



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0720956-8 A2



(22) Data de Depósito: 11/12/2007
(43) Data da Publicação: 18/03/2014
(RPI 2254)

(51) Int.Cl.:
C07D 249/12
C07F 9/09
C07H 15/26
A61K 31/4196
A61P 35/00

(54) Título: DERIVADOS DE TRIAZOL

(57) Resumo:

(30) Prioridade Unionista: 18/01/2007 DE 10 2007 002 715.1

(73) Titular(es): MERCK PATENT GESELLSCHAFT MIT
BESCHRÄNKTER HAFTUNG

(72) Inventor(es): Christian Sirrenberg, Hans-Michael
Eggenweiler, Hans-Peter Buchstaller, Michael Wolf

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler &
Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007010775 de
11/12/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/086857de
24/07/2008

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"DERIVADOS DE TRIAZOL"**.

Antecedentes da Invenção

5 A presente invenção foi baseada no objetivo de encontrar novos compostos tendo propriedades valiosas, em particular aqueles que podem ser usados para a preparação de medicamentos.

A presente invenção refere-se a um composto no qual a inibição, regulação e/ou modulação de HSP90 desempenham um papel, adicionalmente a composições farmacêuticas que compreendem este composto, e ao uso do composto para o tratamento de doenças em que HSP90 desempenham um papel.

Os dobramento e conformação corretos de proteínas em células são assegurados por acompanhantes moleculares, e são críticos para regulação do equilíbrio entre síntese e degradação de proteína. Os acompanhantes são importantes para a regulação de muitas funções centrais de células, tais como, por exemplo, proliferação de célula e apoptose (Jolly e Morimoto, 2000; Smith et al., 1998; Smith, 2001).

Proteínas de choque de calor (HSPs)

20 As células de um tecido reagem à tensão externa, tal como, por exemplo, calor, hipoxia, estresse oxidativo, ou substâncias tóxicas, tais como metais pesados ou alcóois, com ativação de um número de acompanhantes que são conhecidos sob o termo "proteínas de choque de calor" (HSPs).

A ativação de HSPs protege a célula contra dano iniciado por fatores de estresse, acelera a restauração do estado fisiológico e resulta em um estado tolerante de estresse da célula.

Além deste mecanismo protetor originalmente descoberto promovido pelas HSPs contra estresse externo, funções de acompanhante importantes adicionais também foram descritas no curso do tempo para HSPs individuais sob condições livres de estresse-padrão. Desse modo, várias HSPs regulam, por exemplo, dobramento correto, localização intracelular e função ou degradação regulada de um número de proteínas de células biologicamente importantes.

As HSPs formam uma família de gene com produtos de gene individuais cuja expressão, função e localização celular diferem em células diferentes. A nomeação e classificação dentro da família são efetuadas com base em seu peso molecular, por exemplo, HSP27, HSP70, e HSP90.

5 Algumas doenças humanas são baseadas no dobramento incorreto da proteína (ver revisão, por exemplo, Tytell et al., 2001; Smith et al., 1998). O desenvolvimento de terapias que engajam no mecanismo do dobramento de proteína dependente de acompanhante pode, portanto, ser útil em tais casos. Por exemplo, proteínas dobradas incorretamente resultam na
10 agregação da proteína com progressão neurodegenerativa no caso de doença de Alzheimer, doença de príon, ou síndrome de Huntington. O dobramento incorreto da proteína pode também resultar em perda de função tipo selvagem, que tem a consequência de função molecular e fisiológica incorretamente regulada.

15 Às HSPs são também referidas grande importância nas doenças de tumor. Existem, por exemplo, indicações que a expressão de certas HSPs se correlacionam com o estágio de progressão de tumores (Martin et al., 2000; Conroy et al., Lebeau et al., 1991).

O fato que HSP90 desempenha um papel em um número de
20 trajetórias de sinalização oncogênicas centrais na célula e certos produtos naturais tendo atividade de inibição de câncer alvo HSP90 tem conduzido ao conceito que inibição da função de HSP90 seria sensível no tratamento de doenças de tumor.

Um inibidor de HSP90, 17-allilamino-17-demetoxigeldanamicina
25 (17AAG), um derivado de geldanamicin, está atualmente suportando ensaios clínicos.

HSP90

HSP90 representa aproximadamente 1-2% da massa de proteína celular total. Ela está geralmente na forma de um dímero na célula, e está
30 associada a uma multiplicidade de proteínas, assim denominadas coacompanhantes (ver, por exemplo, Pratt, 1997). HSP90 é essencial para a vitalidade de células (Young et al., 2001) e desempenha um papel-chave na

resposta ao estresse celular por interação com muitas proteínas cujo dobramento nativo foi modificado por estresse externo, tal como, por exemplo, choque de calor, de modo a restaurar o dobramento original, ou para prevenir agregação das proteínas (Smith et al., 1998).

5 Existem também indicações que HSP90 é de importância como
tampão contra os efeitos de mutações, presumivelmente através da correção
de dobramento incorreto de proteína causada pela mutação (Rutherford e
Lindquist, 1998). Em adição, HSP90 também tem uma importância regulató-
ria. Sob condições fisiológicas, HSP90, junto com seu homólogo no retículo
10 endoplasmático, GRP94, desempenham um papel no equilíbrio da célula
para assegurar a estabilidade da conformação e maturação de várias proteí-
nas-chave clientes. Estas podem ser divididas em três grupos: receptores
para hormônios esteroides, Ser/Thr ou tirosina kinases (por exemplo,
ERBB2, RAF-1, CDK4 e LCK), e uma coleção de várias proteínas, tais co-
15 mo, por exemplo, p53 com mutação ou a subunidade catalítica de telomera-
se hTERT. Cada uma destas proteínas toma um papel-chave na regulação
de processos fisiológicos e bioquímicos de células. A família de HSP90 pre-
servada em humanos consiste em quatro genes, HSP90 α citosólica, a iso-
forma HSP90 β indutível (Hickey et al., 1989), GRP94 no retículo endoplas-
20 mático (Argon et al., 1999) e HSP75/TRAP1 na matriz mitocondrial (Felts et
al., 2000). É assumido que todos os membros da família têm um modo simi-
lar de ação, mas, dependendo de sua localização na célula, se liga a proteí-
nas-cliente diferentes. Por exemplo, ERBB2 é uma proteína-cliente específi-
ca de GRP94 (Argon et al., 1999), enquanto o receptor de tipo 1 de fator de
25 necrose de tumor (TNFR1) ou a proteína de retinoblastoma (Rb) verificaram-
se serem clientes de TRAP1 (Song et al., 1995; Chen et al., 1996).

HSP90 é envolvida em um número de interações complexas
com um grande número de proteínas-cliente e proteínas regulatórias (Smith,
2001). Embora detalhes moleculares precisos não tenham sido ainda escla-
recidos, experimentos bioquímicos e investigações com o auxílio de cristal-
30 ografia de raio X nos anos recentes têm sido aumentadamente capazes de
decifrar detalhes da função de acompanhante de HSP90 (Prodromou et al.,

1997; Stebbins et al., 1997), Consequentemente, HSP90 é um acompanhante molecular dependente de ATP (Prodromou et al, 1997), com dimerização sendo importante para hidrólise de ATP. A ligação de ATP resulta na formação de uma estrutura de dímero toroidal, em que os dois domínios N-terminais vêm em contato próximo entre si, e agem como um comutador na conformação (Prodromou e Pearl, 2000).

Inibidores de HSP90 conhecidos

A primeira classe de inibidores de HSP90 a ser descoberta foi benzoquinona ansamicins com os compostos herbomicin A e geldanamycin. Originalmente, a reversão do fenótipo maligno em fibroblastos que tinham sido induzidos por transformação com o oncogene v-Src foi detectada com os mesmos (Uehara et al., 1985).

Mais tarde, uma forte atividade antitumoral foi demonstrada in vitro (Schulte et al., 1998) e in vivo em modelos de animal (Supko et al., 1995).

Precipitação imune e investigações em matrizes de afinidade então mostraram que o mecanismo principal de ação de geldanamycin envolve ligação a HSP90 (Whitesell et al., 1994; Schulte e Neckers, 1998). Em adição, estudos cristalográficos de raio X mostraram que geldanamycin compete para o local de ligação de ATP, e inibe a atividade de ATPase intrínseca de HSP90 (Prodromou et al., 1997; Panaretou et al., 1998). Isto impede a formação do complexo de HSP90 multimérico, com sua propriedade de funcionamento como acompanhante para proteínas-cliente. Como uma consequência, proteínas-cliente são degradadas através da trajetória de ubiquitin-proteasome.

O derivado de geldanamicina, 17-alilamino-17-demetoxigeldanamycin (17AAG), mostrou uma propriedade não-mudada na inibição de HSP90, a degradação de proteínas-cliente e atividade antitumoral em culturas de célula e em modelos de tumor de xenoenxerto (Schulte et al., 1998; Kelland et al., 1999), mas tinha significativamente citotoxicidade de fígado menor do que geldanamycin (Page et al., 1997). 17AAG está atualmente suportando ensaios clínicos de fase I/II.

Radicol, um antibiótico macrocíclico, do mesmo modo exibiu revisão do fenótipo maligno induzido por v-Src e v-Ha-Ras de fibroblastos (Kwon et al., 1992; Zhao et al., 1995). Radicol degrada um grande número de proteínas de sinal como uma consequência de inibição de HSP90 (Schulte et al., 1998). Estudos cristalográficos de raio X têm mostrado que radicol do mesmo modo se liga ao domínio de N-terminal de HSP90, e inibe a atividade intrínseca de ATPase (Roe et al., 1998).

Antibióticos do tipo coumarina, conforme é conhecido, se ligam ao local de ligação de ATP do homólogo de DNA girase HSP90 em bactéria. A coumarina, Novobiocin, se liga à extremidade carbóxi-terminal de HSP90, isto é, a um local diferente em HSP90 do que as benzoquinona-ansamicins e radicol, que se liga à extremidade N-terminal de HSP90 (Marcu et al., 2000b),

A inibição de HSP90 por novobiocin resulta na degradação de um grande número de proteínas de sinal dependente de HSP90 (Marcu et al., 2000a).

A degradação de proteínas de sinal, por exemplo, ERBB2, foi demonstrada usando-se PU3, um inibidor de HSP90 derivado de purinas. PU3 causa captura de ciclo de célula e diferenciação em linhas de célula de câncer de seio (Chiosis et al., 2001).

HSP90 como alvo terapêutico

Devido à participação de HSP90 na regulação de um grande número de tumor, e a descoberta de que certos produtos naturais exercem seu efeito biológico através da inibição da atividade de HSP90, HSP90 está atualmente sendo testado como um novo alvo para o desenvolvimento de um agente terapêutico de tumor (Neckers et al., 1999).

O mecanismo principal de ação de geldanamycin, 17AAG, e radicol, inclui a inibição da ligação de ATP ao local de ligação de ATP na extremidade N-terminal da proteína e a inibição resultante da atividade intrínseca de ATPase de HSP90 (ver, por exemplo, Prodromou et al., 1997; Stebbins et al., 1997; Panaretou et al., 1998). Inibição da atividade de ATPase de HSP90 previne o recrutamento de co-acompanhantes e favorece a formação

de um heterocomplexo de HSP90, que faz com que as proteínas-cliente suportem degradação através da trajetória de ubiquitin-proteasoma (ver, por exemplo, Neckers et al., 1999; Keliand et al., 1999). O tratamento de células tumorais com inibidores de HSP90 resulta em degradação seletiva de proteínas importantes tendo fundamental importância para processos tais como proliferação de célula, regulação do ciclo da célula e apoptose. Estes processos são frequentemente desregulados em tumores (ver, por exemplo, Hospedeiro et al., 2001). Uma análise racional atrativa para o desenvolvimento de um inibidor de HSP90 é que uma forte ação terapêutica de tumor pode ser alcançada por degradação simultânea de uma pluralidade de proteínas que estão associadas ao fenótipo transformado.

Em detalhe, a presente invenção refere-se a um composto que inibe, regula e/ou modula HSP90, a composições que compreendem este composto, e a métodos para o uso destes para o tratamento de doenças induzidas por HSP90, tais como doenças de tumor, doenças virais, tais como, por exemplo, hepatite B (Waxman, 2002); supressão imune em transplantes (Bijlmakers, 2000 e Yorgin, 2000); doenças induzidas por inflamação (Bucci, 2000), tais como artrite reumatoide, asma, esclerose múltipla, diabetes tipo 1, eritematose de lúpus, psoríase e doença inflamatória de intestino; fibrose cística (Fuller, 2000); doenças associadas à angiogênese (Hur, 2002 e Kurebayashi, 2001), tais como, por exemplo, retinopatia diabética, hemangiomas, endometriose e angiogênese tumoral; doenças infecciosas; doenças autoimunes; isquemia; promoção de regeneração do nervo (Rosen et al., WO 02/09696; Degranco et al., WO 99/51223; Gold, US 6.210.974 B1); doenças fibrogenéticas, tais como, por exemplo, escleroma, polimiosite, lúpus sistêmico, cirrose do fígado, formação de queloide, nefrite intersticial e fibrose pulmonar (Strehlow, WO 02/02123).

A invenção também refere-se ao uso do composto de acordo com a invenção para a proteção de células normais contra toxicidade causada por quimioterapia, e ao uso em doenças onde dobramento incorreto de proteína ou agregação é um fator causal principal, tais como, por exemplo, "scrapie", doença de Creutzfeldt-Jakob, doença de Huntington ou de Alzhei-

mer (Sittler, Hum. Mol. Genet., 10, 1307, 2001; Tratzelt et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 92, 2944, 1995; Winklhofer et al., J. Biol. Chem., 276, 45160, 2001). WO 01/72779 descreve compostos de purina e o uso destes para o tratamento de doenças induzidas por GRP94 (homólogo ou pará logo de HSP90), tais como as doenças de tumor, onde o tecido canceroso inclui um sarcoma ou carcinoma selecionados a partir do grupo consistindo em fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogênico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomasarcoma, rhabdomiosarcoma, carcinoma de cólon, câncer pancreático, câncer de seio, câncer ovariano, câncer de próstata, carcinoma de célula escamosa, carcinoma de célula basal, adenocarcinoma, singocarcinoma, carcinoma de glândula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinomas, carcinoma de tutano de osso, carcinoma broncogênico, carcinoma de célula renal, hepatoma, carcinoma de ducto de bile, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embriônico, tumor de Wilm, câncer cervical, tumor testicular, carcinoma de pulmão, carcinoma de pulmão de célula pequena, carcinoma de bexiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craniofaringioma, ependimoma, pinealomas hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemia, linfoma, mieloma múltiplo, macroglobulinemia de Waldenstrom e doença de cadeia pesada.

A. Kamal et al, em Trends in Molecular Medicine, Vol. 10 Nº 6, Junho de 2004, descrevem aplicações terapêuticas e diagnósticas de ativação de HSP90, inter alia, para o tratamento de doenças do sistema nervoso central e de doenças cardiovasculares.

A identificação de compostos pequenos que especificamente inibem, regulam e/ou modulam HSP90 é, portanto, desejável e um objeto da presente invenção.

Verificou-se que 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida e sais deste têm propriedades farmacológicas muito valiosas enquanto sendo tolerados. Em particular, ele

exibe propriedades de inibição de HSP90.

A presente invenção, portanto, refere-se a 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida como medicamento e/ou ingrediente ativo de medicamento no tratamento e/ou profilaxia de referidas doenças, e ao uso de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento e/ou profilaxia das referidas doenças, e também a um processo para o tratamento das referidas doenças que compreende a administração de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida a um paciente em necessidade de tal administração.

O hospedeiro ou paciente pode pertencer a qualquer espécie de mamífero, por exemplo, uma espécie de primata, particularmente humanos; roedores, incluindo camundongos, ratos e hamsters; coelhos; cavalos, vacas, cães, gatos, etc. Os modelos de animal são de interesse para investigações experimentais, somente eles proporcionam um modelo para o tratamento de uma doença humana.

WO 2008/087077 descreve outros derivados de triazol como inibidores de HSP90. A presente invenção deve estar relacionada a uma seleção da invenção. A técnica anterior mais próxima que deve ser mencionada é o composto 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-propilbenzamida ("A47").

WO 00/53169 descreve inibição de HSP90 com coumarina ou um derivado de coumarina.

WO 03/041643 A2 revela derivados de zearalanol de inibição de HSP90.

Derivados de pirazol de inibição de HSP90 que são substituídos por um radical aromático na posição 3- ou 5-são revelados em WO 2004/050087 A1 e WO 2004/056782 A1.

WO 03/055860 A1 descreve 3,4-diarilpirazoles como inibidores de HSP90.

Derivados de purina tendo propriedades de inibição de HSP90

são revelados em WO 02/36075 A2.

WO 01/72779 descreve compostos de purina e o uso destes para o tratamento de doenças induzidas por GRP94 (homólogo ou parólogo de HSP90), tais como doenças de tumor, onde o tecido canceroso inclui um sarcoma ou carcinoma selecionados a partir do grupo consistindo em fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcorma, condrosarcoma, sarcoma osteogênico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiosarcoma, rabdomiosarcoma, carcinoma de cólon, câncer pancreático, câncer de seio, 5 câncer ovariano, câncer de próstata, carcinoma de célula escamosa, carcinoma de célula basal, adenocarcinoma, siringocarcinoma, carcinoma de glândula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinomas, carcinoma de tutano de osso, carcinoma broncogênico, carcinoma de célula renal, hepatoma, carcinoma de duto de bile, coriocarcinoma, serninoma, carcinoma embriônico, tumor de Wilm, câncer cervical, tumor testicular, carcinoma de pulmão, carcinoma de pulmão de célula pequena, carcinoma de bexiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craniofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemia, linfoma, mieloma múltiplo, macroglobulinemia de Waldenstrom, e doença de cadeia pesada. 10 15 20

WO 01/72779 adicionalmente revela o uso dos compostos mencionados para o tratamento de doenças virais, onde a patogenia viral é selecionada a partir do grupo consistindo em hepatite tipo A, hepatite tipo B, hepatite tipo C, gripe, varicela, adenovírus, herpes simples tipo I (HSV-I), herpes simples tipo II (HSV-II), peste de gado bovino, rinovírus, ecovírus, rotavírus, vírus sincicial respiratório (RSV), papilomavírus, papovavírus, citomegalovírus, equinovírus, arbovírus, huntavírus, vírus Coxsackie, vírus da caxumba, vírus do sarampo, vírus da rubéola, vírus da pólio, vírus da imunodeficiência humana tipo I (HIV-I) e vírus da imunodeficiência humana tipo II (HIV-II). 25 30

WO 01/72779 adicionalmente descreve o uso dos compostos

mencionados para modulação de GRP94, onde a atividade biológica de GRP94 modulado causa uma reação imune a um indivíduo, transporte de proteína a partir do retículo endoplasmático, recuperação de estresse hipóxico/anóxico, recuperação de subnutrição, recuperação de estresse do coração, ou combinações destes, e/ou onde o distúrbio é um tipo de câncer, uma doença infecciosa, um distúrbio associado ao transporte de proteína rompido a partir do retículo endoplasmático, um distúrbio associado à isquemia/reperfusão, ou combinações destes, onde o distúrbio associado à isquemia/reperfusão é uma consequência de parada cardíaca, asistolia e arritmia ventricular retardada, operação do coração, operação de derivação cardiopulmonar, transplante de órgão, trauma da coluna espinhal, trauma da cabeça, acidente vascular cerebral, acidente vascular cerebral tromboembólico, acidente vascular cerebral hemorrágico, vasoespasma cerebral, hipotonia, hipoglicemia, estado epilético, um ajuste epilético, ansiedade, esquizofrenia, um distúrbio neurodegenerativo, doença de Alzheimer, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica (ALS), ou estresse neonatal.

Finalmente, WO 01/72779 descreve o uso de uma quantidade efetiva de um modulador de proteína de GRP94 para a preparação de um medicamento para mudança de uma reação celular subsequente a um estado isquêmico em um local de tecido em um indivíduo, por tratamento das células no local de tecido com o modulador de proteína de GRP94 de modo que a atividade de GRP94 em células é aumentada a uma tal extensão que uma reação celular subsequente a um estado isquêmico é mudada, onde a condição isquêmica subsequente é preferivelmente a consequência de parada cardíaca, asistolia e arritmia ventricular retardada, operação de coração, operação de derivação cardiopulmonar, transplante de órgão, trauma da coluna espinhal, trauma da cabeça, acidente vascular cerebral, acidente vascular cerebral tromboembólico, acidente vascular cerebral hemorrágico, vasoespasma cerebral, hipotonia, hipoglicemia, estado epilético, um ajuste epilético, ansiedade, esquizofrenia, um distúrbio neurodegenerativo, doença de Alzheimer, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica (ALS), ou estresse neonatal, ou onde o local de tecido é o tecido doador para um

transplante.

As especificações mencionadas abaixo descrevem combinações de geldanamicina como inibidor de HSP90 com outros ingredientes de medicamentos ativos: WO 2004/108080 A2, WO 2005/002506 A2, WO 5 2005/000211 A2, WO 2005/000212 A2, WO 2005/000213 A2, WO 2005/000214 A2, WO 2005/000314 A1.

Literatura adicional:

Argon Y and Simen BB. 1999 "Grp94, an ER chaperone with protein and peptide binding properties", Semin. Cell Dev. Biol. Vol. 10, pp. 495- 10 505.

Bijimakers M-JJE, Marsh M. 2000 "Hsp90 is essential for the synthesis and subsequent membrane association, but not the maintenance, of the Src-kinase p56lck", Mol. Biol. Cell, Vol. 11(5), pp. 1585-1595.

Bucci M; Roviezzo F; Cicala C; Sessa WC, Cirino G. 2000 "Geldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90 (Hsp90) mediated signal transduction has anti-inflammatory effects and interacts with glucocorticoid receptor in vivo", Brit. J. Pharmacol., Vol. 131(1), pp. 13-16. 15

Carreras CW, Schirmer A, Zhong Z, Santi VS. 2003 "Filter binding assay for the geldanamycin-heat shock protein 90 interaction", Analytical Biochem., Vol. 317, pp 40-46. 20

Chen C-F, Chen Y, Dai KD, Chen P-L, Riley DJ e Lee W-H. 1996 "A new member of the hsp90 family of molecular chaperones interacts with the retinoblastoma protein during mitosis and after heat shock", Mol. Cell. Biol., Vol. 16, pp. 4691-4699. 25

Chiosis G, Timaul MM, Lucas B, Munster PN, Zheng FF, Sepp-Loenzino L and Rosen N. 2001 "A small molecule designed to bind to the adenine nucleotide pocket of HSP90 causes Her2 degradation and the growth arrest e differentiation of breast cancer cells", Chem, Biol., Vol. 8, pp. 289-299. 30

Chiosis G, Lucas B, Shtil A, Huezio H, Rosen N 2002 "Development of a purine-scaffold novel class of HSP90 binders that inhibit the proliferation of cancer cells and induce the degradation of her2 tyrosine kinase".

Bio-organic Med. Chem., Vol. 10, pp 3555-3564.

Conroy SE e Latchman DS. 1996 "Do heat shock proteins have a role in breast cancer", Brit. J. Cancer, Vol. 74, pp. 717-721.

5 Felts SJ, Owen BAL, Nguyen P, Trepel J, Donner DB and Toft DO. 2000 'The HSP9G-related protein TRAP1 is a mitochondrial protein with distinct functional properties', J. Biol. Chem., Vol. 5, pp. 3305-331 2.

Fuller W, Cuthbert AW. 2000 "Post-translational disruption of the delta F508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-molecular accompanhante complex with geldanarnycin stabilises delta F508 CFTR in the rabbit reticulocyte lysate", J. Biol. Chem., Vol. 275(48), pp. 37482-37468.

Hickey E, Brandon SE, Smale G, Lfoyd D and Weber LA. 1999 "Sequence e regulation of a gene encoding a human 89-kilodalton heat shock protein", Mol. Cell. Biol., Vol. 9, pp. 2615-2626.

15 Hoang AT, Huang J, Rudra-Gonguly N, Zheng J, Powell WC, Rabindron SK, Wu C and Roy-Burman P. 2000 "A novel association between the human heat shock transcription factor 1 (HSF1) and prostate adenocarcinoma, Am. J. Pathol., Vol. 156, pp. 857-864.

Hostein I, Robertson D, Di Stefano F, Workman P e Clarke PA. 20 2001 "Inhibition of signal transduction by the HSP90 inhibitor 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin results in cytostasis and apoptosis", Cancer Res., Vol. 61, pp. 4003-4009.

Hur E, Kim H-H, Choi SM, Kim JH, Yim S, Kwon HJ, Choi Y, Kim DK, Lee M-0, Park H. 2002 "Reduction of hypoxia-induced transcription t- 25 hrough the repression of hypoxia-inducible factor-1 α /aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator DNA binding by the 90-kDa heat-shock protein inhibitor radicicol", Mol. Pharmacol., Vol. 62(5), pp. 975-982.

Jameel A, Skilton RA, Campbell TA, Chander SK, Coombes RC and Luqmani YA. 1992 "Clinical Jolly C e Morimoto RI. 2000 "Role of the he- 30 at shock response and molecular chaperones in oncogenesis e cell death", J. Natl. Cancer Inst., Vol. 92, pp. 1564-1572.

Kawanishi K, Shiozaki H, Doki Y, Sakita I, Inoue IM, Yano M,

Tsujinata T, Shamma A and Monden M. 1999 "Prognostic significance of heat shock proteins 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus", *Cancer*, Vol. 85, pp. 1649-1657.

5 Kelland LR, Abel G, McKeage MJ, Jones M, Goddard PM, Valenti M, Murrer BA, and Harrap KR. 1993 "Preclinical antitumor evaluation of bis-acetalo-amino-dichloro-cyclohexylamine platinum (IV): an orally active platinum drug", *Cancer Research*, Vol. 53, pp. 2581 - 2586.

10 Kelland LR, Sharp SY, Rogers PM, Myers TG e Workman P. 1999 "DT-diaphorase expression and tumor cell sensitivity to 17-allylamino, 17-demethoxygeldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90", *J. Natl. Cancer Inst*, Vol. 91, pp. 1940-1949.

15 Kurebayashi J, Otsuki T, Kurosumi M, Soga S, Akinaga S, Sono, H. 2001 "A radicicol derivative, KF58333, inhibits expression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor, angiogenesis and growth of human breast cancer xenografts", *Jap. J. Cancer Res*, Vol. 92 (12), 1342-1351.

20 Kwon HJ, Yoshida M, Abe K, Horimouchi S and Beppele T. 1992 "Radicicol, an agent inducing the reversal of transformed phenotype of src-transformed fibroblasts, *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, Vol. 56 pp. 538-539.

Lebeau J, Le Cholony C, Prosperi MT and Goubin G. 1991 "Constitutive overexpression of 89 kDa heat shock protein gene in the HBL100 mammary cell line converted to a tumorigenic phenotype by the EJE24 Harveyras oncogene", *Oncogene*, Vol. 6, pp. 1125-1132.

25 Marcu MG, Chadli A, Bouhouche I, Catelli M and Neckers L. 2000a "The heat shock protein 90 antagonist novobiocin interacts with a previously unrecognised ATP-binding domain in the carboxyl terminus of the chaperone", *J. Biol. Chem.*, Vol. 275, pp. 37181-37186.

30 Marcu MG, Schulte TW and Neckers L. 2000b "Novobiocin and related coumarins and depletion of heat shock protein 90-dependent signaling proteins", *J. Natl. Cancer Inst*, Vol. 92, pp. 242-248.

Martin KJ, Kritzman BM, Price LM, Koh B, Kwan CP, Zhang X, MacKay A, O'Hare MJ, Kaelin CM, Mutter GL, Pardee AB and Sager R. 2000

"Linking gene expression patterns to therapeutic groups in breast cancer", *Cancer Res.*, Vol. 60, pp. 2232-2238.

Neckers L, Schulte TW e Momnaugh E. 1999 "Geldanamycin as a potential anti-cancer agent: its molecular target and biochemical activity", *Invest. New Drugs*, Vol. 17, pp. 381-373.

Page J, Heath J, Fulton R, Yalkowsky E, Tabibi E, Tomaszewski J, Smith A and Rodman L. 1997 "Comparison of geldanamycin (NSC-122750) and 17-allylaminogeldanamycin (NSC-330507P) toxicity in rats", *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, Vol. 38, pp. 308.

Panaretou B, Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW and Pearl LH. 1998 "ATP binding e hydrolysis are essential to the function of the HSP90 molecular chaperone in vivo", *ElviBG J.*, Vol. 17, pp. 4829-4836.

Pratt WB. 1997 "The role of the HSP90-based accompanhante system in signal transduction by nuclear receptors and receptors signalling via MAP kinase", *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, Vol. 37, pp. 297-326.

Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW and Pearl LH. 1997 "Identification and structural characterisation of the ATP/ADP-binding site in the HSP90 molecular chaperone", *Cell*, Vol. 90, pp. 65-75.

Prodromou C, Panaretou B, Chohan S, Siligardi G₃ O'Brien R, Ladbury JE,

Roe SM, Piper PW e Pearl LH. 2000 "The ATPase cycle of HSP90 drives a molecular "clamp" via transient dimerisation of the N-terminal domains", *EMBO J.*, Vol. 19, pp. 4383-4392.

Roe SM, Prodromou C, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW and Pearl LH. 1999 "Structural basis for inhibition of the HSP90 molecular chaperone by the antitumor antibiotics radicicol e geldanamycin", *J. Med. Chem.*, Vol. 42, pp. 260-266.

Rutherford SL and Lindquist S. 1998 "HSP90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature*, Vol. 396₅ pp. 336-342.

Schulte TW, Akinaga S, Murakata T, Agatsuma T, Sugimoto S,

Nakano H, Lee YS, Simen BB, Argon Y, Felts S, Toft DO, Neckers LM and Sharma SV. 1999 "Interaction of radicicol with members of the heat shock protein 90 family of molecular chaperones", *Mol Endocrinology*, Vol. 13, pp. 1435-1448.

5 Schulte TW, Akinaga S, Soga S, Sullivan W, Sensgard B, Toft D e Neckers LM. 1998 "Antibiotic radicicol binds to the N-terminal domain of HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", *Cell Stress and chaperones*, Vol. 3, pp. 100-108.

10 Schulte TW and Neckers LM. 1998 "The benzoquinone ansamycin 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin binds to HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", *Cancer Chernother. Pharmacol.*, Vol. 42, pp. 273-279.

15 Smith DF. 2001 "Chaperones in signal transduction", in: *Molecular chaperones in the cell* (P Lund, ed.; Oxford University Press, Oxford and NY), pp. 165-178.

Smith DF, Whitesell L and Katsanis E. 1998 "Molecular chaperones: Biology and prospects for pharmacological intervention", *Pharmacological Reviews*, Vol. 50, pp. 493-513.

20 Song HY, Dunbar JD, Zhang YX, Guo D e Donner DB. 1995 "Identification of a protein with homology to hsp90 that binds the tipo 1 tumor necrosis factor receptor", *J. Biol. Chem.*, Vol. 270, pp. 3574-3581.

25 Stebbins CE, Russo A, Schneider C, Rosen N, Hartl FU and Pavtetch NP. 1997 "Crystal structure of an HSP90-geldanamycin complex: targeting of a protein accompanhante by an antitumor agent", *Cell*, Vol. 89, pp. 239-250.

Supko JG, Hickman RL, Grever MR e Malspeis L. 1995 "Preclinical pharmacologic evaluation of geldanamycin as an antitumor agent", *Cancer Chernother. Pharmacol.*, Vol. 36, pp. 305-315.

30 Tyteli M e Hooper PL. 2001 "Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies", *Emerging Therapeutic Targets*, Vol. 5, pp. 267-287.

Uehara U, Hori M, Takeuchi T e Umezawa H. 1986 "Phenotypic

change from transformed to normal induced by benzoquinoid ansamycins accompanies inactivation of p60src in rat kidney cells infected com Rous sarcoma virus", Mol, Cell. Biol, Vol. 6, pp. 21 98-2206.

Waxman, Lloyd H. Inhibiting hepatitis C virus processing and replication. (Merck & Co. Inc., USA). PCT Int. Appl. (2002), WO 0207761 Whitesell L, Mimnaugh EG, De Costa B, Myers CE and Neckers LM. 1994 "Inhibition of heat shock protein H5P90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation", Proc. Natl. Acad. Sci. USA., Vol. 91, pp. 8324-8328.

Yorgin et al. 2000 "Effects of geldanamycin, a heat-shock protein 90-binding agent, on T cell function and T cell nonreceptor protein tyrosine kinases", J. Immunol., Vol. 164(6), pp. 2915-2923.

Young JC, Moarefi I and Hartl FU. 2001 "HSP90: a specialised but essential protein-folding tool", J. Cell. Biol, Vol. 154, pp. 267-273.

Zhao JF, Nakano H and Sharma S. 1995 "Suppression of RAS and MOS transformation by radicicol", Oncoqene, Vol. 11, pp. 161 -173.

Sumário da Invenção

A invenção refere-se ao composto 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida e derivados farmacologicamente utilizáveis, sais, solvatos, tautômeros e estereoisômeros destes, incluindo misturas destes em todas as proporções.

Em particular, a invenção refere-se ao composto 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida e derivados farmacologicamente utilizáveis, tautômeros e estereoisômeros destes, incluindo misturas destes em todas as proporções.

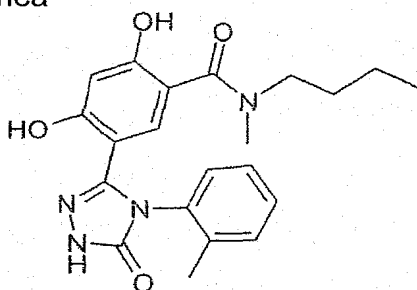
A invenção particularmente preferivelmente refere-se ao composto 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida e derivados de ácido mono- e difosfórico, derivados tioxo, derivados de ácido mono- e diglucurônico, tautômeros e estereoisômeros destes, incluindo misturas destes em todas as proporções.

A invenção muito particularmente preferivelmente refere-se ao 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-

butilbenzamida.

A invenção também refere-se aos hidratos e solvatos destes compostos. Os solvatos destes compostos são tomados para significarem aduções de moléculas de solvente inertes nos compostos que se formam devido a sua força atrativa mútua. Os solvatos são, por exemplo, mono- ou di-hidratos ou alcoolatos.

O composto de acordo com a invenção podem também existir na seguinte forma tautomérica



Derivados farmacologicamente utilizáveis são tomados para significar, por exemplo, os sais do composto de acordo com a invenção, e também assim denominados compostos de pró-fármaco.

Os derivados de pró-fármaco são tomados para significar o composto de acordo com a invenção que foi modificado com, por exemplo, grupos alquila ou acila, açúcares ou oligopeptídeos, e que é rapidamente clivado no organismo para dar o composto ativo de acordo com a invenção.

Estes também incluem derivados de polímero biodegradável do composto de acordo com a invenção, conforme descrito, por exemplo, em *Int. J. Pharm.* 115, 61-67 (1995).

Pró-fármacos particularmente preferidos são os derivados de éster de ácido fosfórico, tais como, por exemplo, os derivados de éster de ácido mono- e/ou difosfórico éster, tais como, por exemplo, os derivados de mono- e/ou digluconidas, ou o 5-tioxo.

A expressão "quantidade efetiva" significa a quantidade de um medicamento ou ingrediente farmacologicamente ativo que causa uma resposta biológica ou médica que é procurada ou desejada, por exemplo, por um pesquisador ou médico em um tecido, sistema, animal ou ser humano.

Em adição, a expressão "quantidade terapêuticamente eficaz"

significa uma quantidade que, comparada a um indivíduo correspondente que não recebeu esta quantidade, tem a seguinte consequência:

Tratamento aperfeiçoado de cura, cura, prevenção ou eliminação de uma doença, situação da doença, um estado da doença, uma queixa, um distúrbio ou de efeitos colaterais, ou também a redução no progresso de uma doença, uma queixa ou um distúrbio.

O termo "quantidade terapeuticamente efetiva" também envolve as quantidades que são efetivas para aumentar a função fisiológica normal.

A invenção também refere-se a misturas do composto de acordo com a invenção, por exemplo, misturas de dois diastereômeros, por exemplo na proporção 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 1:100 ou 1:1000.

Estas são particularmente preferivelmente misturas de compostos estereoisoméricos.

O composto de acordo com a invenção e também os materiais de partida para sua preparação são, em adição, preparados por métodos conhecidos per se, conforme descrito na literatura (por exemplo, nos trabalhos padrões, tais como Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie [Methods of Organic Chemistry], Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart), para ser preciso, sob condições de reação que são conhecidas e adequadas para as referidas reações. Uso pode também ser feito aqui de variantes conhecidas per se que não são mencionadas aqui em maiores detalhes.

Se desejado, os materiais de partida podem também ser formados in situ por não-isolamento dos mesmos a partir da mistura de reação, mas, ao invés, imediatamente convertendo-os adicionalmente nos compostos de acordo com a invenção.

Os compostos de partida são geralmente conhecidos. Se eles forem novos, contudo, eles podem ser preparados por métodos conhecidos *per se*.

O composto de acordo com a invenção é preparado por métodos conforme descritos em WO 2006/087077.

A reação é efetuada por métodos que são conhecidos à pessoa versada na técnica.

A reação é efetuada em um solvente inerte adequado.

Exemplos de solventes inertes adequados são hidrocarbonetos, tais como hexano, éter de petróleo, benzeno, tolueno ou xileno; hidrocarbonetos clorinados, tais como tricloroetileno, 1,2-dicloroetano, tetracloreto de carbono, clorofórmio ou diclorometano; alcóois, tais como metanol, etanol, isopropanol, n-propanol, n-butanol ou terc-butanol; éteres, tais como dietil éter, di-isopropil éter, tetra-hidrofurano (THF) ou dioxano; éteres glicóis éteres, tais como monometil ou monoetil éter etileno glicol, dimetil éter etileno glicol (diglime); cetonas, tais como acetona ou butanona; amidas, tais como acetamida, dimetilacetamida ou dimetilformamida (DMF); nitrilas, tais como acetonitrila; sulfóxidos, tal como dimetil sulfóxido (DMSO); dissulfeto de carbono; ácidos carboxílicos, tais como ácido fórmico ou ácido acético; compostos nitro, tais como nitrometano ou nitrobenzeno; ésteres, tal como acetato de etila, ou misturas de referidos solventes.

O solvente é particularmente preferivelmente, por exemplo, tetra-hidrofurano.

Dependendo das condições usadas, o tempo de reação é entre uns poucos minutos e 14 dias, a temperatura de reação é entre cerca de -30° e 140° normalmente entre -10° e 130° , em particular cerca de 30° e cerca de 125° .

Os grupos de proteção são removidos por métodos que são conhecidos à pessoa versada na técnica.

A clivagem de um éter, por exemplo um metil éter, é efetuada em um solvente adequado, conforme indicado acima, preferivelmente pela adição de tribrometo de boro.

A reação é particularmente preferivelmente efetuada em diclorometano a uma temperatura de reação entre cerca de -30° e 50°C , normalmente entre -20° e 20° , em particular entre cerca de -15° e cerca de 0° .

O composto de acordo com a invenção pode adicionalmente ser obtido por liberação do mesmo de derivados funcionais deste por solvólise, em particular hidrólise, ou por hidrogenólise.

Materiais de partida preferidos para a solvólise ou hidrogenólise

são aqueles que contêm grupos amino e/ou hidroxila protegidos correspondente ao invés de um ou mais grupos amino e/ou hidroxila, preferivelmente aqueles que conduzem um grupo de proteção amino ao invés de um átomo de H ligado a um átomo de N, por exemplo, aqueles que se conformam à fórmula I, mas que contêm um grupo NHR^1 (em que R^1 denota um grupo de proteção de amino, por exemplo, BOC ou CBZ) ao invés de um grupo NH_2 .

Preferência é adicionalmente dada a materiais de partida que conduzem um grupo de proteção hidroxil ao invés do átomo de H de um grupo hidroxila, por exemplo, aqueles que se conformam à fórmula I, mas contém um grupo R^1O -fenila (em que R^1 denota um grupo de proteção hidroxila) ao invés de um grupo hidroxifenila.

É também possível para uma pluralidade de grupos amino e/ou hidroxila protegidos – idênticos ou diferentes – estar presente na molécula do material de partida. Se os grupos de proteção presentes são diferentes um do outro, eles podem, em muitos casos, ser clivados seletivamente.

O termo "grupo de proteção de amino" é conhecido em termos gerais e se relacionam a grupos que são adequados para proteção (bloqueio) de um grupo amino contra reações químicas, mas que são fáceis de remover após a reação química desejada tiver sido efetuada em qualquer lugar na molécula. Típicos de tais grupos são, em particular, grupos acila, arila, aralcoximetila ou aralquila substituídos ou não-substituídos. Desde que os grupos de proteção de amino são removidos após a reação desejada (ou sequência de reação), seu tipo e tamanho não são adicionalmente cruciais; contudo, preferência é dada aqueles tendo 1-20, em particular 1-8, átomos de carbono. O termo "grupo acila" é para ser compreendido no sentido mais amplo em conjunto com o presente processo. Ele inclui grupos acila derivados de ácidos carboxílicos alifáticos, aralifáticos, aromáticos ou heterocíclicos ou ácidos sulfônicos, e, em particular, grupos alcóxicarbonila, arilóxicarbonila e especialmente aralquilóxicarbonila. Exemplos de tais grupos acila são alcanóila, tais como acetila, propionila e butirila; aralcanóila, tal como fenilacetila; aroila, tais como benzoila e tolila; arilóxiaralcanóila, tal como POA; alcóxicarbonila, tais como metóxicarbonila, etóxicarbonila, 2,2,2-

tricloroetoxicarbonila, BOC e 2-iodoetoxicarbonila; aralcoxicarbonila, tal como CBZ ("carbobenzóxi"), 4-metoxibenziloxicarbonil e FMOC; e arilsulfonila, tais como Mtr, Pbf ou Pmc. Grupos de proteção de amino preferidos são BOC e Mtr, adicionalmente CB2, Fmoc, benzila e acetila.

5 O termo "grupo de proteção de hidroxila" é, do mesmo modo, conhecido em termos gerais e se relaciona a grupos que são adequados para proteção de um grupo hidroxila contra reações químicas, mas são fáceis de remover após a reação química desejada tiver sido efetuada em qualquer lugar na molécula. Típicos de tais grupos são os grupos arila, aralquila ou acila substituídos ou não-substituídos acima mencionados, adicionalmente também grupos alquila. A natureza e tamanho dos grupos contendo hidroxila não são cruciais visto que eles são removidos novamente após a reação química desejada ou sequência de reação; preferência é dada a grupos tendo 1-20, em particular, 1-10 átomos de carbono. Exemplos de grupos de proteção de hidroxila são, entre outros, benzila, p-nitrobenzoíla, p-toluenossulfonila, terc-butila e acetila, onde benzila e terc-butila são particularmente preferidos. Grupos COOH são preferivelmente protegidos na forma de seus terc-butil ésteres.

O composto de acordo com a invenção é liberado de seus derivados funcionais – dependendo do grupo de proteção usado – por exemplo usando ácidos fortes, vantajosamente usando-se TFA ou ácido perclórico, mas também usando-se outros ácidos inorgânicos fortes, tais como ácido clorídrico ou ácido sulfúrico, ácidos carboxílicos fortes, tais como ácido tricloroacético, ou ácidos sulfônicos, tais como ácido benzeno- ou p-toluenossulfônico. A presença de um solvente inerte adicional é possível, mas não é sempre necessária. Solventes inertes adequados são preferivelmente orgânicos, por exemplo, ácidos carboxílicos, tais como ácido acético, éteres, tais como tetra-hidrofurano ou dioxano, amidas, tal como DMF, hidrocarbonetos halogenados, tal como diclorometano, adicionalmente também alcóois, tais como metanol, etanol ou isopropanol, e água. Misturas dos solventes acima mencionados são adicionalmente adequadas. TFA é preferivelmente usado em excesso sem adição de um solvente adicional, e ácido

perclórico é preferivelmente usado na forma de uma mistura de ácido acético e 70% de ácido perclórico na proporção 9:1. As temperaturas de reação para a clivagem são vantajosamente entre cerca de 0 e cerca de 50°, preferivelmente entre 15 e 30° (temperatura ambiente).

5 Os grupos BOG, OBut, Pbf, Pmc e Mtr podem, por exemplo, preferivelmente serem clivados usando-se TFA em diclorometano ou usando-se aproximadamente 3 a 5N de HCl em dioxano a 15-30°, e o grupo FMOC pode ser clivado usando-se aproximadamente 5 a 50% de solução de dimetilamina, dietilamina ou piperidina em DMF a 15-30°.

10 Os grupos de proteção que podem ser removidos hidrogenoliticamente (por exemplo, CSZ ou benzila) podem ser clivados, por exemplo, por tratamento com hidrogênio na presença de um catalisador (por exemplo, um catalisador de metal nobre, tal como paládio, vantajosamente em um suporte, tal como carbono). Solventes adequados aqui são aqueles indica-
15 dos acima, em particular, por exemplo, alcóois, tais como metanol ou etanol, ou amidas, tal como DMF. A hidrogenólise é geralmente efetuada a temperaturas entre cerca de 0 e 100° e pressões entre cerca de 0,1 a 20 Mpa (1 e 200 bar), preferivelmente em 20-30° e 0,1 e 1 MPa (1-10 bar). A hidrogenólise do grupo CBZ se sucede bem, por exemplo, em 5 a 10% Pd/C em metanol ou usando-se formato de amônia (ao invés de hidrogênio) em Pd/C em
20 metanol/DMF a 20-30°.

Sais farmacêuticos e outras formas

O referido composto de acordo com a invenção pode ser usado em sua forma de não-sal. Por outro lado, a presente invenção também en-
25 volve o deste composto na forma de seus sais farmaceuticamente aceitáveis, que podem ser derivadas de vários ácidos e bases orgânicas e inorgânicas pelos procedimentos conhecidos na técnica. As formas de sal farmaceuticamente aceitável do composto de acordo com a invenção são, para a maior parte, preparadas por métodos convencionais. Um sal adequado pode
30 ser formado por reação do composto com uma base adequada para dar o sal de adição base correspondente. Tais bases são, por exemplo, hidróxidos de metal alcalino, incluindo hidróxido de potássio, hidróxido de sódio e hidró-

xido de lítio; hidróxidos de metal alcalino-terroso, tais como hidróxido de bário e hidróxido de cálcio; alcóxidos de metal alcalino, por exemplo, etóxido de potássio e propóxido de sódio; e várias bases orgânicas, tais como piperidina, dietanolamina e N-metil-glutamina. Os sais de alumínio do composto de acordo com a invenção são, do mesmo modo, incluídos. Sais de adição ácidos podem também ser formados pelo tratamento do composto com ácidos orgânicos e inorgânicos farmacologicamente aceitáveis, por exemplo, haletos de hidrogênio, tais como cloreto de hidrogênio, brometo de hidrogênio ou iodeto de hidrogênio, outros ácidos minerais e sais correspondentes destes, tais como sulfato, nitrato ou fosfato e similares, e alquil- e monoarilsulfonatos, tais como etanossulfonato, toluenossulfonato e benzenossulfonato, e outros ácidos orgânicos e sais correspondentes destes, tais como acetato, trifluoroacetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato, ascorbato, e similares. Conseqüentemente, sais de adição ácidos farmacologicamente aceitáveis do composto de acordo com a invenção incluem os seguintes: acetato, adipato, alginato, arginato, aspartato, benzoato, benzenossulfonato (besilato), bissulfato, bissulfeto, brometo, butirato, canforato, canforsulfonato, caprilato, cloreto, clorobenzoato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, di-hidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, etanossulfonato, fumarato, galactarato (de ácido múcico), galacturonato, glucoheptanoato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, hemissuccinato, hemissulfato, heptanoato, hexanoato, hipurato, cloridrato, bromidrato, hidriodeto, 2-hidroxi-etanossulfonato, iodeto, isotionato, isobutirato, lactato, lactobionato, malato, maleato, maionato, mandelato, metafosfato, metanossulfonato, metilbenzoato, mono-hidrogenofosfato, 2-naftalenossulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, oleato, palmoato, pectinato, persulfato, fenilacetato, 3-fenilpropionato, fosfato, fosfonato, ftalato, mas estes não representam uma restrição.

Adicionalmente, os sais base sais do composto de acordo com a invenção incluem sais de alumínio, amônia, cálcio, cobre, ferro(III), ferro(II), lítio, magnésio, manganês(III), manganês(II), potássio, sódio e zinco, mas isto não é pretendido para representar uma restrição. Dos sais acima men-

cionados, preferência é dada a amônia; os sais de metal alcalino de sódio e potássio, e os sais de metal alcalino-terroso de cálcio e magnésio. Os sais do composto de acordo com a invenção que são derivados de bases não-tóxicas orgânicas farmacêuticamente aceitáveis incluem sais de aminas primária, secundária e terciária, aminas substituídas, também incluindo aminas substituídas que ocorrem naturalmente, aminas cíclicas, e resinas trocadoras de calor básicas, por exemplo, arginina, betaína, cafeína, cloroprocaína, colina, N,N'-dibenziletlenodiamina (benzatina), diciclo-hexil-amina, dietanolamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanoalamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lidocaína, lisina, meglumina, N-metil-D-glucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietanolamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina e tris(hidroximetil)metilamina (trometamina), mas isto não é pretendido para representar uma restrição.

O composto de acordo com a invenção da presente invenção que contém grupos contendo nitrogênio básico pode ser quaternizado usando-se agentes tais como haletos de (C_rC₄)alquil, por exemplo metila, etila, isopropila e cloreto, brometo e iodeto de terc-butila; sulfatos de di(C₁-C₄)alquila, por exemplo, sulfato de dimetila, dietila e diamila; haletos de (C₁₀-C₁₈)alquila, por exemplo, cloreto, brometo e iodeto de decila, dodecila, laurila, miristila e estearila; e haletos de aril(C₁-C₄)alquila, por exemplo, cloreto de benzila e brometo de fenetila. Ambos compostos solúveis em água e óleo de acordo com a invenção podem ser preparados usando-se tais sais.

Os sais farmacêuticos acima mencionados que são preferidos incluem acetato, trifluoroacetato, besilato, citrato, fumarato, gluconato, hemissuccinato, hipurato, cloridrato, bromidrato, isotionato, mandelato, meglumina, nitrato, oleato, fosfabato, pivalato, fosfato de sódio, estearato, sulfato, sulfossalicilato, tartarato, tiomalato, tosilato e trometamina, mas isto não é pretendido para representar uma restrição.

Os sais de adição ácidos do composto de acordo com a invenção são preparados colocando-se a forma de base livre em contato com

uma quantidade suficiente do ácido desejado, causando a formação do sal em uma maneira convencional. A base livre pode ser regenerada colocando-se a forma de sal em contato com uma base, e isolando-se a base livre em uma maneira convencional. As formas de base livre diferem, em um certo aspecto, a partir das formas de sal correspondentes destas com relação a

5 certas propriedades físicas, tais como solubilidade em solventes polares; para a proposta da invenção, contudo, os sais, de outro modo, correspondem às respectivas formas de base livres destes.

Conforme mencionado, os sais de adição bases farmacêuticamente aceitáveis do composto de acordo com a invenção são formados com

10 metais ou aminas, tais como metais alcalinos são sódio, potássio, magnésio e cálcio. Aminas orgânicas preferidas são N,N'-dibenziletlenodiamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilenodiamina, N-metil-D-glucamina e procaína.

Os sais de adição básicos são preparados colocando-se o ácido livre em contato com uma quantidade suficiente da base desejada, causando a formação do sal em uma maneira convencional. O ácido livre pode ser regenerado colocando-se a forma de sal em contato com um ácido, e isolando-se o ácido livre colocando-se a forma de sal em contato com um ácido, e

15 isolando-se o ácido livre em uma maneira convencional. As formas de ácido livre diferem, em um certo aspecto, das formas de sal correspondente destas com relação a certas propriedades físicas, tais como solubilidade em solventes polares; para a proposta da invenção, contudo, os sais, de outro modo, correspondem às respectivas formas de ácido livre destes.

20

Com relação àquela citada acima, pode ser visto que a expressão "sal farmacêuticamente aceitável" no presente conjunto é tomada para significar um ingrediente ativo que compreende um composto de acordo com a invenção na forma de um de seus sais, em particular se esta forma de sal concede propriedades farmacocinéticas aperfeiçoadas no ingrediente ativo

25 comparado com a forma livre do ingrediente ativo, ou qualquer outra forma de sal do ingrediente ativo usada anteriormente. A forma de sal farmacêuticamente aceitável do ingrediente ativo pode também proporcionar este in-

30

grediente ativo pela primeira vez com uma propriedade farmacocinética desejada que ele não tem anteriormente e pode ainda ter uma influência positiva nas farmacodinâmicas deste ingrediente ativo com relação a sua eficácia terapêutica no corpo.

5 A invenção adicionalmente refere-se ao uso do composto de acordo com a invenção e/ou sais fisiologicamente aceitáveis deste, para a preparação de um medicamento (composição farmacêutica), em particular, por métodos não-químicos. Eles podem ser convertidos em uma forma de dosagem adequada aqui junto com pelo menos um excipiente ou adjuvante
10 sólido, líquido e/ou semilíquido, e, se desejado, em combinação com um ou mais ingredientes ativos adicionais.

A invenção adicionalmente refere-se a medicamentos compreendendo 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e/ou derivados farmacêuticamente utilizáveis, sais,
15 solvatos, tautômeros e estereoisômeros deste, incluindo misturas destes em todas as proporções, e, opcionalmente, excipientes e/ou adjuvantes. Formulações farmacêuticas podem ser administradas na forma de unidades de dosagem que compreendem uma quantidade predeterminada de ingrediente ativo por unidade de dosagem. Tal unidade pode compreender, por exemplo,
20 0,1 mg a 3 g, preferivelmente 1 mg a 700 mg, particularmente preferivelmente 5 mg a 100 mg, de um composto de acordo com a invenção, dependendo da condição de doença tratada, do método de administração e da idade, peso e condição do paciente, ou formulações farmacêuticas podem ser administradas na forma de unidades de dosagem que compreendem uma quantidade predeterminada de ingrediente ativo por unidade de dosagem. Formu-
25 lações de unidade de dosagem preferidas são aquelas que compreendem uma dose diária, ou parte de dose, conforme indicado acima, ou uma fração correspondente desta de um ingrediente ativo. Adicionalmente, formulações farmacêuticas deste tipo podem ser preparadas usando-se um processo que
30 é geralmente conhecido na técnica farmacêutica.

Formulações farmacêuticas podem ser adaptadas para administração através de qualquer método adequado desejado, por exemplo, por

métodos orais (incluindo bucal ou sublingual), retal, nasal, tópico (incluindo bucal, sublingual, ou transdermal), ou intradermal. Tais formulações podem ser preparadas usando-se todos os processos conhecidos na técnica farmacêutica por, por exemplo, combinação do ingrediente ativo com o(s) excipiente(s) ou adjuvante(s).

5 Formulações farmacêuticas adaptadas para administração oral podem ser administradas como unidades separadas, tais como, por exemplo, cápsulas ou comprimidos; pós ou grânulos; soluções ou suspensões em líquidos aquosos e não-aquosos; espumas comestíveis ou alimentos de espuma; ou emulsões óleo em água ou emulsões água em óleo.

10 Desse modo, por exemplo, no caso de administração oral na forma de um comprimido ou cápsula, o componente de ingrediente ativo pode ser combinado com um excipiente oral, não-tóxico, e farmacologicamente aceitável, inerte, tal como, por exemplo, etanol, glicerol, água e similares. Os pós são preparados por trituração do composto a um tamanho fino adequado, e misturando-o com um excipiente farmacêutico triturado em uma maneira similar, tal como, por exemplo, um carboidrato comestível, tal como, por exemplo, amido ou manitol. Um flavorizante, conservante, dispersante e corante podem, de outro modo, estar presentes.

20 Cápsulas são produzidas pela preparação de uma mistura de pó, conforme descrito acima, e enchimento de invólucros de gelatina moldados com estas. Deslizadores e lubrificantes, tais como, por exemplo, ácido silícico altamente disperso, talco, estearato de magnésio, estearato de cálcio ou polietileno glicol na forma sólida, podem ser adicionados à mistura de pó antes da operação de enchimento. Um disintegrante ou solubilizador, tais como, por exemplo, ágar-ágar, carbonato de cálcio ou carbonato de sódio, podem, do mesmo modo, ser adicionados de modo a aperfeiçoar a disponibilidade do medicamento após a cápsula tiver sido tomada.

30 Em adição, se desejado ou necessário, ligantes adequados, lubrificantes e desintegrantes, bem como corantes, podem, do mesmo modo, ser incorporados na mistura. Ligantes adequados incluem amido, gelatina, açúcares naturais, tais como, por exemplo, glicose ou beta-lactose, adoçan-

tes produzidos de milho, borracha natural ou sintética, tais como, por exemplo, acácia, tragacanto ou alginato de sódio, carboximetilcelulose, polietileno glicol, ceras, e similares. Os lubrificantes usados nestas formas de dosagem incluem oleato de sódio, estearato de sódio, estearato de magnésio, benzoato de sódio, acetato de sódio, cloreto de sódio, e similares. Os desintegrantes incluem, sem estar restringido a estes, amido, metilcelulose, ágar, bentonita, goma de xantano e similares. Os comprimidos são formulados por, por exemplo, preparação de uma mistura de pó, granulação ou prensagem a seco da mistura, adição de um lubrificante e um desintegrante e prensagem da mistura total para dar comprimidos. Uma mistura de pó é preparada pela mistura do composto triturado em uma maneira adequada com um diluente ou uma base, conforme descrito acima, e, opcionalmente, com um ligante, tal como, por exemplo, carboximetilcelulose, um alginato, gelatina ou polivinil-pirrolidona, um retardante de dissolução, tal como, por exemplo, parafina, um acelerador de absorção, tal como, por exemplo, um sal quaternário, e/ou um absorvente, tal como, por exemplo, bentonita, caulim ou fosfato de dicálcio. A mistura de pó pode ser granulada por umedecimento da mesma com um ligante, tal como, por exemplo, xarope, pasta de amido, mucelagem de acácia ou soluções de celulose ou materiais de polímero, e prensando-a através de uma peneira. Como uma alternativa à granulação, a mistura de pó pode ser deslocada através de uma máquina de tabletagem, dando massas informes de forma não-uniforme que são quebradas para formar grânulos. Os grânulos podem ser lubrificados pela adição de ácido esteárico, um sal de estearato, talco ou óleo mineral, de modo a prevenir grudamento aos moldes de moldagem de comprimido. A mistura lubrificada é, em seguida, prensada para dar comprimidos. O composto de acordo com a invenção pode ser também combinado com excipiente inerte de escoamento livre e, em seguida, prensado diretamente para dar comprimidos sem efetuar as etapas de granulação ou prensagem seca. Uma camada protetora transparente ou opaca consistindo em uma camada de vedação de verniz, uma camada de açúcar, ou material de polímero, e uma camada de brilho de cera, podem estar presentes. Os corantes podem ser adicionados a estes revestimentos

de modo a ser capazes de se diferenciarem entre unidades de dosagem diferentes.

Líquidos orais, tais como, por exemplo, soluções, xaropes e elixires, podem ser preparados na forma de unidades de dosagem de modo que
5 uma dada quantidade compreende uma quantidade pré-especificada dos compostos. Xaropes podem ser preparados dissolvendo-se o composto em uma solução aquosa com um flavorizante adequado, enquanto elixires são preparados usando-se veículo alcoólico não-tóxico. Suspensões podem ser formuladas por dispersão do composto em um veículo não-tóxico. Solubili-
10 zadores e emulsificantes, tais como, por exemplo, alcóois isoestearílicos etoxilados e éteres de polioxietileno sorbitol, conservantes, aditivos flavorizantes, tal como, por exemplo, óleo de hortelã-pimenta ou adoçantes naturais, ou sacarina, ou outros adoçantes artificiais e similares, podem, do mesmo modo, ser adicionados.

15 As formulações de unidade de dosagem para administração oral podem, se desejado, serem encapsuladas em microcápsulas. A formulação pode também ser preparada de tal modo que a liberação é estendida ou retardada, tal como, por exemplo, por revestimento ou embeбimento de material particulado em polímeros, cera, e similares.

20 O composto de acordo com a invenção e/ou derivados farmacologicamente utilizáveis, sais, solvatos, tautômeros e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, e, opcionalmente, excipientes e/ou adjuvantes e sais, solvatos e derivados fisiologicamente funcionais dos mesmos, podem também ser administrados na forma de sistemas de distribuição de lipossoma, tal como, por exemplo, vesículas unilamelares pequenas, vesículas unilamelares grandes, e vesículas multilamelares. Lipossomas podem ser formados de vários fosfolipídios, tais como, por exemplo, colesterol, estearilamina ou fosfatidilcolinas.

30 O composto de acordo com a invenção e os sais, solvatos e derivados fisiologicamente funcionais dos mesmos, podem também ser distribuídos usando-se anticorpos monoclonais como veículos individuais aos quais as moléculas de composto estão acopladas. Os compostos podem

também ser acoplados a polímeros solúveis como veículos de medicamento-alvo. Tais polímeros podem envolver polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, poli-hidroxi-propilmetacrilamido-fenol, poli-hidroxi-etil-aspartamido-fenol ou óxido de polietileno polilisina, substituídos por radicais palmitoíla. Os compostos podem adicionalmente ser acoplados a uma classe de polímeros biodegradáveis que são adequados para alcançar liberação controlada de um medicamento, por exemplo, ácido poliláctico, poli-épsilon-caprolactoma, ácido poli-hidroxi-butírico, poliortoésteres, poliacetais, poli-di-hidroxi-piranos, policianoacrilatos e copolímeros de bloco reticulados ou anfifáticos de hidrogéis.

Formulações farmacêuticas adaptadas para administração transdérmica podem ser administradas como emplastos independentes para contato de dose estendido com a epiderme do recipiente. Desse modo, por exemplo, o ingrediente ativo pode ser distribuído a partir do emplastro por iontoforese, conforme descrito em termos gerais em *Pharmaceutical Research*, 3(6), 318 (1986),

Os compostos farmacêuticos adaptados para administração tópica podem ser formulados como unguentos, cremes, suspensões, loções, pós, soluções, pastas, géis, pulverizações, aerossóis ou óleos.

Para o tratamento do olho ou outro tecido externo, por exemplo, boca e pele, as formulações são preferivelmente aplicadas como um unguento tópico ou creme. No caso da formulação dar um unguento, o ingrediente ativo pode ser empregado, ou com uma base de creme parafínica, ou base de creme miscível em água. Alternativamente, o ingrediente ativo pode ser formulado para dar um creme com base de creme de óleo-em-água, ou uma base de água-em-óleo.

Formulações farmacêuticas adaptadas para aplicação tópica para o olho incluem colírio, em que o ingrediente ativo é dissolvido ou suspenso em um veículo adequado, em particular, um solvente aquoso.

Formulações farmacêuticas adaptadas para aplicação tópica na boca envolvem losangos, pastilhas e enxaguantes de boca.

Formulações farmacêuticas adaptadas para administração retal

podem ser administradas na forma de supositórios ou enemas.

5 Formulações farmacêuticas adaptadas para administração nasal em que a substância veículo é um sólido compreendem um pó grosseiro tendo um tamanho de partícula, por exemplo, na faixa de 20-500 microns, que é administrado na maneira em que aspiração com o nariz é efetuada, isto é, por inalação rápida, via as passagens nasais de um recipiente contendo o pó mantido perto do nariz. Formulações adequadas para administração como pulverização nasal ou gotas no nariz com um líquido como substância veículo envolvem soluções de ingrediente ativo em água ou óleo.

10 Formulações farmacêuticas adaptadas para administração por inalação envolvem pós finamente particulados ou névoas, que podem ser gerados por vários tipos de dispensadores pressurizados com aerossóis, nebulizadores ou insufladores.

15 Formulações farmacêuticas adaptadas para administração vaginal podem ser administradas como tampões, cremes, géis, pastas, espumas ou formulações de pulverização.

20 Formulações farmacêuticas adaptadas para administração parenteral incluem soluções de injeção aquosa e não-aquosa compreendendo antioxidantes, pressários, tampões, bacteriostáticos e solutos, por meio dos quais a formulação é tornada isotônica com o sangue do recipiente a ser tratado; e suspensões estéreis aquosas e não-aquosas, que podem compreender meio de suspensão e espessadores. As formulações podem ser administradas em recipientes de dose única, ou de dose múltipla, por exemplo, ampolas e frascos vedados, e armazenadas em estado congelado-seco (liofilizadas), de modo que somente a adição do líquido transportador estéril, por exemplo, água para proposta de injeção, imediatamente antes do uso, é necessária.

Soluções de injeção e suspensões preparadas de acordo com a receita podem ser preparadas de pós estéreis, grânulos e comprimidos.

30 Sem se dizer que, em adição aos constituintes particularmente acima mencionados, as formulações podem também compreender outros agentes usuais na técnica com relação ao tipo particular de formulação; des-

se modo, por exemplo, formulações que são adequadas para administração oral podem compreender flavorizantes.

Uma quantidade terapeuticamente eficaz do composto de acordo com a invenção depende de um número de fatores, incluindo, por exemplo, a idade e peso do ser humano ou animal, a condição precisa da doença que requer tratamento, e sua severidade, a natureza da formulação, e o método de administração, e é ultimamente determinada pelo tratamento médico ou veterinário. Contudo, uma quantidade eficaz do composto de acordo com a invenção é geralmente na faixa de 0,1 a 100 mg/kg de peso corpóreo do recipiente (mamífero) por dia, e particularmente tipicamente na faixa de 1 a 10 mg/kg de peso corpóreo por dia. Desse modo, a quantidade atual por dia para um mamífero adulto pesando 70 kg é usualmente entre 70 e 700 mg, onde esta quantidade pode ser administrada como uma dose individual por dia, ou usualmente em uma série de partes de doses (tais como, por exemplo, três, quatro, cinco ou seis) por dia, de modo que a dose diária total é a mesma. Uma quantidade eficaz de um sal ou solvato ou de um derivado fisiologicamente funcional do mesmo pode ser determinada como a fração da quantidade eficaz do composto de acordo com a invenção *per se*. Pode ser assumido que doses similares são adequadas para o tratamento de outras condições acima mencionadas.

A invenção adicionalmente se refere a medicamentos compreendendo pelo menos um composto de acordo com a invenção e/ou derivados farmacologicamente utilizáveis, solvatos e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, e pelo menos um ingrediente ativo de medicamento adicional.

Ingredientes ativos de medicamento adicionais são preferivelmente agentes quimioterapêuticos, em particular aqueles que inibem angiogênese e, desse modo, inibem o crescimento e difundem células tumorais; preferência é dada aqui a inibidores de receptor de VEGF, incluindo robosomas e antissense que são dirigidos a receptores de VEGF, e angiostatina e endostatina.

Exemplos de agentes antineoplásticos que podem ser usados

em combinação com os compostos de acordo com a invenção geralmente incluem agentes de alquilação, antimetabolitos; epidofilotoxina; uma enzima antineoplásica; um inibidor de topoisomerase; procarbazina; mitoxantrona ou complexos de coordenação de platina.

5 Agentes antineoplásicos são preferivelmente selecionados a partir das seguintes classes: antraciclinas, medicamentos vinca, mitomicinas, bleomicinas, nucleosídeos citotóxicos, epotilonas, discormolidas, pteridinas, di-inenos e podofilotoxinas.

10 Preferência particular é dada nas referidas classes a, por exemplo, derivados de carminomicina, daunorrubicina, aminopterina, metotrexato, metopterina, dicloro-metotrexato, mitomicina C, porfiromicina, 5-fluorouracila, 5-fluorodeoxi-uridina monofosfato, citarabina, 5-azacitidina, tioguanina, azatioprina, adenosina, pentostatina, eritro-hidroxinoniladenina, cladribina, 6-mercaptopurina, gemcitabina, citosinarabinosídeo, podofilotoxina ou podofilotoxina, tais como, por exemplo, etoposídeo, etoposídeo fosfato ou teniposídeo, melfalan, vinblastina, vinorelbina, vincristina, leurosina, vindesina, leurosina, docetaxel e paclitaxel. Outros agentes antineoplásicos preferidos são selecionados a partir do grupo de derivados de discormolida, epotilona

15 D, estramustina, carboplatina, cisplatina, oxaliplatina, ciclofosfamida, bleomicina, gemcitabina, ifosamida, melfalan, hexametilmelamina, tiotepa, idatrexato, trimetrexato, dacarbazina, L-asparaginase, camptotecina, CPT-11, topotecana, arabinosilcitosina, bicalutamida, flutamida, leuprolídeo, piridobenzo-

20 indol, interferonas e interleucinas.

25 Ingredientes ativos de medicamento adicionais são preferivelmente antibióticos. Antibióticos preferidos são selecionados a partir do grupo dactinomicina, daunorrubicina, idarrubicina, epirubicina, mitoxantrona, bleomicina, plicamicina, mitomicina.

 Ingredientes ativos de medicamento adicionais são preferivelmente inibidores de enzima.

30 Inibidores de enzima preferidos são selecionados a partir do grupo dos inibidores de deacetilação de histona (por exemplo, suberoilânilda ácido hidroxâmico [SAHA]) e os inibidores de tirosina cinase (por exemplo,

ZD 1839 [Iressa]).

Ingredientes ativos de medicamento adicionais são preferivelmente inibidores de exportação nucleares. Inibidores de exportação nucleares previnem a produção de biopolímeros (por exemplo, RNA) do núcleo celular. Inibidores de exportação nucleares preferidos são selecionados a partir do grupo calistatina, leptomicina B, ratjadona.

Ingredientes ativos de medicamento adicionais são preferivelmente imunossuppressores. Imunossuppressores preferidos são selecionados a partir do grupo rapamicina, CCI-779 (Wyeth), RAD001 (Novartis), AP23573 (Ariad Pharmaceuticals).

A invenção também se refere a um conjunto (kit) consistindo em acondicionamentos separados de

- (a) uma quantidade eficaz do composto de acordo com a invenção, e/ou derivados farmacologicamente utilizáveis, solvatos e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, e
- (b) uma quantidade efetiva de um ingrediente ativos de medicamento adicional.

O conjunto compreende recipientes adequados, tais como caixas, garrafas individuais, sacos ou ampolas. O conjunto pode, por exemplo, compreender ampolas separadas, cada uma contendo uma quantidade efetiva de um composto de acordo com a invenção e/ou derivados farmacologicamente utilizáveis, solvatos e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, e uma quantidade efetiva de um ingrediente ativo de medicamento adicional na forma dissolvida ou liofilizada.

25 USO

O presente composto é adequado como ingrediente farmacologicamente ativo para mamíferos, em particular para seres humanos, no tratamento de doenças em que HSP90 desempenha um papel.

A invenção desse modo se refere ao uso de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e derivados farmacologicamente utilizáveis, solvatos e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, para a prepa-

ração de um medicamento para o tratamento de doenças em que a inibição, regulação e/ou modulação de HSP90 desempenham um papel.

A presente invenção envolve o uso de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e derivados farmacêuticamente utilizáveis, solvatos e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, para a preparação de um medicamento para o tratamento de doenças de tumor, por exemplo, fibrossarcoma, mixossarcoma, lipossarcoma, condrossarcoma, sarcoma osteogênico, cordoma, angiossarcoma, endoteliossarcoma, linfangiossarcoma, linfangioendoteliossarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leitossarcoma, rabdomiossarcoma, carcinoma de cólon, câncer pancreático, câncer de mama, câncer ovariano, câncer de próstata, carcinoma de célula escamosa, carcinoma de célula basal, adenocarcinoma, siringocarcinoma, carcinoma de glândula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinomas, carcinoma de medula óssea, carcinoma broncogênico, carcinoma de célula renal, hepatoma, carcinoma de duto de bile, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionário, tumor de Wilm, câncer cervical, tumor testicular, carcinoma de pulmão, carcinoma de pulmão de célula pequena, carcinoma de bexiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craniofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemia, linfoma, mieloma múltiplo, macroglobulinemia de Waldenstrom e doença de cadeia pesada; doenças virais, onde o patógeno viral é selecionado a partir do grupo consistindo em

25 hepatite tipo A, hepatite tipo B, hepatite tipo C, gripe, varicela, adenovírus, herpes simples tipo 1 (HSV-I), herpes simples tipo II (HSV-II), peste de gado bovino, rinovírus, ecovírus, rotavírus, vírus sincicial respiratório (RSV), papilomavírus, papovavírus, citomegalovírus, vírus equino, arbovírus, huntavírus, vírus Coxsackie, vírus da caxumba, vírus do sarampo, vírus da rubéola, vírus

30 da pólio, vírus da imunodeficiência humana tipo I (HIV-I) e vírus da imunodeficiência humana tipo II (HIV-II); para supressão imune em transplantes; doenças induzidas por inflamação, tal como artrite reumatoide, asma, esclero-

se múltipla, diabetes tipo 1, lúpus eritematoso, psoríase e doença inflamatória de intestino; fibrose cística; doenças associadas com angiogênese, tal como, por exemplo, retinopatia diabética, hemangioma, endometriose, angiogênese tumoral; doenças infecciosas; doenças autoimunes; isquemia; promoção de regeneração do nervo; doenças fibrogenéticas, tal como, por exemplo, escleroma, polimiosite, lúpus sistêmico, cirrose do fígado, formação de quelóide, nefrite intersticial e fibrose pulmonar.

5 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida pode inibir, em particular, o crescimento de câncer, células de tumor e metástase de tumor, e é, portanto, adequado para terapia de tumor.

A presente invenção adicionalmente envolve o uso de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e/ou sais fisiologicamente aceitáveis e solvatos dos mesmos para a preparação de um medicamento para a proteção de células normais contra toxicidade causada por quimioterapia, e para o tratamento de doenças em que dobramento incorreto de proteína ou agregação é um fator causal principal, tal como, por exemplo, "scrapie", doença de Creutzfeldt-Jakob, de Huntington ou de Alzheimer.

20 A invenção também se refere ao uso de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida e/ou sais fisiologicamente aceitáveis e solvatos dos mesmos para a preparação de um medicamento para o tratamento de doenças do sistema nervoso central, de doenças cardiovasculares e caquexia.

25 Em uma concretização adicional, a invenção também se refere ao uso de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e/ou sais fisiologicamente aceitáveis e solvatos dos mesmos para a preparação de um medicamento para modulação de HSP90 onde a atividade biológica modulada de HSP90 causa uma reação imune em um transportador de proteína individual a partir do retículo endoplasmático, recuperação de estresse hipóxico/anóxico, recuperação de subnutrição, recuperação de estresse de calor, ou combinações dos mesmo, e/ou onde o

30

distúrbio é um tipo de câncer, uma doença infecciosa, um distúrbio associado com transportador de proteína rompido a partir do retículo endoplasmático, um distúrbio associado com isquemia/reperfusão, ou combinações dos mesmos, onde o distúrbio associado com isquemia/reperfusão é uma consequência de parada cardíaca, asistolia e arritmia ventricular retardada, operação de coração, operação de derivação cardiopulmonar, transplante de órgão, trauma da coluna vertebral, trauma na cabeça, acidente vascular cerebral, acidente vascular cerebral tromboembólico, acidente vascular cerebral hemorrágico, vasoespasm cerebral, hipotonia, hipoglicemia, estado epilético, um ajuste epilético, ansiedade, esquizofrenia, um distúrbio neurodegenerativo, doença de Alzheimer, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica (ALS), ou estresse neonatal.

Em uma concretização adicional, a invenção também se refere ao uso de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e/ou sais fisiologicamente aceitáveis e solvatos dos mesmos para a preparação de um medicamento para o tratamento de isquemia como uma consequência de parada cardíaca, asistolia e arritmia ventricular retardada, operação do coração, operação de derivação cardiopulmonar, transplante de órgão, trauma da coluna vertebral, trauma na cabeça, acidente vascular cerebral, acidente vascular cerebral tromboembólico, acidente vascular cerebral hemorrágico, vasoespasm cerebral, hipotonia, hipoglicemia, estado epilético, um ajuste epilético, ansiedade, esquizofrenia, um distúrbio neurodegenerativo, doença de Alzheimer, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica (ALS) ou estresse neonatal.

25 **Método teste para a medição de Inibidores de HSP90**

A ligação de geldanamicina ou 17-alilamino-17-demetoxigeldanamicina (17AAG) a HSP90 e inibição competitiva da mesma podem ser utilizadas de modo a determinar a atividade inibitória dos compostos de acordo com a invenção (Carreras et al. 2003, Chiosis et al. 2002).

30 No caso específico, um teste de ligação de filtro radioligante é usado. O radioligante usado aqui é trítio-etiquetado 17-alilaminogeldanamicina, [3H]17AAG, Este teste de ligação de filtro permite

uma pesquisa-alvo para inibidores que interferem com o local de ligação de ATP.

Material

HSP90 α humano recombinante (E. coli expresso, 95% de pureza); [3H]17AAG (17-alilaminogeldanamicina, [alilamino-2,3-³H. Atividade específica: $1,11 \times 10^{12}$ Bq/mmol (Moravek, MT-1717);

Tampão de filtro HEPES (50 mM de HEPES, pH 7,0, 5 mM de MgCl₂, BSA a 0,01%) Multiscreen FB (1 μ m) de placa de filtro (Millipore, MAFBNOB 50).

10 Método

Placas de filtro de microtitulação de 96 poços são primeiramente irrigadas e revestidas com 0,1% de polietilenoimina.

O teste é efetuado sob as seguintes condições:

Temperatura de reação 22°C

15 Tempo de reação 30 minutos, oscilação a 800 rpm

Volume de teste: 50 μ l

Concentrações finais:

50 mM de HEPES HCl, pH 7,0, 5 mM de MgCl₂, 0,01% (p/v) BSA

HSP90: 1,5 μ g/ensaio

20 [3H]17AAG: 0,08 μ M.

No final da reação, o sobrenadante na placa de filtro é removido por sucção com o auxílio de uma tubulação de vácuo (Multiscreen Separation System, Millipore), e o filtro é lavado duas vezes.

25 As placas de filtro são em seguida medidas em um beta contador (Microbeta, Wallac) com cintilador (Microscint 20, Packard).

"% de controle" é determinada a partir de valores de "contagens por minutos" e o valor IC₅₀ de um composto é calculado a partir destes.

30 A tabela seguinte mostra medições comparativas do composto de acordo com a invenção com composto "A47" a partir da técnica anterior mais próxima, Composto "C1" de acordo com a invenção tem uma atividade mais alta de aproximadamente 10 vezes na inibição de HSP90.

Resultados do Teste

Tabela I

Inibição de HSP90	
Composto	IC ₅₀ [mol/l]
5-[4-(2-Metilfenil)-3-hidróxi-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi- <i>N</i> -metil- <i>N</i> -propilbenzamida "A47")	1.60E-07
5-[4-(2-Metilfenil)-3-hidróxi-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi- <i>N</i> -metil- <i>N</i> -butilbenzamida ("C1")	2.90E-08

Acima e abaixo, todas as temperaturas são indicadas em °C. Nos Exemplos seguintes, "operação convencional" significa: se necessário, água é adicionada, o *pH* é ajustado, se necessário, para entre 2 e 10, dependendo da constituição do produto final, a mistura é extraída com acetato de etila ou diclorometano, as fases são separadas, a fase orgânica é secada sobre sulfato de sódio e evaporada, e o produto é purificado por cromatografia em sílica-gel e/ou por cristalização. Os valores R_f na sílica-gel; eluente: acetato de etila/metanol 9:1.

Condições de LC-MS

HP 1100 séries Hewlett Packard System tendo as seguintes características: fonte de íon; eletropulverização (modo positivo); escaneamento: 100-1000 m/e; voltagem de fragmentação: 60 V; temperatura do gás: 300°C, DAD: 220 nm.

Taxa de fluxo: 2,4 ml/min. O repartidor usado reduziu a taxa de fluxo para o MS para 0,75 ml/minuto após o DAD.

Coluna: Chromolith SpeedROD RP-18e 50-4.6

Solvente: LiChrosolv qualidade de Merck KGaA

Solvente A: H₂O (0,01% de TFA)

Solvente B: ACN (0,008% de TFA)

Gradiente:

20% de B → 100% de B: 0 min a 2,8 min

100% de B: 2,8 min a 3.3 min

100% de B → 20% de B: 3,3 min a 4 min

Os tempos de retenção de R_f ou R_t [min] e dados de $M+H^+$ MW indicados nos Exemplos seguintes são resultados de medição das medições de LC-MS.

Exemplo de Referência 1

- 5 Preparação de 5-(2,4-dihidróxi-5-fenetilfenil)-4-(2-fluorofenil)-3-hidroxi-4H-1,2,4-triazol ("A1"):

1.1 Uma solução de 15 g de ácido 5-bromo-2,4-dihidroxibenzoico, 14.4 ml de iodometano e 82,9 g de carbonato de céσιο em 100 ml de N,N-dimetilformamida (DMF) é aquecida sob refluxo por 16 horas.

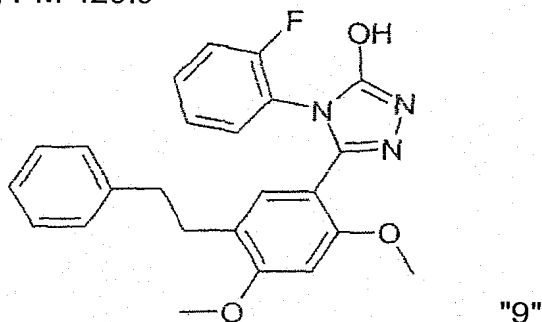
- 10 A mistura é submetida a operação convencional, dando 16,7 g de ácido 5-bromo-2,4-dimetóxi-benzoico ("1").

1.2 Uma mistura de 4 g de "1" e 2 gotas de DMF em 40 ml de cloreto de tionila é agitada à temperatura ambiente por 16 horas. A remoção do solvente dá 4,3g de cloreto de 5-bromo-2,4-dimetoxibenzoíla ("2"), R_f 1,610; MW 280,5. O produto é reagido sem purificação adicional.

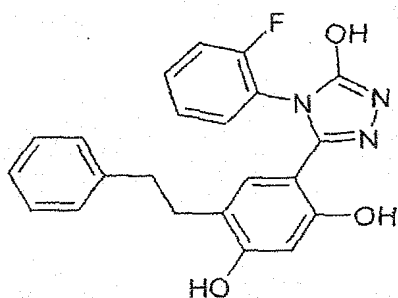
1.3 Uma solução de 3,8 g de "2" em 25 ml de diclorometano é adicionada gota a gota com resfriamento com gelo a uma solução de 1,314 ml de 2-fluoroanilina e 1,13 ml de piridina em 25 ml de diclorometano, e a mistura é agitada à temperatura ambiente por 5 horas. Operação convencional e cristalização de isopropanol deram 4,5 g de 5-bromo-N-(2-fluorofenil)-2,4-dimetoxibenzamida ("3"), R_f 2,217; PM 355,2.

1.4 2,9 g de PCl_5 são adicionados sob uma atmosfera de nitrogênio a uma solução de 4,5 g de "3" em 60 ml de tolueno, e a mistura é aquecida sob refluxo por 3 horas. O solvente é removido, o resíduo é dissolvido em 100 ml de THF, e a solução é adicionada gota a gota a 0°C a 138 ml de uma solução de hidrazina a 1M em THF. A mistura é agitada por 16 horas adicionais, submetida à operação convencional e cristalizada de isopropanol, dando 3,6 g de N-(2-fluorofenil)-3-bromo-4,6-dimetoxibenzamida hidrazona ("4"), R_f 0,952; PM 369,2

10 ml de THF na presença de 0,14 g de Pt/C (5%). O catalisador é subsequentemente separado e submetido à operação convencional, dando 140 mg de "9", R_f 1,920, PM 420,5

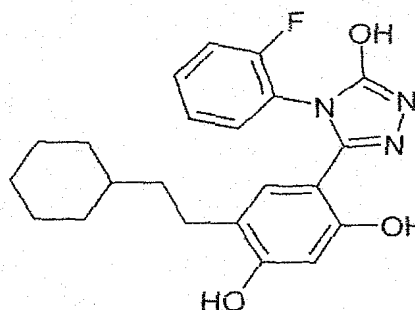


5 1.8 158,5 μ l de tribrometo de boro são adicionados a -10° a uma solução de 140 mg de "9" em 2 ml de diclorometano, e a mistura é agitada à temperatura ambiente por 16 horas adicionais. Metanol é adicionado a 0° , os solventes são separados, e o resíduo é purificado via cromatografia de RP, dando 74 mg de "A1", R_f 1,537; PM 392,4, e 27 mg de "A2", R_f 1,884; PM 398,4.



10

"A1"



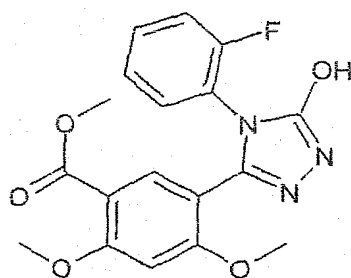
"A2"

Exemplo de Referência 2

Preparação de 5-[4-(2-fluorofenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-dihidróxi-N-metil-N-propilbenzamida ("A46")

15 2.1 Uma solução de 100 mg de 5-(2,4-dimetóxi-5-bromofenil)-4-(2-fluorofenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol ("6"), 7 mg de cloreto de [(R)-(+)-2,2'-bis-(difenilfosfino)-1,1'-binaftil]paládio(II), 5,7 ml de monóxido de carbono e 35 μ l de trietilamina em 20 ml de metanol é tratado a 100°C e 750 Kpa (7,5 bar) por 20 horas em uma autoclave. A solução resultante é subsequentemente concentrada e cristalizada de etanol, dando 91 mg de 5-[4-(2-fluorofenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-dimetoxibenzoato de metila

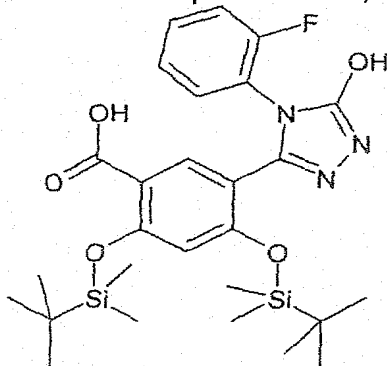
20



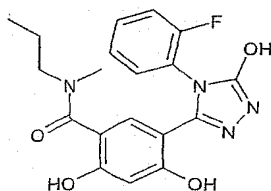
,Rt 1,057 min, m/e 374.

2.2 Analogamente ao Exemplo 1.8, a reação de 90 mg de 5-[4-(2-fluorofenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]2,4-dimetoxibenzoato de metila deu 57,2 mg do composto ácido 5-[4-(2-fluorofenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-ácido di-hidroxibenzoico, R_t 0,598 min, m/e 332.

2.3 55 mg de ácido 5-[4-(2-fluoropentil)-3-hidróxi-4H-1, 2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidroxibenzoico, 2 moles-equivalentes de t-butildimetilclorosilano e 3 moles-equivalentes de imidazol em 2 ml de THF são agitados à temperatura ambiente por 3 horas, dando



2.4 O produto obtido em 2.3 é dissolvido em 1,5 ml de THF, e 2 eq de cloridrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodi-imida são adicionados. Após 1 hora à temperatura ambiente, 1,2 eq. de propilmetilamina é adicionado, e a mistura é agitada por 18 horas adicionais. 3 eq. de fluoreto de tetrametil-amônio são subseqüentemente adicionados, e a mistura é agitada à temperatura ambiente por 2 horas. Após concentração, o produto é separado, dando 42 mg de "A46"; R_t 1,139 min, m/e 387; MW 388



"A46"

O seguinte composto é obtido analogamente:

5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-propilbenzamida ("A47"), PM 383,4.

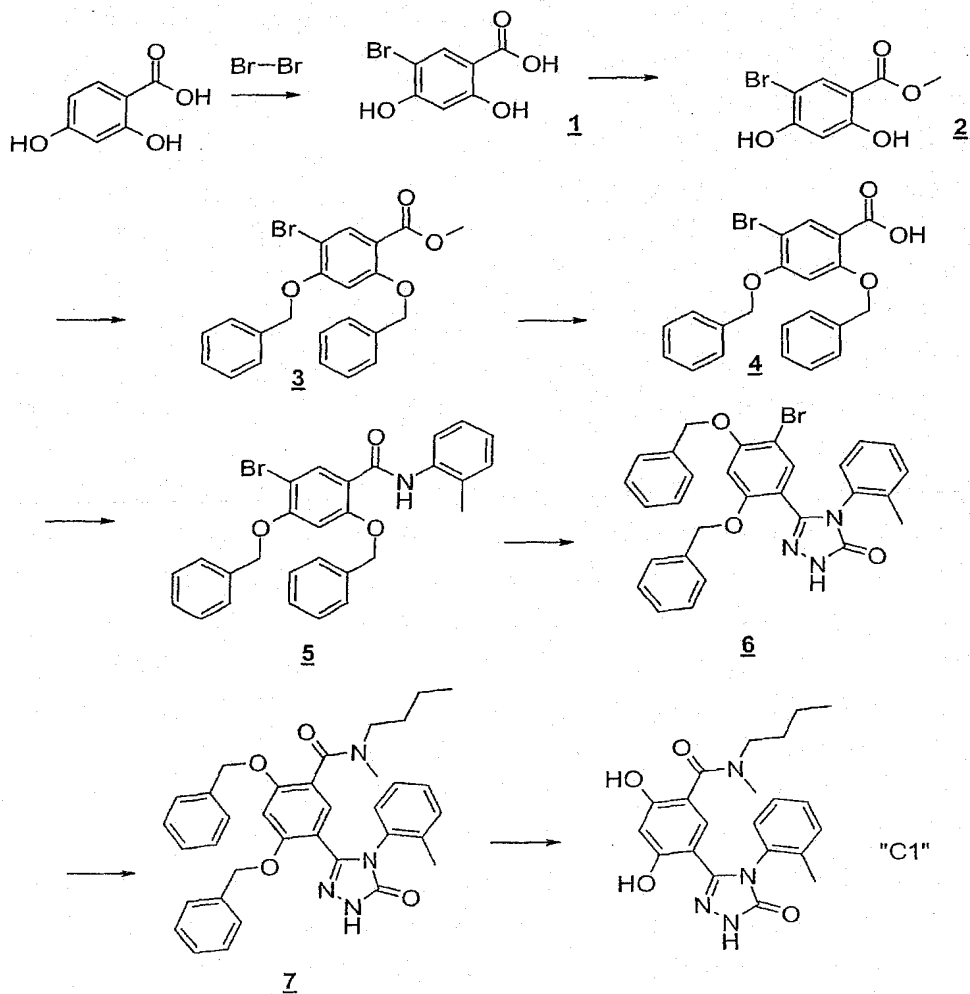
Exemplo 1

- 5 O composto de acordo com a invenção 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida ("C1") é obtido analogamente à preparação de "A47";

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,86 (s, 1H), 9,92 (s, 1H), 7,28-7,23 (m, 2H), 7,14-7,10 (m, 1H), 7,03-7,01 (m, 1H), 6,88(s, 1H), 6,26(s, 1H), 3,16 (m amplo, 2H), 2,73 (s amplo, 3H), 2,14 (s, 3H), 1,40 (m amplo, 2H), 1,15 (m amplo, 2H), 0,81 (m amplo, 3H).

Exemplo 2

A síntese de "C1" pode ser efetuada conforme se segue:



2.1 Ácido 5-bromo-2,4-di-hidroxibenzoico (1):

3,55 kg de ácido 2,4-di-hidroxibenzoico são dissolvidos em 30 l de ácido acético glacial. Uma solução de 1060 ml de bromo em 10 l de ácido acético glacial é subsequentemente adicionada gota a gota a 15°C por um período de 8 horas. A agitação é, em seguida, continuada a 20°C por 16 horas, a mistura é evaporada em vácuo, e o resíduo cristalino é fluidificado em 20 l de diclorometano, e agitado por 1 hora. A filtração e secagem deram 4,9 kg de produto bruto branco. Recristalização de 30 l de tolueno/acetonitrila (1:1) e secagem deram 3,549 kg (66% de rendimento) de ácido 5-bromo-2,4-di-hidroxibenzoico (p.f. 210-211,5°C; PM 233,0).

2.2 5-bromo-2,4-di-hidroxibenzoato de metila(2):

8,9 kg de ácido 5-bromo-2,4-di-hidroxibenzoico são dissolvidos em 70 l de metanol e aquecidos a 55°C. 800 ml de ácido sulfúrico (p = 95-98%) são subsequentemente medidos, e a mistura é agitada sob refluxo brando por 4 dias, com adicionais 500 ml de ácido sulfúrico (p = 95-98%) sendo adicionados diariamente (3 vezes). A mistura de reação é agitada em uma solução resfriada (5°C) de 9 kg de hidrogenocarbonato de sódio em 100 l de água. Filtração e secagem em vácuo a 50°C deram 7,87 kg (83%) de 5-bromo-2,4-di-hidroxibenzoato de metila (cristais brancos), PM 247,1.

2.3 2,4-bisbenziloxi-5-bromobenzoato (3) de metila:

7,86 kg (83%) de 5-bromo-2,4-di-hidroxibenzoato de metila e 9,65 kg de carbonato de potássio são suspensos em 100 l de acetonitrila a 0°C. A mistura é subsequentemente aquecida a 80°C, e 7575 ml de brometo de benzila são adicionados via um funil de gotejamento por um período de 40 minutos. Após agitação a 80°C por 16 horas, a mistura é filtrada, e o filtrado coletado é evaporado em vácuo: 12,95 kg (95%) de 2,4-bisbenzilóxi-5-bromobenzoato de metila (cristais levemente amarelos); PM 427,3.

2.4 Ácido 2,4-Bisbenziloxi-5-bromobenzoico (4):

6,4 kg de 2,4-bisbenziloxi-5-bromobenzoato de metila em 18 l de THF são adicionados a uma solução de 3 kg de hidróxido de sódio em 30 l de água. Após agitação durante a noite a 68°C, a mistura é resfriada a 10°C, e 7,5 l de HCl (p: 37%) são adicionados via um funil de gotejamento (pH 1).

A mistura é agitada por 1 hora adicional e subsequentemente filtrada. O resíduo é secado para peso constante em vácuo a 60°C; 5,687 kg (91%) de ácido 2,4-bisbenzilóxi-5-bromo-benzoico (p.f. 150-152°C; PM 413,3).

2.5 2,4-Bisbenzilóxi-5-bromo-N-o-tolilbenzamida (5):

5 80 ml de DMF são adicionados a 42 l de cloreto de tionila. A mistura é resfriada a 2-9°C, e 11,55 kg de ácido 2,4-bisbenzilóxi-5-bromobenzoico são adicionados por um período de 1 hora. A agitação é continuada nesta temperatura por 1 hora adicional e, em seguida, a 25°C por 10 16h. Cloreto de tionila é, em seguida, destilado em vácuo 30 Mpa ((300 mbar), 48°C). 3 l de tolueno são adicionados ao resíduo resultante, e a mistura é novamente evaporada para secagem, e este procedimento é repetido duas vezes adicionais. O produto resultante é empregado para a seguinte reação sem purificação adicional. 13,6 kg (mais tolueno). 2.8 l de o-toluidina e 2,5 l de piridina são adicionados a 50 l de diclorometano a 3°C. 15 13,6 kg de cloreto de 2,4-bisbenzilóxi-5-bromobenzoíla (tolueno-úmido) suspensos em 35 l de diclorometano são adicionados a esta solução sobre o curso de 2 horas. A mistura é subsequentemente agitada durante a noite a 23°C, e o sólido é filtrado e enxaguado com diclorometano (2x com 5 l cada vez). O produto bruto obtido desse modo (8 kg) é dissolvido em 40 l de diclorometano e extraído sucessivamente com 40 l de água destilada, 50 l de ácido clorídrico (~1 mol/l; preparado de 5 l de HCl p: 37% e 50 l de água). A fase orgânica é subsequentemente lavada com 50 l de água. A fase orgânica é se- 20 cada por 3 dias usando-se 6 kg de sulfato de sódio. O agente de secagem é filtrado com sucção via um filtro de sucção, e o filtrado é evaporado para secagem em um evaporador rotativo. Recristalização de etanol (35 l, 65°C) e 25 secagem (50°C/ 0,035 Pa (35 mbar)) para peso constante deram 10,84 kg (82%) de 2,4-bisbenzilóxi-5-bromo-NH-tolilbenzamida (p.f. 174,5°C-176°C; PM 502,4).

30 2.6 5-(Bisbenzilóxi-5-bromofenil)-4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4H-1, 2, 4-triazol (6)

1,75 kg de pentacloreto de fósforo é adicionado a 3°C a 3,5 kg de 2,4-bis-benzilóxi-5-bromo-N-o-tolilbenzamida em 60 l de tolueno. A mistu-

ra é subsequentemente aquecida a 135°C por 4 horas, e agitação é, em seguida, continuada a 25°C por 16 horas. A evaporação em vácuo deu 3,6 kg de material cristalino. O último é retirado em 18 l de THF e adicionado a uma solução de 1,38 kg de Boc-hidrazina em 30 l de THF a 3°C sobre o curso de
5 1,5 hora. Após aquecimento a 25°C e agitação por 16 horas, o produto é filtrado com sucção (4,3 kg de produto branco - THF-umidade) e empregado diretamente na reação seguinte.

O produto é dissolvido em 30 l de THF, e 7 l de ácido clorídrico (p: 37%) são adicionados a 1 °C sobre o curso de 20 minutos. A mistura é
10 agitada a 23°C por 16 horas e resfriada a -5°C, e 7,5 l de solução de hidróxido de sódio (p: 32%) são adicionados gota a gota sobre o curso de 1,5 hora. As fases são separadas, e a fase orgânica é lavada com 25 l de solução de cloreto de sódio saturada (preparada de 8,75 kg de cloreto de sódio e 25l de água). A fase orgânica é secada usando-se 6 kg de sulfato de sódio, o
15 agente de secagem é filtrado com sucção, e o filtrado é evaporado para secagem em um evaporador rotativo. 2x 5 l de tolueno são adicionados ao resíduo, e uma destilação "aguda" é efetuada de modo a "arrastar" água remanescente. O resíduo obtido desse modo é reagido adicionalmente diretamente. 1,3 kg de carbonildi-imidazol (CDI) é dissolvido em 100 l de THF. A-
20 pós resfriamento a 3°C, o produto a partir da reação anterior é vagarosamente adicionado gota a gota a 25 l de THF. A mistura é subsequentemente agitada a 25°C por 16 horas e extraída com 30 l de solução de cloreto de sódio saturada, e a fase orgânica é, em seguida, extraída com 25 l de HCl a 1N. A fase orgânica é subsequentemente lavada com 25 l de solução saturada de cloreto de sódio e secada usando-se 10 kg de sulfato de sódio. A
25 filtração e evaporação da fase orgânica em vácuo deram um resíduo sólido, que é retirado em 5 l de tolueno, e novamente evaporado para secagem em vácuo. Recristalização de 20 l de 2-propanol a 70°C deu 2,7 kg (76%) de 5-(2,4-bisbenzilóxi-5-bromofenil)-4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol, PM
30 542,4.

2.7 5-[4-(2-Metilfenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-bisbenzilóxi-N-metil-N-butibenzamida(7):

Uma solução de 2 kg de 5-(2,4-bisbenzilóxi-5-bromofenil)-4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol, 90 g de cloreto de (1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno)paládio(II), 83 l de monóxido de carbono, 479 g de trietilamina e 400 g de N-metilbutilamina em 25 l de THF é tratada a 120°C e 500-1000 kPa (5-10 bar) por 20 horas em uma autoclave. A solução resultante é subseqüentemente evaporada e cristalizada de etanol, dando 1,4 kg (70%) de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-bisbenziloxi-N-metil-N-butylbenzamida, PM 476,7.

2.8 5-[4-(2-Metilfenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-dihidróxi-N-metil-N-butylbenzamida ("A1"):

Uma solução de 1,1 kg de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-bisbenziloxi-N-metil-N-butylbenzamida, 5% de Pd/C (50,5% de água) e 85 l de hidrogênio em 10 l de THF é tratada a 23°C por 7 horas em uma autoclave. A solução resultante é subseqüentemente evaporada e cristalizada de etanol, dando 738 g (95%) de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidroxi-N-metil-N-butylbenzamida ("C1"); PM 396,5.

Duas formas poliméricas A1 e A2 do composto "C1" de acordo com a invenção podem ser isoladas.

Pontos de fusão:

Forma A1: p.f. $238,5 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (n = 6)

Forma A2: p.f. $209,6 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (n = 6)

A Forma A1 é a forma mais estável termodinamicamente.

O espectro de difractometria de raio X de pó das duas formas polimórficas é mostrado na figura 1.

A Forma A2 pode ser convertida em A1, por exemplo, por agitação em solventes tais como metanol, etanol, acetona, DMF; ácido acético, ácido fórmico, THF ou iso-propanol.

Dados espectrais de XRD de pó dos polimorfos A1 e A2:

10 picos característicos foram em cada caso utilizados para a avaliação:

Amostra	Dados brutos de XDR
Batelada 7, forma A1	RT 162-07
Batelada 12, forma A2	RT 2214-07

Procedimento e resultados:

Difração de pó de raio X (XRD)

Todas as amostras foram medidas por XRD

RT 162-07:

- 5
- Difratrômetro D5000 [Bruker AXS]
 - Modo de transmissão
 - Energia do gerador 30 kV/40 mA
 - $\text{CuK}\alpha 1$ –radiação 1.5406 Å(monocromador primário)
 - Detector sensível de posição

10 Condições de medição de XRD:

Faixa: 3-65°2 θ

Resolução: 0,05°2 θ

Tempo da etapa: 1,4 s

RT 2214-07:

- 15
- Sistema de difratrômetro de raios X de Pó Stoe STADIP 611 KL
 - Modo de transmissão
 - Energia do gerador 40 kV/40 mA
 - $\text{Cu-K}\alpha 1$ radiação 1.5406 Å (monocromador primário)
 - Detector sensível de posição

20 Condições de medição de XRD

Faixa: 3 - 65°2 θ

Resolução: 0,5°2 θ

Tempo da etapa: 15 s

Forma A1; RT 162-07:

Nº	d[Å]	2 θ	I/I ₀
1	9,3	9,5	100
2	6,8	13,0	43
3	5,3	16,8	60
4	4,7	18,9	50
5	4,6	19,5	75
6	4,1	21,8	15
7	3,6	24,7	96

8	3,4	26,4	21
9	3,2	27,8	16
10	2,5	36,6	11

Forma A2; RT 2214-07:

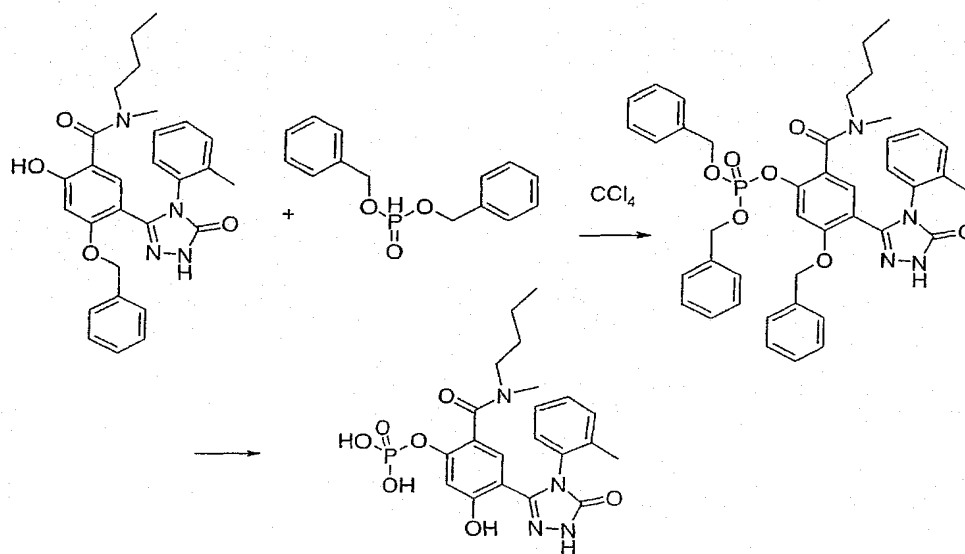
Nº	d[Å]	2θ	I/Io
1	11,8	7,5	38
2	8,4	10,5	100
3	5,4	16,4	32
4	4,4	20,2	60
5	4,2	20,9	64
6	4,0	22,4	46
7	3,8	23,5	28
8	2,9	31,2	11
9	2,3	38,8	13
10	2,2	41,3	9

Preparação de compostos de pró-fármaco

Exemplo 3

Preparação de mono-[2-(butilmetilcarbamoil)-5-hidróxi-4-(5-oxo-4-o-tolil-4,5-

5 di-hidro-1 H-1,2,4-triazol-3-il)fenil] fosfato



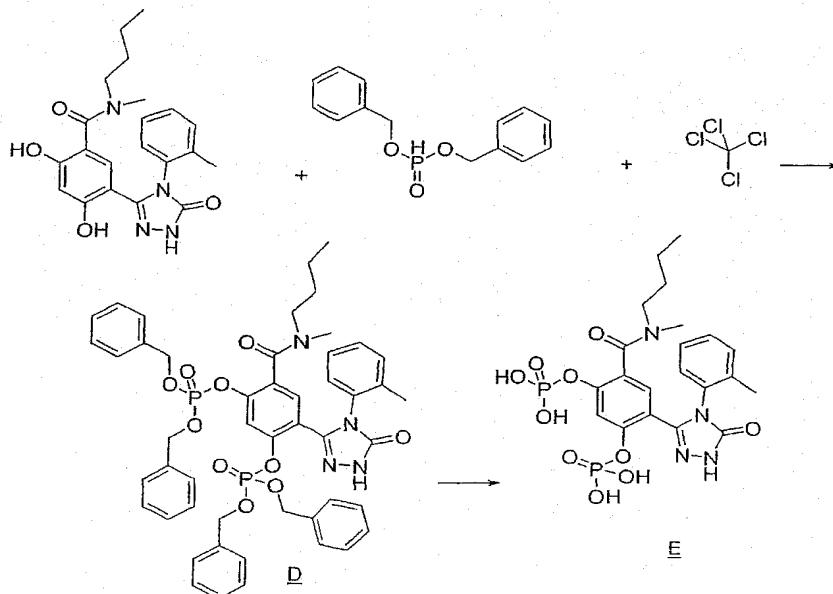
700 mg de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-4-

benzilóxi-2-hidróxi-N-metil-N-butilbenzamida são inicialmente introduzidos em 20 ml de acetonitrila com resfriamento, e 10 ml de tetracloreto de carbono são adicionados. 0,5 ml de N-etildi-isopropilamina e 50 mg de 4-(dimetilamino)piridina e, vagorosamente a -10°C , 326 μl de dibenzil fosfonita são, em seguida, adicionados gota a gota. A mistura é agitada nesta temperatura por adicionais 30 minutos, 10 ml de uma solução de KH_2PO_4 a 0,5M em água são adicionados, e a mistura é extraída com etil éter, secada sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. Cromatografia de coluna deu 550 mg (51%) de 5-[4-(2-metil-fenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-4-benziloxi-2-(dibenzil fosfato)-N-metil-N-butilbenzamida (Rf 2,196 min; PM 746,8).

Uma solução de 550 mg de 5-4(2-metilfenil)-3-hidróxi-4H-1,2,4-triazol-5-il]-4-benziloxi-2-(dibenzil fosfita)-N-metil-N-butilbenzamida, 5% de Pd/C (50,5% de água) e 49,5 ml de hidrogênio em 10 ml de THF é tratada a 23°C por 19 horas em uma autoclave. A solução resultante é subsequentemente evaporada e cristalizada de etil éter; 280 mg (79,8%) de mono-[2-(butilmetilcarbamoil)-5-hidróxi-4-(5-oxo-o-tolil-4,5-di-hidro-1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil] fosfato (Rf 0,645 min; PM 476,4).

Exemplo 4

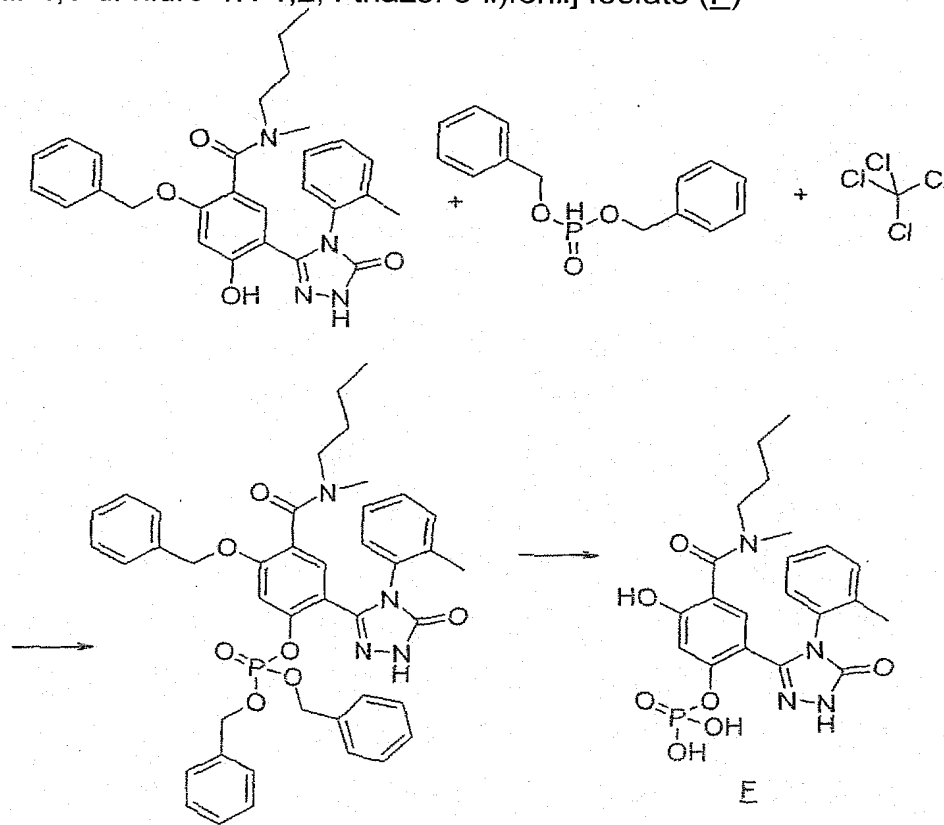
Preparação de mono-[4-(butilmetilcarbamoil)-2-(5-oxo-4-o-tolil-4,5-di-hidro-1H-1,2,4-triazol-3-il)-5-fosfonooxifenil] fosfato (E)



A síntese é efetuada analogamente ao Exemplo 3; D: PM 916; R_f 2,335 min E: PM 556,4; R_f 0,883 min.

Exemplo 5

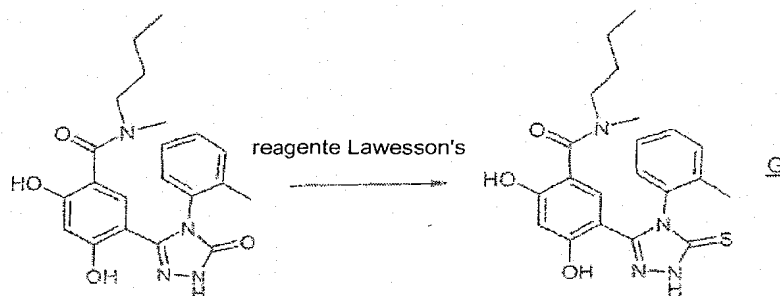
Preparação de mono-[4-(butilmetilcarbamoil)-5-hidróxi-2-(5-oxo-4-o-tolil-4,5-di-hidro-1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil] fosfato (E)



A síntese é efetuada analogamente ao Exemplo 3; E: MW 476,4; R_f 1,321 min.

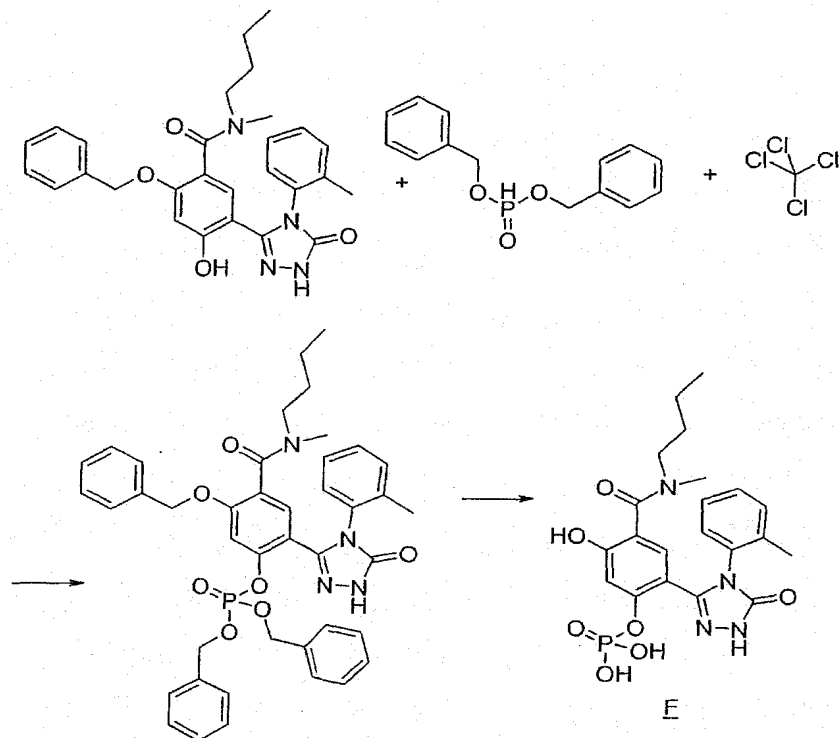
Exemplo 6

Preparação de N-butil-2,4-di-hidroxi-N-metil-5-(5-tioxo-4-o-tolil-4,5-di-hidro-1H-1,2,4-triazol-3-il)benzamida (G)



Exemplo 7

Preparação de derivados de ácido glucurônico de "C1"



4 ml de tampão de fosfato de potássio (0,1 M/pH 7,4 com 1,0 mM de MgCl₂), 100 mg de sal de sódio de ácido uridina-5'-difosfoglucurônico, 10 mg de "C1" (suspenso em 1 ml de 20% de acetonitrila) e 1 ml de homogenato de fígado de porco são introduzidos em um frasco de amostra. A batelada é incubada a 37°. Após 24 horas, acetonitrila é adicionada, a mistura é centrifugada, e os sobrenadantes são, em seguida, evaporados para secagem.

10 Separação e análise dos três regioisômeros são efetuadas por meio de LC-MS.

Condições de LC-MS

Sistema Hewlett Packard HP série 1100 com as seguintes características:

15 fonte de íon: eletropulverização (modo positivo); escaneamento: 100-1000 m/e;

Voltagem de fragmentação: 60 V;

Temperatura do gás: 300°C;

DAD: 220 nm.

Taxa de fluxo: 2,4 ml/min. O divisor usado reduz a taxa de fluxo para a MS para 0,75 ml/min após a DAD.

Coluna: Chromolith SpeedROD RP-18e 50-4.6

5 Solvente: LiChrosolv grau de Merck KGaA

Solvente A: H₂O (0,01 % de TFA)

Solvente B: acetonitrila (0,008% de TFA)

Gradiente polar:

5% de B → 100% de B: 0 min a 3,0 min

10 100% de B: 3,0 min a 3,3 min

100% de B → 20% de B: 3,3 min a 4 min.

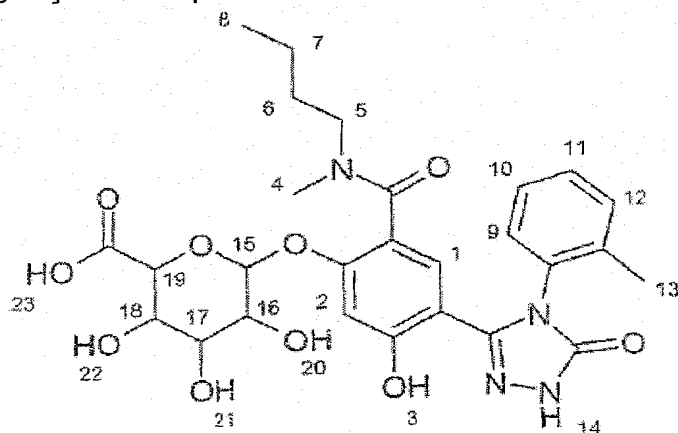
Para os três compostos de igual massa, os seguintes valores R_T são encontrados:

1,307, 1,406 e 1,465 min.

15 O isômero **H** foi unambiguamente identificado por espectroscopia de RMN.

O espectro de uma dimensão ¹H-RMN e HSQC bidimensional, os espectros de HMBC e ROESY foram obtidos sob as seguintes condições: Bruker DRX 500 espectrômetro; DMSO-d₆, 303 K, TMS como padrão.

20 Designação do espectro ¹H-RMN:



$\delta(1H)[ppm]$	Multiplicidade	Intensidade	Designação
11,97	s	1H	H14
10,2	amplo	1H	H3
7,35-7,0	m	4H	H9, H10, H11, H12

$\delta(1H)[ppm]$	Multiplicidade	Intensidade	Designação
6,99, 6,94	s	1H	H1
6,50	s	1N	H2
5,30-5,05	amplo	2H	2 OH grupos do anel de açúcar
4,88	d	1H	H15
3,76	d	1H	H19
3,60-3,10	m	5H	H5, H16, H17.H18, H ₂ O
2,95	m	1H	H5'
2,87, 2,63	s	3H	H4
2,50	m		DMSO-d ₅
2,17, 2,16, 2,14	s	3H	H13
1,55-0,95	m	4H	H6, H7
0,91, 0,69	m	3H	H8
0,00	s		TMS

Os seguintes exemplos se referem a composições farmacêuticas:

Exemplo A: Frascos de injeção

5 Uma solução de 100 g do ingrediente ativo de acordo com a invenção e 5 g de di-hidrogenofosfato dissódio em 3 l de água bidestilada é ajustada para pH 6,5 usando ácido clorídrico 2 N, filtrada estéril, transferida nos frascos de injeção, liofilizada sob condições estéreis e vedada sob condições estéreis. Cada frasco de injeção contém 5 mg de ingrediente ativo.

Exemplo B: Supositórios

10 Uma mistura de 20 g do ingrediente ativo de acordo com a invenção com 100 g de lecitina de soja e 1400 g de manteiga de cacau é derretida, derramada em moldes e permitida resfriar. Cada supositório contém 20 mg de ingrediente ativo.

Exemplo C: Solução

15 Uma solução é preparada de 1 g do ingrediente ativo de acordo com a invenção, 9,38 g de NaH₂PO₄ · 2 H₂O, 28,48 g de Na₂HPO₄ · 12 H₂O e 0,1 g de cloreto de benzalcônio em 940 ml de água bidestilada. O pH é ajustado.

tado para 6,8, e a solução é composta para 1 l e esterilizada por irradiação. Esta solução pode ser usada na forma de colírio.

Exemplo D: Unguento

5 500 mg do ingrediente ativo de acordo com a invenção são misturados com 99,5 g de Vaselina sob condições assépticas.

Exemplo E: Comprimidos

10 Uma mistura de 1 kg de ingrediente ativo de acordo com a invenção, 4 kg de lactose, 1,2kg de amido de batata, 0,2 kg de talco e 0,1 kg de estearato de magnésio é prensada em uma maneira convencional para dar comprimidos de tal modo que cada comprimido contém 10 mg de ingrediente ativo.

Exemplo F: Drágeas

15 Comprimidos são pressionados analogamente ao Exemplo E, e subsequentemente revestidos em uma maneira convencional com um revestimento de sacarose, amido de batata, talco, tragacanto e corante.

Exemplo G: Cápsulas

2 kg de ingrediente ativo de acordo com a invenção são introduzidos em cápsulas de gelatina dura em uma maneira convencional de tal modo que cada cápsula contém 20 mg do ingrediente ativo.

20 **Exemplo H: Ampolas**

Uma solução de 1 kg do ingrediente ativo de acordo com a invenção em 60 l de água bidestilada é filtrada estéril, transferida em ampolas, liofilizada sob condições estéreis, e vedada sob condições estéreis. Cada ampola contém 10 mg de ingrediente ativo.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto

5 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida,
e derivados farmacêuticamente utilizáveis, sais, solvatos, tautômeros e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções.

10 2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, em que os derivados farmacêuticamente utilizáveis são selecionados a partir do grupo de derivados de ácido mono- e difosfórico, derivados de tioxo, derivados de ácido mono- e diglucurônico.

15 3. Medicamento compreendendo 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e/ou derivados farmacêuticamente utilizáveis, sais, solvatos, tautômeros e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, e, opcionalmente, excipientes e/ou adjuvantes.

20 4. Uso de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e derivados farmacêuticamente utilizáveis, sais, solvatos, tautômeros e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, para a preparação de um medicamento para o tratamento e/ou profilaxia de doenças em que a inibição, regulação e/ou modulação of HSF90 desempenham um papel.

25 5. Uso, de acordo com a reivindicação 4, de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e derivados farmacêuticamente utilizáveis, sais, solvatos, tautômeros e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, para a preparação de um medicamento para o tratamento ou prevenção de doenças de tumor, doenças virais, para supressão imune em transplantes, doenças induzidas por inflamação, fibrose cística, doenças associadas com angiogênese, doenças infecciosas, doenças autoimunes, isquemia,
30 doenças fibrogenéticas, para a promoção de regeneração do nervo, para inibição do crescimento de câncer, células tumorais e metástase tumoral,

para a proteção de células normais contra toxicidade causada por quimioterapia, para o tratamento de doenças em que dobramento ou agregação de proteína incorreto é um fator causal principal.

5 6. Uso, de acordo com a reivindicação 5, onde as doenças de
 tumor são fibrossarcoma, mixossarcoma, lipossarcoma, condrossarcoma,
 sarcoma osteogênico, cordoma, angiossarcoma, endoteliossarcoma, linfan-
 giossarcoma, linfangioendoteliossarcoma, sinovioma, mesofltoma, tumor de
 Ewing, leiosarcoma, rabdomyosarcoma, carcinoma de cólon, câncer pancreá-
 tico, câncer de mama, câncer ovariano, câncer de próstata, carcinoma de
 10 célula escamosa, carcinoma de célula basal, adenocarcinoma, siringocarci-
 noma, carcinoma de glândula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinomas
 papilares, cistadenocarcinomas, carcinoma de medula óssea, carcinoma
 broncogênico, carcinoma de célula renal, hepatoma, carcinoma de duto de
 bile, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionário, tumor de Wilm, cân-
 15 cer cervical, tumor testicular, carcinoma de pulmão, carcinoma de pulmão de
 célula pequena, carcinoma de bexiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocito-
 ma, meduloblastoma, craniofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangio-
 blastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma,
 neuroblastoma, retinoblastoma, leucemia, linfoma, mieloma múltiplo, macro-
 20 globulinemia de Waldenström, e doença de cadeia pesada.

7. Uso, de acordo com a reivindicação 5, onde o patógeno viral
 das doenças virais é selecionado a partir do grupo consistindo em hepatite
 tipo A, hepatite tipo B, hepatite tipo C, gripe, varicela, adenovírus, herpes
 simples tipo I (HSV-I), herpes simples tipo II (HSV-II), peste de gado bovino,
 25 rinovírus, ecovírus, rotavírus, vírus sincicial respiratório (RSV), papilomaví-
 rus, papovavírus, citomegalovírus, equinovírus, arbovírus, huntavírus, vírus
 Coxsackie, vírus da caxumba, vírus do sarampo, vírus da rubéola, vírus da
 pólio, vírus da imunodeficiência humana *tipo* I (HIV-I) e vírus da imunodefici-
 ência humana *tipo* II (HIV-II).

30 8. Uso, de acordo com a reivindicação 5, onde as doenças indu-
 zidas por inflamação são artrite reumatoide, asma, esclerose múltipla, diabe-
 tes tipo 1, lúpus eritematoso, psoríase e doença inflamatória do intestino .

9. Uso, de acordo com a reivindicação 5, onde as doenças associadas com angiogênese são retinopatia diabética, hemangiomas, endometriose e angiogênese tumoral.

5 10. Uso, de acordo com a reivindicação 5, onde as doenças fibrogenéticas são escleroma, polimiosite, lúpus sistêmico, cirrose do fígado, formação de queiloide, nefrite intersticial e fibrose pulmonar.

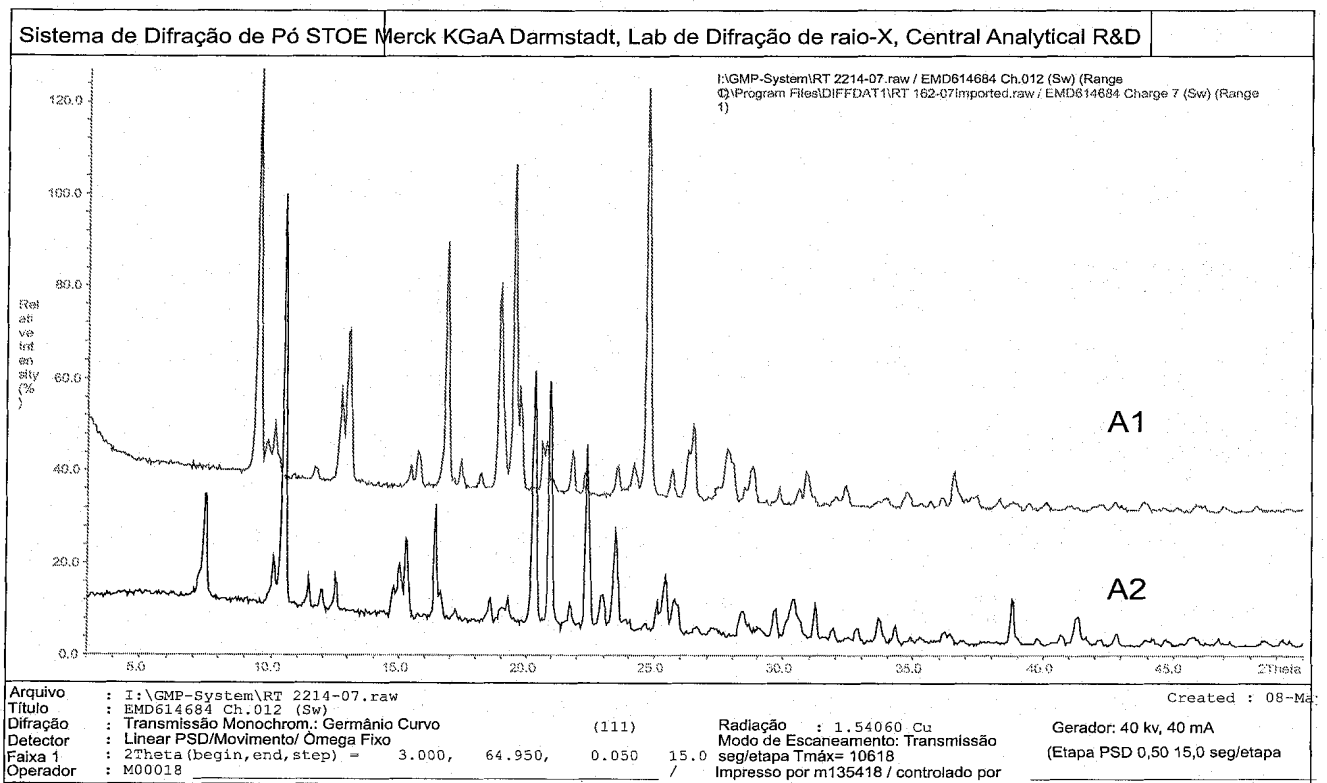
10 11. Uso de acordo com a reivindicação 5, onde as doenças em que dobramento ou agregação de proteína incorreto é um fator causal principal são "scrapie", doenças de creutzfeldt-Jakob, de Huntington ou de Alzheimer.

15 12. Medicamento compreendendo 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e/ou derivados farmacêuticamente utilizáveis, sais, solvatos, tautômeros e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, e pelo menos um ingrediente ativo de medicamento adicional.

20 13. Conjunto (kit) consistindo em acondicionamentos separados
(a) de uma quantidade eficaz de 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, e/ou derivados farmacêuticamente utilizáveis, sais, solvatos, tautômeros e estereoisômeros dos mesmos, incluindo misturas dos mesmos em todas as proporções, e
(b) uma quantidade eficaz de um ingrediente ativo de medicamento adicional.

FIG. 1

P-XDR de formas A1 e A2 de "C1"



RESUMO

Patente de Invenção: "**DERIVADOS DE TRIAZOL**".

A presente refere-se a 5-[4-(2-metilfenil)-3-hidróxi-4*H*-1,2,4-triazol-5-il]-2,4-di-hidróxi-*N*-metil-*N*-butilbenzamida, que é um inibidor de HSP90 e pode ser usada para a preparação de um medicamento para o tratamento de doenças em que a inibição, regulação e/ou modulação de HSP90 desempenham um papel.