 0,4 % em meio RPMI completo, sobrepondo uma camada da base contendo apenas 0,64 % de

agar em meio RPMI completo em placas de cultura de tecido de 24 poços. O meio completo mais as diluições em série dos compostos foram adicionados aos poços e incubados, a 37 °C, numa incubadora com CO₂ a 5 % durante 10-14 dias, com alimentação repetida de meio fresco contendo os compostos a intervalos de 3-4 dias. A formação de colónias foi monitorizada e a massa celular total, a dimensão média da colónia e o número de colónias foram quantificados usando a tecnologia de captura de imagem e o programa informático de análise de imagens (Image Pro Plus, media Cybernetics).

Os dois ensaios anteriores estabelecem que os compostos de fórmula I são activos para inibir a actividade da cinase raf e inibir o crescimento celular oncogénico:

Ensaio de DCR (R2 de FCEV):

O domínio citosólico de cinase da cinase DCR é expresso como uma proteína de fusão 6His em células de insecto Sf9. A proteína de fusão do domínio da cinase DCR é purificada através de uma coluna de quelante de Ni⁺⁺. Revestem-se placas de ELISA de noventa e seis poços com 5 µg de poli (Glu4; Tirl) (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) em 100 µl de tampão de HEPES (HEPES 20 mM, a pH 7,5, NaCl 150 mM, 0,02 % de timerosal) a 4 °C, durante a noite.. Antes da utilização, a placa é lavada com HEPES, tampão de NaCl buffer e as placas são bloqueadas com ASB a 1%, Tween 20 a 0,1 % em tampão de HEPES, NaCl.

Os compostos do ensaio são diluídos em série em DMSO a 100 % a partir de diluições semi-logarítmicas 4 mM a 0,12 M µM. Estas diluições são ainda diluídas vinte vezes em H₂O para se obter soluções do composto em DMSO a 5 %. Após o carregamento da placa de ensaio com 85 µl de tampão de

ensaio (HEPES20 mM, a pH 7,5, KCl 100 mM, MgCl₂ 10 mM, MnCl₂ 3 mM, glicerol a 0,05 %, Triton X-100 a 0,005 %, mercaptoetanol 1 mM com ou sem ATP 3,3 μM), adiciona-se 5 μl dos compostos diluídos a um volume final do ensaio de 100 μl. As concentrações finais estão entre 10 μM e 0,3 nM em DMSO a 0,25 %. O ensaio é iniciado pela adição de 10 μl (30 ng) do domínio da cinase DCR.

O conjunto para ensaio é incubado com o composto do ensaio ou apenas com veículo, com uma agitação suave, à temperatura ambiente, durante 60 minutos. Os poços são lavados e as fosfotirosinas (PY) são detectadas com uma anti-fosfotirosina (PY), clone fr Abm 4G10 (Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY). Os complexos de PY/anti-PY são detectados com um conjugado de IgG/PRS (peroxidase de rábano silvestre) anti-murganho (Amersham International plc, Buckinghamshire, Inglaterra). A fosfotirosina é quantificada pela incubação com 100 μl de uma solução de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (Kirkegaard and Perry, TMB Microwell 1 Component de substrato de peroxidase). O desenvolvimento da cor é interrompido por adição de 100 μl de uma solução de paragem à base de HCl a 1 % (Kirkegaard and Perry, TMB 1 Componente da solução de paragem).

As densidades ópticas são determinadas espectrofotometricamente, a 450 nm num leitor de placas de 96 poços, SpectraMax 250 (Molecular Devices). No início (sem ATP no ensaio) os valores da DO são subtraídos de todas as DO e calcula-se a percentagem de inibição de acordo com a equação:

$$\% \text{ de Inibição} = \frac{\text{DO do controlo de veículo} - \text{DO com o composto}}{\text{DO do controlo de veículo}} \times 100$$

$$\text{DO do controlo de veículo} - \text{DO sem a adição de ATP}$$

Determinam-se os valores de CI_{50} com pelo menos um programa de mínimos quadrados utilizando a concentração do composto versus a percentagem de inibição.

Ensaio mecânico da célula - Inibição da fosforilação da DCR 3T3:

As células NIH3T3 que expressam o receptor de DCR de comprimento total crescem em DMEM (Life Technologies, Inc., Grand Island, NY) complementado com soro de bovino recém-nascido a 10 %, glicose de baixo teor, piruvato de sódio a 25 mM/L, cloridrato de piridoxina e 0,2 mg/ml de G418 (Life Technologies Inc., Grand Island, NY). Mantêm-se as células em frascos T75 revestidos com colagénio I (Becton Dickinson Labware, Bedford, MA) em atmosfera de CO_2 a 5% humidificada, a 37°C. Semeiam-se quinze mil células em cada poço de uma placa de 96 poços revestidos com colagénio I em meio de crescimento DMEM.. Seis horas mais tarde, lavaram-se as células e substituiu-se o meio com DMEM sem soro. Depois da cultura durante a noite para desactivar as células, o meio é substituído por solução salina de Dulbecco tamponada com fosfato (Life Technologies Inc., Grand Island, NY) com albumina bovina a 0,1 % (Sigma Chemical Co., St Louis, MO). Após a adição de várias concentrações (0-300 nM) dos compostos de ensaio às células numa concentração final de 1 % em DMSO, as células são incubadas, à temperatura ambiente, durante 30 minutos. As células são então tratadas com FCEV (30 ng/ml) durante 10 minutos, à temperatura ambiente. Após a estimulação de FCEV, elimina-se o tampão e faz-se a lise das células pela adição de 150 μ l de tampão de extracção (Tris 50 mM, a pH 7,8, complementado com glicerol a 10 %, BGP 50 mM, EDTA 2 mM, NaF 10 mM, $NaVO_4$ 0,5 mM e TX-100 a 0,3 %), a 4 °C, durante 30 minutos.

Para avaliar a fosforilação do receptor, adicionou-se 100 microlitros de cada lisado celular aos poços de uma placa de ELISA revestida com 300 ng de anticorpos C20 (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz., CA). Após uma incubação de 60 minutos, a placa é lavada e faz-se a sondagem da DCR ligada, para a fosfotirosina, usando um clone 4G10 do Acm anti-fosfotirosina (Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY). A placa é lavada e faz-se a incubação dos poços com um conjugado de IgG/PRS (Amersham International plc, Buckinghamshire, Inglaterra) durante 60 minutos. Lavam-se os poços são lavados e quantifica-se a fosfotirosina pela adição de 100 µl por poço de uma solução de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (Kirkegaard and Perry, TMB Microwell 1 componente de substrato de peroxidase). O desenvolvimento da cor é interrompido por adição de 100 µl de uma solução de paragem à base de HCl a 1 % (Kirkegaard and Perry, TMB 1 Componente da solução de paragem). As densidades ópticas (DO) são determinadas espectrofotometricamente, a 450 nm num leitor de placas de 96 poços, (SpectraMax 250 Molecular Devices). No início (sem adição de FCEV) os valores da DO são subtraídos de todas as DO e calcula-se a percentagem de inibição de acordo com a equação:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{\text{DO do controlo de FCEV} - \text{DO com o composto de ensaio} \times 100}{\text{DO do controlo do FCEV} - \text{DO sem a adição de FCEV}}$$

Determinam-se as CI_{50} nalguns dos materiais dos exemplos com um programa de análise dos mínimos quadrados utilizando a concentração do composto *versus* a percentagem de inibição.

Ensaio *in vivo* da inibição do R de FCEV: Modelo de angiogénese de Matrigel®:

Preparação de Matrigel Plugs e fase *in vivo*: Matrigel® (Collaborative Biomedical Products, Bedford, MA) é um extracto da membrana basal de um tumor de murino composto principalmente por laminina, colagénio IV e proteoglicano de sulfato de heparano. Providencia-se como um líquido esterilizado a 4 °C, mas rapidamente forma um gel sólido a 37° C. Mistura-se o Matrigel líquido, a 4 °C, com células tumorais humanas SK-MEL2 que são transfectadas com um plasmido contendo o gene de FCEV de murino com um marcador seleccionável. As células tumorais crescem *in vitro* sob a selecção e misturam-se as células com Matrigel líquido frio numa proporção de 2×10^6 por 0,5 ml. Implanta-se meio mililitro, por via subcutânea, perto da linha média abdominal com uma agulha de calibre 25. Os compostos do ensaio são doseados como soluções em etanol/cremafor EL/solução salina (12,5 %: 12,5 %: 75 %) a 30, 100 e 300 mg/kg po, uma vez por dia, a partir do dia da implantação. Os ratos são sacrificados 12 dias após a implantação e colhem-se os peletes de Matrigel para análise do teor de hemoglobina.

Dosagem da hemoglobina: os peletes de Matrigel são colocados em 4 volumes (p/v) de tampão de lise a 4 °C (Tris 20mM a pH 7,5, EGTA 1 mM, EDTA 1 mM, Triton X-100 a 1 % [EM Science, Gibbstown, NJ] e completou-se com um cocktail de inibidor de protease isento de EDTA [Mannheim, Alemanha]) e homogeneizou-se a 4 °C. Incubaram-se os homogeneizados em gelo durante 30 minutos com agitação e centrifugou-se a 14K xg durante 30 minutos, a 4 °C. Os sobrenadantes são transferidos para tubos de microcentrifugação arrefecidos e armazenaram-se a 4 °C DEG para o ensaio da hemoglobina. A hemoglobina de rato (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) é

suspensa em água numa autoclave (BioWhittaker, Inc, Walkersville, MD.) a 5 mg/ml. Gera-se uma curva padrão a partir de 500 microgramas/ml até 30 microgramas/ml em tampão de lise (ver antes). A curva padrão e as amostras de lisado são adicionadas a 5 microlitros/poço, em duplicado, com um poliestireno de uma placa de 96 poços. Usando o kit de hemoglobina do plasma da Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), reconstitui-se o substrato de TMB em 50 ml de uma solução de ácido acético, à temperatura ambiente. Adiciona-se cem microlitros de substrato a cada poço, seguido de 100 microlitros/poço de uma solução de peróxido de hidrogénio, à temperatura ambiente. A placa é incubada à temperatura ambiente durante 10 minutos.

Determinam-se as densidades ópticas por espectrofotometria, a 600 nm num leitor de placas de 96 poços, sistema espectrofotométrico de microplacas SpectraMax 250 (Molecular Devices). As leituras iniciais do tampão de lise são subtraídas de todos os poços. O teor total de hemoglobina da amostra é calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Hemoglobina total} = \text{Volume do lisado da amostra} \times (\text{concentração de hemoglobina})$$

A hemoglobina total média das amostras de Matrigel sem células é subtraída da hemoglobina total de cada amostra de Matrigel com células. Calcula-se a percentagem de inibição de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{\text{Média da hemoglobina total do fármaco} - \text{lisados do tumor tratado} \times 100}{(\text{Média da hemoglobina total nos lisados de tumor não tratados})}$$

Os três ensaios anteriores estabelecem que os compostos de fórmula I são activos para inibir a actividade da cinase do receptor de FCEV e para inibir a angiogénese.

Ensaio *in vivo* da actividade antitumoral:

Pode-se realizar um ensaio *in vivo* do efeito inibidor dos compostos nos tumores (por exemplo, cancros sólidos) mediado pela cinase raf da seguinte forma: injectam-se ratos CDI nu/nu (com 6-8 semanas de idade), por via subcutânea, no flanco, a 1×10^6 células com uma linha celular humana de adenocarcinoma do cólon: os ratos fotatados com uma dose ip, iv ou p.o. com 10, 30, 100 ou 300 mg/Kg começando aproximadamente no dia 10, quando o tamanho do tumor está entre 50-100 mg. Dão-se doses aos animais durante 14 dias consecutivos; a dimensão do tumor é monitorizada com calibradores, duas vezes por semana. O efeito inibitório dos compostos nas cinases p38, raf e R de FCEV e, portanto, no crescimento do tumor (por exemplo, cancros sólidos), pode ainda ser demonstrado *in vivo*, de acordo com a técnica de Monia et al. (Nat. Med. 1996, 2, 668-75).

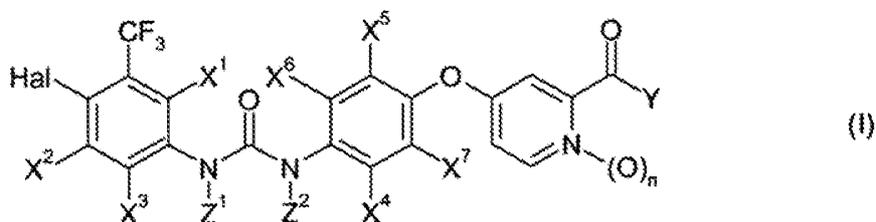
Os exemplos anteriores podem ser repetidos com o mesmo sucesso, substituindo os reagentes genericamente ou especificamente descritos e/ou as condições operatórias da presente invenção pelos utilizados nos exemplos anteriores.

A partir da descrição anterior, um especialista na matéria pode facilmente acertar as características essenciais da presente invenção e pode fazer várias mudanças e modificações da presente invenção para adaptá-la a várias condições e utilizações.

Lisboa, 16 de Janeiro de 2012.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula (I),



caracterizado pelo facto de

Y representar OR¹ ou NHR²,

Hal representar cloro ou bromo,

R¹ representar H ou alquilo C₁-C₆

R² representar H, OH, CH₃ ou CH₂OH,

Z¹ e Z² representarem, cada um, H ou OH, em que apenas um de Z¹ ou Z² poder representar OH.

X¹ a X⁷ representarem, cada um, independentemente, H, OH ou O(CO)alquilo C₁-C₄ e

n representar 0 ou 1,

com a condição de pelo menos uma das condições a-c ser verificada,

a) Z¹ ou Z² representar OH,

b) Y representar NHR² e R² representar OH,

c) n representar 1

ou um seu sal ou um seu estereoisómero isolado.

2. Composto, de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo facto de n, na fórmula I representar 1 e quer

a) Y representa NHR^2 e R^2 representa H ou CH_3 e quer

i) X^1 a X^7 representam, cada um, H ou

ii) Z^1 e Z^2 representam, cada um, H ou

iii) Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H ou

iv) X^1 a X^7 e Z^1 representam, cada um H e Z^2 representa OH ou

v) X^1 a X^7 e Z^2 representam, cada um, H e Z^1 representa OH;

b) Y representa NHR^2 e R^2 representa CH_2OH ou OH ou

c) Y representa OH.

3. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de

a) n representar 0 e

b) quer Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou Z^1 representa OH e Z^2 representa H e

c) ou

i) R^2 representa H ou CH_3 ou

ii) X^1 a X^7 representam, cada um H ou

iii) pelo menos um de X^1 a X^7 representa OH ou

iv) pelo menos um de X^1 a X^7 representa $\text{O}(\text{CO})$ alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ ou

vi) R^2 representa CH_2OH ou OH ou

vii) Y representa OH.

4. Composto de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo facto de, na fórmula I

a) n representar 0 e

b) Y representa NHR^2 e R^2 representar OH e

c) ou

i) X^1 a X^7 representam, cada um H ou

ii) Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou

iii) Z^1 representa OH e Z^2 representa H ou

iv) pelo menos um de X^1 a X^7 representa OH ou

v) pelo menos um de X^1 a X^7 representa
O(CO)alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$

5. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de, na fórmula (I)

a) n representar 0 e

b) Y representar OH e

c) ou

i) X^1 a X^7 representarem, cada um, H ou

ii) Z^2 representa H e Z^1 representa OH ou

iii) Z^1 representa H e Z^2 representa OH ou

iv) pelo menos um de X^1 a X^7 representar OH
ou

v) pelo menos um de X^1 a X^7 representar
O(CO)alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$

6. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de se seleccionar no grupo que consiste em:

1-óxido de 4-{4-[[[4-cloro-3-(trifluorometil)-
fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-
piridino-carboxamida.

1-óxido de 4-{4-[[[4-bromo-3-(trifluorometil)-
fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-
piridino-carboxamida.

1-óxido de 4-{4-[(4-cloro-3-(trifluorometil)-fenil]amino)carbonil)amino]fenoxi}-2-piridina-carboxamida.

1-óxido de 4-{4-[(4-bromo-3-(trifluorometil)-fenil]amino)carbonil)amino]fenoxi}-2-piridina-carboxamida.

1-óxido de 4-{4-[(4-cloro-3-(trifluorometil)-fenil]amino)carbonil)amino]fenoxi}-N-hidroximetil-2-piridino-carboxamida.

1-óxido de 4-{4-[(4-bromo-3-(trifluorometil)-fenil]amino)carbonil)amino]fenoxi}-N-hidroximetil-2-piridino-carboxamida e os seus sais e os seus estereoisómeros.

7. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de cada X^1 , X^2 e X^3 representar H.

8. Composto, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo facto de, na fórmula (II), n representar 1 e ou

- i) Z^1 e Z^2 representarem, cada um H ou
- ii) pelo menos um de X^4 a X^7 representarem OH ou
- iii) Y representar NHR^2 e R^2 representar H ou CH_3 .

9. Composto, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo facto de, na fórmula (II), n representar 0 e ou

- i) Z^1 representar H e Z^2 representar OH ou
- ii) Z^1 representar OH e Z^2 representar H ou
- iii) Z^1 e Z^2 representarem, cada um, H e pelo menos um de X^4 a X^7 representar OH ou
- iv) pelo menos um de X^4 a X^7 representar OH ou
- v) Y representar NHR^2 e R^2 representar H ou CH_3 ou

vi) Y representar NHR^2 e R^2 representar OH.

10. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de cada $\text{X}^1 - \text{X}^7$ representar H.

11. Composto, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo facto de, na fórmula (III) ou

a) Y representar NHR^2 e R^2 representar H ou CH_3 e ou:

i) n representar 1 e Z^1 e Z^2 representarem, cada um H ou

ii) n representar 0 e Z^1 representar H e Z^2 representar OH ou Z^1 representar OH e Z^2 representar H ou

b) Y representar OH.

12. Processo para preparar compostos de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de compreender a oxidação de

4-{4-[(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)amino]-carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida
ou

4-{4-[(4-bromo-3-(trifluorometil)fenil)amino]-carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina-carboxamida
ou

4-{4-[(4-cloro-3-trifluorometil)fenil)amino]-carbonil)amino]fenoxi}-2-piridina-carboxamida ou

4-{4-[(4-bromo-3-(trifluorometil)fenil)amino]-carbonil)amino]fenoxi}-2-piridina-carboxamida;
em que a oxidação

- a) substitui um ou mais dos hidrogénios do fenilo nas posições representadas por X¹ a X⁷ por um grupo hidroxilo, que está eventualmente esterificado,
- b) hidroxila a N-metil-amida para uma hidroximetil-amida ou um ácido hidroxâmico,
- c) desmetila a N-metil-amida numa amida insubstituída,
- d) substitui um ou mais dos azotos da ureia (=NH) com um grupo hidroxilo para formar uma N-hidroxi-ureia (=NOH),
- e) hidrolisa a N-metil-amida para um ácido carboxílico,
- f) oxida o azoto do anel de piridilo para formar o correspondente 1-óxido de piridina ou
- g) providencia uma combinação de dois ou mais de a) - f);

com a condições de se realizar pelo menos uma de b), d) e f).

13. Processo, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo facto de se preparar

1-óxido de carboxamida e 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluoro-metil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina, 1-óxido de carboxamida e 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluoro-metil)fenil]amino}carbonilo)carboxamida]-fenoxi}-N-metil-2-amino-piridina,

1-óxido de carboxamida e 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluoro-metil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-2-piridina,

1-óxido de carboxamida e 4-{4-[[{4-bromo-3-(trifluoro-metil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-2-piridina ou um sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico destes óxidos ou um estereoisómero isolado destes

óxidos.

14. Composição farmacêutica caracterizada pelo facto de compreender uma quantidade eficaz de pelo menos um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 6 e um veículo aceitável sob o ponto de vista farmacêutico.

15. Composição farmacêutica caracterizada pelo facto de compreender uma quantidade eficaz de

1-óxido de carboxamida e 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)-fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina,

1-óxido de carboxamida e 4-(4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino)carbonil)amino]fenoxi}-N-metil-2-piridina,

1-óxido de carboxamida e 4-{4-[[{4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]amino}carbonil)amino]fenoxi}2-piridina,

1-óxido de carboxamida e 4-4-[[{4-bromo-3-(trifluorometil)fenil}]amino-carbonil)amino]fenoxi}2-piridina ou

um sal, aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, de um destes óxidos, um estereoisómero isolado de um destes óxidos ou uma sua mistura e um veículo aceitável sob o ponto de vista fisiológico.

16. Utilização de uma quantidade eficaz de um composto, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 6 e, eventualmente, um veículo aceitável sob o ponto de vista fisiológico, caracterizada pelo facto de se destinar ao fabrico de um medicamento para o tratamento

ou a prevenção de osteoporose, inflamação e distúrbios de angiogénese, excepto cancro, num mamífero.

17. Utilização de uma quantidade eficaz de um composto, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 6, caracterizada pelo facto de se destinar ao fabrico de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de distúrbios hiperproliferativos num mamífero.
18. Utilização de a) uma quantidade eficaz de um composto, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 6 e b) um agente anti-proliferativo adicional e, eventualmente, c) um veículo aceitável sob o ponto de vista fisiológico, caracterizada pelo facto de se destinar ao fabrico de um medicamento para o tratamento ou a prevenção de distúrbios hiperproliferativos num mamífero, compreendendo a respectiva administração ao referido mamífero.
19. Utilização, de acordo com a reivindicação 18 caracterizada pelo facto de o agente anti-proliferativo adicional estar dentro de uma composição farmacêutica separada da composição farmacêutica que compreende uma quantidade eficaz de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 6 e um veículo opcional, aceitável sob o ponto de vista fisiológico.
20. Utilização, de acordo com as reivindicações 18 ou 19 caracterizada pelo facto de o agente anti-proliferativo adicional ser seleccionado no grupo que consiste em asparaginase, bleomicina, carboplatina, carmustina, clorambucilo, cisplatina, colaspase, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina (adriamicina), epirubicina, etopósido,

5-fluorouracilo, hexametilmelamina, hidroxíureia, ifosfamida, irinotecano, leucovorina, lomustina, mecloretamina, 6-mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, prednisolona, prednisona, procarbazona, raloxifeno, estreptozocina, tamoxifeno, tioguanina, topotecano, vinblastina, vincristina e vindesina, aminoglutetímida, L-asparaginase, azatioprina, 5-azacitidina-cladribina, bussulfato, dietilestilbestrol, 2',2'-difluorodesoxicitidinas, docetaxel, eritro-hidroxinoniladenina, etinil-estradiol, 5-fluorodesoxiuridina, monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina, fosfato de fludarabina, fluoximesterona, flutamida, caproato de hidroxiprogesterona, idarrubicina, interferão, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalano, mitotano, paclitaxel, pentostatina, N-fosfonoacetil-L-aspartate (PALA), plicamicina, semustina, tenipósido, propionato de testosterona, tiotepa, trimetilmelamina, uridina e vinorelbina.

21. Utilização de

- a) uma quantidade eficaz de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 6 e
- b) um agente quimioterapêutico citotóxico ou citoestático e
- c) eventualmente um veículo aceitável sob o ponto de vista fisiológico,

caracterizada pelo facto de se destinar ao fabrico de um medicamento para tratar ou prevenir o cancro.

22. Utilização, de acordo com a reivindicação 21, caracterizada pelo facto de o agente quimioterapêutico

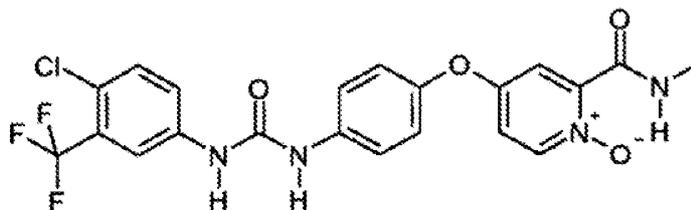
citotóxico ou citoestático administrado estar dentro de uma composição farmacêutica separada da composição farmacêutica que compreende uma quantidade eficaz de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 6 e um veículo aceitável sob o ponto de vista fisiológico.

23. Utilização de um processo, de acordo com a reivindicação 21 ou 22, caracterizada pelo facto de o agente quimioterapêutico citotóxico ou citoestático ser seleccionado no grupo que consiste nos inibidores I e II do ADN de topoisomerase, intercaladores de ADN, agentes de alquilação, agentes de rompimento de microtúbulos, agonistas ou antagonistas de hormonas e de receptores do factor de crescimento, outros inibidores de cinase e anti-metabólitos.

24. Kit caracterizado pelo facto de compreender a) uma dose de um agente citotóxico ou citoestático e b) uma dose de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 6.

25. Processo de preparação de

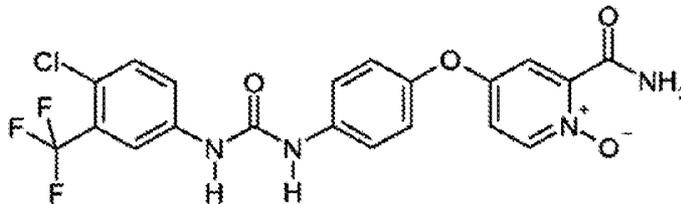
a) N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-{4-[2-(N-metilcarbamoil)-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil}ureia



caracterizado pelo facto de compreender a oxidação química de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-

{4-[2-(N-metilcarbamoil)(4-piridiloxi)]fenil}ureia
em solução ou

b) N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-carbamoil-1-oxo-(4-piridiloxi)]fenil}ureia



compreendendo a oxidação química de N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-N'-(4-[2-carbamoil-(4-piridiloxi)]fenil}ureia em solução.

26. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 14 ou 15, caracterizada pelo facto de se utilizar no tratamento ou na prevenção de osteoporose, inflamação e distúrbios de angiogénese, à excepção de cancro, num mamífero.

27. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 14 ou 15 caracterizada pelo facto de se utilizar no tratamento ou na prevenção de distúrbios hiperproliferativos num mamífero.

Lisboa, 16 de Janeiro de 2012.