

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

(21) **PI0617654-2 A2**

(22) Data de Depósito: 17/10/2006  
(43) Data da Publicação: 02/08/2011  
(RPI 2117)



(51) *Int.Cl.*:  
C07D 401/06 2006.01  
A61P 35/00 2006.01  
A61K 31/454 2006.01

(54) Título: **COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO, MÉTODOS PARA PRODUZIR UM EFEITO INIBITÓRIO DE HDAC E DO CICLO CELULAR (ANTI-PROLIFERAÇÃO CELULAR) E PARA TRATAR O CÂNCER EM UM ANIMAL DE SANGUE QUENTE, E, PROCESSO PARA PREPARAR UM COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO**

(30) Prioridade Unionista: 19/10/2005 GB 0521244.4

(73) Titular(es): Astrazeneca AB

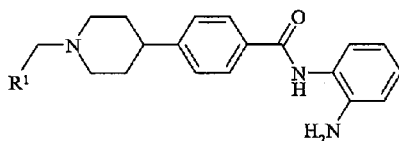
(72) Inventor(es): Andrew Turner, David Michael Andrews, Elaine Sophie Elizabeth Stokes, Michael James Waring

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & CIA.

(86) Pedido Internacional: PCT GB2006003838 de 17/10/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/045844 de 26/04/2007

(57) Resumo: COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO, MÉTODOS PARA PRODUZIR UM EFEITO INIBITÓRIO DE HDAC E DO CICLO CELULAR (ANTI-PROLIFERAÇÃO CELULAR) E PARA TRATAR O CÂNCER EM UM ANIMAL DE SANGUE QUENTE, E, PROCESSO PARA PREPARAR UM COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO A invenção diz respeito aos compostos de benzamida da fórmula (1), em que R<sup>1</sup> é um anel de pirazol ligado a C, o qual é opcionalmente substituído por um ou mais grupos selecionados de alquila C<sub>1-4</sub>, cicloalquila C<sub>3-4</sub>, alcóxi C<sub>1-4</sub> e cicloalcóxi C<sub>3-4</sub>; ou na forma de um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitável dos mesmos. A invenção também diz respeito aos processos para a preparação de tais compostos, às composições farmacêuticas que os contenham ao uso destes na fabricação de um medicamento para o uso como um agente anti-proliferativo na prevenção ou tratamento de tumores ou outras condições proliferativas, as quais são sensíveis à inibição da histona desacetilase (UDAC).



(I)

“COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO, MÉTODOS PARA PRODUIR UM EFEITO INIBITÓRIO DE HDAC E DO CICLO CELULAR (ANTI-PROLIFERAÇÃO CELULAR) E PARA TRATAR O CÂNCER EM UM ANIMAL DE SANGUE QUENTE, E, PROCESSO PARA PREPARAR UM COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO”

Esta invenção diz respeito à certos novos compostos de benzamida, ou sais farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos, os quais são inibidores potentes da enzima desacetilase histona (HDAC). A invenção também diz respeito aos processos para a fabricação destes novos compostos de benzamida, às composições farmacêuticas que os contenham e ao seu uso em método terapêuticos, por exemplo na fabricação de medicamentos para inibir HDAC em um animal de sangue quente, tal como o ser humano.

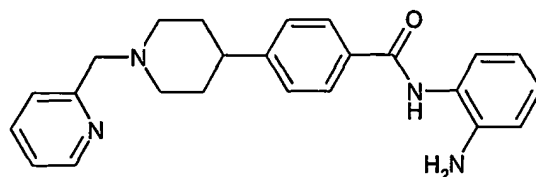
A atividade de HDAC foi associada com vários estados de doença, tais como câncer (Marks *et al.*, Nature Reviews, 1, 194 a 202, (2001)), fibrose cística (Li, S. *et al.*, J. Biol. Chem., 274, 7803 a 7815, (1999)), Coréia de Hungtingon (Steffan, J. S. *et al.*, Nature, 413, 739 a 743, (2001)) e anemia de célula falciforme (Gabbianelli, M. *et al.*, Blood, 95, 3555 a 3561, (2000)). Portanto, a invenção também prolonga-se aos métodos de tratar qualquer uma das doença acima mencionadas usando os compostos de benzamida da presente invenção, bem como ao uso destes compostos de benzamida na fabricação de um medicamento para o tratamento destes estados de doença.

Na célula eucariótica, o DNA é rotineiramente compactado para prevenir a acessibilidade ao fator de transcrição. Quando a célula é ativada, este DNA compactado é tornado disponível para as proteínas que ligam ao DNA, deste modo permitindo a indução da transcrição genética

(Beato, M., J. Med. Chem., 74, 711 a 724 (1996); Wolffe, A. P., Nature, 387, 16 a 17 (1997)). O DNA nuclear associa-se com as proteínas nucleares conhecidas como histonas para formar um complexo chamado de cromatina. As histonas nucleares, chamadas de H2A, H2B, H3 e H4, são circundadas por 146 pares de base de DNA para formar a unidade fundamental da cromatina, e que é conhecida como o nucleossomo. As caudas dos terminais N das histonas nucleares contêm resíduos de lisina que são os sítios para a acetilação pós-transcricional. A acetilação do grupo amino terminal na cadeia lateral de lisina neutraliza o potencial da cadeia lateral para formar uma carga positiva, e é pensada impactar na estrutura de cromatina.

As desacetilase histonas (HDACs) são enzimas que contêm zinco que catalizam a remoção dos grupos acetila a partir dos terminais  $\epsilon$ -amino dos resíduos de lisina ramificados próximo aos terminais amino das histonas nucleossômicas. As HDACs podem ser divididas em duas classes, a primeira (HDAC 1, 2, 3 e 8) representada por proteínas semelhantes a Rpd3 de levedura, e a segunda (HDAC 4, 5, 6, 7, 9 e 10) representadas por proteínas semelhantes a Hda1 de leveduras. O processo reversível de acetilação é conhecido ser importante na regulação transcricional e progressão de ciclo celular. Além disso, a desregulação da HDAC foi associada com vários cânceres e os inibidores de HDAC, tal como Tricostatina A (um produto natural isolado de *Streptomyces hygroscopicus*), foi mostrado apresentar uma inibição de crescimento celular significativa e efeitos anti-tumores (Meinke, P. T., Current Medicinal Chemistry, 8, 211-235 (2001)). A Yoshida *et al.*, (Exper. Cell Res., 177, 122-131 (1988)) ensina que a Tricostatina A causa a captura de fibroblastos de ratos nas fases G1 e G2 do ciclo celular, por meio disso implicando o papel das HDAC na regulação do ciclo celular. Além disso, a Tricostatina A mostrou induzir o diferenciamento terminal, inibir crescimento celular, e prevenir a formação de tumores em camundongos (Finnin *et al.*, Nature, 401, 188-193 (1999)).

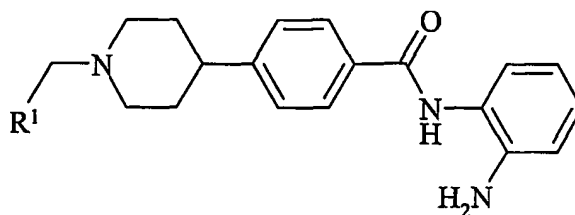
É conhecido dos Pedidos de Patente Internacional Publicados Números WO 03/087057 e WO 03/092686 que certos derivados de benzamida são inibidores de HDAC. Um composto particular divulgado na WO 03/087057 é N-(2-aminofenil)-4-[1-(pirid-2-il-metil)piperidin-4-il]-benzamida [1] (estrutura a qual é mostrada abaixo)



(I)

Foi verificado agora, que certos derivados de benzamida que carregam um grupo pirazol opcionalmente substituído ao invés do grupo piridila são inibidores potentes de HDAC. Além disso, os compostos particulares da presente invenção também foram verificados possuir outras propriedades farmacêuticas favoráveis, incluindo uma potência celular ou *in vivo* vantajosa, propriedades de DMPK vantajosas (por exemplo, um perfil de disponibilidade favorável e/ou níveis de plasma livre favoráveis e/ou uma meia-vida favorável e/ou um volume de distribuição favorável), bem como solubilidade boa ou melhorada. Além disso, os derivados de benzamida da presente invenção no geral mostram uma atividade particularmente baixa em um Ensaio de Inibição do Canal de Potássio Codificado por hERG, que é um indicador dos efeitos colaterais cardiovasculares indesejáveis e sérios na prática clínica.

De acordo com a presente invenção é fornecido um composto da fórmula (I):



(I)

em que R<sup>1</sup> é um anel de pirazol ligado a carbono, que é

opcionalmente substituído por um ou mais grupos selecionados de alquila  $C_{1-4}$ , cicloalquila  $C_{3-4}$ , alcóxi  $C_{1-4}$  e cicloalcóxi  $C_{3-4}$ ; ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmos.

Deve ser entendido que certos compostos da fórmula (I) definida acima pode apresentar o fenômeno do tautomerismo. Deve ser entendido que a presente invenção inclui em sua definição qualquer tal forma tautomérica, ou uma mistura destes, que possui a atividade acima mencionada, e não deve ser meramente limitada a qualquer uma forma tautomérica utilizada dentro dos desenhos das fórmulas ou nomeados nos Exemplos.

Onde os substituintes opcionais são selecionados de “um ou mais” grupos substituintes deve ser entendido que esta definição inclui todos substituintes sendo escolhidos de um dos grupos especificados ou os substituintes sendo escolhidos de dois ou mais dos grupos especificados.

Os substituintes opcionais adequados para  $R^1$  podem estar presentes em quaisquer átomos de carbono ou nitrogênio dentro do anel de pirazol.

$R^1$  adequadamente carrega de 1 a 3 grupos substituintes. Alternativamente,  $R^1$  é não substituído.

Como aqui usado, o termo “alquila” se refere a cadeias retas ou ramificadas. O termo “cicloalquila” inclui estrutura de anel, mas podem adicionalmente incluir as cadeias na forma de grupos cicloalquil-alquila. Por analogia, os termos “alcóxi” e “cicloalcóxi” compreendem alquila, cicloalquila ou grupos cicloalquil-alquila ligados através de um átomo de oxigênio.

Os substituintes alquila  $C_{1-4}$  ou cicloalquila  $C_{3-4}$  adequados para  $R^1$  incluem metila, etila, propila, ciclopropila, ciclobutila, ou ciclopropilmetila.

Os substituintes alcóxi  $C_{1-4}$  e cicloalcóxi  $C_{3-4}$  adequados para

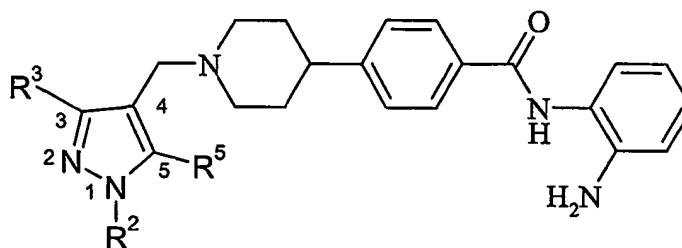
R<sup>1</sup> incluem metóxi, etóxi, propóxi, ciclopropóxi, ciclobutóxi, ou metilciclopropóxi.

Em uma forma de realização particular da invenção, R<sup>1</sup> é um anel de pirazol ligado a carbono, que é opcionalmente substituído por 1, 2 ou 3 grupos selecionados de alquila C<sub>1-4</sub> ou alcóxi C<sub>1-4</sub>.

Em uma outra forma de realização da invenção, R<sup>1</sup> é um anel de pirazol ligado a carbono, que é opcionalmente substituído por 1, 2 ou 3 grupos selecionados de alquila C1-2 ou alcóxi C1-2.

Os exemplos de grupos R<sup>1</sup> incluem pirazol-3-ila, pirazol-4-ila, 1-metilpirazol-4-ila, 3-etilpirazol-4-ila, 1,3-dimetilpirazol-5-ila, 1,3-dimetilpirazol-4-ila, 1,3,5-trimetilpirazol-4-ila, 1,3-dimetil-5-metóxi-pirazol-4-ila, 1,5-dimetilpirazol-4-ila, 1-etil-5-metilpirazol-4-ila, 1-etil-pirazol-4-ila, e 1-etil-3-metilpirazol-4-ila (submetido ao tautomerismo onde possível).

Em uma outra forma de realização da invenção, os compostos da fórmula (I) compreendem os compostos da fórmula (IA)



(IA)

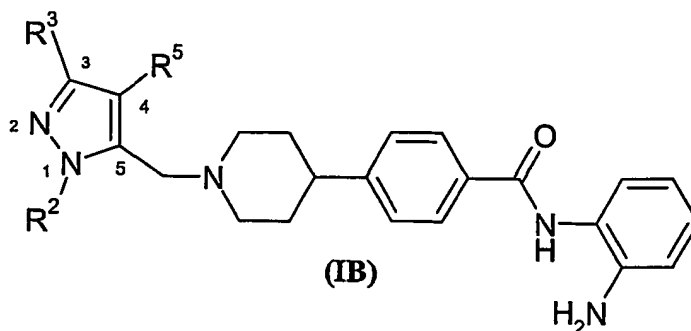
onde R<sup>2</sup> é hidrogênio, alquila C<sub>1-4</sub> ou cicloalquila C3-4, e

R<sup>3</sup> e R<sup>5</sup> são independentemente selecionados de hidrogênio, alquila C<sub>1-4</sub>, cicloalquila C3-4, alcóxi C<sub>1-4</sub> ou cicloalcóxi C3-4.

Será apreciado que os átomos do anel da porção de pirazol da molécula da fórmula (IA) são no geral numerados como mostrado no diagrama acima. Contudo, a molécula é submetida ao tautomerismo no caso onde R<sup>2</sup> é hidrogênio, onde a troca dos grupos de hidrogênio a partir de um nitrogênio do anel de pirazol ao outro, significa que os pirazóis substituídos, onde pelo menos um dos R<sup>3</sup> ou R<sup>5</sup> é outro que não hidrogênio, são

inevitavelmente as misturas de cada tautômero, e que  $R^3$  e  $R^5$  são portanto julgados ser permutáveis.

Em uma forma de realização alternativa, a invenção fornece um composto da fórmula (IB)



5 onde  $R^2$ ,  $R^3$  e  $R^5$  são como definidos acima em relação à fórmula (IA)

Novamente, será apreciado que a porção de pirazol da molécula da fórmula (IB) é no geral numerada de acordo com aquela delineada no diagrama acima. Contudo, como para os compostos da fórmula  
 10 (IA) divulgados acima, a molécula também é submetida ao tautomerismo quando  $R^2$  é hidrogênio.

Os exemplos particulares de  $R^2$  incluem hidrogênio, metila, etila, propila, ciclopropila, metilciclopropila ou ciclobutila.

Por exemplo,  $R^2$  é hidrogênio, metila, etila, propila ou  
 15 ciclopropila.

Em uma forma de realização particular,  $R^2$  é hidrogênio, metila ou etila.

Em uma outra forma de realização,  $R^2$  é hidrogênio ou metila.

Os exemplos particulares dos grupos  $R^3$  e  $R^5$  são hidrogênio  
 20 metila, etila, propila, ciclopropila, ciclopropilmetila, metóxi, etóxi, propóxi ou ciclopropóxi.

Os exemplos particulares dos grupos  $R^3$  ou  $R^5$  incluem hidrogênio, metila, etila ou metóxi.

Adequadamente, não mais do que um grupo  $R^3$  ou  $R^5$  é um

alcóxi  $C_{1-4}$ .

Em uma forma de realização particular, pelo menos um, e preferivelmente dois grupos  $R^2$ ,  $R^3$  e  $R^5$  são outro que não hidrogênio.

5 Em uma forma de realização particular da invenção, os compostos têm a fórmula estrutural (IA) mostrada acima em que  $R^2$  é hidrogênio ou alquila  $C_{1-4}$ , e  $R^3$  e  $R^5$  são cada um independentemente selecionados de hidrogênio, alquila  $C_{1-4}$ , ou alcóxi  $C_{1-4}$ .

10 Em uma outra forma de realização, os compostos têm a fórmula estrutural (IA) mostrada acima em que  $R^2$  é hidrogênio, metila ou etila, e  $R^3$  e  $R^5$  são cada um independentemente selecionados de hidrogênio, metila, etila ou metóxi.

15 Em uma outra forma de realização, os compostos têm a fórmula estrutural (IA) mostrada acima em que  $R^2$  é hidrogênio ou metila, e  $R^3$  e  $R^5$  são cada um independentemente selecionados de hidrogênio, metila, etila ou metóxi.

Em uma outra forma de realização, os compostos têm a fórmula estrutural (IA) mostrada acima em que  $R^2$  é hidrogênio ou metila, e  $R^3$  e  $R^5$  são cada um independentemente selecionados de hidrogênio, metila ou metóxi.

20 Em uma outra forma de realização, os compostos têm a fórmula estrutural (IA) mostrada acima em que  $R^2$  é hidrogênio ou metila, e  $R^3$  e  $R^5$  são cada um independentemente selecionados de hidrogênio ou metila.

25 Em uma forma de realização particular da invenção, os compostos têm a fórmula estrutural (IB) mostrada acima em que  $R^2$  é hidrogênio ou alquila  $C_{1-4}$ , e  $R^3$  e  $R^5$  são cada um independentemente selecionados de hidrogênio, alquila  $C_{1-4}$ , ou alcóxi  $C_{1-4}$ .

Em uma outra forma de realização, os compostos têm a fórmula estrutural (IB) mostrada acima em que  $R^2$  é hidrogênio, metila ou

etila, e R<sup>3</sup> e R<sup>5</sup> são cada um independentemente selecionados de hidrogênio, metila, etila ou metóxi.

Em uma outra forma de realização, os compostos têm a fórmula estrutural (IB) mostrada acima em que R<sup>2</sup> é hidrogênio ou metila, e  
 5 R<sup>3</sup> e R<sup>5</sup> são cada um independentemente selecionados de hidrogênio, metila, etila ou metóxi.

Em uma outra forma de realização, os compostos têm a fórmula estrutural (IB) mostrada acima em que R<sup>2</sup> é hidrogênio ou metila, e  
 10 R<sup>3</sup> e R<sup>5</sup> são cada um independentemente selecionados de hidrogênio, metila ou metóxi.

Os compostos particulares da invenção incluem qualquer um do seguinte:

N-(2-aminofenil)-4-[1-(1H-pirazol-3-ilmetil)piperidin-4-il]-benzamida;

15 N-(2-aminofenil)-4-{1-[(5-metóxi-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(3-etil-1H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida;

20 N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1-metil-1H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,3-dimetil-1H-pirazol-5-il)metil]piperidin-4-il}benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida;

25 N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,3,5-trimetil-1H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1-etil-5-metil-1H-pirazol-4-il)-

metil]piperidin-4-il}benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1-etil-1H-pirazol-4-il)metil]-  
piperidin-4-il}benzamida;

5 N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1-etil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-  
metil]piperidin-4-il}benzamida;

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmos.

Deve ser entendido que certos compostos da fórmula I acima  
podem existir nas formas não solvatadas bem como formas solvatadas, tais  
como, por exemplo, formas hidratadas. Deve ser entendido que a presente  
10 invenção abrange todas tais formas solvatadas que possuem atividade  
antiproliferativa.

Também deve ser entendido que certos compostos da Fórmula  
I podem apresentar polimorfismo, e que a presente invenção abrange todas  
tais formas que possuem atividade antiproliferativa.

15 Um sal farmaceuticamente aceitável adequado de um  
composto da Fórmula I é, por exemplo, um sal de adição de ácido de um  
composto da Fórmula I, por exemplo um sal de adição de ácido com um ácido  
orgânico ou inorgânico tais como ácido clorídrico, bromídrico, sulfúrico,  
trifluoroacético, cítrico ou maléfico; ou, por exemplo, um sal de um composto  
20 da Fórmula I que é suficientemente ácido, por exemplo um sal de metal  
alcalino ou alcalino terroso tal como um sal de cálcio ou magnésio, ou um sal  
de amônio. Um outro sal farmaceuticamente aceitável adequado de um  
composto da Fórmula I é, por exemplo, um sal formado dentro do corpo  
humano ou animal após a administração de um composto da Fórmula I.

25 Os compostos da invenção podem ser administrados na forma  
de uma pró-droga que é um composto que é decomposto no corpo humano ou  
animal para liberar um composto da invenção. Uma pró-droga pode ser usada  
para alterar as propriedades físicas e/ou as propriedades farmacocinéticas de  
um composto da invenção. Uma pró-droga pode ser formada quando o

composto da invenção contem um grupo adequado ou substituinte ao qual um grupo de propriedade modificante pode ser ligado. Os exemplos de pró-drogas incluem derivados de amida cliváveis *in vivo* que podem ser formados em um grupo amino em um composto da Fórmula I.

5                   Portanto, a presente invenção inclui aqueles compostos da Fórmula I como definido mais acima quando tornado disponível pela síntese orgânica e quando tornado disponível dentro do corpo humano ou animal por intermédio de clivagem de uma pró-droga destes. Portanto, a presente invenção inclui aqueles compostos da Fórmula I que são produzidos por  
10 meios orgânicos sintéticos e também tais compostos que são produzidos no corpo humano ou animal por intermédio do metabolismo de um composto precursor, que é um composto da Fórmula I pode ser um composto produzido de modo sintético ou um composto produzido de modo metabólico.

                  Uma pró-droga farmacêuticamente aceitável adequada de um  
15 composto da Fórmula I é aquele que é fundamentado no julgamento médico razoável como sendo adequado para a administração ao corpo humano ou animal sem atividades farmacológicas indesejáveis e sem toxicidade indevida.

Várias formas de pró-droga foram descritas, por exemplo nos seguintes documentos:

20                   a) Methods in Enzymology, Vol. 42, p. 309 a 396, editado por K. Widder, *et al.* (Academic Press, 1985);

                  b) Design of Pro-drugs, editado por H. Bundgaard, (Elsevier, 1985);

                  c) A Textbook of Drug Design and Development, editado por  
25 Krogsgaard-Larsen e H. Bundgaard, Capítulo 5 “Design and Application of Pro-drugs”, por H. Bundgaard p. 113 a 191 (1991);

                  d) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1 a 38 (1992);

                  e) H. Bundgaard, *et al.*, Journal of Pharmaceutical Sciences,

77, 285 (1988);

f) N. Kakeya, *et al.*, Chem. Pharm. Bull., 32, 692 (1984);

g) T. Higuchi e V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", A.C.S. Symposium Series, Volume 14; e

5 h) E. Roche (editor), "Bioreversible Carriers in Drug Design", Pergamon Press, 1987.

Uma pró-droga farmaceuticamente aceitável adequada de um composto da Fórmula I é, por exemplo, um derivado de amida clivável *in vivo* deste. As amidas farmaceuticamente aceitáveis adequadas formadas a partir  
10 de um grupo amino inclui, por exemplo uma amida formada com os grupos alcanóila (1 a 10 C) tais como uma acetila, benzoíla, fenilacetila e grupos benzoíla e fenilacetila substituído. Os exemplos de substituintes no anel nos grupos fenilacetila e benzoíla incluem aminometila, N-alquilaminometila, N,N-dialquilaminometila, morfolinometila, piperazin-1-ilmetil e 4-(1-  
15 4C)alquilpiperazin-1-il-metila.

Os efeitos *in vivo* de um composto da Fórmula I podem ser exercidas em parte por um ou mais metabólitos que são formados dentro do corpo humano ou animal após a administração de um composto da Fórmula I. Como determinado mais acima, os efeitos *in vivo* de um composto da  
20 Fórmula I também podem ser exercidos por intermédio do metabolismo de um composto precursor (uma pró-droga).

#### Preparação dos Compostos da Fórmula I

Será apreciado por uma pessoa habilitada na técnica que pode ser necessário/desejável para proteger quaisquer grupos sensíveis nos  
25 compostos em alguns dos processos/reações aqui mencionados. Os exemplos onde a proteção é necessária ou desejável, e os métodos adequados para fornecer tal proteção são conhecidos àqueles habilitados na técnica. Os grupos de proteção convencionais podem ser usados de acordo com a técnica padrão (para ilustração ver T.W. Green & P.G.M. Wuts, Protective Groups in

Organic Syntesis, 3<sup>a</sup> edição, John Wiley and Sons, 1999). Deste modo, se os reagentes incluem os grupos tais como amino, carbóxi ou hidróxi pode ser desejável proteger o grupo em algumas das reações aqui mencionadas.

Quaisquer grupos de proteção utilizados nos processos aqui descritos podem ser no geral escolhidos a partir de qualquer um dos grupos descritos na literatura ou conhecidos ao químico habilitado como apropriado para a proteção do grupo em questão e podem ser introduzidos através de métodos convencionais. Os grupos de proteção podem ser removidos por qualquer método conveniente como descrito na literatura ou conhecido ao químico habilitado como apropriado para a remoção do grupo de proteção em questão, tais métodos sendo escolhidos assim como efetuar a remoção do grupo de proteção com distúrbio mínimo de grupos em outra parte na molécula.

Os exemplos específicos dos grupos e proteção são dados abaixo por causa da conveniência, em que “inferior”, como em, por exemplo, alquila inferior, significa que o grupo ao qual é aplicado preferivelmente tem de 1 a 4 átomos de carbono. Será entendido que estes exemplos não são exaustivos. Onde os exemplos específicos dos métodos para a remoção dos grupos de proteção são dados abaixo estes não são similarmente exaustivos. O uso dos grupos de proteção e métodos de desproteção não especificamente mencionado está naturalmente dentro do escopo da invenção.

Um grupo de proteção adequado para um grupo amino ou alquilamino é, por exemplo, um grupo acila, por exemplo um grupo alcanoíla tal como acetila, um grupo alcóxicarbonila, por exemplo um grupo metóxicarbonila, etóxicarbonila ou t-butoxicarbonila, um grupo arilmetóxicarbonila, por exemplo benzilóxicarbonila, ou um grupo aroíla, por exemplo benzoíla. As condições de desproteção para os grupos de proteção mencionados necessariamente variam com a escolha do grupo de proteção. Deste modo, por exemplo, um grupo acila tal como um grupo alcanoíla ou

alcoxicarbonila ou um grupo aroíla podem ser removidos por exemplo, através da hidrólise com uma base adequada tal como um hidróxido de metal alcalino, por exemplo hidróxido de lítio ou sódio. Alternativamente um grupo acila tal como um grupo t-butoxicarbonila pode ser removido, por exemplo, através do tratamento com um ácido adequado como ácido clorídrico, sulfúrico ou fosfórico ou ácido trifluoroacético e um grupo arilmetoxycarbonila tal como um grupo benziloxycarbonila pode ser removido, por exemplo, através da hidrogenação em um catalisador tal como paládio-em-carbono, ou através do tratamento com um ácido de Lewis por exemplo tris(trifluoroacetato) de boro. Um grupo de proteção alternativo adequado para um grupo amino primário é, por exemplo, um grupo ftaloíla que pode ser removido através do tratamento com uma alquilamina, por exemplo dimetilaminopropilamina, ou com hidrazina.

Um grupo de proteção adequado para um grupo hidróxi é, por exemplo, um grupo acila, por exemplo um grupo alcanoíla tal como acetila, um grupo aroíla, por exemplo benzoíla, ou um grupo arilmetila, por exemplo benzila. As condições de desproteção para os grupos de proteção acima necessariamente variarão com a escolha do grupo de proteção. Deste modo, por exemplo, um grupo acila tal como um grupo alcanoíla ou aroíla pode ser removido, por exemplo, através da hidrólise com uma base adequada tal como um hidróxido de metal alcalino, por exemplo hidróxido de lítio ou sódio. Alternativamente um grupo de arilmetila tal como um grupo benzila pode ser removido, por exemplo, através da hidrogenação em um catalisador tal como paládio-em-carbono.

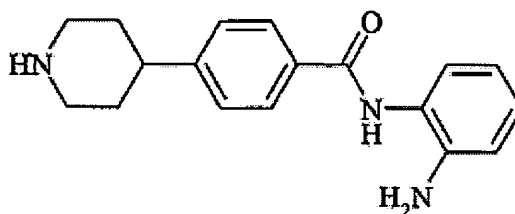
Um grupo de proteção adequado para um grupo carbóxi é, por exemplo, um grupo de esterificação, por exemplo um grupo metila ou um grupo etila que podem ser removidos, por exemplo, através da hidrólise com uma base tal como hidróxido de sódio, ou por exemplo um grupo t-butila que pode ser removido, por exemplo, através do tratamento com um ácido, por

exemplo um ácido orgânico tal como ácido trifluoroacético, ou por exemplo um grupo benzila que pode ser removido, por exemplo, através da hidrogenação em um catalisador tal como paládio-em-carbono.

Os grupos de proteção podem ser removidos em qualquer estágio conveniente na síntese usando técnicas convencionais bem conhecidas na técnica química.

Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um processo para preparar um composto da fórmula (I) ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, cujo processo compreende:

(a) a reação de um composto da fórmula (II)



(II)

em que a porção de anilina pode ser apropriadamente protegida; com um composto da Fórmula (III)



(III)

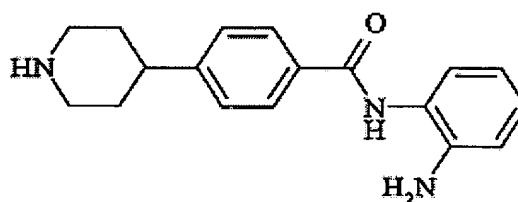
onde R<sup>1</sup> é como aqui definido, na presença de um agente de redução, e em seguida, se necessário, remover quaisquer grupos de proteção residuais que podem estar presentes.

Um agente de redução adequado para o processo (a) inclui, por exemplo, um sal de boroidreto inorgânico tal como boroidreto de sódio, triacetoxiboroidreto de sódio ou cianoboroidreto de sódio e hidrogênio. A aminação redutiva usando hidrogênio é opcionalmente realizada na presença de um catalisador adequado, tal como, por exemplo, Pd/C, Pd(OH)<sub>2</sub>/C, Pt/C, PtO<sub>2</sub> ou Rh em alumínio, e também pode ser realizada sob pressão, por exemplo de 1 a 10 bar em uma faixa de temperaturas, por exemplo de 0 a 150° C.

O processo (a) pode ser realizado na presença de um ácido adequado. Um ácido adequado para o processo (a), inclui um ácido de Bronsted tal como, por exemplo ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido clorídrico, ácido sulfúrico, ácido para-  
 5 toluenossulfônico ou ácido canforsulfônico; ou um ácido de Lewis da fórmula  $MQ_z$ , em que M é um metal, Q é um grupo reativo tal como, por exemplo, um grupo halo ou um sulfonylóxi, por exemplo um grupo cloro, bromo, iodo, metanossulfonylóxi, trifluorometanossulfonylóxi ou tolueno-4-sulfonylóxi, e z é na faixa de 1 a 6 e o valor de z dependerá do metal M. Os exemplos típicos  
 10 de ácidos de Lewis adequados incluem trifluoreto de boro, trifluorometanossulfonato de escândio (III), cloreto de estanho (VI), isopropóxido de titânio (IV) ou cloreto de zinco (II).

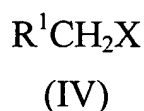
Alternativamente, os compostos da fórmula (I) podem ser preparados pela

15 (b) reação de um composto da fórmula (II),



(II)

em que a anilina pode ser apropriadamente reagida; com um composto da Fórmula (IV)



na presença de uma base adequada;

em que X é um grupo reativo;

20 e em seguida, se necessário, remover quaisquer grupos de proteção residuais que podem estar presentes.

Um grupo reativo X adequado é, por exemplo, um halogênio ou grupo sulfonylóxi, por exemplo um grupo cloro, bromo, iodo,

metanossulfonilóxi, trifluorometanossulfonilóxi ou tolueno-4-sulfonilóxi.

Uma base adequada para o uso no processo (b) acima é, por exemplo, uma base de amina orgânica tal como, por exemplo, piridina, 2,6-lutidina, colidina, 4-dimetilaminopiridina, trietilamina, morfolina, diisopropiletilamina (DIPEA), N-metilmorfolina ou diazabicyclo[5,4,0]-undec-7-eno, ou, por exemplo, um carbonato ou hidróxido de metal alcalino ou alcalino terrosos, por exemplo carbonato de sódio, carbonato de potássio, carbonato de cálcio, hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio, ou, por exemplo, um hidreto de metal alcalino, por exemplo hidreto de sódio, um hidrogenocarbonato de metal alcalino terroso tal como hidrogenocarbonato de sódio, ou um alcóxido metálico tal como etóxido de sódio.

Um grupo de proteção adequado para a porção de anilina ou o anel de piperidina pode ser um carbamato tal como terc-butóxi-carbonila ou benziloxicarbonila.

Os exemplos particulares de grupos  $R^1$  são como descritos acima.

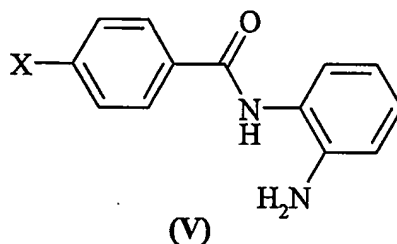
As reações definidas nos processos (a) e (b) são convenientemente realizadas na presença de um solvente ou diluente inerte adequado, por exemplo um álcool ou éster tal como metanol, etanol, isopropanol ou acetato de etila, um solvente halogenado tal como cloreto de metileno, clorofórmio ou tetracloreto de carbono, um éter tal como tetraidrofurano, 1,2-dimetoxietano ou 1,4-dioxano, um solvente aromático tal como tolueno, ou um solvente aprótico dipolar tal como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidin-2-ona ou sulfóxido de dimetila.

#### Preparação dos materiais de partida

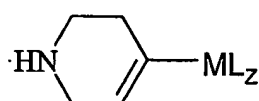
##### Preparação do Composto da fórmula II

O composto da fórmula II acima pode ser preparado por qualquer um dos seguintes processos:

(c) A reação de um composto da Fórmula (V), em que a anilina pode ser apropriadamente protegida,

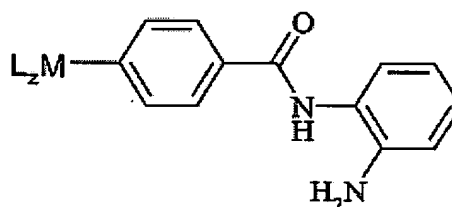


em que X é um grupo reativo como definido mais acima, com um composto da Fórmula (VI) na presença de uma base adequada

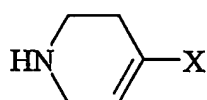


5 em que M é um metal, L é um ligando, o número inteiro z é de 0 a 3, e o anel de tetraidropiridina pode ser protegido; ou

a reação de um composto da Fórmula (VII), em que a anilina e a tetraidropiridina podem ser apropriadamente protegidas e M, L e z são como definidos acima,



10 com um composto da fórmula (VIII):



na presença de uma base adequada;

em que X é um grupo reativo como definido mais acima, e em seguida, se necessário, e em qualquer ordem ou combinação adequadas:

remover quaisquer grupos de proteção a partir da tetraidropiridina, e/ou

redução da tetraidropiridina a piperidina e/ou

remover quaisquer grupos de proteção residuais presentes.

5 Um grupo de proteção adequado para o anel de tetraidropiridina é um grupo tal como terc-butoxicarbonila (também aqui referido como “BOC”) ou benziloxicarbonila. Um grupo de proteção adequado para a porção de anilina também pode ser um carbamato tal como BOC ou benziloxicarbonila.

10 Uma base adequada para o processo (c) é, por exemplo, uma base de amina orgânica tal como, por exemplo, piridina, 2,6-lutidina, colidina, 4-dimetilaminopiridina, trietilamina, morfolina, N-metil-morfolina ou diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno, ou, por exemplo, um metal alcalino ou carbonato ou hidróxido alcalinos terrosos, por exemplo carbonato de sódio, 15 carbonato de potássio, carbonato de cálcio, carbonato de cério, hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio, ou, por exemplo, um hidreto de metal alcalino, por exemplo hidreto de sódio, ou um hidrogenocarbonato de metal alcalino tal como hidrogenocarbonato de sódio, ou um alcóxido metálico tal como etóxido de sódio.

20 A reação definida no processo (c) acima é convenientemente realizada na presença de um solvente ou diluente inerte adequado, por exemplo um álcool ou éster tal como metanol, etanol, isopropanol ou acetato de etila, um solvente halogenado tal como cloreto de metileno, clorofórmio ou tetracloreto de carbono, um éter tal como tetraidrofurano, 1,2-dimetoxietano 25 ou 1,4-dioxano, um solvente aromático tal como tolueno, ou um solvente dipolar aprótico tal como N,N-dimetil-formamida, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidin-2-ona ou sulfóxido de dimetila. As reações são convenientemente realizadas em uma temperatura na faixa de, por exemplo, 10 a 250° C, preferivelmente na faixa de 40 a 80° C;

O metal M pode ser qualquer metal que é conhecido na literatura para formar compostos organometálicos que sofrem reações de ligação cruzada catalíticas. Os exemplos de metais adequados incluem boro, estanho, zinco, e magnésio.

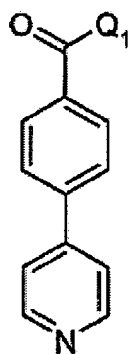
5 Um valor adequado para o número inteiro z é dependente do metal M, mas é usualmente na faixa de 0 a 3.

Os valores adequados para o ligando L, quando presente, inclui, por exemplo, um hidróxi, um halo, ligando de alcóxi (1-4C) ou alquila (1-6C), por exemplo um ligando de hidróxi, bromo, cloro, flúor, iodo, metóxi, 10 etóxi, propóxi, isopropóxi, butóxi, metila, etila, propila, isopropila ou butila ou, onde número inteiro z é 2 e M é boro, os dois ligandos presentes podem ser ligados tal que, juntos com o átomo de boro a que estes são ligados, estes formam um anel. Adequadamente, o grupo ML, é um grupo da Fórmula -  $BL^1L^2$ , onde B é boro e  $L^1$  e  $L^2$  são como definidos para o ligando L acima. 15 Em particular, os ligandos  $L^1$  e  $L^2$  podem ser ligados tal que, juntos com o átomo de boro a que estes são ligados, formam um anel. Por exemplo,  $L^1$  e  $L^2$  podem juntos definir um grupo óxi-alquilenos (2-4C)-óxi, por exemplo um oxietilenóxi, pinacolato ( $-O-C(CH_3)_2C(CH_3)_2-O-$ ) ou grupo óxi-propileno-óxi tal que, junto com o átomo de boro a que estes são ligados, formam um grupo 20 éster do ácido boróico cíclico.

Um catalisador adequado para o processo (c) inclui, por exemplo, um catalisador metálico tal como um catalisador de paládio (0), paládio (II), níquel (0) ou níquel (II), por exemplo tetrakis(trifenilfosfino)paládio (0), cloreto de paládio (II), paládio(II) brometo, cloreto de 25 bis(trifenilfosfino)paládio (II), tetrakis(trifenilfosfino)níquel (0), cloreto de níquel (II), brometo de níquel (II), cloreto de bis(trifenilfosfino)níquel (II) ou dicloro[1-1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno]paládio (II). Além disso, um iniciador de radical livre pode ser convenientemente adicionado, por exemplo um composto azo tal como azo(bisisobutironitrila).

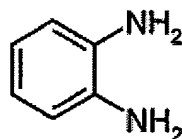
Adequadamente o anel de tetraidropiridina é reduzido a um anel de piperidina no processo (c) acima através da hidrogenação. A hidrogenação é opcionalmente realizada na presença de um catalisador adequado, tal como, por exemplo, Pd/C, Pd(OH)<sub>2</sub>/C, Pt/C, PtO<sub>2</sub> ou Rh em alumina, e também pode ser realizada sob pressão, por exemplo de 1 a 10 bar. A hidrogenação também é adequadamente realizada na presença de um ácido adequado, por exemplo ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido cítrico, ácido acético e ácido metanossulfônico, e em um solvente apropriado ou mistura de solvente tal como, por exemplo, água, etanol, tetraidrofurano (THF), metanol, acetonitrila ou propan-2-ol.

d) A reação de um composto da fórmula (IX), em que Q<sub>1</sub> é -OH, -Cl, ou -O<sup>-</sup> Q<sub>2</sub><sup>+</sup> (em que Q<sub>2</sub><sup>+</sup> é um cátion)



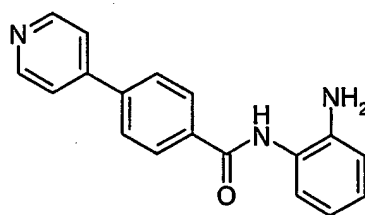
(IX)

com um composto da fórmula (X) na presença de um solvente adequado e em que um dos grupos aminos no composto da fórmula (X) pode ser protegido;



(X)

para formar um composto da fórmula (XI)



(XI)

em que a anilina pode ser protegida;

e em seguida:

converter o composto da fórmula (XI) a um composto da fórmula (II) reduzindo-se o anel de pirindin-4-ila a um anel de piperidina-4-ila usando um agente de redução adequado e/ou condições de redução adequadas; e

opcionalmente remover quaisquer grupos de proteção residuais presentes.

Uma valor adequado para  $Q_1$  é  $-O^- Na^+$  (isto é  $-O^- Q_2^+$ , em que  $Q_2^+$  é  $Na^+$ ). Adequadamente, um dos grupos aminos do composto da fórmula (X) é protegido por um grupo de proteção amino adequado como mais acima definido, tal como um grupo BOC.

Adequadamente, a anilina é protegida por um grupo de proteção amino como mais acima definido, tal como um grupo BOC, no composto da fórmula (XI).

Qualquer solvente adequado, tal como aqueles previamente aqui mencionados, podem ser usados para a reação dos compostos IX e X.

O composto da fórmula (XI) convertido em um composto da fórmula (II) usando um agente de redução adequado e/ou condições de redução adequadas. Um processo adequado é a hidrogenação. A hidrogenação é opcionalmente realizada na presença de um catalisador adequado, tal como, por exemplo, Pd/C,  $Pd(OH)_2/C$ , Pt/C,  $PtO_2$  ou Rh em alumina, e também pode ser realizada sob pressão, por exemplo de 1 a 10 bar. A hidrogenação também é adequadamente realizada na presença de um ácido adequado, por exemplo ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido cítrico, ácido acético e ácido

metanossulfônico, e em um solvente apropriado ou mistura de solventes tal como, por exemplo, água, etanol, tetraidrofurano (THF), metanol, acetonitrila ou propan-2-ol.

Um método adequado para a preparação do composto da fórmula (XI) compreende a conversão do composto (IX) em um derivado reativo do ácido carboxílico (que pode ser produzido *in situ* e é não necessariamente isolado), seguido pela reação subsequente com um composto da fórmula (X).

Um derivado reativo adequado de um ácido carboxílico é, por exemplo, um haleto de acila, por exemplo um cloreto de acila formado pela reação do ácido e um cloreto de ácido inorgânico, por exemplo cloreto de tionila; um anidreto misturado, por exemplo um anidreto formado pela reação do ácido e um cloroformiato tal como cloroformiato de isobutila; um éster ativo; o produto da reação do ácido e uma carbodiimida tal como dicicloexilcarbodiimida; ou o produto da reação de um ácido com cloreto de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazinil-2-il)-4-metilmorfolínio (DMTMM), ou o produto da reação de um ácido com 1,1'-carbonildiimidazola (CDI).

Os compostos das fórmulas (III) e (IV) são obteníveis de fontes comerciais, por exemplo Flurochem Ltd, Old Glossop, Derbyshire SK13 7RY, UK, ou podem ser sintetizados usando os métodos que são conhecidos àqueles habilitados na técnica e/ou reportados na literatura, por exemplo Makino, K.; Kim, H.S e Kurasawa Y; J. Heterocyclic Chem. 1998, 35, 489 a 497 e referências nestes contidas.

### Ensaaios

Os seguintes ensaios de (a) a (c) podem ser usados para medir os efeitos de um ou mais dos compostos da presente invenção como inibidores de HDAC, como inibidores *in vitro* de HDAC humano recombinante produzido em células de insetos Hi5, e como indutores *in vitro* e *in vivo* de acetilação de Histona H3 em células e tumores integrais. Estes

também avaliam a capacidade de tais compostos para inibir a proliferação de células tumorais humanas.

a) Ensaio Enzimático *In Vitro* de HDAC1 recombinante

Os inibidores de HDAC foram triados contra HDAC1 recombinante humano produzido na células de inseto Hi5. A enzima foi clonada com um rótulo FLAG no terminal C do gene purificado por afinidade usando Anti-FLAG M2 agarose da SIGMA (A2220).

Os ensaios de desacetilase foram realizados em uma reação de 50 µl. HDAC1 (75 ng de enzima) diluída em 15 µl de tampão de reação (25 mM de TrisHCl (pH 8), 137 mM de NaCl, 2,7 mM de KCl, 1 mM de MgCl<sub>2</sub>) foi misturada com tampão sozinho (10 µl) ou um composto contendo o tampão (10 µl) por 30 minutos na temperatura ambiente. 25 µM de peptídeo histona H4 acetilado (KI 174 Biomol) diluídos em 25 µl de tampão foram depois adicionados à reação e incubadas por uma hora na temperatura ambiente. A reação foi interrompida pela adição de um volume igual (50 µl) de revelador de Fluor de Lys (Biomol) contendo Tricostatina A a 2 µM. A reação foi deixada desenvolver por 30 minutos na temperatura ambiente e depois a fluorescência foi medida a um comprimento de onda de excitação de 360 nM e um comprimento de onde de emissão de 465 nM. Os valores IC<sub>50</sub> para os inibidores da enzima HDAC foram determinados realizando-se as curvas de resposta de dose com os compostos individuais e determinando a concentração do inibidor produzindo cinquenta por cento de diminuição no sinal máximo (controle de diluente).

b) Ensaio *In Vitro* da inibição da proliferação em células integrais

A inibição da proliferação em células integrais foi ensaiada usando o ensaio de proliferação aquosa de 96 títulos celulares Promega (Promega #G5421). As células HCT116 foram cultivadas em placas de 96 reservatórios a  $1 \times 10^3$  células/reservatório, e deixadas aderir durante a noite. Estas foram tratadas com inibidores por 72 horas. 20 µl do corante tetrazólio

MTS foi adicionado a cada reservatório e as placas foram re-incubadas por 3 horas. A absorvência foi depois medida em um leitor de placas de 96 reservatórios a 490 nM. Os valores IC<sub>50</sub> para os inibidores de HDAC foram determinados realizando-se as curvas de resposta de dose com os compostos individuais e determinando a concentração do inibidor que produz cinquenta por cento de diminuição no sinal máximo (controle de diluente).

(c) Ensaio Enzimático *In Vitro* da Atividade de Desacetilase Histona em células integrais

A acetilação de histona H3 em células integrais foi medida usando imunistoquímica e análise usando o exame de formação Cellomics. As células A549 ou HCT116 foram cultivadas em placas de 96 reservatórios a  $1 \times 10^4$  células/reservatório, e deixadas aderir durante a noite. Estas foram tratadas com os inibidores por 24 horas e depois fixadas em 1,8 % de formaldeído em tris tamponado salino (TBS) por uma hora. As células foram permeabilizadas com metanol gelado por 5 minutos, lavadas em TBS e depois bloqueadas em leite seco desnatado em TBS a 3 % por 90 minutos. As células foram depois incubadas com anticorpos policlonais específicos para a histona H3 acetilada (Upstate #06599) 1 diluídas em 500 em leite em TBS a 3 % por uma hora. As células foram lavadas três vezes em TBS e depois incubadas com anti-corpos secundários de fluoresceína conjugados (Molecular Probes #A11008) & Hoechst 333542 (1 µg/ml) (Molecular Probes #H3570) em TBS mais 1 % de albumina de soro bovino (Sigma #B6917) por uma hora. O anti-corpo livre foi removido através de três lavagens com TBS e após a lavagem final 100 µl de TBS foram adicionados às células e as placas foram lacradas e analisadas usando o exame de formação Cellomics.

Os valores EC<sub>50</sub> para os inibidores de HDAC foram determinados realizando-se as curvas de resposta de dosagem com os compostos individuais e depois determinando a concentração do inibidor que produz cinquenta por cento do sinal máximo (controle do composto de

referência - Tricostatina A (Sigma)).

A atividade e solubilidade de hERG dos compostos da invenção também podem ser avaliados usando os ensaios de (d) a (f) apresentados abaixo:

5 d) Ensaio de Inibição do Canal de Potássio codificado por hERG

Cultura celular

Células Ovarianas de Hamster Chinês (CHO) que expressam o canal codificado por hERG foram desenvolvidas até a semi-confluência a 37° C em um ambiente umidificado (CO<sub>2</sub> a 5 %) em meio F-12 Ham contendo L-glutamina, 10 % Soro de bezerro fetal (FCS) e 0,6 mg/ml Higromicina (todos da Sigma). Antes do uso a monocamada foi lavada usando uma alíquota de 3 ml pré aquecida (37° C) de Versene 1:5,000 (Invitrogen). Após a aspiração desta solução, o frasco foi incubado a 37° C em uma incubadora com outros 2 ml de Versene 1:5,000 por um período de 6 minutos. As células foram depois separadas do fundo do frasco gentilmente punçando-se 10 ml de cálcio contendo PBS da Dulbecco (0,9 mM) e magnésio (0,5 mM) (PBS) (Invitrogen) foi depois adicionado ao frasco e aspirado em um tubo de centrífuga de 15 ml antes da centrifugação (50 g, por 4 minutos).

O sobrenadante resultante foi descarregado e a pelota gentilmente ressubmetida à suspensão em uma alíquota de 3 ml de PBS. Uma alíquota de 0,5 ml da suspensão celular foi removida para a contagem celular automatizada (Innovatis Cedex) e o volume da suspensão celular final foi ajustado com PBS para fornecer a concentração celular final desejada.

Eletrofisiologia

25 Os princípios e operação deste dispositivo foram previamente descritos (Schroeder *et al.*, Journal of Biomolecular Screening (2003) 8(1), 50-64). Resumidamente, a tecnologia é fundamentada em uma placa de um 384 reservatórios (PatchPlate<sup>®</sup>) em que um registro é obtido em cada reservatório usando-se a sucção para tentar posicionar e manter uma célula

em um pequeno buraco separando duas câmaras fluidas isoladas. Uma vez que o lacramento ocorreu, a solução no lado inferior da PatchPlate® é mudada para um que contém a anfotericina B (Sigma). Isto permeabiliza o caminho da membrana celular cobrindo o buraco em cada reservatório e de fato permite um registro da cinta de curativo da célula integral perfurada a ser obtido em cada reservatório.

Para cada série de IonWorks® HT este foi operado da seguinte maneira na temperatura ambiente (-21° C). O “bote” na posição do “Tampão” foi carregado com 4 ml de PBS e que na posição das “Células” com a suspensão celular CHO-hERG descrita acima. Uma placa de 96 reservatórios (fundo em V, Greiner Bio-one) que contem os compostos a ser testados (3 X sua concentração final de teste) foi colocada na posição “Placa 1” e um PatchPlate® foi colocada no dispositivo e mantida na posição usando a tampa PatchPlate®.

Cada placa de composto foi disposta para permitir que dez, curvas de concentração-efeito de 8 pontos sejam construídas; as duas colunas restantes na placa foram retiradas com um veículo (0,33 % DMSO), para definir a linha de base do ensaio, e uma concentração de bloqueio supra-máxima de cisaprida (10 µM), para definir o nível de inibição a 100%. O Fluidics-head (F-Head) da IonWorks® HT depois adicionado 3,5 µl de PBS a cada reservatório e PatchPlate® e seu lado inferior foi aspergido com uma solução “Interna” a qual tinha a seguinte composição (em mM): K-Gluconato 100, KC140, MgCl<sub>2</sub> 3,2, EGTA 3 e HEPES 5 (todos da Sigma) (pH de 7,25 a 7,30 usando 10 M de KOH). Após revestir e desborbulhar, o Electronics-head (E-head) depois moveu em círculos a PatchPlate® para fazer um teste de orifício (isto é aplicar um pulso de voltagem para determinar se o orifício de cada reservatório foi aberto). A F-head foi depois dispensada em 3,5 µl da suspensão celular descrita acima em cada reservatório da PatchPlate® e às células foram dados 200 segundos para alcançar o orifício de lacrar em cada

reservatório. A E-head depois moveu circularmente a PatchPlate® para determinar a resistência do lacre obtido em cada reservatório.

A solução no lado inferior da PatchPlate® foi depois mudada para “Avaliar” a solução que tem a seguinte composição (em mM): KCl 140, EGTA 1, MgCl<sub>2</sub> 1 e HEPES 20 (todos da Sigma) (pH de 7,25 a 7,30 usando 10 M de KOH) mais 100 µg/ de anfotericina B. Após 9 minutos para permitir que a perfuração da cinta ocorra, a E-head depois moveu circularmente todos os 384 reservatórios da placa da cinta para obter as medidas atuais do pré-composto hERG. A F-head depois adicionou 3,5 µl de solução a partir de cada reservatório da placa de compostos a 4 reservatórios na PatchPlate®. Esta foi programada iniciar com o reservatório mais diluído na placa de composto e movimento para o reservatório mais concentrado para minimizar o impacto de qualquer triagem sobrecarregada.

Após aproximadamente três minutos e meio de incubação, a E-head depois move circularmente todos os 384 reservatórios da PatchPlate® para obter as medições atuais do pós composto hERG. Deste modo, as curvas de efeito de concentração não acumulativas podem ser produzidas onde, fornecendo os critérios de aceitação foram obtidas em uma porcentagem suficiente de reservatórios (ver abaixo), o efeito de cada concentração do composto de teste foi fundamentado no registrador entre 1 e 4 células.

Os critérios de aceitação para cada reservatório foram: resistência de lacre pré-escaneada >60 MΩ, amplitude atual da extremidade de pré-escaneada >0,15 nA; resistência do lacre pós-escaneado >60 MΩ. O pré- e pós-composto hERG atual foi evocado por um pulso de voltagem que consiste de 20 segundos fixo a -70 mV, uma etapa de 160 ms a -60 mV, uma etapa de 100 ms novamente para -70 mV, uma etapa de 1 segundo a +40 mV, uma etapa de 2 segundos a -30 mV e finalmente uma etapa de 500 ms to -70mV. Entre os pulsos de voltagem do pré- e pós composto não houve grampeamento do potencial da membrana.

e) Avaliação da Solubilidade Aquosa.

O composto de teste (de 1 a 1,6 mg) é pesado em um frasco e 1 ml de 0,1 M de tampão de fosfato (pH 7,4) é adicionado. Entre 1,0 e 1,6 mg de composto de teste é concorrentemente dissolvido em 1,8 ml de DMSO em um frasco, para uso como uma solução de calibração. Ambas as soluções são agitadas por 24 horas a 25° C. A solução saturada aquosa e a solução de calibração de DMSO são depois transferidas em placas de 96 reservatório profundas. A placa de solução tampão saturada é centrifugada em uma força centrífuga relativa de 4310 g e depois o sobrenadante aquoso é transferido em uma segunda placa de reservatório profunda e centrifugado. Após uma outra transferência do sobrenadante aquoso e 50 % de diluição com tampão, a placa de amostra final e a placa de calibração de DMSO são analisadas usando HPLC-UV-MS. A quantificação da solubilidade da amostra é em comparação da amostra e áreas de pico UK da calibração a 250 nm (comprimento de onda alternativo selecionado se 250 nm não é adequado) com a confirmação MS da id do composto.

f) Avaliação da solubilidade aquosa em tampões e fluido intestinal simulado.

A solubilidade é testada no seguinte meio nas temperaturas especificadas:

20 *Fluido Intestinal Simulado (Em jejum) FaSSIF (Galia e Dressman et al, Pharms Res, 15(5), 1998, p698).*

Taurocolato de Sódio (3 mM); Leticina do ovo (0,75 mM);  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,03 M); KCl (0,1 M); NaOH (para ajustar o pH até 6,5). Medido a 37° C

25 *Tampão fosfatado de Sorensen (Handbook of Biochemistry, pg 234-237).*

Solução A Fosfato de monopotássio 0,067 M

Solução B Fosfato de dissódio 0,067 M

Medido a 25° C e 37° C.

As quantidades apropriadas (determinadas a partir do teste de

solubilidade (f) acima e/ou da curva de solubilidade de pH prognosticado) do composto sob a investigação são exatamente pesadas em duplicata em frascos de vidro de 2 dracmas (120 gramas).

5 A cada conjunto de frascos replicados, um mínimo de 1,50 ml do meio apropriado que é adicionado ao Tampão fosfatado de Sorensen no pH 6,8 ou FaSSIF. Todas as pesagens devem ser suficientes para saturar o meio em cada caso.

10 Um seguidor magnético revestido com PTFE é adicionado a cada frasco antes destes serem lacrados e colocados em um Variegam bloco magnético agitador de reação Variegam (camba). Os blocos agitadores são mantidos na temperatura apropriada (ver acima), cobertos em uma folha de alumínio para reduzir a exposição à luz e agitados em direções alternadas a 800 R.P.M.

15 Cada frasco é amostrado no ponto de tempo prescrito para o meio ser testado. Primeiro o pH e depois o teor ativo em cada amostra são determinados em cada ponto de tempo da seguinte maneira.

#### *pH*

20 Usando uma medida de pH adequada (Hydrus 400 - Fisher), os tampões de pH de eletrodo e padrão, calibrar o instrumento no pH 4,01 e 7,00 na temperatura ambiente.

Colocando-se o eletrodo em cada amostra replicada, determinar o pH na temperatura ambiente e comunicar o resultado a um local decimal. O eletrodo é lavado com água deionizada e enxugado entre as determinações.

#### 25 *Teor ativo por HPLC*

De cada amostra, uma alíquota de 0,4 ml é transferida a um tubo de ultracentrífuga de policarbonato (Beckman). As amostras são rotacionadas a 40.000 R.P.M. por 15 minutos na temperatura apropriada para o meio ser testado usando a TL Optima Ultracentrifuge (Beckman). O

sobrenadante de cada tubo de ultracentrífuga é transferido a um segundo tubo de ultracentrífuga e rotacionado uma vez mais sob as mesmas condições.

O sobrenadante de cada amostra é analisado sob o método de HPLC otimizado para o composto sob investigação e o teor ativo foi determinado contra um padrão externo. O sobrenadante pode requerer diluição com um solvente adequado para trazer a concentração dentro da faixa linear do método de HPLC. Isto pode ser normalmente estimado a partir da curva de solubilidade de pH prognosticado aquoso e no caso dos co-solventes a partir de uma quantidade do composto que foi adicionado.

Embora as propriedades farmacológicas dos compostos da Fórmula I variam com a mudança estrutural como esperado, no geral a atividade possuída pelos compostos da Fórmula I, pode ser demonstrada nas seguintes concentrações ou doses em um ou mais dos testes (a), (b), (c) ou (d) acima:-

Teste (a):-  $IC_{50}$  na faixa de, por exemplo, 100 nM ou menos;

Teste (b):-  $IC_{50}$  na faixa de, por exemplo, 1  $\mu$ M ou menos;

Teste (c):-  $IC_{50}$  na faixa de, por exemplo, 1  $\mu$ M ou menos;

Teste (d): -  $IC_{50}$  de, por exemplo, maior do que 30  $\mu$ M.

Por via de exemplo, usando o Teste (a) para a inibição de HDAC1 e o teste (b) para a inibição da proliferação em células integrais, o composto descrito no composto 4 forneceu os resultados de  $IC_{50}$  mostrados abaixo na Tabela A abaixo. A tabela também inclui o resultado correspondente para N-(2-aminofenil)-4-(1-(pirid-2-ilmetil)-piperidin-4-il)benzamida (Composto [1] acima):

Tabela A

| Composto do Exemplo    | Teste $IC_{50}$ (a) (Ensaio <i>in vitro</i> para a inibição de HDAC1) | Teste $IC_{50}$ (b) (Ensaio <i>in vitro</i> para a inibição da proliferação da célula integral) |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4                      | 0,081 $\mu$ M                                                         | 0,508 $\mu$ M                                                                                   |
| Composto comparativo 1 | 0,1 $\mu$ M                                                           | 1,433 $\mu$ M                                                                                   |

Nenhuma toxicidade fisiologicamente inaceitável foi

observada no Teste (d) na dose eficaz para os compostos testados da presente invenção. Portanto nenhum efeito toxicológico adverso é esperado quando um composto da fórmula I, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, é administrado nas faixas de dosagem em seguida definidas.

5                    Além disso, embora a solubilidade dos compostos da fórmula I inevitavelmente variarão com a mudança estrutural como esperado, os compostos da fórmula I, no geral, possuem uma solubilidade medida pelo teste (e) acima de, por exemplo, maior do que 100  $\mu$ M.

10                    De acordo com um outro aspecto da invenção é fornecido uma composição farmacêutica, que compreende um composto da Fórmula (I), ou um sal farmaceuticamente aceitável ou pró-droga deste, como definido mais acima em associação com um diluente ou carreador farmaceuticamente aceitáveis.

15                    As composições da invenção podem estar em uma forma adequada para o uso oral (por exemplo como tabletes, pastilhas, e cápsulas duras ou moles, suspensões aquosas ou oleosas, emulsões, pós ou grânulos dispersáveis, xaropes ou elixires), para o uso tópico (por exemplo como remes, ungüentos, géis, soluções ou suspensões aquosas ou oleosas), para a administração através da inalação (por exemplo como um pó finamente dividido ou um aerossol líquido), para a administração por insuflação (por exemplo como um pó finamente dividido) ou para a administração parenteral (por exemplo como uma solução aquosa estéril ou oleosa para a dosagem intravenosa, subcutânea, intramuscular ou intramuscular ou como um supositório para a dosagem retal).

25                    As composições da invenção podem ser obtidas através de procedimentos convencionais usando excipientes farmacêuticos convencionais, conhecidos na técnica. Deste modo, as composições intencionadas para o uso oral podem conter, por exemplo, um ou mais agentes de coloração, adoçamento, sabor e/ou conservantes.

Os excipientes farmacologicamente aceitáveis para um formulação de tablete incluem, por exemplo, diluentes inertes tais como lactose, carbonato de sódio, fosfato de cálcio ou carbonato de cálcio, agentes de granulação e desintegrantes tais como amido de milho ou ácido algênico; 5 agentes de ligação tais como amido; agentes de lubrificação tais como estearato de magnésio, ácido esteárico ou talco; agentes conservantes tais como p-hidroxibenzoato de etila ou propila, e anti-oxidantes, tais como ácido ascórbico. As formulações de tablete podem ser não revestidas ou revestidas para modificar sua desintegração e a absorção subsequente do ingrediente 10 ativo dentro do trato gastrointestinal, ou para melhorar sua capacidade e/ou aparência, em cada caso, usando os agentes de revestimento convencionais e os procedimentos conhecidos na técnica.

As composições par ao uso oral podem estar na forma de cápsulas de gelatina dura em que o ingrediente ativo é misturado com um 15 diluente sólido inerte, por exemplo, carbonato de cálcio, fosfato de cálcio ou caulim, ou como cápsulas de gelatina macias em que o ingrediente ativo é misturado com água ou um óleo tal como óleo de amendoim, parafina líquida, óleo de soja, óleo de coco, ou preferivelmente óleo de oliveira, ou qualquer outro veículo aceitável.

20 As suspensões aquosas geralmente contêm o ingrediente ativo na forma empoadada finamente dividida junto com um ou mais agentes de suspensão, tais como carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, alginato de sódio, polivinil-pirrolidona, goma tragacanto e goma acácia; agentes de dispersão ou umectação tais como 25 lecitina ou produtos de condensação de um óxido de alquilenos com ácidos graxos (por exemplo estearato de polióxi-etileno), ou produtos de condensação de óxido de etileno com álcoois alifáticos de cadeia longa, por exemplo heptadecaetilenoxicetanol, ou produtos de condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados a partir dos ácidos e um hexitol tal

como monoletato de polioxietileno sorbitol, ou produtos de condensação de óxido de etileno com álcoois alifáticos de cadeia longa, por exemplo heptadecaetilenoxicetanol, ou produtos de condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados de ácidos graxos e um hexitol tal como

5 monooleato de polioxietileno sorbitol, ou produtos de condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados a partir de ácidos graxos e anidretos de hexitol, por exemplo monooleato de polietileno sorbitano. As suspensões aquosas também podem conter um ou mais conservantes (tais como p-hidroxibenzoato de etila ou propila, anti-oxidantes (tais como ácido

10 ascórbico), agentes de coloração, agentes de sabor, e/ou agentes adoçantes (tais como sacarose, sacarina ou aspartame).

As suspensões oleosas podem ser formuladas colocando-se em suspensão o ingrediente ativo em um óleo vegetal (tal como óleo de amendoim, óleo de oliveira, óleo de gergelim ou óleo de coco) ou em um óleo

15 mineral (tal como parafina líquida). As suspensões oleosas também podem conter um agente de engrossamento tal como cera de abelhas, parafina dura ou álcool cetílico. Os agentes de adoçamento tais como aqueles indicado acima, e os agentes de sabor podem ser adicionados para fornecer uma preparação oral agradável ao paladar. Estas composições podem ser

20 preservada pela adição de um anti-oxidante tal como ácido ascórbico.

Os pós ou grânulos liofilizados ou dispersáveis adequados para a preparação de uma suspensão ou solução aquosas pela adição de água geralmente contêm o ingrediente ativo junto com um agente de dispersão ou de umectação, um agente de suspensão e um ou mais conservantes. Os

25 agentes de dispersão ou umectação adequados são exemplificados por aqueles já mencionados acima. Os excipientes adicionais tais como agentes de adoçamento, de sabor e de coloração, também podem estar presentes.

As composições farmacêuticas da invenção também podem estar na forma de emulsões de óleo em água. A fase oleosa pode ser um óleo

vegetal, tal como óleo de oliveira ou óleo de amendoim, ou um óleo mineral, tal como por exemplo parafina líquida ou uma mistura de qualquer um destes. Os agentes emulsificantes adequados podem ser, por exemplo, gomas de ocorrência natural tais como goma acácia ou goma tragacanto, fosfatídeos de ocorrência natural tais como soja, lecitina, um éster ou derivados de ésteres parciais a partir de ácidos graxos e anidretos de hexitol (por exemplo monoleato de sorbitano) e produtos de condensação dos ditos ésteres parciais com óxido de etileno tal como monoleato de polioxietileno sorbitano. As emulsões também podem conter agentes de adoçamento, sabor e conservantes.

Os xaropes e os elixires podem ser formulados com os agentes adoçantes tais como glicerol, propileno glicol, sorbitol, aspartame ou sacarose, e também podem conter um agente demulcente, conservante, de sabor e/ou de coloração.

As composições farmacêuticas também podem estar na forma de uma suspensão aquosa ou oleosa estéril injetável ou, soluções, emulsões ou sistemas particulares, que podem ser formulados de acordo com os procedimentos conhecidos usando um ou mais dos agentes de dispersão ou umectação apropriados e agentes de suspensão, que foram mencionados acima. Uma preparação injetável estéril também pode ser uma solução ou suspensão injetável estéril em um diluente ou solvente não tóxico parenteralmente aceitável, por exemplo uma solução em polietileno glicol.

As formulações de supositório podem ser preparadas misturando-se o ingrediente ativo com um excipiente adequado não irritante que é sólido em temperaturas comuns mas líquido na temperatura retal e portanto fundirá no reto para liberar a droga. Os excipientes adequados incluem, por exemplo, manteiga de cacau e polietileno glicóis.

As formulações tópicas, tais como cremes, ungüentos, géis e soluções ou suspensões aquosas ou oleosas, podem no geral ser obtidas

formulando-se um ingrediente ativo com um veículo ou diluente convencional, topicamente aceitável, usando um procedimento convencional conhecido na técnica.

As composições para a administração através de insuflação podem ser na forma de um pó finamente dividido que contem partículas de diâmetro médio de, por exemplo, 30  $\mu\text{m}$  ou muito menos preferivelmente 5  $\mu\text{m}$  ou menos e mais preferivelmente entre 5  $\mu\text{m}$  e 11  $\mu\text{m}$ , o pó por si que compreende o ingrediente ativo sozinho ou diluído com um ou mais carreadores fisiologicamente aceitáveis tais como lactose. O pó para insuflação é depois convenientemente retido em uma cápsula que contem, por exemplo, de 1 a 50 mg de ingrediente ativo para o uso com um dispositivo de inalação turbo, tal como é usado para a insuflação do agente de cromoglicato de sódio conhecido.

As composições para a administração através da inalação podem estar na forma de um aerossol pressurizado convencional configurado para dispensar o ingrediente ativo como um aerossol que contem sólido finamente dividido ou gotículas líquidas. Os propulsores de aerossol convencionais tais como hidrocarbonetos fluorinados voláteis ou hidrocarbonetos podem ser usados e o dispositivo de aerossol é convenientemente arranjado para dispensar uma quantidade medida de ingrediente ativo.

Para outra informação na formulação o leitor é dirigido ao Capítulo 25,2 no Volume 5 da Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

No geral, as composições acima podem ser preparadas em uma maneira convencional usando excipientes convencionais.

O composto da fórmula (I) será normalmente administrado a um animal de sangue quente em uma dose única dentro da faixa de 5 a 5000  $\text{mg}/\text{m}^2$  de área corporal do animal, isto é aproximadamente de 0,1 a 100

mg/kg, e isto normalmente fornece uma dose terapeuticamente eficaz. Uma forma de dosagem única tal como um tablete ou cápsula usualmente conterà, por exemplo de 1 a 250 mg de ingrediente ativo. Preferivelmente uma dose diária na faixa de 1 a 50 mg/kg é utilizada. Contudo a dosagem diária será necessariamente variada dependendo do paciente tratado, da via de administração particular, e da gravidade da doença sendo tratada. Portanto a dosagem ótima pode ser determinada pelo médico que vai tratar qualquer paciente particular.

Foi verificado que os compostos definidos na presente invenção, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmos; são eficazes como inibidores do ciclo celular (agentes anti-proliferação celular), e esta propriedade é acreditada surgir da sua atividade inibidora de HDAC. Acredita-se também que os compostos da presente invenção podem ser envolvidos na inibição da angiogênese, ativação e diferenciamento da apoptose. Portanto os compostos da presente invenção são esperados ser úteis no tratamento de doenças ou condições médicas mediadas sozinhas ou em parte pelas enzimas HDAC, isto é os compostos podem ser usados para produzir um efeito inibidor de HDAC em um animal de sangue quente em necessidade de tal tratamento. Deste modo, os compostos da presente invenção fornecem um método para tratar a proliferação de células malignas caracterizadas pela inibição das enzimas de HDAC, isto é, os compostos podem ser usados para produzir um efeito anti-proliferativo mediado sozinho ou em parte pela inibição das HDACs.

De acordo com um outro aspecto da presente invenção é fornecido um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis destes, como definido mais acima para o uso em um método de tratamento do corpo humano ou animal através da terapia.

Deste modo, de acordo com um outro aspecto da invenção é fornecido um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga

farmaceuticamente aceitáveis deste; como definido mais acima para o uso como uma droga.

De acordo com um outro aspecto da invenção é fornecido o uso de um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis deste; como definido mais acima na fabricação de uma droga para o uso na produção de um efeito inibidor de HDAC em um animal de sangue quente tal como o ser humano.

De acordo com uma outra característica deste aspecto da invenção é fornecido um método para produzir um efeito inibidor de HDAC em um animal de sangue quente, tal como o ser humano, em necessidade de tal tratamento que compreende administrar ao dito animal uma quantidade eficaz de um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis deste; como definido mais acima.

De acordo com um outro aspecto da invenção é fornecido o uso de um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis deste; como definido mais acima na fabricação de um medicamento para o uso na produção de um ciclo de efeito de inibição celular (anti-proliferação celular) em um animal de sangue quente tal como o ser humano.

De acordo com uma outra característica deste aspecto da invenção é fornecido um método para produzir um efeito de ciclo de inibição celular (anti-proliferação celular) em um animal de sangue quente, tal como o ser humano, em necessidade de tal tratamento que compreende administrar ao dito animal uma quantidade eficaz de um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis deste, como definido mais acima.

De acordo com uma característica adicional deste aspecto da invenção é fornecido um método de tratar o câncer em um animal de sangue quente, tal como o ser humano, em necessidade de tal tratamento que compreende administrar ao dito animal uma quantidade eficaz de um

composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis deste, como definido mais acima.

De acordo com uma outra característica da invenção é fornecido um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis deste, como definido mais acima na fabricação de um medicamento para o uso no tratamento do câncer. De acordo com uma característica adicional deste aspecto da invenção é fornecido um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis deste, como definido mais acima, para o uso no tratamento do câncer.

De acordo com uma característica adicional deste aspecto da invenção é fornecido o uso de um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis deste, como definido mais acima, para o uso na fabricação de um medicamento para o tratamento de câncer.

Em um outro aspecto da presente invenção é fornecido o uso de um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis deste, como definido mais acima, na fabricação de um medicamento para o uso no câncer de pulmão, câncer colorrectal, câncer de mama, câncer da próstata, linfoma e/ou leucemia.

Em um outro aspecto da presente invenção é fornecido um método de tratar câncer de pulmão, câncer colorretal, câncer de mama, câncer da próstata, linfoma ou leucemia, em um animal de sangue quente, tal como o ser humano, em necessidade de tal tratamento que compreende administrar ao dito animal uma quantidade eficaz de um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitáveis deste, como definido mais acima.

Os cânceres que são sensíveis ao tratamento com a presente invenção incluem câncer do esôfago, mieloma, câncer hepatocelular, pancreático e cervical, tumor de Ewings, neuroblastoma, sarcoma de capose, câncer no ovário, câncer de mama, câncer colorretal, câncer da próstata, câncer na bexiga, melanoma, câncer de pulmão [incluindo câncer da célula

pulmonar não pequena (NSCLC) e câncer da célula pulmonar pequena (SCLC)], câncer gástrico, câncer de cabeça e pescoço, câncer no cérebro, câncer renal, linfoma e leucemia.

A atividade inibidora de HDAC definida mais acima pode ser aplicada como uma terapia única ou pode envolver, além de um composto da invenção, uma ou mais outras substâncias e/ou tratamentos. Tal tratamento em conjunto pode ser obtido por intermédio da administração simultânea, seqüencial ou separada dos componentes individuais do tratamento. No campo da oncologia médica é uma prática normal usar uma combinação de diferentes formas de tratamento para tratar cada paciente com câncer. Na oncologia médica o(s) outro(s) componente(s) de tal tratamento conjunto além do tratamento de inibição do ciclo celular definido mais acima pode ser: cirurgia, radioterapia ou quimioterapia. Tal quimioterapia pode incluir uma ou mais das seguintes categorias de agentes anti-tumor:

(i) drogas antiproliferativas/antineoplásticas e combinações destes, como usado na oncologia médica, tais como agentes de alquilação (por exemplo cis-platina, carboplatina, ciclofosfamida, nitrogênio mostarda, melfalano, clorambucila, bussulfano e nitro-souréias); antimetabólitos (por exemplo antifolatos tais como fluoropirimidinas como 5-fluorouracila e tegafur, raltitrexed, metotrexato, citosina arabinoside e hidróxiuréia; antibióticos anti-tumor (por exemplo adriamicina semelhantes a antraciclinas, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarubicina, mitomicina-C, dactinomicina e mitramicina); agentes antimitóticos (por exemplo vinca alcalóides como vincristina, vinblastina, vindesina e vinorelbina e taxóides como taxol e taxotero); e os inibidores de topoisomerase (por exemplo epipodofilotoxinas como etopósido e tenipósido, ansacrina, topotecano e camptotecina);

(ii) agentes citoestáticos tais como antioestrógenos (por exemplo tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno e iodoxifeno),

reguladores do receptor de estrogênio (por exemplo fulvestranto), antiandrógenos (por exemplo bicalutamida, flutamida, nilutamida e acetato de ciproterona), antagonistas de LHRH ou agonistas de LHRH (por exemplo goserelina, leuprorelina e buserelina), progestogênicos (por exemplo acetato de megestrol), inibidores de aromatase (por exemplo como anastrozol, letrozol, vorazol e exemestano) e inibidores de  $5\alpha$ -redutase tal como finasterida;

(iii) Agentes que inibem a invasão da célula cancerosa (por exemplo inibidores de metaloproteinase como marimastat e inibidores da função receptora do ativador de plasminogênio uroquinase);

(iv) inibidores da função do fator de crescimento, por exemplo tais inibidores incluem anticorpos do receptor do fator de crescimento, (por exemplo o anticorpo trastuzumab anti-erbB2 [Herceptin<sup>®</sup>] e o anti-corpo anti-erbB1 cetuximab [C225]), inibidores de farnesil transferase, inibidores de MEK, inibidores de tirosina quinase e inibidores de serina/treonina quinase, por exemplo inibidores da família de fator de crescimento epidérmico (por exemplo inibidores de tirosina quinase da família EGFR tal como N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metóxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (gefitinib), N-(3-etinilfenil)-6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-amina (erlotinib, OSI-774) e 6-acril-amido-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropóxi)quinazolin-4-amina (CI 1033)), por exemplo inibidores da família do fator de crescimento derivado de plaquetas e por exemplo inibidores da família do fator de crescimento hepatócito;

(v) agentes antiangiogênicos tais como aqueles que inibem os efeitos do fator de crescimento vascular endotelial, (por exemplo o anticorpo de fator de crescimento celular anti-vascular endotelial [Avastin<sup>®</sup>], compostos tais como aqueles divulgados nos Pedidos de Patente Internacionais WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 e WO 98/13354) e compostos que trabalham através de outros mecanismos (por exemplo linomida, inibidores da função integrina  $\alpha v\beta 3$  e angiostatina);

(vi) agentes de dano celular tais como Combretastatina A4 e os compostos divulgados nos Pedidos de Patente Internacionais WO 99/02166, W000/40529, WO 00/41669, W001/92224, W002/04434 e W002/08213;

5 (vii) terapias anti-sentido, por exemplo aquelas que são direcionadas aos alvos listados acima, tais como ISIS 2503, um anti-sentido anti-rás;

10 (viii) caminho de terapia de gene, incluindo por exemplo caminhos para substituir genes aberrantes tais como p53 aberrante ou BRCA1 ou BRCA2 aberrantes, GDEPT (terapia de pró-droga enzimática direcionada ao gene) caminhos tais como aqueles que usam citosina desaminase, timidina quinase ou uma enzima de nitrorreductase bacteriana e caminhos para aumentar a tolerância do paciente à quimioterapia ou radioterapia tais como terapia de resistência de gene multi-drogas;

15 (ix) caminhos de imunoterapia, incluindo por exemplo caminhos *ex-vivo* e *in-vivo* para aumentar a imunogenicidade das células tumorais do paciente, tais como transfecção com citocinas tal como interleucina 2, interleucina 4 ou fator que estimula a colônia de granulócito-macrófago, caminhos para diminuir a energia da célula T, caminhos que usam células imune transfectadas tais como células dendríticas transfectadas com  
20 citocina, caminhos que usam linhas de células tumorais transfectadas com citocina e caminhos que usam anti-corpos anti-idiotípicos;

(x) inibidores do ciclo celular incluindo por exemplo os inibidores de CDK (por exemplo, flavopiridol) e outros inibidores dos pontos de checagem do ciclo celular (por exemplo, ponto de chegarem de quinase);  
25 inibidores de aurora quinase e outras quinases envolvidas na regulação de mitose e citoquinase (por exemplo, quinases mitóticas); e outros inibidores de desacetilase histona; e

(xi) agentes de diferenciamento (por exemplo ácido retinóico e vitamina D).

De acordo com este aspecto da invenção é fornecido uma composição farmacêutica que compreende um composto da Fórmula (I) como definido mais acima e uma substância anti-tumor adicional como definido mais acima para o tratamento em conjunto do câncer.

5 Além disso é fornecido um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmacêuticamente aceitáveis deste, como definido mais acima, para o uso em um método de tratar as doenças inflamatórias, doenças autoimune e doenças alérgicas/atópicas.

10 Em particular um composto da Fórmula (I), ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, como definido mais acima, é fornecido para o uso em um método de tratar a inflamação da junta (especialmente artrite reumatóide, osteoartrite e gota), inflamação do trato gastro-intestinal (especialmente doença do intestino inflamatório, colite ulcerativa e gastrite), inflamação da pele (especialmente psoríase, eczema, 15 dermatite), esclerose múltipla, aterosclerose, espondiloartropatias (espondilite *ankilosing*, artrite psoriática, artrite conectada à colite ulcerativa), neuropatias relacionadas à AIDS, lúpus eritematoso sistêmico, asma, doenças pulmonares obstrutivas crônicas, bronquite, pleurite, síndrome de aflição respiratória adulta, sépsis, e hepatite aguda e crônica (viral, bacteriana ou 20 tóxica).

Além disso é fornecido um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmacêuticamente aceitáveis deste, como definido mais acima, para o uso como um medicamento no tratamento de doenças inflamatórias, doenças autoimune e doenças alérgicas/atópicas em um animal 25 de sangue quente tal como o ser humano.

Em particular um composto da Fórmula (I), ou um sal ou pró-droga farmacêuticamente aceitáveis deste, como definido mais acima, é fornecido para o uso como um medicamento no tratamento de inflamação da junta (especialmente artrite reumatóide, osteoartrite e gota), inflamação do

trato gastro-intestinal (especialmente doença do intestino inflamatório, colite ulcerativa e gastrite), inflamação da pele (especialmente psoríase, eczema, dermatite), esclerose múltipla, aterosclerose, espondiloartropatias (espondilite *ankilosing*, artrite psoriática, artrite conectada à colite ulcerativa), neuropatias relacionadas à AIDS, lupus eritematoso sistêmico, asma, doenças pulmonares obstrutivas crônicas, bronquite, pleurite, síndrome de aflição respiratória adulta, sépsse, e hepatite aguda e crônica (viral, bacteriana ou tóxica).

Além disso é fornecido o uso de um composto da Fórmula (I), ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, como definido mais acima, na fabricação de um medicamento para o uso no tratamento de doenças inflamatórias, doenças autoimune e alérgicas/atópicas doenças em um animal de sangue quente tal como o ser humano.

Como determinado acima o tamanho da dose necessária para o tratamento terapêutico ou profilático de uma doença de proliferação celular em particular será necessariamente variada dependendo do paciente tratado, da via de administração e da severidade da doença sendo tratada. Uma dose única na faixa de, por exemplo, 1 a 100 mg/kg, preferivelmente de 1 a 50 mg/kg é considerada.

Além dos eu uso na medicina terapêutica, os compostos da fórmula (I) e seus sais farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos, também são úteis como ferramentas farmacológicas no desenvolvimento e padronização dos sistemas de teste *in vitro* e *in vivo* para a avaliação dos efeitos dos inibidores da atividade do ciclo celular em animais de laboratório tais como gatos, cães, coelhos, macacos, ratos e camundongos, como parte da pesquisa para novos agentes terapêuticos.

A invenção será agora ilustrada nos seguintes Exemplos em que, no geral:

(i) as operações foram realizadas na temperatura ambiente, isto é na faixa de 17 a 25° C e sob uma atmosfera de um gás inerte tal como

argônio a menos que de outro modo indicado;

(ii) as evaporações foram realizadas através da evaporação rotatória no vácuo e os procedimentos de trabalho foram realizados após a remoção dos sólidos residuais através da filtração;

5 (iii) cromatografia de coluna (pelo procedimento cintilante) e cromatografia líquida de pressão média (MPLC) foram realizadas em sílica da Merck Kieselgel (Art. 9385) ou Merck Lichroprep RP-18 (Art. 9303) sílica de fase reversa obtida da E. Merck, Darmstadt, Alemanha ou usando cartuchos de sílica de fase normal de propriedade pré-acondicionada, por exemplo  
10 cartuchos de cromatografia disponíveis Redisep<sup>®</sup> obtidos da Presearch Ltd., Hitchin, Reino Unido, ou cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) foi realizada em sílica de fase reversa C18, por exemplo em uma coluna preparativa de fase reversa Dynamax C-18 60A;

(iv) os rendimentos, onde presentes, não são necessariamente o  
15 máximo obtível;

(v) no geral, as estruturas dos produtos finais da Fórmula (I) foram confirmados através de ressonância magnética nuclear (RMN) e/ou técnicas de massa espectral; bombardeio de átomo fixo (FAB) dados espectrais de massa foram obtidos usando um espectrômetro Platform e, onde  
20 apropriado, dados de íon positivo ou dados de íon negativo foram coletados; Os valores de grupos químicos de RMN foram medidos na ressonância magnética protônica de escala delta, os espectros foram determinados usando um espectrômetro Jeol JNM EX 400 operando a uma força de campo de 400 MHz, espectrômetro Varian Gemini 2000 operando a uma força de campo de  
25 300 MHz, Bruker DPX-400 operando a 400 MHz ou um espectrômetro Bruker AM300 operando a uma força de campo de 300 MHz – as medições foram tomadas na temperatura ambiente a menos que de outro modo especificado;

(vi) intermediários não foram no geral completamente

caracterizados e a pureza foi avaliada por HPLC cromatográfico de camada fina, infra-vermelho (IR) e/ou análise de RMN;

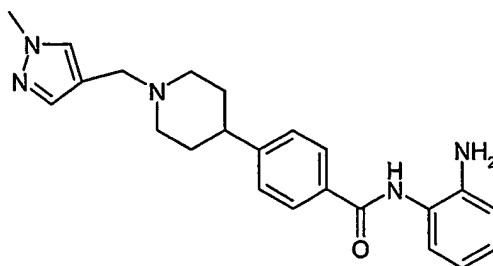
(vii) os pontos de fusão são incorretos e foram determinados usando um dispositivo de ponto de fusão automático Mettler SP62 ou um dispositivo de banho em óleo; os pontos de fusão para os produtos finais da Fórmula (I) foram determinados após a cristalização a partir de um solvente orgânico convencional tais como etanol, metanol, acetona, éter ou hexano, sozinho ou em mistura;

(viii) As seguintes abreviações foram usadas:

|    |                    |                                          |
|----|--------------------|------------------------------------------|
| 10 | DMSO               | sulfóxido de dimetila                    |
|    | THF                | tetraidrofurano                          |
|    | DIPEA              | N,N-diisopropiletilamina                 |
|    | IPA                | álcool isopropílico                      |
|    | Boc/BOC            | terc-butiloxycarbonila                   |
| 15 | HCl                | ácido clorídrico                         |
|    | Cbz/CBZ            | benziloxycarbonila                       |
|    | Tf                 | trifluorometilsulfonila                  |
|    | LiHMDS             | hexametildisilazida de lítio             |
|    | PhNTf <sub>2</sub> | N-fenil-bis(trifluorometanossulfonimida) |
| 20 | DME                | 1,2-dimetoxietano                        |
|    | CDMT               | 2-cloro-4,6-dimetóxi-1,3,5-triazina      |

### Exemplo 1

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1-metil-1H-pirazol-4-il)metil]}-piperidin-4-illbenzamida

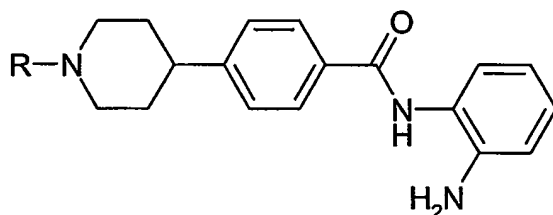


A um recipiente de reação carregado com 1-metil-1H-pirazol-

4-carboxaldeído (84,5 mg, 0,77 mmol) foi adicionada uma solução de 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de terc-butila (preparado como descrito no Método 1 abaixo; 300 mg, 0,76 mmol) em diclorometano (7 ml) e N,N-dimetilformamida (0,5 ml). 2-[(4-piperidin-4-il-benzoil)amino]fenilcarbamato de terc-butila também pode ser preparado de acordo com o processo descrito no Método 4 abaixo. O ácido acético (50 µl 0,87 mmol) foi adicionado e a mistura de reação deixada agitar na temperatura ambiente por 45 minutos. Triacetoxiboroidreto de sódio (250 mg, 1,18 mmol) foi depois adicionado e as reações deixadas agitar por outras 76 horas, antes de ser diluída com metanol e vertida diretamente em um cartucho SCX-2 (10 g). o cartucho foi lavado através de metanol (80 ml) antes de eluir os produtos com uma solução 2 M de amônia em metanol (50 ml). As frações relevantes foram evaporadas até a secura e o resíduo resultante foi redissolvido em diclorometano (3 ml) e tratado com ácido trifluoroacético (1 ml). Esta mistura foi agitada na temperatura ambiente por 2 horas antes de diluir com diclorometano e verter em um cartucho SCX-2 (5 g). o cartucho foi lavado com metanol (20 ml) depois os produtos foram eluídos com uma solução 2 M de amônia em metanol (20 ml). A fração de amônia foi evaporada até a secura e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia cintilante em sílica, eluindo com 10 % de metanol em diclorometano, para produzir o composto do título (117 mg, 40 %); Espectro de RMN: (DMSO  $d_6$ )  $\delta$  1,70 (m, 4H), 2,01 (t, 2H), 2,57 (m, 1H), 2,95 (m, 2 H), 3,38 (s, 2 H), 3,81 (s, 3H), 4,86 (s, 2H), 6,60 (m, 1H), 6,78 (m, 1H), 6,97 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 7,31 (s, 1H), 7,37 (d, 2H), 7,57 (s, 1H), 7,91 (d, 2H), 9,56 (s, 1H); Espectro de Massa:  $M+H^+$  390.

## 25 Exemplo 2

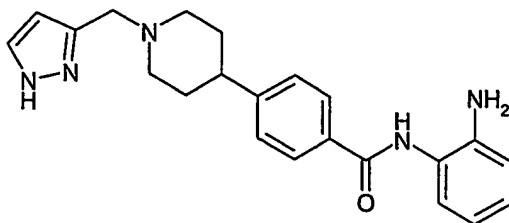
Usando um procedimento análogo àquele descrito no Exemplo 1, 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de terc-butila foi reagido com o material de partida (SM) pirazolcarbaldeído apropriado 5 para fornecer os compostos descritos na Tabela 1

**Tabela 1**

| Exemplo | R | Dados Analíticos                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | SM                        |
|---------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 2A      |   | Espectro RMN: (CDCl <sub>3</sub> ) 5 1.81 (m, 4H), 2.07 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.56 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.85 (s, 2H), 6.84 (m, 2H), 7.08 (m, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.33 (m, 3H), 7.82 (m, 3H).<br>Espectro de massa: M+Na <sup>+</sup> 426.                                             | comercialmente disponível |
| 2B      |   | Espectro RMN: (DMSO d <sub>6</sub> ) 5 1.67 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.08 (m, 5H), 2.59 (m, 1H), 2.93 (m, 2H), 3.48 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 4.86 (s, 2H), 5.92 (s, 1H), 6.60 (m, 1H), 6.78 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 7.17 (m, 1H), 7.38 (d, 2H), 7.91 (d, 2H), 9.56 (s, 1H);<br>Espectro de massa: M+Na <sup>+</sup> 426. | comercialmente disponível |

**Exemplo 3**

N-(2-aminofenil)-4-[1-(1H-pirazol-3-ilmetil)piperidin-4-il]-benzamida

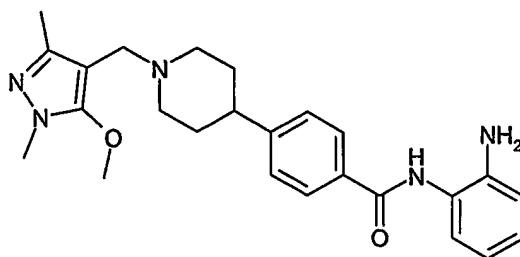


2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de terc-butila (preparado como descrito no Método 1 abaixo; 200 mg, 0,51 mmol) e 1H-pirazol-3-carbaldeído (50,7 mg, 0,53 mmol) foram agitados na temperatura ambiente em diclorometano (5 ml) por 1 hora. Triacetoxiboroidreto de sódio (150 mg, 0,71 mmol) foi adicionado e a mistura foi agitada na temperatura ambiente por 48 horas. A solução resultante foi absorvida em uma coluna SCX-2, que foi lavada com metanol (coluna de 2 volumes) e depois o produto foi eluído com uma solução 2 M de amônia em metanol (coluna de 2 volumes) para fornecer uma espuma. Esta foi dissolvida em 1,4-dioxano (2 ml), uma solução 4 M de cloreto de hidrogênio em 1,4-

dioxano (2 ml) foi adicionada e a solução foi agitada na temperatura ambiente por 48 horas. O produto foi filtrado e lavado com éter dietílico e secado com ar. O sólido resultante foi dissolvido em água, basificado com 2 N de hidróxido de sódio e o sólido resultante foi filtrado, lavado com água e secado sob vácuo para fornecer o composto do título (61 mg, 44 %). Espectro de RMN:  $^1\text{H}$  RMN (DMSO  $d_6$ )  $\delta$  1,71 (m, 4H), 2,07 (m, 2H), 2,56 (m, 1H), 2,95 (m, 2H), 3,53 (s, 2H), 4,86 (s, 2H), 6,16 (s, 1H), 6,60 (m, 1H), 6,78 (d, 1H), 6,97 (t, 1H), 7,18 (d, 1H), 7,37 (d, 2H), 7,64 (m, 1H), 7,91 (d, 2H), 9,55 (s, 1H), 12,59 (m, 1H); Espectro de Massa:  $M+H^+$  376.

#### 10 Exemplo 4

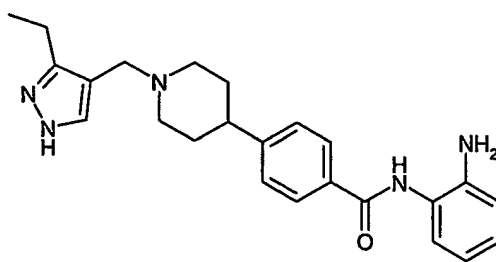
N-(2-aminofenil)-4-{1-[(5-metóxi-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida



Usando um procedimento análogo àquele descrito no Exemplo 3, 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de terc-butila (preparado como descrito no Método 1 abaixo; 200 mg, 0,51 mmol) foi reagido com 5-metóxi-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carbaldeído (92,6 mg, 0,60 mmol) para fornecer o composto do título (68 mg, 36 %); Espectro de RMN: (DMSO  $d_6$ )  $\delta$  1,63 (m, 2H), 1,78 (m, 2H), 2,00 (m, 2H), 2,06 (s, 3H), 2,57 (m, 1H), 2,94 (m, 2H), 3,25 (s, 2H), 3,50 (s, 3H), 3,99 (s, 3H), 4,86 (br s, 2H), 6,60 (m, 1H), 6,78 (d, 1H), 6,97 (m, 1H), 7,17 (d, 1H), 7,37 (d, 2H), 7,91 (d, 2H), 9,55 (s, 1H); Espectro de Massa:  $M+H^+$  434.

#### Exemplo 5

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(3-etil-1H-pirazol-4-il)metil]-piperidin-4-il}benzamida



2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de terc-butila (preparado como descrito no Método 1 abaixo; 395 mg, 1,0 mmol) e 3-etil-1H-pirazol-4-carbaldeído (149 mg, 1,2 mmol) foram agitados na temperatura ambiente em diclorometano (10 ml) por 1 hora.

5 Triacetoxiboroidreto de sódio (297 mg, 1,4 mmol) foi adicionado e a mistura foi agitada na temperatura ambiente por 24 horas. A solução resultante foi absorvida em uma coluna SCX-2 que foi lavada com metanol (coluna de 2 volumes) e depois o produto foi eluído com uma solução 2 M de amônia em metanol (coluna de 2 volumes) para fornecer o produto como uma espuma

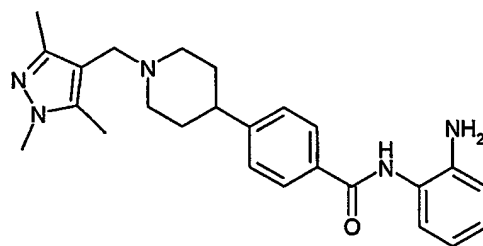
10 branca. Esta foi purificada através de cromatografia em sílica eluindo com 10 % de metanol em diclorometano. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (4 ml) e ácido trifluoroacético (1 ml) foi adicionado e a mistura foi agitada por 3 horas na temperatura ambiente. A solução resultante foi absorvida em uma coluna SCX-2 que foi lavada com metanol (coluna de 2 volumes) e

15 depois o produto eluído com uma solução 2 M de amônia em metanol (coluna de 2 volumes) para fornecer o composto do título (232 mg, 75 %). Espectro de RMN: (DMSO  $d_6$ )  $\delta$  1,18 (t, 3H), 1,65 (m, 2H), 1,77 (m, 2H), 2,00 (m, 2H), 2,57 (m, 3H), 2,95 (m, 2H), 3,34 (s, 2H), 4,86 (br s, 2H), 6,60 (m, 1H), 6,78 (d, 1H), 6,97 (m, 1H), 7,17 (d, 1H), 7,29 (br s, 1H), 7,37 (d, 2H), 7,91 (d, 2H), 9,55 (s, 1H), 12,39 (s, 1H); Espectro de Massa:  $M+H^+$  404.

20

#### Exemplo 6

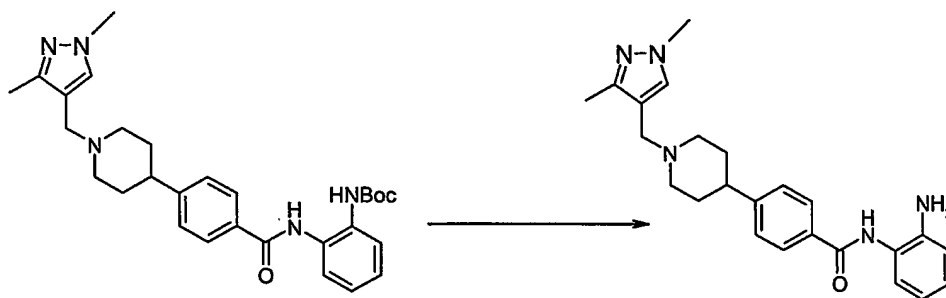
N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,3,5-trimetil-1H-pirazol-4-il)-metil]piperidin-4-il}benzamida



Usando um procedimento análogo àquele descrito no Exemplo 5, terc-butil 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato (preparado como descrito no Método 1 abaixo; 200 mg, 0,51 mmol) foi reagido with 1,3,5-trimetil-1H-pirazol-4-carbaldeído (83,5 mg, 0,60 mmol) para fornecer o composto do título (70 mg, 56 %); Espectro de RMN: (DMSO d<sub>6</sub>) 8 1,65 (m, 2H), 1,77 (m, 2H), 1,98 (m, 2H), 2,09 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,57 (m, 1H), 2,92 (m, 2H), 3,24 (s, 2H), 3,63 (s, 3H), 4,86 (br s, 2H), 6,60 (m, 1H), 6,78 (d, 1H), 6,97 (m, 1H), 7,17 (d, 1H), 7,37 (d, 2H), 7,91 (d, 2H), 9,55 (s, 1H); Espectro de Massa: M+H<sup>+</sup> 418.

#### 10 Exemplo 7A

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil]-piperidin-4-il}benzamida



(2-{[4-(1-{1,3-dimetil-1H-pirazol-4-ilmetil}piperidin-4-il)-benzoil]amino}fenil)carbamato de terc-butila (preparado como descrito no Método 6 abaixo; 7,61 g, 15,11 mmol) foi dissolvido em 1,4-dioxano (70 ml) e resfriado até 0° C, usando um banho de água e gelo. Uma solução 4 M de cloreto de hidrogênio em 1,4-dioxano (150 ml, 600 mmol) foi depois lentamente adicionada. A suspensão resultante foi deixada aquecer até a temperatura ambiente e dividida pela agitação com uma haste de vidro. A mistura de reação foi agitada na temperatura ambiente por 18 horas. A

mistura foi filtrada, sob sucção. O sólido obtido foi dissolvido em água (200 ml), e a solução foi ajustada ao pH 12 pela adição lenta de uma solução aquosa 2 M de hidróxido de sódio. A mistura obtida foi extraída com diclorometano (300 ml) e os orgânicos foram separados. A fase aquosa foi novamente extraída com diclorometano (200 ml) e os extratos combinados foram lavados com salmoura, secados em sulfato de magnésio, filtrados e evaporados para fornecer uma goma clara. A goma foi retirada em éter dietílico e re-evaporada até a secura para produzir o composto do título (5,69 g, 93 %); Espectro de RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1,81 (m, 4H), 2,07 (m, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,56 (m, 1H), 3,04 (m, 2H), 3,39 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,85 (s, 2H), 6,84 (m, 2H), 7,08 (m, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,33 (m, 3H), 7,82 (m, 3H).

Espectro de Massa: M+H<sup>+</sup> 404.

#### Exemplo 7B:

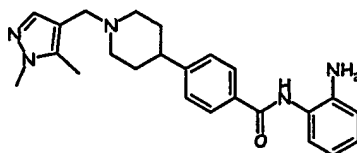
N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,3-dimetil-4H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida

(2-{[4-(1-{1,3-dimetil-1H-pirazol-4-ilmetil}piperidin-4-il)-benzoil]amino}fenil)carbamato (Método 6 abaixo; 92,3 g, 183,3 mmol) foi convertido em pasta fluida em metanol (754 ml) e água (141 ml) e resfriado de 0 a 5° C. Ácido clorídrico concentrado foi adicionado mantendo a temperatura abaixo de 20° C. A mistura de reação foi agitada por 20 horas na temperatura ambiente. A reação foi resfriada de 0 a 5° C e uma solução de hidróxido de sódio aquosa foi adicionada mantendo a temperatura a abaixo de 20° C até um pH de 12 a 14 ser obtido. A mistura de reação foi aquecida até temperatura de refluxo por 30 minutos antes de resfriar até 20° C por cerca de 4 horas. O produto foi coletado por filtração e lavado com metanol aquoso antes de ser secado no vácuo a 45° C em um peso constante para fornecer o composto do título (63,3 g 86 %). Espectro de RMN (DMSO d<sub>6</sub>), 1,65 (m, 2H), 1,73 (m, 2H), 1,96 (t, 2H), 2,08 (s, 3H), 2,55 (m, 1H), 2,92 (d, 2H), 3,28 (s, 2H), 3,75 (s, 3H), 4,87 (s, 2H), 6,59 (m, 1H), 6,77(m, 1H), 6,96 (m, 1H),

7,2 (d, 1H), 7,35 (d, 2H), 7,44 (s, 1H), 7,90 (d, 2H), 9,56 (s, 1H). Espectro de Massa:  $M+H^+$  404.

### Exemplo 8

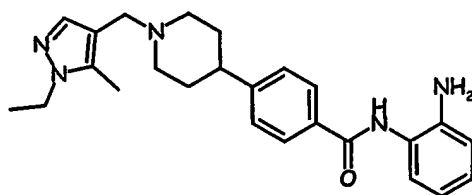
N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil]-piperidin-4-il}benzamida



{2-[(4-{1-[(1,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzoil)amino]fenil}carbamato de terc-butila (preparado como descrito no Método 7; 308 mg, 0,61 mmol) foi retirado em diclorometano (2 ml) e ácido trifluoroacético (1 ml) foi adicionado. A mistura de reação foi agitada na temperatura ambiente por 1 hora antes de ser vertida em um cartucho SCX-3 (5 g). o cartucho foi lavado com diclorometano (50 ml) e metanol (50 ml), antes de eluir o produto com uma solução 2 M de amônia em metanol (50 ml). A fração de amônia foi evaporada para produzir um sólido branco (182 mg) que foi purificado por HPLC preparativo de fase reversa para produzir o composto do título (134 mg, 55 %); Espectro de RMN: (DMSO  $d_6$ )  $\delta$  1,70 (m, 4H), 2,01 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,57 (m, 1H), 2,95 (m, 2H), 3,28 (s, 2H), 3,71 (s, 3H), 4,86 (s, 2H), 6,60 (m, 1H), 6,78 (m, 1H), 6,97 (m, 1H), 7,17 (m, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,37 (d, 2H), 7,90 (d, 2H), 9,55 (s, 1H); Espectro de Massa:  $M+H^+$  404.

### Exemplo 9

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1-etil-5-metil-1H-pirazol-4-il)-metil]piperidin-4-il}benzamida



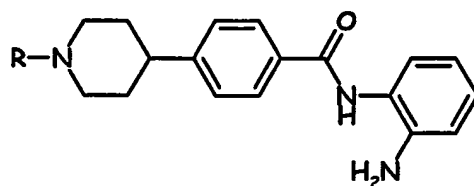
Uma solução de 1-etil-5-metil-1H-pirazol-4-carbaldeído (141 mg, 1,02 mmol) em diclorometano (1 ml) foi adicionada a uma solução de 2-

[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de terc- butila (preparado como descrito no Método 1 abaixo; 300 mg, 0,76 mmol) em diclorometano (6,5 ml). Ácido acético (0,79 mmol) foi adicionado e mistura de reação foi agitada por 4 horas. N,N-dimetilformamida (1 ml) foi depois adicionado e a  
5 agitação foi continuada por outros 30 minutos antes da adição de triacetoxiboroidreto de sódio (245 mg, 1,16 mmol) como um sólido. A mistura de reação foi depois deixada agitar na temperatura ambiente por 18 horas (durante a noite). A mistura de reação foi diluída ao dobro do volume pela adição de metanol e diretamente vertida em um cartucho pré-lavado  
10 (com metanol) cartucho SCX-2 (10 g). O cartucho foi lavado com metanol (60 ml) antes de eluir os produtos com uma solução 2 M de amônia em metanol (50 ml). O eluente de amônia foi evaporado para fornecer uma goma incolor (420 mg), que foi retirada em diclorometano (5 ml) e tratada com ácido trifluoroacético (2 ml). A mistura foi deixada agitar por 2 horas antes de  
15 diluir com diclorometano (10 ml) e vertida em um cartucho SCX-2 pré-lavado (com metanol) (10 g). o cartucho foi lavado completamente com diclorometano (40 ml), metanol (50 ml) e depois produtos eluído com uma solução 2 M de amônia em metanol (50 ml). A evaporação da fração de amônia produziu uma goma amarelo claro (300 mg), que foi purificada por  
20 HPLC preparativo de fase reversa para produzir o composto do título (172 mg, 54%); Espectro de RMN: (DMSO  $d_6$ )  $\delta$  1,27 (t, 3H), 1,66 (m, 4H), 1,98 (m, 2H), 2,21 (s, 3H), 2,56 (m, 1H), 2,92 (m, 2H), 3,29 (s, 2H), 4,02 (q, 2H), 4,85 (s, 2H), 6,59 (m, 1H), 6,77 (m, 1H), 6,95 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,35 (d, 2H), 7,89 (d, 2H), 9,54 (s, 1H); Espectro de Massa:  $M+H^+$  418.

25 Exemplos 10 e 11

Usando um procedimento análogo àquele descrito no Exemplo 9, 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de terc-butila (preparado como descrito no Método 1 abaixo) foi reagido com o material de partida de pirazolecarbaldeído apropriado para fornecer os compostos descritos na

Tabela 2.

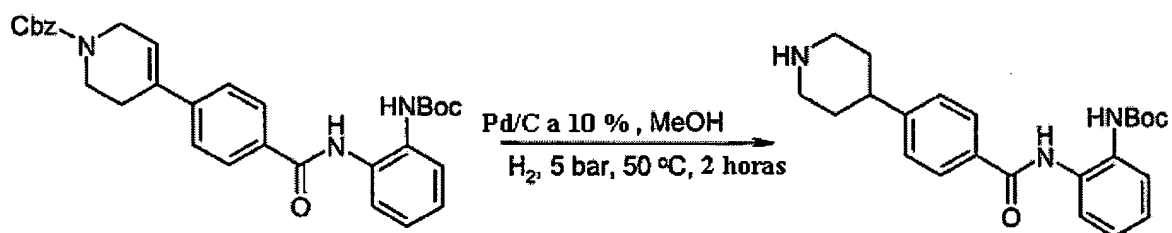
**Table 2**

| Exemplo | R | Dados analíticos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | SM                        |
|---------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 10      |   | Espectro de RMN: (DMSO d <sub>6</sub> ) 5 1.35 (t, 3H), 1.68 (m, 4H), 1.99 (m, 2H), 2.56 (m, 1H), 2.94 (m, 2H), 3.32 (s, 2H), 4.08 (q, 2H), 4.85 (s, 2H), 6.58 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.36 (d, 2H), 7.60 (s, 1H), 7.89 (d, 2H), 9.54 (s, 1H); Espectro de massa: M+H <sup>+</sup> 404 | Comercialmente disponível |
| 11      |   | Espectro de RMN: (DMSO d <sub>6</sub> ) 8 1.32 (t, 3H), 1.67 (m, 4H), 1.98 (m, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.56 (m, 1H), 2.92 (m, 2H), 3.28 (s, 2H), 3.99 (q, 2H), 4.85 (s, 2H), 6.58 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.35 (d, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.89 (d, 2H), 9.54 (s, 1H); Espectro de massa: M+H <sup>+</sup> 418 | Comercialmente disponível |

### Seção do Método - Preparação dos Materiais de Partida

#### Método 1

{2-[(4-piperidin-4-ilbenzoildiamino]fenil} carbamato

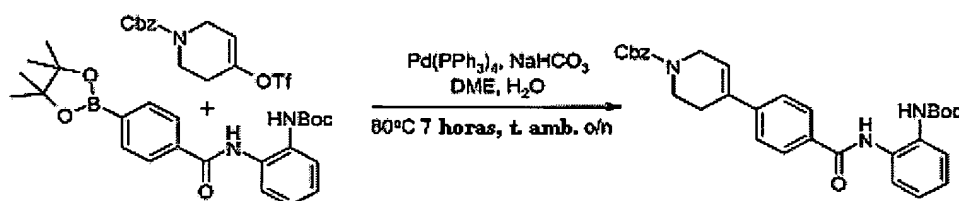


- 5 A uma solução de 4-{4-[(2-[(terc-butoxicarbonil)amino]fenil]amino)carbonilifenil]-3,6-diidropiridina-1-(2H)-carboxilato de benzila (269 g, 524 mmol; preparada como descrito no Método 2 abaixo) em metanol (3000 ml) foi adicionado paládio em carvão vegetal a 10 % (10 g). A mistura de reação foi colocada sob uma pressão de 5 bar de gás hidrogênio e aquecida
- 10 até 50° C por 1 hora. A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente, filtrada através de uma almofada de celite e o solvente foi

evaporado sob pressão reduzida. A espuma resultante foi triturada sob éter dietílico e filtrada para fornecer um sólido branco. Este produto foi finamente moído e agitado com 95:5 de éter dietílico/acetato de etila e depois coletado por filtração de sucção. Este sólido foi lavado com éter dietílico, hexano e secado no vácuo para produzir o composto do título (167 g, 81 %); Espectro de RMN: (DMSO-d<sub>6</sub>) 1,45 (s, 9H), 1,57 (m, 2H), 1,72 (m, 2H), 2,61 (t, 2H), 2,69 (m, 1H), 3,07 (m, 2H), 7,18 (m, 2H), 7,40 (d, 2H), 7,53 (d, 2H), 7,91 (d, 2H), 8,70 (br s, 1H), 9,82 (br s, 1H); Espectro de Massa: M+H<sup>+</sup> 396.

## Método 2

- 10 4-{4[({24(terc-butoxicarbonil)amino}fenil)amino]carbonil}-fenil}-3,6-diidropiridina-1(2H)-carboxilato de benzila

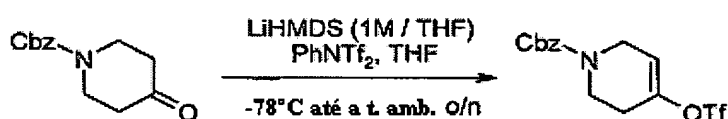


- 15 Tetrakis(trifenilfosfino)paládio (0) (8,0 g, 6,92 mmol) foi adicionado a uma suspensão agitada de N-(2-t-butoxicarbonilamino-fenil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2,-dioxaborolan-2-il)benzamida (288 g, 657 mmol; preparado como descrito no Pedido de Patente Internacional número WO 03/087057, Método 13, página 60) e 4-{[(trifluorometil)-sulfonil]óxi}-3,6-diidropiridina-1(2H)-carboxilato de benzila (240 g, 657 mmol; preparado como descrito no Método 3 abaixo) em 1,2-dimetoxietano (3000 ml) e solução de bicarbonato de sódio saturada aquosa (3000 ml). A mistura de reação foi aquecida até 80° C por 7 horas, antes de ser deixada resfriar até a temperatura ambiente, com agitação. A mistura de reação foi depois vertida em água (2000 ml) e extraída com acetato de etila. Os extratos orgânicos foram depois secados em sulfato de magnésio, filtrados e evaporados até a secura para fornecer o produto bruto como um sólido verde. Esta foi
- 20 purificada através de cromatografia de coluna cintilante em sílica, eluindo
- 25

com acetato de etila/hexano (30:70 v/v) para produzir o composto do título (279 g, 82 %); Espectro de RMN: (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  1,44 (s, 9H), 2,56 (m, 2H), 3,66 (m, 2H), 4,14 (m, 2H), 5,13 (s, 2H), 6,34 (m, 1H), 7,18 (m, 2H), 7,33 (m, 1H), 7,40 (m, 4H), 7,54 (m, 2H), 7,62 (d, 2H), 7,94 (d, 2H), 8,64 (br s, 1H), 9,81 (br s, 1H); Espectro de Massa:  $MNa^+$  550.

### Método 3

4-{[(trifluorometil)sulfonyl]óxi}-3,6-diidropiridina-1(2H)-carboxilato de benzila.

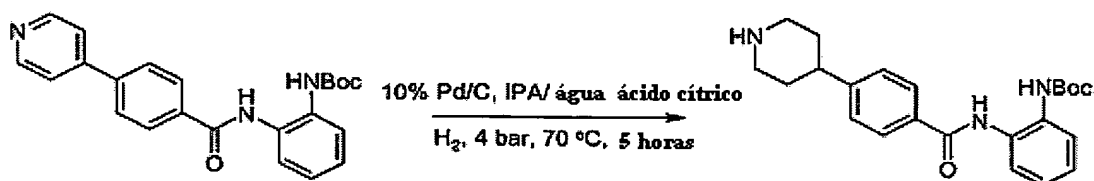


4-oxopiperidina-1-carboxilato de benzila (147 g, 630 mmol)

- foi dissolvido em tetraidrofurano (500 ml), sob uma atmosfera de nitrogênio. Esta solução foi adicionada, às gotas por 2 horas, a uma solução agitada de hexametildisilazida de lítio (solução a 20 % em tetraidrofurano, 556 ml, 662 mmol) sob nitrogênio mantendo a reação em uma temperatura abaixo de -70° C. A mistura de reação foi deixada agitar a -75 ° C por mais 1 hora antes da
- adição às gotas por 2 horas, de uma solução de N-fenil-bis(trifluorometanossulfonimida) (236 g, 661 mmol) em tetraidrofurano (950 ml) novamente mantendo a reação em uma temperatura abaixo de -70° C. A reação foi depois deixada aquecer até a temperatura ambiente durante a noite seguido pela adição às gotas de solução 2 M de hidróxido de sódio
- aquosa (800 ml). As camadas foram separadas e a camada orgânica foi lavada com outra solução 2M de hidróxido de sódio aquoso (600 ml), antes da evaporação até a secura. O sólido resultante foi dissolvido em éter dietílico e lavado com água. A camada orgânica foi depois filtrada através de celite, secada em sulfato de sódio e evaporada até a secura para produzir o composto
- do título (140 g, 61 %), que foi retirado inteiramente para a etapa seguinte sem outra purificação.

### Método 4

{2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenil}carbamato de terc-butila (método alternativo)

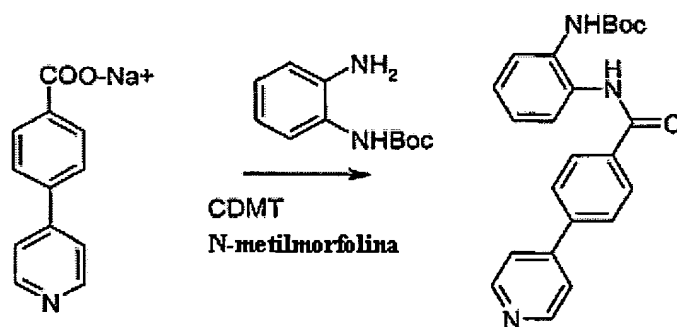


A {2-[4-pirid-4-ilbenzoil)amino]fenil}carbamato de terc-butila (20 g, 51,35 mmol; preparado como descrito no Método 5A ou 5B abaixo),  
 5 paládio em carvão vegetal a 10 % (3,17 g) e ácido cítrico (4,75 g, 24,65 mmol) foi adicionado água (80 ml) e IPA (80 ml). A mistura de reação foi colocada sob uma pressão de gás de hidrogênio de 4 bar e aquecida até 70° C por 5 horas. A mistura de reação foi resfriada até 50° C e filtrada através de um almofada de Celite. A mistura foi aquecida até 70° C antes de 20 % p/p  
 10 uma solução de hidróxido de sódio aquosa foi adicionada (15 ml) em 10 minutos ao pH de 10 a 11. Além disso, água (30 ml) foi adicionada e depois a mistura foi resfriada até 40° C durante 1 hora, depois re-aquecida até 60° C por 30 minutos antes de resfriar novamente até a temperatura ambiente. O precipitado resultante foi coletado por filtração, lavado com água (2 x 20 ml)  
 15 e secado no vácuo, a 50° C, para produzir o composto do título (17,6 g, 84 %);

Espectro de RMN: (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1,45 (s, 9H), 1,53 (m, 2H), 1,70 (m, 2H), 2,58 (m, 1H), 2,66 (m, 2H), 3,03 (m, 2H), 3,31 (br s, 1H), 7,17 (m, 2H), 7,35 (d, 2H), 7,54 (m, 2H), 7,89 (d, 2H), 8,65 (br s, 1H), 9,75 (br s, 1H). Espectro de Massa: M+H<sup>+</sup> 396.

#### Método 5A

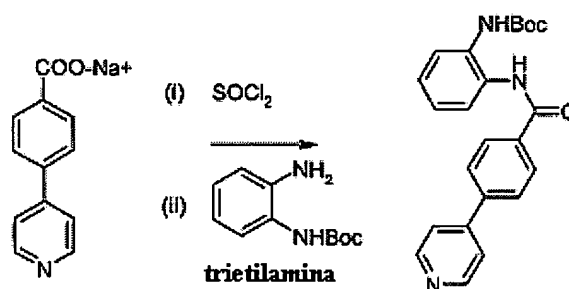
{2-[4-pirid-4-ilbenzoil)aminofenil]carbamato de terc-butila



A 4-(4-piridil)benzoato de sódio (55,2 g, 236,2 mmol), boc o-fenileno diamina (45,7 g, 217,6 mmol) e N-metilmorfolina (24 ml) em acetonitrila (300 ml) foi adicionada uma solução triada de 2-cloro-4,6-dimetóxi-1,3,5-triazina (48,5 g, 270,5 mmol) em acetonitrila (152 ml) durante 3 horas. A mistura foi agitada por 22 horas antes de água (460 ml) ser adicionada. O precipitado resultante foi coletado por filtração, lavado com acetonitrila aquosa a 50 % (3 x 100 ml) e secado no vácuo, a 50° C, para produzir o composto do título (75,6 g, 90 %); Espectro de RMN: (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,45 (s, 9H), 7,17 (m, 2H), 7,56 (m, 2H), 7,81 (d, 2H), 7,99 (d, 2H), 8,11 (d, 2H), 8,69 (d, 2H), 9,94 (br s, 1H). Espectro de Massa: M+H<sup>+</sup> 390.

#### Método 5B

{2-[4-pirid-4-ilbenzoil)amino]fenil} carbamato de terc-butila



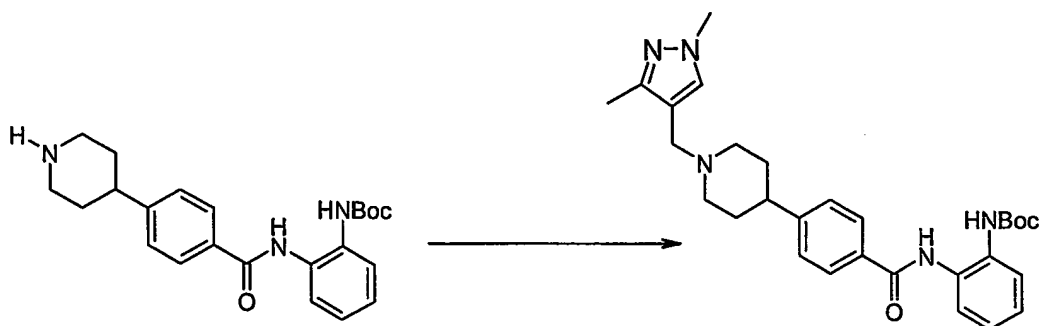
4-(4-piridil)benzoato de sódio (10 g, 45,2 mmol) em acetonitrila (60 ml) foi aquecido até 70° C depois cloreto de tionila (6,6 ml, 90,4 mmol) foi adicionado. A reação foi aquecida até a temperatura de refluxo por 5 horas antes de ser resfriada até a temperatura ambiente. Trietilamina (12,6 ml, 90,4 mmol) foi adicionada cuidadosamente seguido por uma solução aquecida de Boc o-fenileno diamina (9,42 g, 45,2 mmol) em acetonitrila (15 ml) sendo adicionada durante 10 minutos. Uma solução de

hidróxido de sódio (8,6 g, 109 mmol) em água (60 ml) foi adicionada e o sólido resultante foi coletado através de filtração, lavada com água (20 ml) e secado no vácuo, a 50° C, para produzir o composto do título (12,6 g, 68 %).

Espectro de RMN: (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  1,45 (s, 9H), (7,17 (m, 2H), 7,56 (m, 2H), 7,81 (d, 2H), 7,99 (d, 2H), 8,11 (d, 2H) 8,69 (d, 2H), 9,94 (br s, 1H). Espectro de Massa:  $M+H^+$  390.

#### Método 6A

(2-{[4-(1-{1,3-dimetil-1H-pirazol-4-ilmetil}piperidin-4-il)benzoil]amino}fenil)carbamato de terc-butila



2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de terc-butila (6,83 g, 17,3 mmol) e 1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carbaldeído (3,0 g, 24,2 mmol) foram dissolvidos em diclorometano (150 ml). Ácido acético (996  $\mu$ l, 17,3 mmol) foi depois adicionado e a mistura de reação foi deixada agitar na temperatura ambiente por quatro horas. Triacetoxiboroidreto de sódio (5,49 g, 25,9 mmol) foi depois adicionado e a mistura de reação foi agitada por mais 18 horas. Uma solução de bicarbonato de sódio saturada aquosa (300 ml) foi depois cuidadosamente adicionada seguido por diclorometano (100 ml). A camada orgânica foi separada e a camada aquosa foi re-extraída com mais diclorometano (150 ml). Os extratos orgânicos combinados foram secados em sulfato de magnésio, filtrados e evaporados até a secura. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia cintilante em sílica, eluindo com uma solução a 5 % (v/v) de metanol em diclorometano seguido por um gradiente de enxágüe de 5 a 10 % (v/v) de metanol em diclorometano para produzir uma goma clara, que foi retirada em éter dietílico e evaporada até a secura para produzir

o composto do título (7,61 g, 87 %); Espectro de RMN: (DMSO  $d_6$ )  $\delta$  1,43 (s, 9H), 1,69 (m, 4H), 1,98 (m, 2H), 2,10 (s, 3H), 2,56 (m, 1H), 2,92 (m, 2H), 3,26 (s, 2H), 3,70 (s, 3H), 7,15 (m, 2H), 7,40 (m, 3H), 7,52 (m, 2H), 7,87 (d, 2H), 8,60 (s, 1H), 9,73 (s, 1H); Espectro de Massa:  $M+H^+$  504.

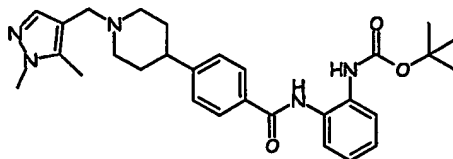
## 5 Método 6B

(2-{[4-(1-{1,3-dimetil-1H-pirazol-4-ilmetil}piperidin-4-il)benzoil]-amino}fenil)carbamato de terc-butila

2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de terc-butila (preparado como descrito no Método 4 acima; 108,1 g, 273,3 mmol), 1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carbaldeído (35,6 g, 287 mmol) e paládio em carvão vegetal (3,09g, 1,37 mmol) foram carregados a uma recipiente de pressão adequado. Tetraidrofurano (920 ml), água (54 ml) e ácido acético (32,8 g, 546,7 mmol) foram carregados e a mistura agitada foi aquecida até 60° C sob 3 bar de hidrogênio até a reação ser considerada completa. A mistura foi depois resfriada até 40° C e uma solução 2 M de hidróxido de sódio (410 ml, 820 mmol) foi adicionada. No resfriamento até 25° C a mistura foi filtrada para remover o catalisador antes de tetraidrofurano (650 ml) ser adicionada e a fase orgânica ser separada. A fase orgânica foi parcialmente concentrada através de destilação antes de tolueno (575 ml) ser adicionado. A destilação foi continuada enquanto mantendo o volume da reação com outra adição de tolueno (690 ml). A mistura de reação foi deixada resfriar até a temperatura ambiente por cerca de 3 horas enquanto o produto cristalizava. O sólido foi coletado através de filtração, lavado com tolueno (460 ml), e depois acetato de etila (230 ml) antes de ser secado no vácuo a 45° C a um peso constante para fornecer o composto do título (114,9 g, 83 %). Espectro: (DMSO  $d_6$ ),  $\delta$  1,434 (s, 9H), 1,70 (m, 4H), 1,98 (m, 2H), 2,11 (s, 3H), 2,56 (m, 1H), 2,93 (m, 2H), 3,28 (s, 2H), 3,71 (s, 3H), 7,16 (m, 2H), 7,40 (m, 3H), 7,52 (m, 2H), 7,87 (d, 2H), 8,60 (s, 1H), 9,73 (s, 1H); Espectro de Massa:  $M+H^+$  504.

## Método 7

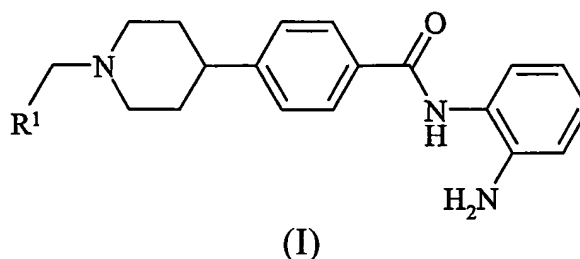
{2-[(4-11-[(1,5-dimetil-1H-pirazol-4-34)metil]piperidin-4-il}benzoil)amino]fenil} carbamato de terc-butila



1,5-dimetil-1H-pirazol-4-carbaldeído (114 mg, 0,92 mmol) foi adicionado a uma solução de 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenil-carbamato de terc-butila (289 mg, 0,73 mmol) em diclorometano (6 ml) seguido por ácido acético (50  $\mu$ l, 0,87 mmol). A mistura de reação foi deixada agitar sob nitrogênio por 2,5 horas. Triacetoxiboroidreto de sódio (233 mg, 1,10 mmol) foi adicionado e a mistura de reação foi deixada agitar, na temperatura ambiente, por 18 horas (durante a noite). Uma solução de bicarbonato de sódio saturado aquoso (10 ml) foi depois adicionada à reação e deixada agitar por 15 minutos. A fase orgânica foi separada e a fase aquosa re-extraída com diclorometano (10 ml). Os orgânicos combinados foram lavados com água, secados em sulfato de magnésio e evaporados até a secura para produzir o produto como uma goma incolor (308 mg, 84%), que foi usado sem outra purificação; Espectro de Massa:  $M+H^+$  504.

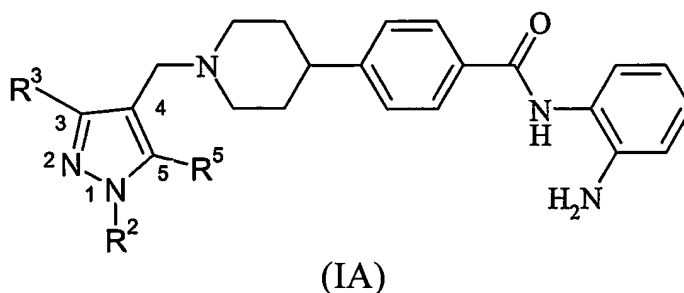
## REIVINDICAÇÕES

1. Composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de que é da fórmula (I):



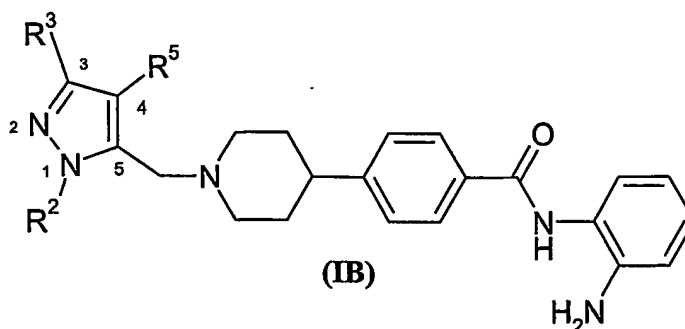
em que R<sup>1</sup> é um anel de pirazol ligado a carbono, o qual é opcionalmente substituído por um ou mais grupos selecionados de alquila C<sub>1-4</sub>, cicloalquila C<sub>3-4</sub>, alcóxi C<sub>1-4</sub> e cicloalcóxi C<sub>3-4</sub>.

2. Composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é da fórmula (IA)



em que R<sup>2</sup> é hidrogênio, alquila C<sub>1-4</sub> ou cicloalquila C<sub>3-4</sub>, e R<sup>3</sup> e R<sup>5</sup> são independentemente selecionados de hidrogênio, alquila C<sub>1-4</sub>, cicloalquila C<sub>3-4</sub>, alcóxi C<sub>1-4</sub> ou cicloalcóxi C<sub>3-4</sub>.

3. Composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é da fórmula (IB):



em que  $R^2$ ,  $R^3$  e  $R^5$  são como definidos na reivindicação 2.

4. Composto de acordo com as reivindicações 2 ou 3, caracterizado pelo fato de que  $R^2$  é hidrogênio, metila, etila, propila, ciclopropila, metilciclopropila ou ciclobutila.

5 5. Composto de acordo com as reivindicações 2 ou 3, caracterizado pelo fato de que  $R^2$  é hidrogênio, metila ou etila.

6. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 5, caracterizado pelo fato de que  $R^3$  e  $R^5$  são independentemente selecionados de hidrogênio metila, etila, propila, ciclopropila, metilciclopropila, metóxi, etóxi, propóxi ou ciclopropóxi.

7. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 5, caracterizado pelo fato de que  $R^3$  e  $R^5$  são independentemente selecionados de hidrogênio, metila, etila ou metóxi.

8. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 7, caracterizado pelo fato de que pelo menos um grupo selecionado de  $R^2$ ,  $R^3$  e  $R^5$  é outro que não hidrogênio.

9. Composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é selecionado de qualquer um dos seguintes:

20 N-(2-aminofenil)-4-[1-(1H-pirazol-3-ilmetil)piperidin-4-il]benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(5-metóxi-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(3-etil-1H-pirazol-4-il)metil]-piperidin-4-il}benzamida;

25 N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1-metil-1H-pirazol-4-il)metil]-piperidin-4-il}benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,3-dimetil-1H-pirazol-5-il)metil]-piperidin-4-il}benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil]-piperidin-4-il}

benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,3,5-trimetil-1H-pirazol-4-il)-metil]piperidin-4-il}

benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1,5-dimetil-1H-pirazol-4-il)metil]-piperidin-4-il}

5 benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1-etil-5-metil-1H-pirazol-4-il)-metil]piperidin-4-il}

benzamida;

N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1-etil-1H-pirazol-4-il)metil]-piperidin-4-il}

benzamida;

10 N-(2-aminofenil)-4-{1-[(1-etil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-metil]piperidin-4-il}  
benzamida.

10. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, em associação com um diluente ou carreador farmaceuticamente aceitáveis.

11. Composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, caracterizado pelo fato de que é para o uso como um medicamento.

12. Composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, caracterizado pelo fato de que é para o uso no tratamento do câncer.

13. Uso de um composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o uso na produção de um efeito inibitório de HDAC em um animal de sangue quente, tal como no ser humano.

14. Método para produzir um efeito inibitório de HDAC em um animal de sangue quente, tal como um ser humano, em necessidade de tal tratamento, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao dito

animal uma quantidade eficaz de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 9.

15. Uso de um composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento para o uso na produção de um efeito inibitório do ciclo celular (anti-proliferação celular) em um animal de sangue quente, tal como um ser humano.

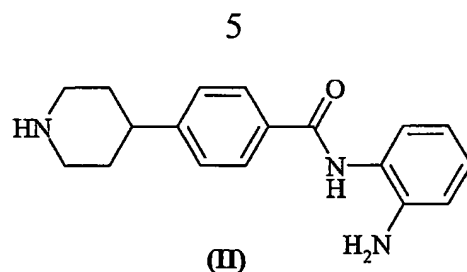
16. Método para produzir um efeito inibitório do ciclo celular (anti-proliferação celular) em um animal de sangue quente, tal como um ser humano, em necessidade de tal tratamento, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao dito animal uma quantidade eficaz de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

17. Método para tratar o câncer em um animal de sangue quente, tal como um ser humano, em necessidade de tal tratamento, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao dito animal uma quantidade eficaz de um composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 9.

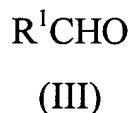
18. Uso de um composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, como definido mais acima, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o uso no tratamento do câncer.

19. Processo para preparar um composto ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente:

(a) a reação de um composto da fórmula (II)

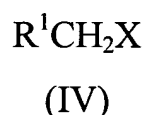


em que a porção anilina pode ser apropriadamente protegida;  
com um composto da fórmula (III)



na presença de um agente de redução, em que  $\text{R}^1$  é como  
definido na reivindicação 1; ou

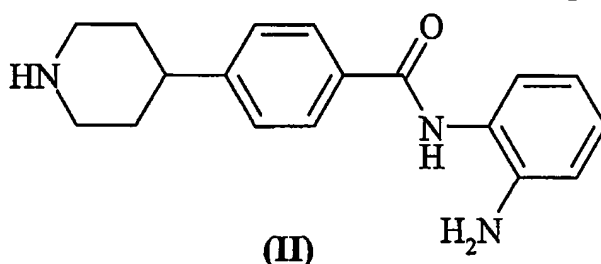
5 (b) a reação de um composto da fórmula (II) como definido  
acima com um composto da fórmula (IV)



na presença de uma base adequada;  
em que  $\text{R}^1$  é como definido na reivindicação 1 e X é um grupo  
reativo;

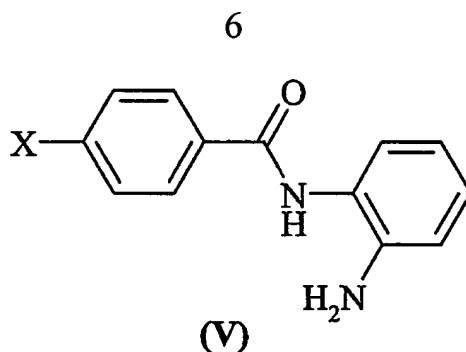
10 e em seguida, se necessário, remover quaisquer grupos de  
proteção residuais que podem estar presentes.

20. Processo para preparar um composto da fórmula (II):



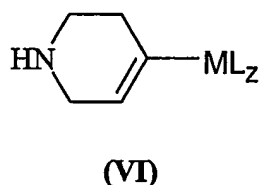
caracterizado pelo fato de que compreende:

15 (i) a reação, na presença de uma base adequada, de um  
composto da fórmula (V),



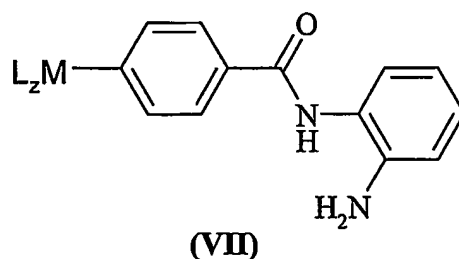
em que a anilina pode ser apropriadamente protegida e X é um grupo reativo,

com um composto da fórmula (VI)

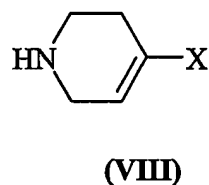


em que M é um metal, L é um ligando, z é um número inteiro de 0 a 3, e o anel tetraidropiridina pode ser protegido; ou

(ii) a reação, na presença de uma base adequada, de um composto da fórmula (VII), em que a anilina e a tetraidropiridina podem ser apropriadamente protegidas e M, L e z são como definidos acima,



com um composto da Fórmula (VIII):



em que X é um grupo reativo;

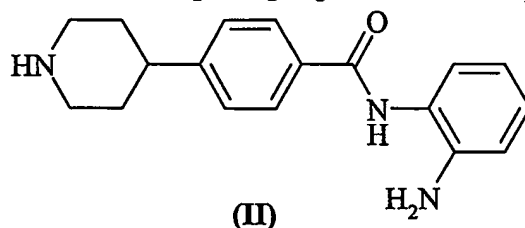
e em seguida, se necessário, e em qualquer ordem ou combinação adequadas:

(a) remover quaisquer grupos desproteção da tetraidropiridina,

e/ou

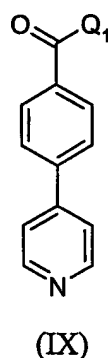
- (b) redução da tetraidropiridina a piperidina e/ou  
 (c) remover quaisquer grupos de proteção residuais presentes.

21. Processo para preparar um composto da fórmula (II):

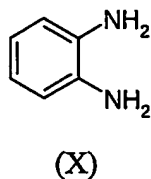


caracterizado pelo fato de que compreende:

- 5 a reação, na presença de um solvente adequado, de um composto da fórmula (IX), em que  $Q_1$  é -OH, -Cl, ou -O<sup>-</sup>  $Q_2^+$  (em que  $Q_2^+$  é um cátion)

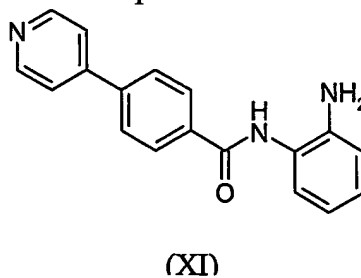


com um composto da fórmula (X)



- 10 e em que um dos grupos amino no composto da fórmula (X) pode ser desprotegido;

para formar um composto da fórmula (XI)



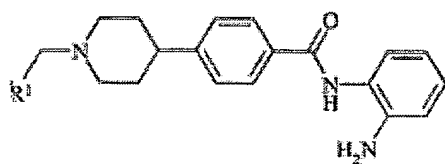
em que a anilina pode ser desprotegida;  
 e em seguida:

converter o composto da fórmula (XI) a um composto da fórmula (II) reduzindo-se o anel piridin-4-il a um anel piperidina-4-il usando um agente de redução adequado e/ou condições de redução adequadas; e

opcionalmente remover quaisquer grupos de proteção residuais

5 presentes.

PI 0617654-2

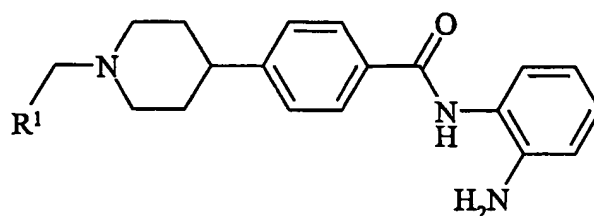


(I)

# RESUMO

“COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO, MÉTODOS PARA PRODUIR UM EFEITO INIBITÓRIO DE HDAC E DO CICLO CELULAR (ANTI-PROLIFERAÇÃO CELULAR) E PARA TRATAR O CÂNCER EM UM ANIMAL DE SANGUE QUENTE, E, PROCESSO PARA PREPARAR UM COMPOSTO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO”

A invenção diz respeito aos compostos de benzamida da fórmula (I),



(I)

em que R<sup>1</sup> é um anel de pirazol ligado a C, o qual é opcionalmente substituído por um ou mais grupos selecionados de alquila C<sub>1-4</sub>, cicloalquila C<sub>3-4</sub>, alcóxi C<sub>1-4</sub> e cicloalcóxi C<sub>3-4</sub>; ou na forma de um sal ou pró-droga farmaceuticamente aceitável dos mesmos. A invenção também diz respeito aos processos para a preparação de tais compostos, às composições farmacêuticas que os contenham ao uso destes na fabricação de um medicamento para o uso como um agente anti-proliferativo na prevenção ou tratamento de tumores ou outras condições proliferativas, as quais são sensíveis à inibição da histona desacetilase (HDAC).