

(11) Número de Publicação: **PT 1963307 E**

(51) Classificação Internacional:

**C07D 401/12** (2007.10) **A61K 31/4545**

(2007.10)

**A61P 37/08** (2007.10) **A61P 11/00** (2007.10)

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

(22) Data de pedido: **2006.12.19**

(30) Prioridade(s): **2005.12.20 GB 0525897**  
**2006.11.21 GB 0623217**

(43) Data de publicação do pedido: **2008.09.03**

(45) Data e BPI da concessão: **2009.11.25**  
**042/2010**

(73) Titular(es):

**GLAXO GROUP LIMITED**  
**GLAXO WELLCOME HOUSE, BERKELEY**  
**AVENUE GREENFORD MIDDLESEX UB6 0NNGB**

(72) Inventor(es):

PANAYIOTIS ALEXANDROU PROCOPIOU GB  
SIMON TEANBY HODGSON GB  
MARIA VICTORIA VINADER BRUGAROLAS GB

(74) Mandatário:

ELSA MARIA MARTINS BARREIROS AMARAL CANHÃO  
RUA DO PATROCÍNIO 94 1399-019 LISBOA PT

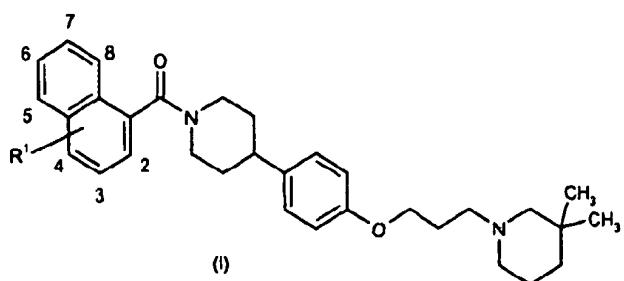
(54) Epígrafe: **ÁCIDO 3-(4-([4-(4-([3-(3,3-DIMETIL-1-PIPERIDINIL)PROPIL[OXI] FENIL)-1-PIPERIDINILCARBONIL]-1-NAFTALENIL)PROPANÓICO OU PROPENÓICO COMO ANTAGONISTAS DO RECEPTOR H1 E H3 PARA O TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS INFLAMATÓRIOS E/OU ALÉRGICOS**

(57) Resumo:

## RESUMO

**"ÁCIDO 3-({4-[4-{[3-(3,3-DIMETIL-1-PIPERIDINIL)PROPIL[OXI] FENIL]-1-PIPERIDINILCARBONIL}-1-NAFTALENIL}PROPANÓICO OU PROPENÓICO COMO ANTAGONISTAS DO RECEPTOR H1 E H3 PARA O TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS INFLAMATÓRIOS E/OU ALÉRGICOS"**

A presente invenção refere-se a um composto de fórmula (I)



ou a um seu sal, em que o anel naftaleno pode ser substituído na posição 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 com R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> representa -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH ou -CH=C(CH<sub>3</sub>)COOH e a processos para sua preparação, a composições que o contêm e à sua utilização no tratamento de várias doenças, tal como rinite alérgica.

## **DESCRIÇÃO**

**"ÁCIDO 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-DIMETIL-1-PIPERIDINIL)PROPIL[OXI] FENIL)-1-PIPERIDINILCARBONIL}-1-NAFTALENIL)PROPANÓICO OU PROPENÓICO COMO ANTAGONISTAS DO RECEPTOR H1 E H3 PARA O TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS INFLAMATÓRIOS E/OU ALÉRGICOS"**

A presente invenção refere-se a compostos, a processos para sua preparação, a composições farmacêuticas que os contêm e à sua utilização no tratamento de várias doenças, em particular doenças inflamatórias e/ou alérgicas do tracto respiratório.

A rinite alérgica, inflamação e congestão pulmonares são estados clínicos que estão frequentemente associados com outros estados, tais como asma, doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD), rinite alérgica sazonal e rinite alérgica persistente. Em geral, estas patologias são mediadas, pelo menos em parte, por inflamação associada com a libertação de histamina a partir de várias células, em particular, mastócitos.

A rinite alérgica, também conhecida como "febre do feno", afecta uma grande proporção da população mundial. Existem dois tipos de rinite alérgica, sazonal e persistente. Os sintomas clínicos da rinite alérgica sazonal incluem tipicamente prurido e irritação nasais, espirros e rinorreia aquosa, a qual é frequentemente acompanhada por congestão nasal. Os sintomas clínicos da rinite alérgica persistente são semelhantes, excepto por o bloqueio nasal poder ser mais pronunciado. Cada tipo da rinite alérgica pode também causar outros sintomas, tais como

prurido na garganta e/ou olhos, epífora e edema em redor dos olhos. Os sintomas da rinite alérgica podem variar de intensidade, desde o nível de incômodo a debilitante.

A rinite alérgica e outros estados alérgicos estão associados com a liberação da histamina a partir de vários tipos de células, mas particularmente de mastócitos. Os efeitos fisiológicos da histamina são normalmente mediados por três subtipos de receptor, denominados H1, H2 e H3. Os receptores H1 estão amplamente distribuídos ao longo do SNC e periférico e estão envolvidos no estado de vigília e na inflamação aguda. Os receptores H2 medeiam a secreção gástrica, em resposta à histamina. Os receptores H3 estão presentes nas terminações nervosas no SNC e no periférico e medeiam a inibição da liberação do neurotransmissor [Hill et al., *Pharmacol. Rev.* **49**:253-278 (1997)]. Foi identificado recentemente um quarto membro da família dos receptores da histamina, denominado receptor H4 [Hough, *Mo. Pharmacol.*, **59**: 415-419 (2001)]. Embora a distribuição do receptor H4 pareça estar restringida às células dos sistemas imunitário e inflamatório, ainda terá de esclarecido um papel fisiológico para este receptor.

A activação dos receptores H1 nos vasos sanguíneos e terminações nervosas é responsável por muitos dos sintomas da rinite alérgica que incluem prurido, espirros e a produção de rinorreia aquosa. Os compostos anti-histamínicos, i. e., fármacos que são antagonistas selectivos do receptor H1, tais como clorofeniramina e cetirizina, são eficazes no tratamento do prurido, espirros e rinorreia associados com a rinite alérgica, no entanto não são eficazes contra os sintomas da congestão nasal [Aaronson, *Ann. Allergy*, **57**:541-547, (1991)]. Deste modo, os antagonistas do receptor H1 têm sido administrados em

combinação com agentes simpatomiméticos, tais como pseudoefedrina ou oximetazolina, para tratar os sintomas de congestão nasal da rinite alérgica. Pensa-se que estes fármacos produzam uma acção descongestionante pela activação dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos e aumento da tonicidade vascular dos vasos sanguíneos da mucosa nasal. A utilização dos fármacos simpatomiméticos no tratamento da congestão nasal é frequentemente limitada pelas propriedades estimulantes do SNC e seus efeitos sobre a pressão sanguínea e frequência cardíaca. Um tratamento que diminua a congestão nasal sem ter efeitos sobre o SNC e sistema cardiovascular pode, consequentemente, oferecer vantagens em relação às terapias existentes.

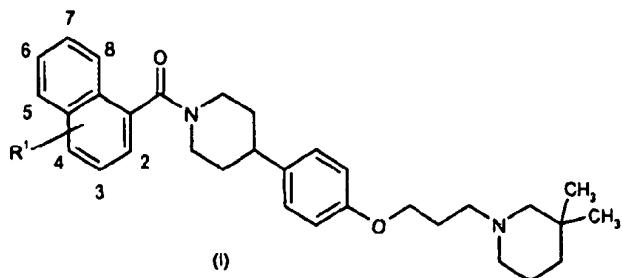
Os receptores H3 da histamina são amplamente expressos no SNC e nas terminações nervosas periféricas e medeiam a inibição da libertação de neurotransmissor. O estímulo eléctrico *in vitro* dos nervos simpáticos periféricos na veia safena humana isolada resulta num aumento da libertação da noradrenalina e na contracção do músculo liso, o que pode ser inibido pelos agonistas do receptor H3 da histamina [Molderings *et al.*, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **346**: 46-50, (1992); Valentine *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.*, **366**: 73-78, (1999)]. Os agonistas do receptor H3 inibem também o efeito da activação do nervo simpático sobre a tonicidade vascular na mucosa nasal de porcino [Varty & Hey., *Eur. J. Pharmacol.*, **452**: 339-345, (2002)]. Os agonistas do receptor H3 inibem a diminuição da resistência das vias aéreas nasais, produzida pela activação do nervo simpático [Hey *et al.*, *Arzneim-Forsch Drug Res.*, **48**: 881-888, (1998)]. A activação dos receptores H3 da histamina na mucosa nasal humana inibe a vasoconstricção simpática [Varty *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.*, **484**: 83-89, (2004)]. Além disso, os antagonistas do receptor H3, em combinação com os antagonistas

do receptor H1 da histamina, demonstraram reverter os efeitos da activação dos mastócitos sobre a resistência das vias aéreas nasais e o volume da cavidade nasal, um índice da congestão nasal [Mcleod et al., *Am. J. Rhinol*, **13**: 391-399, (1999)] e são proporcionados mais indícios da contribuição dos receptores H3 para o bloqueio nasal induzido pela histamina por estudos de desafio nasal com histamina, realizados em indivíduos humanos normais [Taylor-Clark et al., *Br. J. Pharmacol.*, **144**, 867-874, (2005)], embora o mecanismo de H3 considerado pareça ser novo e sem precedentes.

O documento WO2004/089373 divulga derivados da piperidina dissubstituídos em 1,4 como antagonistas da histamina H3 e o documento WO2004/035556 divulga derivados da piperazina dissubstituídos em 1,4 como antagonistas H1 e/ou H3 da histamina

Foi identificada uma nova classe de compostos que são antagonistas duplos dos receptores H1 e H3 da histamina. Por antagonistas "duplos" dos receptores H1 e H3 da histamina pretende-se significar que o composto tem actividade em ambos os subtipos de receptor. Em particular, a actividade no receptor H1 pode situar-se dentro de aproximadamente 10 vezes a actividade no receptor H3 e mais particularmente esses compostos podem ser aproximadamente equipotentes em ambos os subtipos de receptor.

Deste modo, a presente invenção proporciona, num primeiro aspecto, um composto de fórmula (I)



em que

o anel naftaleno está substituído na posição 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 com R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> representa -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH ou -CH=C(CH<sub>3</sub>)COOH;

ou um seu sal, tal como um sal farmaceuticamente aceitável.

Pode-se esperar que os compostos da invenção sejam úteis no tratamento de vários distúrbios, em particular distúrbios inflamatórios e/ou alérgicos, tais como distúrbios inflamatórios e/ou alérgicos do tracto respiratório, por exemplo, rinite alérgica, os quais estão associados com a libertação da histamina por células, tais como mastócitos.

Os compostos da invenção podem apresentar um perfil melhorado em relação aos agonistas dos antagonistas do receptor duplo H1/H3, pelo facto destes poderem possuir uma ou mais das seguintes propriedades:

- (i) actividade antagonista do receptor H3 com uma pKi superior a cerca de 7;
- (ii) actividade agonista do antagonista do receptor H1 com uma pKi superior a 7;

- (iii) penetração no SNC mais baixa;
- (iv) biodisponibilidade melhorada; e
- (v) menor eliminação e/ou meia-vida mais longa no sangue.

Pode-se esperar que os compostos tendo esse perfil sejam eficazes oralmente e/ou capazes de administração uma vez por dia e/ou possam ainda ter um perfil melhorado de efeitos secundários em comparação com outras terapias existentes.

Numa forma de realização da invenção, R<sup>1</sup> representa -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH.

Numa outra forma de realização da invenção, o anel naftaleno está substituído na posição 4 com R<sup>1</sup>.

Os compostos de fórmula (I) incluem o composto dos Exemplos descritos abaixo e os seus sais, tal como sais farmaceuticamente aceitáveis.

Deste modo, num aspecto adicional, a presente invenção proporciona um composto ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico ou um seu sal, tal como um sal farmaceuticamente aceitável.

Deve ser ainda entendido que as referências seguintes a um composto de acordo com a invenção ou a compostos da invenção, incluem um ou mais compostos de fórmula (I) e os seus sais, tal como sais farmaceuticamente aceitáveis.

A presente invenção abrange isómeros geométricos dos compostos de fórmula (I), incluindo configurações cis e trans e regioisómeros, incluindo duplas ligações exo e endo (e. g.,  $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{COOH}$  e  $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_2)\text{COOH}$ ), como isómeros individuais isolados, de modo a estarem substancialmente isentos dos outros isómeros (*i. e.*, puros) ou como as suas misturas. Deste modo, por exemplo, a presente invenção abrange um isómero individual isolado, de modo a estar substancialmente isento do outro isómero (*i. e.*, puro), de forma a que esteja presente menos de 10%, por exemplo, menos de 1% ou menos de 0,1% do outro isómero. A separação dos isómeros geométricos pode ser obtida por técnicas normais, e. g., por cristalização fraccionada, cromatografia ou HPLC.

Determinados compostos de fórmula (I) podem estar presentes numa de diversas formas tautoméricas. Deve ser entendido que a presente invenção abrange todos os tautómeros dos compostos de fórmula (I), como tautómeros individuais ou como as suas misturas.

Os compostos de fórmula (I) podem estar sob a forma cristalina ou amorfa. Além disso, um composto de fórmula (I) pode estar presentes sob uma ou mais formas polimórficas. Deste modo, a presente invenção inclui no seu âmbito todas as formas polimórficas dos compostos de fórmula (I). Em geral, é de interesse particular a forma polimórfica mais termodinamicamente estável de um composto de fórmula (I).

As formas polimórficas dos compostos de fórmula (I) podem ser caracterizadas e diferenciadas utilizando várias técnicas analíticas normais, incluindo mas não limitadas a padrões de

difracção de raios-x de pó (XRPD), espectros de infravermelho (IV), espectros de Raman, calorimetria diferencial de varrimento (DSC), análise termogravimétrica (TGA) e ressonância magnética nuclear (RMN) de estado sólido.

Irá ser tido em consideração que muitos compostos orgânicos podem formar solvatos com os solventes, nos quais estes são feitos reagir ou a partir dos quais estes são precipitados ou cristalizados. Por exemplo, um solvato com água é conhecido como um "hidrato". Podem ser utilizados solventes com pontos de ebullição elevados e/ou solventes com uma propensão elevada para formar ligações de hidrogénio, tais como água, xileno, N-metilpirroldinona e metanol para formar solvatos. Os métodos para identificação de solvatos incluem mas não estão limitados a RMN e microanálise. Deste modo, os solvatos dos compostos de fórmula (I) estão no âmbito da invenção.

Os compostos da invenção podem estar sob a forma e/ou podem ser administrados como um sal farmaceuticamente aceitável. Para uma revisão sobre sais adequados, ver Berge *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 1977, **66**, 1-19. Os sais farmaceuticamente aceitáveis adequados incluem sais de adição dom ácido e base.

Tipicamente, um sal farmaceuticamente aceitável pode ser facilmente preparado utilizando um ácido ou base pretendido, como adequado. O sal pode ser precipitado da solução e ser recolhido por filtração ou pode ser recuperado por evaporação do solvente.

Pode ser formado um sal farmaceuticamente aceitável e de adição de ácido por reacção de um composto de fórmula (I) com um ácido inorgânico ou orgânico adequado (tais como ácido

bromídrico, clorídrico, fórmico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, succínico, maleico, acético, fumárico, cítrico, tartárico, benzóico, *p*-toluenossulfónico, metanossulfónico ou naftalenossulfónico), opcionalmente num solvente adequado, tal como um solvente orgânico, para originar o sal que é normalmente isolado, por exemplo, por cristalização e filtração. Deste modo, um sal de adição de ácido farmaceuticamente aceitável de um composto de fórmula (I) pode ser um sal de bromidrato, cloridrato, formiato, sulfato, nitrato, fosfato, succinato, maleato, acetato, fumarato, citrato, tartarato, benzoato, *p*-toluenossulfonato, metanossulfonato ou naftalenossulfonato.

Numa forma de realização, é proporcionado um sal cloridrato do composto ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico.

Numa outra forma de realização, é proporcionado um sal bromidrato do composto ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico.

Um sal de adição de base farmaceuticamente aceitável pode ser formado por reacção de um composto de fórmula (I) com uma base inorgânica ou orgânica adequada (e. g., trietilamina, etanolamina, trietanolamina, colina, arginina, lisina ou histidina), opcionalmente num solvente adequado, tal como um solvente orgânico, para originar o sal de adição de base que é normalmente isolado, por exemplo, por cristalização e filtração.

Outros sais farmaceuticamente aceitáveis adequados incluem sais de metal farmaceuticamente aceitáveis, por exemplo, sais de

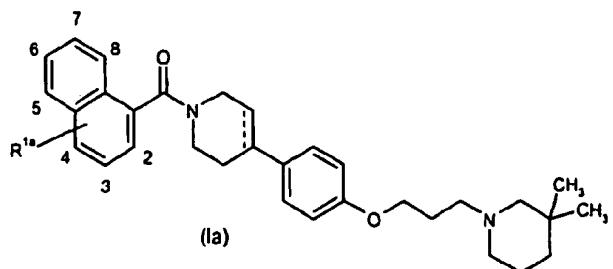
metal alcalino farmaceuticamente aceitáveis ou de metal alcalino-terroso, tais como sais de sódio, potássio, cálcio ou magnésio; em particular, sais de metal farmaceuticamente aceitáveis de uma ou mais partes ácido carboxílico que possam estar presentes no composto de fórmula (I).

Podem ser utilizados outros sais não farmaceuticamente aceitáveis, e. g., oxalatos ou trifluoroacetatos, por exemplo, no isolamento dos compostos da invenção e estão incluídos no âmbito desta invenção. A invenção inclui, no seu âmbito, todas as formas estequiométricas e não-estequiométricas possíveis dos compostos de fórmula (I).

Estão incluídos no âmbito da invenção todos os solvatos, e. g., hidratos e polimorfos dos compostos e sais da invenção.

São aqui também divulgados processos para a preparação de um composto de fórmula (I) ou um seu sal.

De acordo com o primeiro processo (A), um composto de fórmula (I) pode ser preparado por desprotecção e, opcionalmente, hidrogenação de um composto de fórmula (Ia)



em que

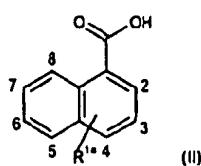
---- representa uma ligação simples ou dupla e o anel naftaleno está substituído na posição 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 com R<sup>1a</sup> e R<sup>1a</sup> representa um derivado protegido de R<sup>1</sup>, tal como um éster de R<sup>1</sup>, por exemplo, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOR<sup>x</sup> ou -CH=C(CH<sub>3</sub>)COOR<sup>x</sup>, em que cada R<sup>x</sup> representa independentemente um grupo de protecção ácido carboxílico como alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, por exemplo, metilo, etilo ou t-butílico, especialmente metilo ou etilo. Outros grupos de protecção adequados incluem aralquilo, tal como benzilo.

A desprotecção pode ser realizada sob condições padrão. Deste modo, a hidrólise de um éster de ácido carboxílico pode ser realizada na presença de uma base adequada, por exemplo, hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio, num sistema de solvente aquoso adequado, tais como metanol/água ou tetra-hidrofurano/água, opcionalmente a uma temperatura elevada, tal como a de refluxo. Alternativamente, a hidrólise de um éster do ácido carboxílico, por exemplo, éster t-butílico, pode ser realizada na presença de um ácido adequado, tal como cloreto de hidrogénio em dioxano, sob condições padrão para hidrólise ácida. Pode ser utilizada desprotecção por hidrogenólise sob condições padrão, tal como na presença de um catalisador metálico, tal como paládio sobre carvão, quando o grupo de protecção for aralquilo, tal como benzilo.

A hidrogenação pode ser realizada sob condições padrão. Deste modo, a hidrogenação pode ser realizada na presença de uma agente de hidrogenação adequado, tais como paládio sobre carbono ou óxido de platina num solvente adequado, tal como etanol, opcionalmente à pressão atmosférica e, opcionalmente, a uma temperatura elevada, tal como 40 a 60 °C.

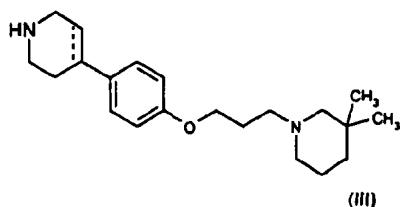
Numa forma de realização do processo A, R<sup>1a</sup> é como definido e — representa uma ligação simples, em que não é necessário um passo de hidrogenação.

Os compostos de fórmula (Ia) podem ser preparados fazendo reagir um composto de fórmula (II)



em que R<sup>1a</sup> é como definido acima para a fórmula (Ia),

com um composto de fórmula (III)



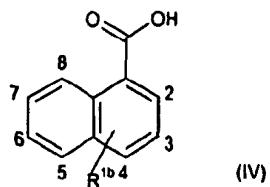
em que — representa uma ligação simples ou dupla , sob condições de formação de amida.

A amida de fórmula (Ia) pode ser preparada sob condições padrão para ligação de amida, por exemplo, na presença de um agente de ligação adequado, tais como hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurônio (HBTU) ou tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurônio (TBTU), na presença de uma base adequada, tal

como trietilamina, num solvente adequado, tal como *N,N*-dimetilformamida.

Alternativamente, o composto (Ia) pode ser preparado fazendo reagir um cloreto ácido de um composto de fórmula (II) com uma amina (III), na presença de uma base adequada, tais como trietilamina ou carbonato de potássio, num solvente, tal como diclorometano a uma temperatura entre 0 e 20 °C.

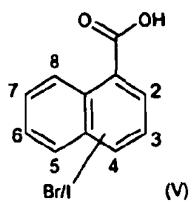
Um composto de fórmula (II), em que R<sup>1a</sup> representa -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOR<sup>x</sup> e R<sup>x</sup> é como definido acima, pode ser preparado por hidrogenação de um composto de fórmula (IV)



em que o anel naftaleno está substituído na posição 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 com R<sup>1b</sup> e R<sup>1b</sup> representa -CH=CH-COOR<sup>x</sup> e R<sup>x</sup> é como definido acima.

A hidrogenação é realizada sob condições padrão. Deste modo, a hidrogenação pode ser realizada na presença de um agente de hidrogenação adequado, tais como paládio ou carbono ou óxido de platina num solvente adequado, tal como etanol, opcionalmente à pressão atmosférica e, opcionalmente, a uma temperatura elevada, tal como 40 a 60 °C.

Um composto de fórmula (IV) como definido acima pode ser preparado por uma reacção de Heck, em que um composto de fórmula (V) ou um seu derivado protegido

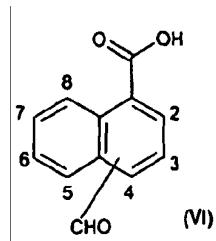


em que o anel naftaleno está substituído na posição 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 com bromo ou iodo, é feito reagir com um éster de acrilato, tais como metilacrilato, etilacrilato, *t*-butilacrilato e benzilacrilato.

Irá ser tido em consideração pelos especialistas na técnica que o substituinte Br/I irá estar na posição em que se pretende, para introduzir o grupo carboxilato no composto de fórmula (IV).

De um modo geral, a reacção de Heck pode ser realizada na presença de uma base adequada, tal como trietilamina, fosfina tal como trifenilfosfina, um catalisador adequado, tal como acetato de paládio (II), num solvente adequado, tal como *N,N*-dimetilformamida, a uma temperatura elevada, por exemplo, cerca de 100 °C.

Num método alternativo, pode ser preparado um composto de fórmula (IV) descrito acima por uma reacção de Wittig em que um composto correspondente de fórmula (VI)



em que o anel naftaleno está substituído na posição 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 com CHO, é feito reagir com um ilideto de fósforo, contendo um grupo carboalcoximetileno (-CH-COOR<sup>x</sup>, em que R<sup>x</sup> representa alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), tal como carboetoximetileno-trifenilfosforano, num solvente adequado, tal como tolueno, a uma temperatura elevada, tal como a de refluxo.

Os compostos de fórmula (II), em que R<sup>1a</sup> representa -CH=C(CH<sub>3</sub>)COOR<sup>x</sup> e R<sup>x</sup> é como definido acima, podem ser preparados por uma reacção de Heck, em que um composto de fórmula (V) ou um seu derivado protegido é feito reagir com um éster de acrilato, tais como metacrilato de metilo, metacrilato de etilo ou metacrilato de *t*-butilo, sob condições semelhantes à da reacção de Heck descrita acima.

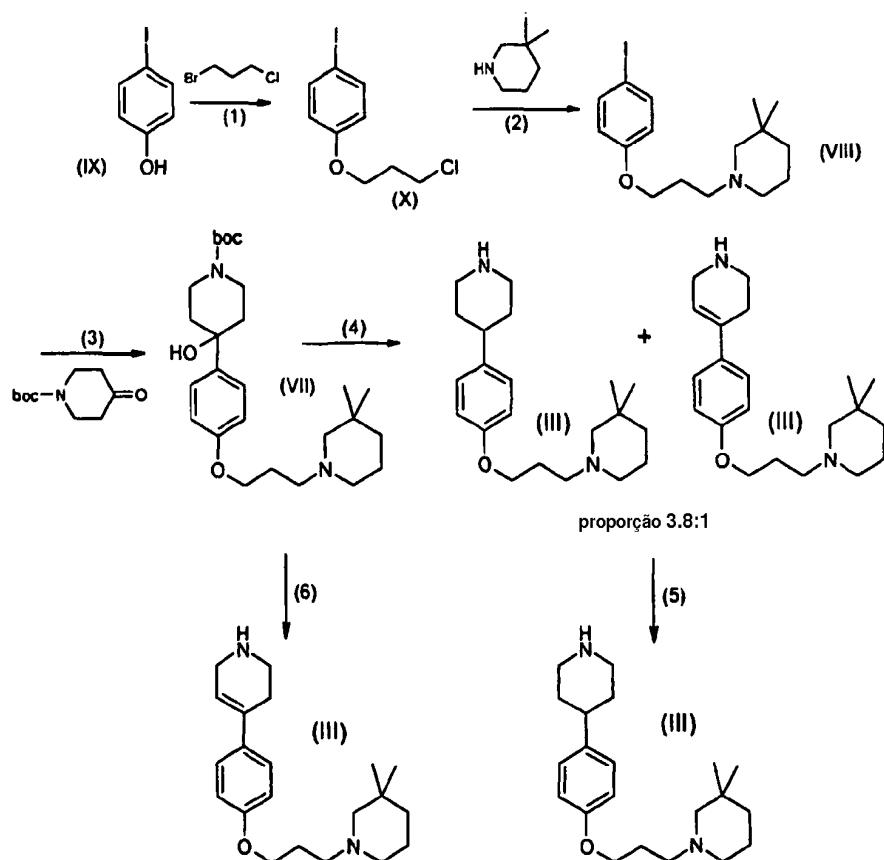
Alternativamente, pode ser preparado um composto de fórmula (II), em que R<sup>1a</sup> representa -CH=C(CH<sub>3</sub>)COOR<sup>x</sup> e R<sup>x</sup> é como definido acima, por uma reacção de Heck em que um composto de fórmula (V) ou um seu derivado protegido é feito reagir com um éster de acrilato, tais como metacrilato de metilo, metacrilato de etilo ou metacrilato de *t*-butilo, sob condições semelhantes às da reacção de Heck descrita acima.

Os compostos de fórmula (V) e (VI) são conhecidos ou podem ser preparados a partir de materiais comercialmente disponíveis (por exemplo, 1,4-dibromonaftaleno está comercialmente disponível de Acros e/ou Alfa) de acordo com métodos publicados ou através dos métodos aqui descritos. O ácido 5-bromo-1-naftalenocarboxílico pode ser preparado pelos métodos descritos em J. E. Baldwin, et al., *Tetrahedron* 1990, **46**, 3019-28, o ácido 4-bromo-1-naftalenocarboxílico pode ser preparado pelos métodos

descritos em *Can. J. Chem.* 1981, **59**, 2629-41; e o ácido 8-formil-1-naftalenocarboxílico pode ser preparado pelos métodos descritos em *J. Am. Chem. Soc*, 1949, **71**, 1870.

Os ésteres de acrilato são conhecidos e/ou estão comercialmente disponíveis. Metilacrilato, metacrilato de metilo e benzilacrilato estão disponíveis de Aldrich e/ou Acros e/ou de ABCR e/ou de Chemos.

Os compostos de fórmula (III) podem ser preparados de acordo com o seguinte esquema de reacção:



em que

1. carbonato de potássio, 2-butanona;
2. iodeto de sódio, carbonato de potássio, acetonitrilo;
3. *n*BuLi, THF. Pode ser utilizado alternativamente, cloreto de iso-propilmagnésio em lugar de *n*BuLi à temperatura ambiente;
4. a) trietilsilano, ácido trifluoroacético, diclorometano; b) HCl 2 M em éter, para originar uma mistura de compostos de fórmula (III);
5. passo de hidrogenação opcional, paládio sobre carbono a 10% em peso em etanol.
6. cloreto de hidrogénio, etanol.

Irá ser tido em consideração que a mistura dos compostos de fórmula (III), mostrada acima pode ser utilizada em reacções subsequentes sem a necessidade de realização do passo de hidrogenação 5.

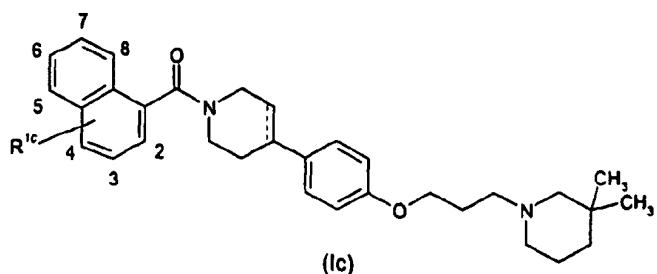
O 4-iodofenol, 1-bromocloropropano, 3,3-dimetilpiperidina e *N*-Boc-piperidona são conhecidos e/ou estão comercialmente disponíveis, por exemplo, de Aldrich, Alfa, Manchester, Organics, Matrix Scientific, ASI e/ou Chem Service.

De acordo com um segundo processo (B), pode ser preparado um composto de fórmula (I) por:

(i) fazer reagir um composto de fórmula (II) com um composto de fórmula (III) para formar um composto de fórmula (Ia); e

(ii) desprotecção e, opcionalmente, desidrogenação do composto de fórmula (Ia) para formar um composto de fórmula (I). No processo (B) não é isolada a amida protegida intermediária, por exemplo, o éster de amida (Ia). A ligação e desprotecção da amida, tais como por hidrólise do éster do ácido carboxílico e hidrogenação opcional podem ser realizadas sob condições padrão, como descrito acima.

De acordo com um terceiro processo (C) pode ser preparado um composto de fórmula (I), em que R<sup>1</sup> representa -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH, por hidrogenação e desprotecção de um composto de fórmula (Ic).



em que

— — — representa uma ligação simples ou dupla e o anel naftaleno pode ser substituído na posição 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 com R<sup>1c</sup> e R<sup>1c</sup> representa -CH=CHCOOR<sup>x</sup> em que R<sup>x</sup> representa um grupo de protecção ácido carboxílico adequado, tal como aralquilo, e. g., benzilo. A hidrogenação e desprotecção (por hidrogenólise) podem ser realizadas sob condições padrão, tal como as que são aqui descritas e podem ser combinadas num único passo.

Um composto de fórmula (Ic) pode ser preparado fazendo reagir um composto de fórmula (IV) com um composto de fórmula (III).

De acordo com um quarto processo (D), um composto de fórmula (I) pode ser preparado por interconversão a partir de outros compostos de fórmula (I). Deste modo, um composto de fórmula (I) pode ser também preparado a partir de outros compostos de fórmula (I) utilizando processos de interconversão normais, tal como isomerização de isómeros geométricos, e. g., interconversão entre isómeros cis e trans e interconversão entre uma dupla ligação exo e endo, por exemplo, interconversão entre  $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{COOH}$  e  $-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{CH}_2)\text{COOH}$ . Podem ser também incluídos processos para permutar o contra-ião e a forma de sal de um composto de fórmula (I). Deste modo, a interconversão a partir de outros compostos de fórmula (I) (processo D) é ainda um aspecto adicional da invenção.

Deste modo, a presente invenção proporciona um processo para preparar um composto de fórmula (I) ou um seu sal, o processo seleccionado de (A), (B), (C) ou (D) aqui e, opcionalmente de seguida formando um sal.

Tipicamente, pode ser facilmente preparado um sal utilizando um ácido ou base pretendido, como adequado. O sal pode ser precipitado a partir da solução e ser recolhido por filtração ou pode ser recuperado por evaporação a partir do solvente. Deve ser entendido que a base livre de um composto de fórmula (I) pode ou não ser isolada antes da formação do sal, como pretendido.

Irá ser tido em consideração pelos especialistas na técnica que pode ser desejável a utilização de derivados de intermediários protegidos, utilizados na preparação dos compostos de fórmula (I). Deste modo, os processos acima podem

requerer desprotecção como um passo intermédio ou como um passo final para produzir o composto pretendido. A protecção e desprotecção dos grupos funcionais podem ser realizadas utilizando meios normais. Deste modo, os grupos ácido carboxílico podem ser protegidos utilizando quaisquer grupos de protecção normais, por exemplo, como descrito em *Protective Groups in Organic Chemistry*, Ed. J. F. W. McOmie (Plenum Press, 1973) ou *Protective Groups in Organic Synthesis* de Theodora W. Green (John Wiley and Sons, 1991) ou P. J. Kocienski em *Protecting Groups*, Georg Thieme Verlag 1994.

Os exemplos de grupos de protecção de ácido carboxílico adequados, incluem grupos seleccionados de alquilo (e. g., metilo, etilo ou *t*-butilo), aralquilo (e. g., benzilo, difenilmetilo ou trifenilmetilo) e grupos sililo, tal como trialquilsililo (e. g., *t*-butildimetilsililo). Os grupos de protecção de ácido carboxílico podem ser removidos por técnicas normais. Deste modo, por exemplo, os grupos alquilo e sililo podem ser removidos por solvólise, e. g., por hidrólise sob condições ácidas ou básicas. Os grupos aralquilo, tal como benzilo, podem ser clivados por hidrogenólise, na presença de um catalisador metálico, tal como paládio sobre carvão.

Os exemplos de estados de doença, em que pode ser esperado que um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável tenha efeitos anti-inflamatórios e/ou antialérgicos benéficos, incluem doenças do tracto respiratório, tais como bronquite (incluindo bronquite crónica), asma (incluindo reacções asmáticas induzidas por alergénio), doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD), fibrose quística, sinusite e rinite alérgica (sazonal e persistente). Outros estados de doença incluem doenças do tracto gastro-intestinal, tais como doenças

inflamatórias do intestino, incluindo doença inflamatória do intestino (e. g., doença de Crohn ou colite ulcerosa) e doenças inflamatórias dos intestinos secundárias a exposição a radiação ou exposição a alergénio.

Além disso, os compostos da invenção podem ser utilizados para tratar nefrite, doenças de pele, tais como psoríase, eczema, dermatite alérgica e reacções de hipersensibilidade.

Os compostos da invenção podem ser também utilizados no tratamento de polipose nasal, conjuntivite ou prurido.

Outras doenças incluem doenças inflamatórias do tracto gastro-intestinal, tal como doença inflamatória do intestino.

A rinite alérgica é uma doença de particular interesse.

Os compostos que são antagonistas do receptor H3 podem ser também de utilização em outras doenças, tal como rinite não-alérgica.

Irá ser tido em consideração pelos especialistas na técnica que estas referências para tratamento ou a terapia se estendem à profilaxia, assim como ao tratamento de estados estabelecidos.

Como referido acima, os compostos de fórmula (I) ou os seus sais farmaceuticamente aceitáveis são úteis como agentes terapêuticos.

É proporcionado deste modo, como um aspecto adicional da invenção, um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para utilização em terapia.

De acordo com um aspecto adicional da invenção, é proporcionada a utilização de um composto de fórmula (I) ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável, para a preparação de um medicamento no tratamento de qualquer das doenças acima.

Quando utilizados em terapia, os compostos de fórmula (I) são normalmente formulados numa composição farmacêutica adequada. Essas composições farmacêuticas podem ser preparadas utilizando processos padrão.

Deste modo, a presente invenção proporciona ainda uma composição que comprehende um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, opcionalmente com um ou mais veículos e/ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

Uma composição da invenção que pode ser preparada por mistura, adequadamente a uma temperatura ambiente e pressão atmosférica, pode ser adaptada para administração oral, parentérica, rectal ou intranasal e, como tal, pode estar sob a forma de comprimidos, cápsulas, preparações líquidas, e. g., preparações líquidas orais, pós, grânulos, pastilhas, pós reconstituíveis, soluções ou suspensões injectáveis ou infundíveis ou supositórios. Podem ser preparadas composições adequadas de acordo com métodos bem conhecidos na técnica para cada tipo particular de composição.

São de particular interesse composições adequadas para administração oral.

As composições farmacêuticas adaptadas para administração oral podem ser apresentadas como unidades distintas, tais como

cápsulas ou comprimidos; pós ou grânulos; soluções ou suspensões em líquidos aquosos ou não-aquosos; espumas ou cremes comestíveis; ou emulsões líquidas de óleo em água ou emulsões líquidas de água em óleo.

Por exemplo, para administração oral sob a forma de um comprimido ou cápsula, o componente de fármaco activo pode ser combinado com um veículo inerte farmaceuticamente aceitável não-tóxico, tal como etanol, glicerol, água e semelhantes. Podem ser preparados pós adequados para incorporação em comprimidos ou cápsulas por redução do composto a um tamanho fino adequado (e. g., por micronização) e mistura com um veículo farmacêutico preparado de um modo semelhante, tal como um hidrato de carbono comestível, como, por exemplo, amido ou manitol. Podem também estar presentes aromatizantes, conservantes, dispersantes e corantes.

As cápsulas podem ser produzidas por preparação de uma mistura em pó, como descrito acima e enchimento de folhas de gelatina formadas. Podem ser adicionados deslizantes e lubrificantes, tais como sílica coloidal, talco, estearato de magnésio, estearato de cálcio ou polietilenoglicol sólido à mistura em pó antes da operação de enchimento. Pode ser também adicionado um agente desintegrante ou solubilizante, tais como agar, carbonato de cálcio ou carbonato de sódio para melhorar a disponibilidade do fármaco quando a cápsula for ingerida.

Além disso, quando pretendido ou necessário, podem ser também incorporados aglutinantes, deslizantes, lubrificantes, agentes adoçantes, aromatizantes, agentes desintegrantes e agentes corantes adequados na mistura. Aglutinantes adequados incluem amido, gelatina, açúcares naturais, tais como glicose ou

beta-lactose, adoçantes de milho, gomas naturais e sintéticas, tais como arábica, tragacanto ou alginato de sódio, carboximetilcelulose, polietilenoglicol, ceras e semelhantes. Os lubrificantes utilizados nestas formas de dosagem incluem oleato de sódio, estearato de sódio, estearato de magnésio, benzoato de sódio, acetato de sódio, cloreto de sódio e semelhantes. Os desintegrantes incluem, sem limitação, amido, metilcelulose, ágar, bentonite, goma xantana e semelhantes. São formulados comprimidos, por exemplo, por preparação de uma mistura em pó, granulação ou fluidização agregativa, adição de um lubrificante e desintegrante e prensagem em comprimidos. É preparada uma mistura em pó por mistura do composto, adequadamente pulverizado, com um diluente ou base, como descrito acima e, opcionalmente, com um aglutinante, tais como carboximetilcelulose, um alginato, gelatina ou polivinilpirrolidona, um retardante de solução, tal como parafina, um acelerador da reabsorção, tal como um sal quaternário e/ou um agente de absorção, tal como bentonite, caulino ou fosfato dicálcico. A mistura em pó pode ser granulada por humedecimento com um aglutinante, tais como xarope, pasta de amido, mucilagem acádia ou soluções de materiais celulósicos ou poliméricos e extrusão através de um crivo. Como uma alternativa à granulação, a mistura em pó pode ser passada através da máquina de compressão e o resultado são agregados formados imperfeitamente, quebrados em grânulos. Os grânulos podem ser lubrificados para evitar aderência às matrizes formadoras de comprimido através da adição de ácido esteárico, um sal de estearato, talco ou óleo mineral. A mistura lubrificada é então prensada em comprimidos. Os compostos da invenção podem ser também combinados com um veículo inerte de elevada fluidez e serem prensados em comprimidos directamente sem passar pelos passos de granulação ou de fluidização agregativa. Pode ser

proporcionado um revestimento protector transparente ou opaco, consistindo num revestimento de selagem de goma-laca, um revestimento de açúcar ou de material polimérico e um revestimento de polimento de cera. Podem ser adicionados materiais corantes a estes revestimentos para distinguir diferentes dosagens unitárias.

Podem ser preparados fluidos orais, tais como solução, xaropes e elixires sob forma unitária de dosagem, para que uma determinada quantidade contenha uma quantidade predeterminada do composto. Podem ser preparados xaropes por dissolução do composto numa solução aquosa adequadamente aromatizada, enquanto são preparados elixires através da utilização de um veículo alcoólico não-tóxico. As suspensões podem ser formuladas por dispersão do composto num veículo não-tóxico. Podem ser também adicionados solubilizantes e emulsionantes, tais como álcoois isoestearílicos etoxilados e éteres de polioxietilenossorbitol, conservantes, aditivos aromatizantes, tais como óleo de hortelã-pimenta ou adoçantes naturais ou sacarina ou outros adoçantes artificiais e semelhantes.

Quando adequado, as composições unitárias de dosagem para administração oral podem ser microencapsuladas. A formulação pode ser também preparada para prolongar ou manter a liberação como, por exemplo, por revestimento ou por embutimento do material particulado em polímeros, cera ou semelhantes.

Para administração intranasal, as composições adequadas podem conter opcionalmente um ou mais agentes de suspensão, um ou mais conservantes, um ou mais agentes humidificantes e/ou um ou mais agentes de ajustamento da isotonicidade.

Os exemplos de agentes de suspensão incluem carboximetilcelulose, veegum, tragacanto, bentonite, metilcelulose e polietilenoglicóis, e.g., celulose microcristalina ou carboximetilcelulose de sódio.

Para fins de estabilidade, a composição da invenção pode ser protegida da contaminação e do crescimento microbiano, por inclusão de um conservante. Os exemplos de agentes ou conservantes antimicrobianos farmaceuticamente aceitáveis podem incluir compostos de amónio quaternário (e.g., cloreto de benzalcónio, cloreto de benzetónio, cetrímidia e cloreto de cetilpiridínio), agentes mercúricos (e.g., nitrato fenilmercúrico, acetato fenilmercúrico e timerosal), agentes alcoólicos (e.g., clorobutanol, álcool feniletílico e álcool benzílico), ésteres antibacterianos (e.g., ésteres do ácido para-hidroxibenzólico), agentes quelantes, tais como edetato dissódico (EDTA) e outros agentes antimicrobianos, tais como clorexidina, clorocresol, ácido sórbico e os seus sais e polimixina.

Composições, e.g., composições nasais que contenham um medicamento suspenso, podem incluir um agente humidificador farmaceuticamente aceitável que funcione para humedecer as partículas de medicamento, para facilitar sua dispersão na fase aquosa da composição. Tipicamente, a quantidade de agente humidificador utilizado não irá causar a formação de espuma da dispersão durante a mistura. Os exemplos de agentes humidificantes incluem álcoois, ésteres e éteres gordos, tais como mono-oleato de polioxietileno (20) sorbitano (Polissorbato 80).

Pode ser incluído um agente de ajustamento da isotonicidade para obter isotonicidade com fluidos corporais, e. g., fluidos da cavidade nasal, resultando em níveis reduzidos de irritação. Os exemplos de agentes de ajustamento da isotonicidade, incluem cloreto de sódio, dextrose e cloreto de cálcio.

As composições intranasais da presente invenção podem ser administradas às passagens nasais pela utilização de uma bomba de pré-compressão, tais como uma VP3, VP7 ou modificações, modelo produzido por Valois SA. Considera-se que as bombas deste tipo sejam benéficas, dado que estas podem assegurar que a composição não seja libertada ou atomizada até ter sido aplicada uma força suficiente, de outra forma podem ser aplicadas doses inferiores. Tipicamente, estas bombas de pré-compressão podem ser utilizadas com uma garrafa (vidro ou plástico) capaz de reter 8-50 mL da composição e cada pulverização irá proporcionar tipicamente 50-100 µL.

Para administração parentérica, são preparadas formas de dosagem unitárias fluidas, utilizando um composto da invenção ou um seu sal farmaceuticamente aceitável e um veículo estéril. O composto, dependendo do veículo e da concentração utilizados, pode ser suspenso ou ser dissolvido no veículo. Na preparação das soluções, o composto pode ser dissolvido para injecção e ser esterilizado por filtração antes do enchimento de um frasquinho ou ampola adequado e selagem. Vantajosamente, são dissolvidos no veículo, adjuvantes tal como um anestésico local, agentes conservantes e tamponantes. Para aumentar a estabilidade, a composição pode ser congelada após o enchimento do frasquinho e a água ser removida sob vácuo. As suspensões parentéricas são preparadas substancialmente da mesma forma, excepto por o composto ser suspenso no veículo, em vez de ser dissolvido e a

esterilização não poder ser realizada por filtração. O composto pode ser esterilizado por exposição a óxido de etileno antes da suspensão num veículo estéril. Pode ser incluído um agente tensioactivo ou humidificador na composição, para facilitar a distribuição uniforme do composto.

A composição pode conter desde cerca de 0,1% a 99% em peso, tal como desde cerca de 10 a 60% em peso, do material activo, dependendo do método de administração. A dose do composto utilizado no tratamento dos distúrbios referidos acima irá variar de forma normal com a gravidade dos distúrbios, o peso do doente e outros factores semelhantes. No entanto, como orientação geral, as doses unitárias adequadas podem ser desde cerca de 0,05 a 1000 mg, mais adequadamente desde cerca de 1,0 a 200 mg, por exemplo, 20 a 100 mg e essas doses unitárias podem ser administradas mais de uma vez por dia, por exemplo, duas ou três por dia. Essa terapia pode prolongar-se por várias semanas ou meses. Numa forma de realização, os compostos e composições farmacêuticas, de acordo com a presente invenção, são adequados para administração oral e/ou são capazes de administração uma vez por dia, por exemplo, numa dose na gama de 20 a 200 mg (e. g., cerca de 20 a 100 mg).

Os compostos e composições farmacêuticas de acordo com a presente invenção podem ser também utilizados em combinação ou incluindo um ou mais de outros agentes terapêuticos, por exemplo, outros agentes anti-histamínicos, por exemplo, agonistas do receptor H4, agentes anticolinérgicos, agentes anti-inflamatórios, tais como corticosteróides (e. g., propionato de fluticasona, dipropionato de beclometasona, furoato de mometasona, triancinolona acetonida, budesonida e o esteróide divulgado no documento WO 02/12265); ou fármacos

anti-inflamatórios não-esteróides (NSAID) (e. g., cromoglicato de sódio, nedocromil sódico), inibidores de PDE-4, antagonistas de leucotrieno, inibidores da lipoxigenase, antagonistas da quimocina (e. g., CCR3, CCR1, CCR2, CCR4, CCR8, CXCR1, CXCR2), antagonistas de IKK, inibidores de iNOS, inibidores da triptase e da elastase, antagonistas da beta-2 integrina e agonistas da adenosina 2a; ou agentes beta adrenérgicos (e. g., salmeterol, salbutamol, formoterol, fenoterol, terbutalina e os agonistas beta descritos nos documentos WO 02/66422, WO 02/270490, WO 02/076933, WO 03/024439 e WO 03/072539 e seus sais); agentes anti-infecciosos, e. g., agentes antibióticos e agentes virais. Será evidente para um especialista na técnica que, quando adequado, pode(m) ser utilizado(s) outro(s) agente(s) terapêutico(s) sob a forma de sais (e. g., sais de metal alcalino ou de amina ou como sais de adição de ácido) ou prófármacos ou como ésteres (e. g., ésteres de alquilo inferior) ou como solvatos (e. g., hidratos) para optimizar a actividade e/ou estabilidade e/ou as características físicas (e. g., solubilidade) do ácido terapêutico. Irá ser também evidente que, quando adequado, os agentes terapêuticos podem ser utilizados sob a forma opticamente pura.

A invenção proporciona deste modo, num aspecto adicional, uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, juntamente com um ou mais (tal como um ou dois, e. g., um) outros agentes terapeuticamente activos, opcionalmente com um ou mais veículos e/ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

Outros antagonistas do receptor da histamina que podem ser utilizados isoladamente ou em combinação com um antagonista do receptor H1/H3 incluem antagonistas (e/ou agonistas inversos) do

receptor H4, por exemplo, os compostos descritos em Jablonowski et al., *J. Med. Chem.* **46**: 3957-3960 (2003).

Numa forma de realização, a invenção proporciona uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) e um agonista do adrenorreceptor  $\beta_2$ .

Os exemplos de agonistas adrenorreceptores  $\beta_2$  incluem salmeterol (que pode ser um racemato ou um enantiómero simples, tal como o enantiómero R), salbutamol (que pode ser um racemato ou um enantiómero simples, tal como o enantiómero-R), formoterol (que pode ser um racemato ou um diastereómero simples, tal como o diastereómero-R,R), salmefamol, fenoterol, carmoterol, etanterol, naminterol, clenbuterol, pirbuterol, flerbutterol, reproterol, bambuterol, indacaterol, terbutalina e seus sais, por exemplo sal xinafoato (1-hidroxi-2-naftalenocarboxilato) de salmeterol, sal sulfato ou a base livre de salbutamol ou o sal fumarato do formoterol. Numa forma de realização, as combinações da invenção podem incluir agonistas adrenorreceptores  $\beta_2$  de acção mais prolongada, por exemplo, compostos que proporcionam broncodilatação eficaz durante cerca de 12 ou mais horas.

Outros agonistas do adrenorreceptor  $\beta_2$  incluem os descritos nos documentos WO 02/066422, WO 02/070490, WO 02/076933, WO 03/024439, WO 03/072539, WO 03/091204, WO 04/016578, WO 2004/022547, WO 2004/037807, WO 2004/037773, WO 2004/037768, WO 2004/039762, WO 2004/039766, WO 01/42193 e WO 03/042160.

Os exemplos de agonistas do adrenorreceptor  $\beta_2$  incluem:

3-(4-{[6-({((2R)-2-hidroxi-2-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)fenil]etil}amino)hexil]oxi}butil)benzenossulfonamida;

3-(3-{[7-({(2R)-2-hidroxi-2-[4-hidroxi-3-hidroximetil)fenil]etil}-amino)heptil]oxi}propil)benzenossulfonamida;

4-{(1R)-2-[ (6-{2-[ (2,6-diclorobenzil)oxi]etoxi}-hexil)amino]-1-hidroxietil}-2-(hidroximetil)fenol;

4-{(1R)-2-[ (6-{4-[3-(ciclopentilsulfonil)fenil]butoxi}-hexil)amino]-1-hidroxietil}-2-(hidroximetil)fenol;

N-[2-hidroxil-5-[(1R)-1-hidroxi-2-[2-4-[(2R)-2-hidroxi-2-feniletil]amino]fenil]etil]amino]etil]formamida;

N-2{2-[4-(3-fenil-4-metoxifenil)aminofenil]etil}-2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2(1H)-quinolinon-5-il)etilamina; e

5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etyl]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona.

O agonista do adrenorreceptor  $\beta_2$  pode estar sob a forma de um sal formado com um ácido farmaceuticamente aceitável, seleccionado de ácido sulfúrico, clorídrico, fumárico, hidroxinaftóico (por exemplo 1 ou 3-hidroxi-2-naftóico), cinâmico, cinâmico substituído, trifenilacético, sulfâmico, sulfanílico, naftalenoacrílico, benzóico, 4-metoxibenzóico, 2 ou 4-hidroxibenzóico, 4-clorobenzóico e 4-fenilbenzóico.

Numa outra forma de realização, a invenção proporciona uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) e um agonista de adenosina 2a.

Os agonistas A2a incluem os divulgados no Pedido de Patente Internacional N° PCT/EP/2005/005651, tal como  $(2R,3R,4S,5R,2'R,3'R,4'S,5'R)-2,2'-\{trans-1,4-ciclo-hexanodi-ilbis[imino(2-\{[2-(1-metil-1H-imidazol-4-il)etil]amino}\}-9H-purina-6,9-di-il)\}bis[5-(2-etil-2H-tetrazol-5-il)tetra-hidro-3,4-furandiol]$ .

Numa outra forma de realização, a invenção proporciona uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) e um agente anti-inflamatório.

Os agentes anti-inflamatórios incluem corticosteróides. Os corticosteróides adequados, que podem ser utilizados em combinação com os compostos da invenção, são os corticosteróides orais e inalados e seus profármacos que têm actividade anti-inflamatória. Os exemplos incluem metilprednisolona, prednisolona, dexametasona, propionato de fluticasona, éster S-fluorometílico do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil- $17\alpha$ [ $(4$ -metil- $1,3$ -tiazol- $5$ -carbonil)oxi]- $3$ -oxo-androsta- $1,4$ -dieno- $17\beta$ -carbotiôico, éster S-fluorometílico do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $17\alpha$ -[(2-furanilcarbonil)oxi]- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil- $3$ -oxo-androsta- $1,4$ -dieno- $17\beta$ -carbotiôico (furoato de fluticasona), éster S-(2-oxo-tetra-hidro-furan-3S-ílico) do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil- $3$ -oxo- $17\alpha$ -propioniloxi-androsta- $1,4$ -dieno- $17\beta$ -carbotiôico, éster S-cianometílico do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil- $3$ -oxo- $17\alpha$ -(2,2,3,3-tetrameticiclopropilcarbonil)oxi-androsta- $1,4$ -dieno- $17\beta$ -carbotiôico e éster S-fluorometílico do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil- $17\alpha$ -(1-meticiclopropilcarbonil)oxi- $3$ -oxo-androsta- $1,4$ -dieno- $17\beta$ -carbotiôico, ésteres de beclometasona (por exemplo, éster de 17-propionato ou éster de 17,21-dipropionato), budesonida,

flunisolida, ésteres de mometasona (por exemplo, furoato de mometasona), acetonida de triancinolona, rofleponida, ciclesonida ( $16\alpha,1-$ -[(R)-ciclo-hexilmetileno]bis(oxi)]- $11\beta,21$ -di-hidroxi-pregna-1,4-dieno-3,20-diona), propionato de butixocorte, RPR-106541 e ST-126. Os corticosteróides de interesse particular podem incluir propionato de fluticasona, éster S-fluorometílico do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil- $17\alpha$ -[(4-metil-1,3-tiazol-5-carbonil)oxi]-3-oxo-androsta-1,4-dieno- $17\beta$ -carbotiôico, éster S-fluorometílico do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $17\alpha$ -[(2-furanilcarbonil)oxi]- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno- $17\beta$ -carbotiôico, éster S-cianometílico do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil-3-oxo- $17\alpha$ -(2,2,3,3-tetrametilciclopropilcarbonil)oxi-androsta-1,4-dieno- $17\beta$ -carbotiôico, éster S-fluorometílico do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil- $17\alpha$ -(1-meticiclopropilcarbonil)oxi-3-oxo-androsta-1,4-dieno- $17\beta$ -carbotiôico e furoato de mometasona. Numa forma de realização, o corticosteróide é o éster S-fluorometílico do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $17\alpha$ -[(2-furanilcarbonil)oxi]- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno- $17\beta$ -carbotiôico ou furoato de mometasona.

Os compostos não-esteróides, tendo agonismo para glicocorticóides, que podem possuir selectividade para transrepressão em relação à transactivação e que podem ser úteis em terapia de combinação incluem os abrangidos pelos seguintes pedidos de patente e patentes: WO 03/082827, WO 98/54159, WO 04/005229, WO 04/009017, WO 04/018429, WO 03/104195, WO 03/082787, WO 03/082280, WO 03/059899, WO 03/101932, WO 02/02565, WO 01/16128, WO 00/66590, WO 03/086294, WO 04/026248, WO 03/061651, WO 03/08277, WO 06/000401, WO 06/000398 e WO 06/015870.

Os agentes anti-inflamatórios incluem fármacos anti-inflamatórios não-esteróides (NSAID).

Os NSAID incluem cromoglicato de sódio, nedocromil de sódio, inibidores da fosfodiesterase (PDE) (e. g., teofilina, inibidores de PDE4 ou inibidores mistos de PDE3/PDE4), antagonistas do leucotrieno, inibidores da síntese do leucotrieno (e. g., montelucaste), inibidores de iNOS (sintetase do óxido nítrico induzível) (e. g., inibidores de iNOS orais), antagonistas de IKK, inibidores da triptase e elastase, antagonistas da integrina beta-2 e agonistas ou antagonistas do receptor da adenosina (e. g., agonistas da adenosina 2a), antagonistas da citocina (e. g., antagonistas da quimocina, tais como antagonistas de CCR1, CCR2, CCR3, CCR4 ou CCR8) ou inibidores da síntese da citocina ou inibidores da 5-lipoxigenase. Os inibidores de iNOS incluem os divulgados nos documentos WO 93/13055, WO 98/30537, WO 02/50021, WO 95/34534 e WO 99/62875.

Numa forma de realização a invenção proporciona a utilização dos compostos de fórmula (I) em combinação com um inibidor da fosfodiesterase 4 (PDE4). O inibidor específico para PDE4, útil neste aspecto da invenção, pode ser qualquer composto que seja conhecido por inibir a enzima PDE4 ou que seja verificado actuar como um inibidor da PDE4 e que sejam apenas inibidores da PDE4, não compostos que inibam outros membros da família da PDE, tais como PDE3 e PDE5, assim como PDE4.

Os compostos que podem ser de interesse incluem ácido cis-4-ciano-4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)ciclo-hexano-1-carboxílico, 2-carbometoxi-4-ciano-4-(3-ciclopropilmethoxy-4-

difluorometoxifenil)ciclo-hexan-1-ona e cis-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclo-hexan-1-ol].

Igualmente, ácido cis-4-ciano-4-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil)ciclo-hexano-1-carboxílico (também conhecido como cilomilast) e os seus sais, ésteres, profármacos ou formas físicas, o qual é descrito na Patente U.S. Nº. 5552438, concedida em 3 de Setembro de 1996.

Outros inibidores de PDE4 incluem AWD-12-281 de Elbion (Hofgen, N. et al., 15º. EFMC Int. Symp. Med. Chem., (6-10 de Setembro, Edimburgo) 1998, Abst. P. 98; CAS referência Nº 247584020-9); um derivado de 9-benziladenina denominado NCS-613 (INSERM); D-4418 de Chiroscience e Schering-Plough; um inibidor de PDE4 da benzodiazepina, identificado como CI-1018 (PD-168787) e atribuído a Pfizer; um derivado de benzodioxol, divulgado por Kyowa Hakko no documento WO 99/16766; K-34 de Kyowa Hakko; V-1 1294A de Napp (Landells, L. J. et al., Eur. Resp. J. [Ann. Cong. Eur. Resp. Soc. (19-23 Set, Geneva) 1998] 1998, 12 (Supl. 28): Abst P2393); roflumilast (CAS de referência Nº 162401-32-3) e uma ftalazinona (documento WO 99/47505) de Byk-Gulden; Pumafentrina, (-)-p-[(4aR\*,10bS\*)-9-etoxy-1,2,3,4,4a,10b-hexahidro-8-metoxi-2-metilbenzo[c][1,6]naftoridin-6-il]-N,N-di-isopropilbenzamida, que é um inibidor misto PDE3/PDE4 que foi preparado e publicado por Byk-Gulden, agora Altana; arofilina sob desenvolvimento por Almirall-Prodesfarma; VM554/UM565 de Vernalis; ou T-440 (Tanabe Seiyaku; Fuji, K. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., **284**(1): 162, (1998)) e T2585.

Nos pedidos de patente internacional publicados WO 04/024728 (Glaxo Group Ltd), WO 04/056823 (Glaxo Group Ltd) e

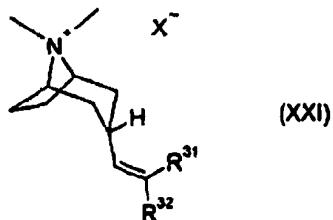
WO 04/103998 (Glaxo Group Ltd) são divulgados outros compostos que podem ser de interesse.

Ainda numa outra forma de realização, a invenção proporciona uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) e um agente anticolinérgico.

Agentes colinérgicos são os compostos que actuam como antagonistas nos receptores muscarínicos, em particular os compostos que são antagonistas dos receptores  $M_1$  e  $M_3$ , antagonistas duplos dos receptores  $M_1/M_3$  ou  $M_2/M_3$  ou pan-antagonistas dos receptores  $M_1/M_2/M_3$ . Os compostos representativos para administração via inalação incluem ipatrópio (por exemplo, sob a forma de brometo, CAS N° 22254-24-6, comercializado sob a designação Atrovent), oxitrópio (por exemplo, sob a forma de brometo, CAS N° 30288-75-0) e tiotrópio (por exemplo, sob a forma de brometo CAS 136310-93-5, comercializado sob a designação Spiriva). São também de interesse revatropato (por exemplo, sob a forma de bromidrato CAS N° 262586-79-8) e LAS-34273, que é descrito no documento WO01/04118. Compostos representativos para administração oral incluem pirenzepina (por exemplo, CAS N° 28797-61-7), darifenacina (por exemplo, CAS N° 133099-04-4 ou CAS N° 133099-07-7 para o bromidrato comercializado sob a designação Enablex), oxibutinina (por exemplo, CAS N° 5633-20-5, comercializada sob a designação Ditropan), terodilina (por exemplo, CAS N° 15793-40-5), tolterodina (por exemplo, CAS N° 124937-51-5 ou CAS 124937-52-6 para o tartarato, comercializado sob a designação Detrol), otilónio (por exemplo, sob a forma de brometo, CAS N° 26095-59-0, comercializado sob a designação Spasmomen), cloreto de tróspio (por exemplo, CAS N° 10405-02-4) e solifenacina (por exemplo, CAS

Nº 242478-37-1 ou CAS Nº 242478-38-2 ou succinato, também conhecido como YM-905 e comercializado com o nome Vesicare).

Outros agentes anticolinérgicos incluem compostos de fórmula (XXI) que são descritos no pedido de patente US 60/487981:



em que uma orientação particular da cadeia alquilo ligada ao anel tropano é endo;

R<sup>31</sup> e R<sup>32</sup> são, independentemente, seleccionados do grupo consistindo em grupos alquilo inferior de cadeia linear ou ramificada, tendo, de um modo preferido, desde 1 a 6 átomos de carbono, grupos cicloalquilo tendo desde 5 a 6 átomos de carbono, cicloalquil-alquilo, tendo 6 a 10 átomos de carbono, 2-tienilo, 2-piridilo, fenilo; fenilo substituído com um grupo alquilo, não tendo mais de 4 átomos de carbono e fenilo substituído com um grupo alcoxilo, não tendo mais de 4 átomos de carbono.

X<sup>-</sup> representa um anião associado com a carga positiva do átomo de N. X<sup>-</sup> pode ser mas não está limitado a cloreto, brometo, iodeto, sulfato, sulfonato de benzeno e sulfonato de tolueno, incluindo, por exemplo:

brometo de (3-*endo*)-3-(2,2-di-2-tieniletenil)-8,8-dimetil-8-azoniabiciclo[3.2.1]octano;

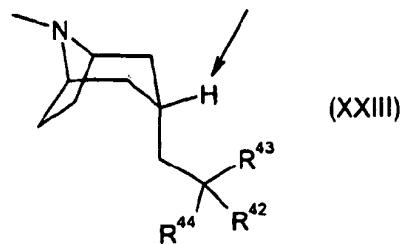
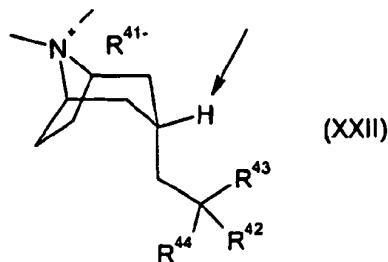
brometo de (3-*endo*)-3-(2,2-difeniletenil)-8,8-dimetil-8-azoniabiciclo[3.2.1]octano;

4-metilbenzenossulfonato de (3-*endo*)-3-(2,2-difeniletenil)-8,8-dimetil-8-azoniabiciclo[3.2.1]octano;

brometo de (3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-tienil)etenil]-8-azoniabiciclo[3.2.1]octano; e/ou

brometo de (3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-piridinil)etenil]-8-azoniabiciclo[3.2.1]octano.

Outros agentes anticolinérgicos incluem compostos de fórmula (XXII) ou (XXIII) que são divulgados no pedido de patente U.S. N° 60/511009:



em que:

o átomo H indicado está na posição exo;

$R^{41-}$  representa anião associado com a carga positiva do átomo de N.  $R1^-$  pode ser mas não está limitado a cloreto, brometo, iodeto, sulfato, benzenossulfonato e toluenossulfonato;

$R^{42}$  e  $R^{43}$  são independentemente seleccionados do grupo consistindo em grupos alquilo inferior de cadeia linear ou ramificada (tendo, de um modo preferido, desde 1 a 6 átomos de carbono), grupos cicloalquilo (tendo, desde 5 a 6 átomos de carbono), cicloalquilalquilo (tendo 6 a 10 átomos de carbono), heterocicloalquilo (tendo 5 a 6 átomos de carbono) e N ou O como heteroátomo, heterocicloalquilalquilo (tendo 6 a 10 átomos de carbono) e N ou O como heteroátomo, arilo, arilo opcionalmente substituído, heteroarilo e heteroarilo opcionalmente substituído;

$R^{44}$  é seleccionado do grupo consistindo em alquilo( $C_1-C_6$ ), cicloalquilo( $C_3-C_{12}$ ), heterocicloalquilo( $C_3-C_7$ ), alquil( $C_1-C_6$ )cicloalquilo( $C_3-C_2$ ), alquil( $C_1-C_6$ )heterocicloalquilo( $C_3-C_7$ ), arilo, heteroarilo, alquil( $C_1-C_6$ )-arilo, alquil( $C_1-C_6$ )-heteroarilo,  $-OR^{45}$ ,  $-CH_2OR^{45}$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-CH_2O(CO)R^{46}$ ,  $-CO_2R^{47}$ ,  $-CH_2NH_2$ ,  $-CH_2N(R^{47})SO_2R^{45}$ ,  $-SO_2N(R^{47})(R^{48})$ ,  $-CON(R^{47})(R^{48})$ ,  $-CH_2N(R^{48})CO(R^{46})$ ,  $-CH_2N(R^{48})SO_2(R^{46})$ ,  $-CH_2N(R^{48})CO_2(R^{45})$ ,  $-CH_2N(R^{48})CONH(R^{47})$ ;

$R^{45}$  é seleccionado do grupo consistindo em alquilo( $C_1-C_6$ ), alquil( $C_1-C_6$ )cicloalquilo( $C_3-C_{12}$ ), alquil( $C_1-C_6$ )heterocicloalquilo( $C_3-C_7$ ), alquil( $C_1-C_6$ )arilo, alquil( $C_1-C_6$ )heteroarilo;

$R^{46}$  é seleccionado do grupo consistindo em alquilo( $C_1-C_6$ ), cicloalquilo( $C_3-C_{12}$ ), heterocicloalquilo( $C_3-C_7$ ), alquil( $C_1-C_6$ )cicloalquilo( $C_3-C_{12}$ ), alquil( $C_1-C_6$ )heterocicloal-

quilo ( $C_3-C_7$ ), arilo, heteroarilo, alquil ( $C_1-C_6$ ) arilo, alquil ( $C_1-C_6$ ) heteroarilo;

$R^{47}$  e  $R^{48}$  são, independentemente, seleccionados do grupo consistindo em H, alquilo ( $C_1-C_6$ ), cicloalquilo ( $C_3-C_{12}$ ), heterocicloalquilo ( $C_3-C_7$ ), alquil ( $C_1-C_6$ ) cicloalquilo ( $C_3-C_{12}$ ), alquil ( $C_1-C_6$ ) heterocicloalquilo ( $C_3-C_7$ ), alquil ( $C_1-C_6$ ) arilo e alquil ( $C_1-C_6$ ) heteroarilo, incluindo, por exemplo: iodeto de (endo)-3-(2-metoxi-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

3-((Endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propionitrilo;

(Endo)-8-metil-3-(2,2,2-trifenil-etil)-8-aza-biciclo[3.2.1]octano;

3-((Endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propionamida;

Ácido 3-((Endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propiónico;

Iodeto de (endo)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1] octano;

Brometo de (endo)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

3-((Endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propan-1-ol;

*N*-Benzil-3-((endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propionamida;

Iodeto de (endo)-3-(2-carbamoil-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

1-Benzil-3-[3-((endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]-ureia;

1-Etil-3-[3-((endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]-ureia;

*N*-[3-((Endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]-acetamida;

*N*-[3-((Endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]-benzamida;

3-((Endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-di-tiofen-2-il-propionitrilo;

Iodeto de (endo)-3-(2-ciano-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

*N*-[3-((Endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]-benzenossulfonamida;

[3-((Endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.2]oct-3-il)2,2-difenil-propil]-ureia;

*N*-[3-((Endo)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]-metanossulfonamida; e/ou

Brometo de (endo)-3-{2,2-difenil-3-[(1-fenil-metanoil)-amino]-propil}-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano.

Os compostos anticolinérgicos particulares, os quais podem ser de utilização, incluem:

Iodeto de (endo)-3-(2-metoxi-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo [3.2.1]octano;

Iodeto de (endo)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1] octano;

Brometo de (endo)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-metil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

Iodeto de (endo)-3-(2-carbamoil-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo [3.2.1] octano;

Iodeto de (endo)-3-(2-ciano-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-metil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano; e/ou

Brometo de (endo)-3-{2,2-difenil-3-[(1-fenil-metanoil)-amino]-propil}-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano.

Deste modo a invenção proporciona, num aspecto adicional, uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, juntamente com um inibidor de PDE4.

Deste modo a invenção proporciona, num aspecto adicional, uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) ou um

seu sal farmaceuticamente aceitável, juntamente com um agonista do adrenorreceptor  $\beta_2$ .

Deste modo a invenção proporciona, num aspecto adicional, uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, juntamente com um anticolinérgico.

Deste modo a invenção proporciona, num aspecto adicional, uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, juntamente com um agente anti-inflamatório (tal como as classes de compostos aqui descritas).

Deste modo a invenção proporciona, num aspecto adicional, uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, juntamente com um corticosteróide, tais como propionato de fluticasona ou éster S-fluorometílico do ácido  $6\alpha,9\alpha$ -difluoro- $17\alpha$ -[(2-furanilcarbonil)oxi]- $11\beta$ -hidroxi- $16\alpha$ -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno- $17\beta$ -carbotiôico ou furoato de mometasona. Essas combinações podem ser de interesse particular para administração intranasal.

Deste modo a invenção proporciona, num aspecto adicional, uma combinação compreendendo um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, juntamente com um agonista do receptor A2a, tal como os compostos descritos no documento PCT/EP 2005/005651, tal como  $1R,3R,4S,5R,2'R,3'R,4'S,5'R)-2,2'$ -(trans-1,4-ciclo-hexanodi-ilbis[imino(2-[2-(1-metil-1H-imidazol-4-il)etyl]amino}-9H-purino-6,9-di-il)])bis[5-(2-etil-2H-tetrazol-5-il)tetra-hidro-3,4-furandiol].

As combinações referidas acima podem ser convenientemente apresentadas para utilização sob a forma de uma composição farmacêutica e, deste modo, as composições farmacêuticas compreendendo uma combinação como definida acima, juntamente com um diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável, representam um aspecto adicional da invenção.

Os compostos individuais dessas combinações podem ser administrados sequencial ou simultaneamente em composições farmacêuticas separadas ou combinadas. Adequadamente, os compostos individuais serão administrados simultaneamente numa composição farmacêutica combinada. As doses adequadas de agentes terapêuticos conhecidos serão facilmente avaliadas pelos especialistas na técnica.

Será evidente para um especialista na técnica que, quando adequado, pode(m) ser utilizado(s) outro(s) ingrediente(s) terapêutico(s) sob a forma de sais, por exemplo, como sais de metal alcalino ou de amina ou como sais de adição de ácido ou profármacos ou como ésteres, por exemplo, ésteres de alquilo inferior ou como solvatos, por exemplo, hidratos, para optimizar a actividade e/ou a estabilidade e/ou características físicas, tal como solubilidade do ingrediente terapêutico. Será também evidente que, quando adequado, os ingredientes terapêuticos podem ser utilizados sob forma opticamente pura.

Os compostos da invenção podem ser preparados pelos métodos descritos abaixo ou por métodos semelhantes. Deste modo, os seguintes intermediários e Exemplos servem para ilustrar a preparação dos compostos da invenção.

## **PARTE EXPERIMENTAL GERAL**

Podem ser utilizadas as seguintes abreviaturas ao longo dos intermediários e exemplos:

DCM: diclorometano

DIPEA: *N,N*-di-isopropiletilamina

DMF: *N,N*-dimetilformamida

EtoAc: acetato de etilo

EtoH: etanol

h: hora(s)

HBTU: hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurônio

HCl: ácido clorídrico

HPLC: Cromatografia Líquida de Elevado Desempenho

L: litros

LCMS: Espectrometria de Massa de Cromatografia Líquida

MDAP: purificação por HPLC autopreparativa dirigida a massa

MeOH: metanol

min: minuto(s)

mL: mililitros

NaCl: cloreto de sódio

NaHCO<sub>3</sub>: hidrogenocarbonato de sódio

NaOH: hidróxido de sódio

NMP: 1-metil-2-pirrolidinona

RT: tempo de retenção

TBTU: tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N,'N,-tetrametilurónio

THF: tetra-hidrofurano

Sílica gel flash refere-se ao Art N° 9385 Merck; sílica gel refere-se ao Art N° 7734 Merck. Os cartuchos SCX são colunas de Permuta Iónica SPE, em que a fase estacionária é ácido benzenossulfónico polimérico. Estes podem ser utilizados para isolar aminas.

Os cartuchos SCX2 são colunas de Permuta Iónica SPE, em que a fase estacionária é ácido propilsulfónico polimérico. Estes podem ser utilizados para isolar aminas.

As soluções orgânicas podem ser secas, por exemplo, sobre sulfato de magnésio ou sulfato de sódio.

As reacções podem ser realizadas se pretendido, sob azoto.

A LCMS foi realizada numa coluna Supelcosil LCABZ+PLUS (3,3 cm x 4,6 mm ID) eluindo com HCO<sub>2</sub>H a 0,1% e acetato de amónio 0,01 M em água (solvente A) e HCO<sub>2</sub>H a 0,05% água a 5% em acetonitrilo (solvente B), utilizando o seguinte gradiente de eluição 0,0-7 min B a 0%, 0,7-4,2 min B a 100%, 4,1-5,3 min B a 0%, 5,3-5,5 min B a 0% numa velocidade de fluxo de 3 mL/min. Os espectros de massa foram registados num espectrómetro Fisons VG Platform, utilizando electrovaporização (ES+ve e ES-ve) em modo positivo e negativo.

O Flashmaster II é um sistema de cromatografia flash automatizado multi-utilizador, disponível de Argonaut Technologies Ltd., que utiliza cartuchos SPE de fase normal (2 g a 100 g) descartáveis. Este proporciona mistura de solvente quaternário em linha, para possibilitar a realização de métodos de gradiente. As amostras são alinhadas, utilizando um programa informático multi-funcional de acesso livre que controla os solventes, taxas de fluxo, perfil de gradiente e condições de recolha. O sistema está equipado com um detector uv Knauer de comprimento de onda variável e dois colectores de fracções Gilson FC204, permitindo corte de pico, recolha e rastreio automatizado.

O método XRPD que foi utilizado para analisar formas cristalinas dos compostos, é como segue:

Fabricante	PANalytical-Holanda
Instrumento	X'Pert Pro
Tipo Difractómetro	DY1850
Ânodo do tubo	Cu
Comprimento onda K-Alfa1 (Å°)	1,54056
Comprimento onda K-Alfa2 (Å°)	1,54439
Razão Alfa 1:2	0,50000
Fenda divergência	Fenda Div. Prog.
Fenda recebimento	Fenda Rec. Prog.
Voltagem do gerador (kV)	40
Corrente do Tubo (mA)	45
Detector	X'celerator
Dados gama Ângulo (°2 θ)	2,0-40,0
Tipo de rastreio	Contínuo
Tamanho do passo de rastreio	0,0167
Tempo do passo de rastreio (segundos)	190,5
Preparação da amostra	Pastilha de Silício Flush

A análise XRPD foi realizada num difractómetro de raios-X de pó PANalytical X'Pert Pro, modelo X' Pert Pro PW3040/60, número de série DY 1850, utilizando um detector X'Celerator. As condições de aquisição foram: radiação: Cu K $\alpha$ , tensão do gerador: 40 kV, corrente do gerador: 45 mA, ângulo de partida: 2,0 °2θ, ângulo de chegada: 40,0 °2θ, tamanho do passo: 0,0167 °2θ, tempo por passo: 190,5 segundos. A amostra foi preparada por aplicação de algumas miligramas de amostra numa placa de pastilha de Silício (fundo zero), resultando numa camada delgada de pó. As posições dos picos foram medidas utilizando o software Highscore.

Foram obtidos termogramas DSC utilizando um calorímetro TA Q1000, número de série 1000-0126. A amostra foi pesada dentro de um cadiinho de alumínio, foi colocada uma tampa de cadiinho no topo sem selar a panela. A experiência foi realizada utilizando uma velocidade de aquecimento de 10 °C/min<sup>-1</sup>.

## **Intermediário 1**

### **1-[ (3-cloropropil)oxi]-4-iodobenzeno**

Foi aquecida uma mistura de *p*-iodofenol (20 g, 91 mmol), carbonato de potássio (25,2 g, 182 mmol) e 1-bromo-3-cloropropano (comercialmente disponível, por exemplo, de Aldrich) (18 g, 114 mmol) em 2-butanona anidra (300 mL) sob refluxo durante 72 h, foi arrefecida até à temperatura ambiente, foi filtrada e foi evaporada até à secura. O resíduo resultante foi purificado por filtração SPE (cartucho de sílica de 70 g, eluindo com ciclo-hexano-acetato de etilo 20:1) para originar o composto do título (24,9 g); <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ 7,5 (2H, d), 6,7 (2H, d), 4,1 (2H, t), 3,8 (2H, t), 2,2 (2H, q).

## **Intermediário 2**

### **1-{3-[ (4-iodofenil)oxi]propil}-3,3-dimetilpiperidina**

Foi aquecida uma mistura de 1-[ (3-cloropropil)oxi]-4-iodobenzeno (por exemplo, como preparado para o Intermediário 1) (6,5 g, 20 mmol), 3,3-dimetilpiperidina (comercialmente disponível, por exemplo, de Alfa) (3,39 g, 30 mmol), iodeto de sódio (2,99 g, 20 mmol) e carbonato de potássio (3,3 g, 20 mmol)

em acetonitrilo anidro (100 mL) sob refluxo durante a noite. Foi permitido à mistura arrefecer até à temperatura ambiente, foi evaporada até à secura e foi arrefecida com água e foi extraída com diclorometano, foi seca, filtrada e concentrada para originar o composto do título (8 g) LCMS RT = 2,37 mm, ES+ve  $m/z$  374 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

### **Intermediário 3**

#### **Carboxilato de 1,1-dimetiletil 4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi} fenil)-4-hidroxi-1-piperidino**

Foi arrefecida uma solução de 1-{3-[ (4-iodofenil)oxilpropil}-3,3-dimetilpiperidina (por exemplo como preparada para o Intermediário 2) (3 g, 8,02 mmol) em THF anidro (30 mL) a -78 °C, sob azoto e foi tratada com <sup>n</sup>BuLi (solução 1,6 M em hexano, 6,02 mL, 9,63 mmol), após 0,5 h, foi adicionada, gota a gota, uma solução de *N*-Boc-4-oxopiperidina (comercialmente disponível, por exemplo, de Aldrich) (1,99 g, 10 mmol) em THF (10 mL). Foi permitido à mistura aquecer até a temperatura ambiente e foi agitada durante a noite. A mistura foi arrefecida com solução de cloreto de amónio e foi extraída com EtOAc, foi seca sobre sulfato de magnésio, foi filtrada e foi concentrada. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia Flash Master II utilizando um cartucho de 100 g, eluindo com ciclo-hexano a 100% durante 5 minutos, ciclo-hexano a 100% até EtOAc a 100% durante 15 minutos, EtOAc a 100% até DCM a 100% durante 5 minutos e DCM a 100% a MeOH a 30% (contendo trietilamina a 1%) em DCM durante 40 minutos, depois foi mantido constante durante 5 min, monitorizando a 254 nm para originar o

*composto do título* (1,25 g) LCMS RT = 2,48 mm, ES+ve m/z 447  
 $(M+H)^+$

## **Intermediário 4**

### **Dicloridrato de 3-dimetil-1-(3-{[4-(4-piperidinil)fenil]oxi}propil)piperidina**

Foi tratada uma solução de carboxilato de 1,1-dimetiletil 4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-4-hidroxi-1-piperidina (por exemplo, como preparada para o Intermediário 3) (1,25 g, 2,8 mmol) em DCM anidro (10 mL) com trietilsilano (2,2 mL, 13,7 mmol) e foi agitada, à temperatura ambiente, sob azoto durante 0,5 h. A solução foi arrefecida até -78 °C e foi adicionado ácido trifluoroacético (3 mL). Deixou-se a reacção aquecer até à temperatura ambiente e foi agitada, durante a noite. A mistura foi evaporada até à secura e foi co-evaporada com tolueno duas vezes. O resíduo resultante foi purificado num cartucho SCX-2 (20 g) eluindo com MeOH, seguido por solução de amónia 2 M em MeOH para originar um óleo espesso amarelo que foi tratado com cloreto de hidrogénio 2 M em éter, foi evaporado para originar o *composto do título* (886 mg), contendo algum dicloreto de 4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1,2,3,6-tetra-hidropiridina, depois foi hidrogenada uma alíquota desta mistura (0,54 g) em EtOH (15 mL) à temperatura ambiente utilizando paládio sobre carbono a 10% em peso (0,5 g) à pressão atmosférica durante 2 h. O catalisador foi removido por filtração através de Celite, foi lavado com etanol e o filtrado foi evaporado até à secura para originar o *composto do título* (448 mg). LCMS RT = 1,77 min, ES+ve m/z 331  $(M+H)^+$ .

## **Intermediário 5**

### **Ácido 4-[*(1E*)-3-(Metiloxi)-3-oxo-1-propen-1-il]-1-naftaleno carboxílico**

a) Foi aquecida uma mistura de ácido 4-bromo-1-naftalenocarboxílico (que pode ser preparado pelos métodos descritos em *Can. J. Chem.* 1981, **59**, 2629-41) (100 mg, 0,4 mmol), trietilamina (0,42 mL, 3 mmol), acetato de paládio (12 mg, 0,04 mmol), trifenilfosfina (13 mg, 0,04 mmol) e metilocrilato (1,19 mL, 0,11 mmol) em DMF anidro (8 mL), a 100 °C, durante 4 h sob azoto. Deixou-se à mistura arrefecer até à temperatura ambiente, foi evaporada até à secura sob pressão reduzida e purificada por cartucho de aminopropilo, eluindo com MeOH, seguido por HCl 4 M em dioxano e, depois, amónia 2 M em MeOH. As fracções de amónia em metanol foram combinadas para originar um resíduo que foi repartido entre DCM e água, as camadas DCM foram combinadas, secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas para originar o *composto do título* (99 mg, 97%). LCMS RT = 3,25 min, ES-ve m/z 255 ( $M-H^-$ ).

b) Foi aquecida uma mistura de ácido 4-bromo-1-naftalenocarboxílico (9,42 g), trietilamina (25 mL), acetato de paládio (0,85 g), trifenilfosfina (0,98 g) e metilocrilato (9,68 g) em DMF anidro (95 mL), a 100 °C, durante 1 h sob azoto. Deixou-se à mistura arrefecer até à temperatura ambiente, foi filtrada através de Celite e lavada com éter dietílico/água. O filtrado foi extraído com éter, depois com EtOAc. A fase aquosa foi acidificada para aproximadamente pH 1 com cloreto de hidrogénio aquoso 2 M. O sólido foi filtrado, foi lavado com

água e seco a 40 °C sob vácuo, para originar o composto do título (8,2 g).

### **Intermediário 6**

#### **Ácido 4-[3-(metiloxi)-3-oxopropil]-1-naftalenocarboxílico**

a) É hidrogenado ácido 4-[(1*E*)-3-(metiloxi)-3-oxo-1-propen-1-il]-1-naftaleno carboxílico (por exemplo, como preparado para o Intermediário 5) (1,73 g, 5,09 mmol) sobre paládio sobre carbono (10% em peso, 350 mg) em etanol (50 mL) durante 4 h. O catalisador é removido por filtração através de Celite e a mistura é hidrogenada novamente com catalisador fresco (350 mg) durante a noite. A mistura é filtrada através de Celite e é concentrada para originar o composto do título.

b) Foi hidrogenado ácido 4-[(1*E*)-3-(metiloxi)-3-oxo-1-propen-1-il]-1-naftalenocarboxílico (por exemplo, como preparado para o Intermediário 5) (4 g, 5,09 mmol) em 500 mL de etanol sobre paládio sobre carbono (10% em peso, 1 g) durante cerca de 2 h. O catalisador foi removido por filtração através Celite, o solvente foi evaporado e o sólido resultante foi deixado sob vácuo, durante a noite para originar o composto do título (3,8 g). ES+ve m/z 258 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

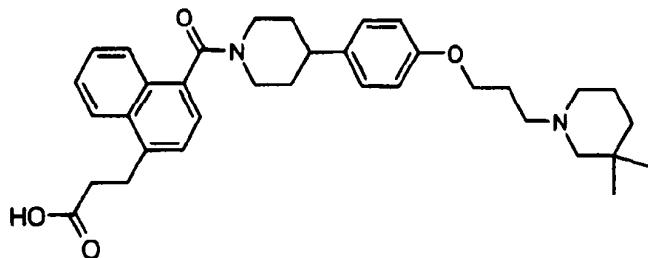
## **Intermediário 7**

### **3-(4-{[4-(4-{[3,3-Dimetil-1-piperidinil]propil}oxi)fenil}-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanoato de metilo**

Foi tratada uma solução de ácido 4-[3-(metiloxi)-3-oxopropil]-1-naftalenocarboxílico (por exemplo, como preparado para o Intermediário 6) (0,197 g, 0,76 mmol) em DMF anidro (2 mL) com HBTU (0,29 g 0,77 mmol), diisopropiletilamina (0,6 mL, 3,82 mmol), a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 20 minutos, foi adicionado cloridrato de 3,3-dimetil-1-(3-{[4-(4-piperidinil)fenil]oxi}propil)piperidina (por exemplo como preparado para o Intermediário 4) (250 mg, 0,63 mmol) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 4 h. A mistura foi evaporada até à secura e foi purificada num cartucho SCX-2 (5 g) eluindo com MeOH, seguido por solução de amónia 2 M em metanol para originar o composto do título (238 mg). LCMS RT = 2,79 min, ES+ve m/z 571.

## **Exemplo 1**

### **Ácido 3-(4-{[4-(4-{[3,3-dimetil-1-piperidinil]propil}oxi)fenil}-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico, ácido fórmico (1: 1)**



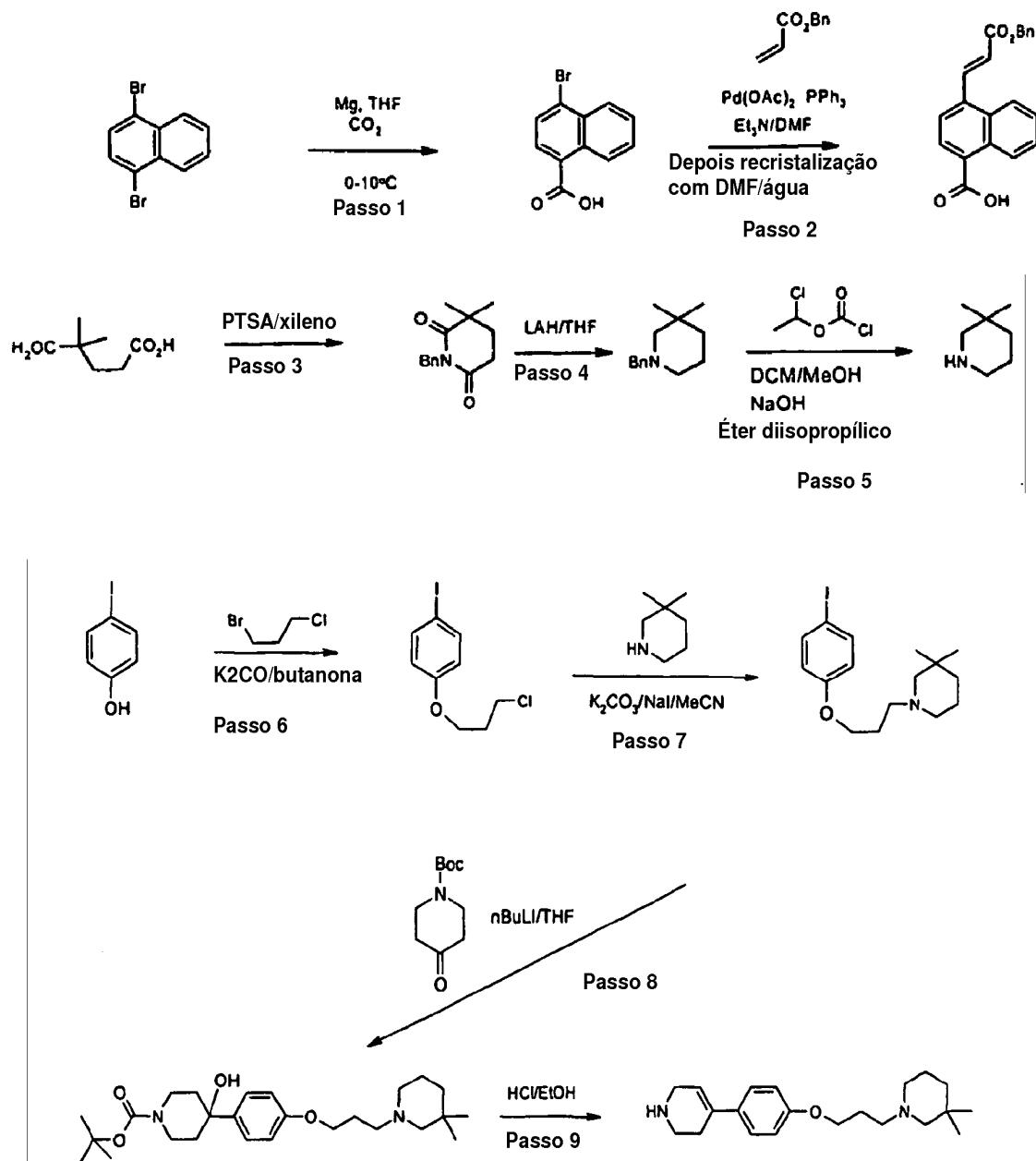
Foi aquecida uma mistura de 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanoato de metilo (por exemplo, como preparado no Intermediário 7) (238 mg, 0,42 mmol) e hidróxido de potássio (117 mg, 2,08 mmol), em metanol (15 mL) - água (1 mL) sob refluxo durante aproximadamente 2 h, foi arrefecida até à temperatura ambiente, evaporada e o resíduo purificado por HPLC auto-preparativa dirigida para massa, para originar o composto do título (60 mg). LCMS RT = 2,73 min, ES+ve m/z 557 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

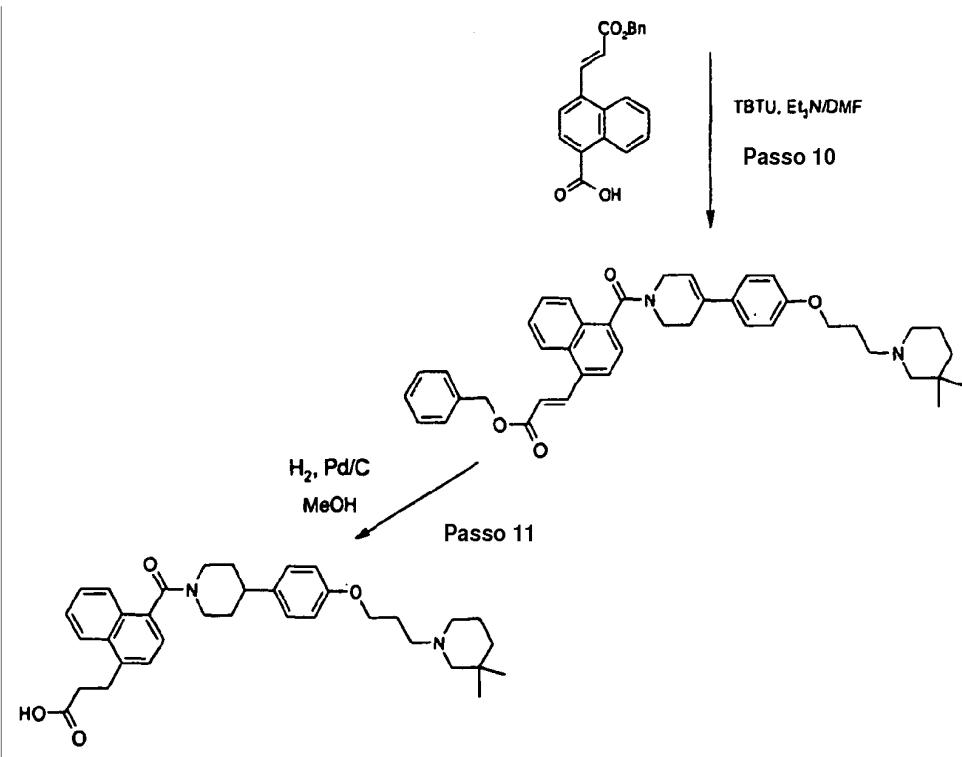
<sup>1</sup>H RMN δ (250 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>, 120 °C) 8,19 (1H, s), 8,18-8,12 (1H, m), 7,89-7,82 (1H, m), 7,64-7,54 (2H, m), 7,44 (1H, d,  $J$  = 7,5 Hz), 7,37 (1H, d,  $J$  = 7,5 Hz), 7,18-7,12 (2H, m), 6,89-6,82 (2H, m), 4,02 (2H, t,  $J$  = 6,5 Hz), 3,38 (2H, t,  $J$  = 7,5 Hz), 3,10-2,97 (2H, m), 2,84-2,73 (1H, m), 2,69 (2H, t,  $J$  = 7,5 Hz), 2,38 (2H, t,  $J$  = 7,0 Hz), 2,34-2,27 (2H, m), 2,03 (2H, s), 1,90-1,74 (4H, m), 1,66-1,48 (4H, m), 1,23-1,17 (2H, m), 0,92 (6H, s).

## **Exemplo 2**

**Ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico, base livre**

O composto pode ser preparado de acordo com os seguintes esquemas reaccionais:





em que

Bn representa benzilo

BOC representa *t*-butoxicarbonilo

### **Intermediário 8 (Passo 0)**

#### **1, 4-Dibromonaftaleno**

É adicionada uma solução de bromo (120,9 mL, 3 eqv) em clorofórmio (400 mL), durante 6 h, a uma solução de naftaleno (100 g) em clorofórmio (200 mL) e DMF (19 mL) a 0-10 °C. A reacção é agitada a 0-30 °C (por exemplo, a 20-30 °C) durante até cerca de 24 h e, depois, é adicionado clorofórmio (100 mL).

A mistura de reacção é lavada com bissulfito de sódio aquoso (1 x 600 mL), depois, é lavada com bicarbonato de sódio aquoso a 5% (1 x 300 mL), depois, com água (300 mL), depois, é evaporada. O resíduo é cristalizado a partir de metanol (2600 mL), por aquecimento a 65-70 °C e arrefecimento até 20-30 °C, durante 3-4 h. O produto é filtrado e é seco sob vácuo a 50-55 °C (peso seco 117 g).

### **Intermediário 9 (Passo 1)**

#### **Ácido 4-bromo-1-naftalenocarboxílico**

É adicionada uma solução de 1,4-dibromonaftaleno (100 g) em THF (500 mL) a magnésio (8,49 g) e iodo (vestígios) em THF (200 mL) durante cerca de 2 h e é aquecida a 65-75 °C, durante até 7 h (tipicamente 3-4 h) para preparar uma solução de reagente de Grignard. A solução é arrefecida até 0-10 °C e é passado dióxido de carbono gasoso através da solução durante 10-16 h. É lentamente adicionada água (100 mL) e após agitação, durante cerca de 30 min, a 0-10 °C, é acidificada (tipicamente a pH 2-3) com ácido clorídrico. A camada de THF é separada e é concentrada. O resíduo é adicionado a carbonato de sódio aquoso (20%, 500 mL) e é lavado com tolueno (2 x 200 mL). A solução aquosa é tratada com ácido clorídrico (tipicamente a pH 2-3). O produto é filtrado, lavado com água e seco sob vácuo a cerca de 90-100 °C durante cerca de 12 h (peso seco 60 g).

### **Intermediário 10 (Passo 2)**

#### **Ácido 4-{(1*E*)-3-oxo-3-[*(fenilmethyl)oxi*]-1-propen-1-il}-1-naftalenocarboxílico**

É aquecida uma mistura de ácido 4-bromo-1-naftalenocarboxílico (100 g), benzilacrilato (96,8 g), trifenilfosfina (10,2 g) acetato de paládio(II) (2 g), trietilamina (258 mL) e DMF (600 mL) a 90-100 °C durante 4-12 h (tipicamente 10-12 h). São adicionadas mais duas porções de acetato de paládio (II) (20 g) em intervalos de quatro horas durante o período de agitação. A mistura é tratada com carvão (3 x 15 g) a 50-80 °C (tipicamente 70-80 °C) filtrando a 40-45 °C após cada aplicação. O DMF é então destilado a 80-90 °C sob vácuo e o resíduo é arrefecido a 25-35 °C. São adicionados diclorometano (100 mL) e água (100 mL) ao resíduo e a mistura é acidificada com ácido clorídrico concentrado e é agitada a 20-35 °C durante cerca de 30 min. A mistura é filtrada e o produto sólido é seco. O resíduo é dissolvido numa mistura de DMF (600 mL), seguido por água (400 mL) a 90-100 °C e é agitada durante 1-1,5 h. A solução é filtrada a 80-85 °C, é arrefecida até 20-35 °C e agitada durante cerca de 2 h. O produto é filtrado e seco (peso seco 43 g).

### **Intermediário 11 (Passo 3)**

#### **3,3-Dimetil-1-(fenilmethyl)-2,6-piperidinodiona**

É tratada uma solução de ácido dimetilglutárico (250 g) em xileno (1,87 L) com ácido *p*-tolueno sulfônico (5,9 g) e é aquecida, sob refluxo. É adicionada uma solução de benzilamina

(165,5 g) em xileno (6 mL) durante cerca de 2 h e o refluxo é mantido durante cerca de 24 h, removendo a água azeotropicamente ao longo do processo. A mistura é arrefecida e o solvente é removido por destilação sob pressão reduzida para originar o produto pretendido (peso seco 321 g).

### **Intermediário 12 (Passo 4)**

#### **3,3-Dimetil-1-(fenilmethyl)piperidina**

É adicionada uma solução de 3,3-dimetil-1-(fenilmethyl)-2,6-piperidinodiona (200 g) em THF (400 mL) durante 1-4 h (por exemplo 1-2 h) a -5 a +5 °C a uma solução de hidreto de alumínio e lítio (68 g) em THF (2 L). A mistura é então aquecida até 20-35 °C durante cerca de 1-2 h e, depois, sob refluxo durante 24-30 h. A mistura é então arrefecida até -5 a +5 °C e é lentamente adicionado acetato de etilo (280 mL), seguido por sulfato de sódio aquoso (257 g em 1,4 L de água) e mais acetato de etilo (1 L). A mistura é agitada a 25-35 °C durante cerca de 1 h. A camada orgânica é filtrada através de um leito Hyflow, é lavada com acetato de etilo (2 x 2 L). As camadas do filtrado são combinadas, depois, são lavadas com solução salina (1 L) e evaporadas para originar o produto. O produto pode ser purificado adicionalmente por cromatografia em coluna, eluindo com misturas de éter de petróleo e acetato de etilo ou por destilação fraccionada (peso seco 105 g).

### **Intermediário 13 (Passo 5)**

#### **3,3-Dimetilpiperidina**

É adicionada 3,3-dimetil-1-(fenilmethyl)piperidina (112 g) durante 15 min a uma solução de 1-cloroetilcloroformiato (94,6 g) em diclorometano (560 mL), arrefecida até 0-15 °C (tipicamente 0-5 °C, e a mistura de reacção é agitada durante cerca de 1 h, permitindo o aquecimento a 20-30 °C. A reacção é aquecida, sob refluxo, durante 2-20 h (por exemplo, cerca de 2 h), seguidamente o solvente é removido sob vácuo. É adicionado metanol (560 mL) ao resíduo a 5-30 °C (tipicamente a 20-30 °C), depois, a mistura é aquecida, sob refluxo durante 3-20 h (por exemplo 3-4 h), depois, é arrefecida até 5-30 °C e é concentrada. São adicionados éter dietílico (400 mL) e isopropanol (20 mL), seguidamente a mistura é agitada a 25-35 °C durante 30 min-2 h. O material sólido é filtrado e lavado com éter dietílico (200 mL). O sólido é dissolvido em água (336 mL) e éter dietílico (560 mL) e, depois, é adicionado hidróxido de sódio 10 M (200 mL) a 20-30 °C. As camadas são separadas e a camada aquosa é extraída com éter dietílico (560 mL). As soluções de éter combinadas são concentradas e o produto é purificado por destilação fraccionada (peso seco 41 g).

### **Intermediário 1 (Passo 6)**

#### **1-[ (3-Cloropropil)oxi]-4-iodobenzeno**

É agitada uma mistura de 4-iodofenol (250 g), carbonato de potássio (313,6 g) e 2-butanona (1500 mL) durante 15-20 min. É adicionado 1-bromocloropropano (357,71 g) durante cerca de

10 minutos a 25-30 °C. Após agitação durante mais 10 min, a massa de reacção é aquecida, sob refluxo (cerca de 80-85 °C) durante 22-24 h. Após arrefecimento até 25-30 °C, a mistura é filtrada, lavando o bolo com 2-butanona (750 mL). O filtrado é concentrado sob pressão reduzida a 50-60 °C. É adicionado acetato de etilo (3750 mL) e é agitado durante 10-20 min para obter uma solução límpida. Esta é lavada com solução de hidróxido de sódio 2 N (1250 mL), água (2500 mL) e cloreto de sódio aquoso (2500 mL) e, depois, é seca com sulfato de sódio. O solvente é concentrado sob pressão reduzida a 50-60 °C. É adicionado *n*-heptano (250 mL) e é agitado durante cerca de 20 min a 25-30 °C. A solução é, depois, arrefecida até -5 a -10 °C e é agitada durante cerca de 30 min. O sólido é filtrado, lavado com *n*-heptano arrefecido (125 mL, 0-5 °C) e é permitida a secagem do sólido.

#### Isolamento da Segunda Recolha:

O filtrado e as lavagens combinados são concentrados e é adicionado *n*-heptano (70 mL) e a mistura é agitada durante cerca de 20 min a 25-30 °C. A solução é arrefecida até -5 a -10 °C, é agitada durante cerca de 35 min e o sólido é filtrado e lavado com *n*-heptano arrefecido (30 mL, 0-5 °C). Os produtos de ambas as recolhas foram secos a 35-40 °C sob vácuo durante 6-10 h, para originar o composto do título (285 g).

## **Intermediário 2 (Passo 7)**

### **1-{3-[ (4-Iodofenil)oxi]propil}-3,3-dimetilpiperidina**

É agitada uma mistura de 1-[(3-cloropropil)oxi]-4-iodobenzeno (100 g) e acetonitrilo (600 mL) durante cerca de 5 min a 25-35 °C, depois, é adicionado carbonato de potássio (93,07 g) seguido por 3,3-dimetilpiperidina (49,53 g) durante cerca de 10 min. É adicionado iodeto de potássio (2,24 g), seguidamente a mistura é agitada durante cerca de 15 min, antes de ser aquecida a 78-82 °C durante 22-24 h. A mistura de reacção é arrefecida até 25-35 °C e o resíduo sólido é filtrado e é lavado com acetonitrilo (200 mL). O filtrado e as lavagens são concentrados sob pressão reduzida a 50-60 °C, para originar um líquido espesso que é agitado com *n*-heptano (100 mL) durante cerca de 30 min a 25-30 °C. A solução é, depois, arrefecida até -5 a 10 °C e agitada durante cerca de 30 min. O sólido é filtrado, lavado com *n*-heptano arrefecido (50 mL, 0-5 °C), depois, é seco a 35-40 °C sob vácuo durante 6-10 h para originar o composto do título (97 g).

#### Isolamento da segunda recolha:

O filtrado e lavagens combinados são concentrados num xarope espesso e é adicionado *n*-heptano (50 mL) e é agitado durante cerca de 20 min a 25-30 °C. A solução é arrefecida até -5 a -10 °C, é agitada durante cerca de 40 min, depois, o sólido é filtrado e é lavado com *n*-heptano arrefecido (40 mL, 0-5 °C). O sólido é seco a 35-40 °C sob vácuo, durante 6-10 h para originar o composto do título. O peso total seco do composto do título (das primeira e segunda recolhas) é de 92,1 g.

### **Intermediário 3 (Passo 8)**

#### **1,1-Dimetiletil 4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-4-hidroxi-1-piperidinacarboxilato**

É agitada uma solução de 1-{3-[ (4-iodofenil)oxi]propil}-3,3-dimetilpiperidina (25 g) em THF (125 mL) durante cerca de 15 min, depois, é arrefecida até 0-5 °C. É adicionada solução de cloreto de isopropilmagnésio (70,5 mL, 1,9 M) a 0-5 °C durante cerca de 40 min, depois, a mistura é agitada a 0-5 °C durante 2-3 h. A mistura é, depois, arrefecida até -78 a -80 °C e é adicionada uma solução pré-arrefecida (-20 a -30 °C) de *N*-Boc-piperidinona (16 g) em THF (125 mL) durante cerca de 1-2 h e a mistura de reacção é agitada durante cerca de 1,5 h a -78 a -80 °C. Deixa-se a mistura de reacção aquecer até 25-30 °C, seguidamente é agitada durante 23-24 h. É adicionada solução saturada de cloreto de amónio (375 mL) a 25-30 °C, seguida por acetato de etilo (500 mL) e a mistura é agitada durante cerca de 50 min. A camada aquosa é extraída com acetato de etilo (250 mL). As camadas orgânicas combinadas são lavadas com água (375 mL), secas sobre sulfato de sódio e concentradas sob pressão reduzida para originar o composto do título bruto (30,3 g).

### **Intermediário 14 (Passo 9)**

#### **4-(4-{[3-(3,3-Dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)- 1,2,3,6-tetra-hidropiridina**

É arrefecida uma mistura de 1,1-dimetiletil-4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-4-hidroxi-1-piperidinacarboxilato bruto (100 g) em 95% etanol (500 mL) até 5-10 °C e é adicionado cloreto de hidrogénio concentrado (300 mL) a 5-10 °C durante cerca de 45 min, seguidamente é agitada durante cerca de 15 min. A mistura é, depois, aquecida, sob refluxo (cerca de 80-85 °C) durante cerca de 6 h. A mistura é concentrada sob vácuo a 50-60 °C, depois, é adicionada água (500 mL). A mistura é, depois, arrefecida até 5-10 °C e o pH é ajustado para pH 10-12 com solução de hidróxido de sódio 2 N a 5-10 °C. A mistura é aquecida a 25-35 °C e é extraída com acetato de etilo (500 mL, depois, 2 x 200 mL). As camadas de acetato de etilo combinadas são lavadas com água (200 mL), seguida por solução aquosa de cloreto de sódio a 10% (200 mL). O solvente é removido sob vácuo e o produto é purificado por cromatografia em coluna (géis de sílica com malha 100-200), utilizando um gradiente linear de MeOH/DCM 0-70% para originar o composto do título (21,7 g).

## **Intermediário 15 (Passo 10)**

**Fenilmetil (2E)-3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-3,6-di-hidro-1(2H)-piridinil]carbonil}-1-naftalenil)-2-propenoato**

É agitada uma mistura de ácido 4-{(1E)-3-oxo-3-[ (fenilmetil)oxi]-1-propen-1-il}-1-naftalenocarboxílico (63,3 g) em acetato de etilo (570 mL) a 25-35 °C durante 10-15 min. É adicionada trietilamina (73,6 g) durante cerca de 10 min a 25-35 °C, seguida por TBTU (61,2 g) durante cerca de 5 min a 25-35 °C. A mistura é agitada durante cerca de 35 min e, depois, é arrefecida até 0-10 °C. É adicionada uma solução de 4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1,2,3,6-tetra-hidropiridina (57 g) em acetato de etilo (570 mL) durante cerca de 15 min a 0-10 °C e é agitada durante cerca de 15 min. A temperatura é elevada lentamente até 25-35 °C e é agitada durante 2,5-3,5 h. São adicionados acetato de etilo (570 mL) e solução de hidrogenocarbonato de sódio saturada (570 mL) e é agitada durante cerca de 70 min a 25-35 °C. A camada aquosa é separada e a camada de acetato de etilo é lavada com água (570 mL) e solução aquosa de cloreto de sódio (570 mL). A camada orgânica é concentrada sob pressão reduzida abaixo de cerca de 55 °C para originar um líquido espesso. É adicionada acetona (114 mL) e a solução é arrefecida até 25-35 °C e é agitada durante cerca de 20 min. É lentamente adicionado *n*-heptano (114 mL) e a mistura é, depois, arrefecida até 0-5 °C, é agitada durante cerca de 60 min e o sólido é filtrado e é lavado com *n*-heptano arrefecido (57 mL). O sólido é seco sob vácuo a 35-40 °C, para originar o composto do título (47 g).

### **Exemplo 2 (Passo 11)**

**Ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico, base livre**

É adicionada uma solução de fenilmetil-(2E)-3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-3,6-di-hidro-1(2H)-piridinil]carbonil}-1-naftalenil)-2-propenoato (47 g) em metanol (705 mL) a um frasco de hidrogenação. É adicionada Pd/C a 10% (11,75 g, 50% de humidade) e a mistura é aquecida a 40-45 °C sob pressão de hidrogénio de 60-70 psi, é agitada durante cerca de 2-3 h. A mistura de reacção é arrefecida até 25-30 °C e filtrada através de Celite, lavando com MeOH (235 mL). O filtrado é concentrado sob vácuo e a uma temperatura abaixo de cerca de 60 °C, para originar o composto do título (37,2 g). A análise RMN confirmou que o composto é o composto do título.

### **Exemplo 3**

**Ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico, sal clorídrico**

Foi adicionado ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico (321,2 g) a isopropanol (1,93 L) a 30-35 °C sob azoto durante 5-10 min e foi agitado a cerca de 300-400 rpm. Foi adicionado mais isopropanol (1,61 L) e a mistura foi aquecida até 65-70 °C, para originar uma solução que foi, depois, arrefecida até 40-45 °C e foi agitada a cerca de

300 rpm. Foi adicionado ácido clorídrico concentrado (50 mL) durante cerca de 1 h e após cerca de 40 min, foi adicionado um inóculo de sal cloridrato do ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico autêntico, (1,6 g) sob a forma de uma pasta em isopropanol (cerca de 10-12 mL). A mistura foi, depois, arrefecida até cerca de 15 °C durante cerca de 4 h. A mistura foi, depois, agitada a esta temperatura durante a noite. A suspensão foi filtrada, o sólido foi lavado com isopropanol (1,2 L e 0,6 L), depois, o sólido foi seco durante cerca de 4 h, depois, foi seco sob vácuo durante 21 h a 50-60 °C para originar o composto do título (peso seco 236 g).

O inóculo foi preparado como se segue: A base livre (300 mg) foi dissolvida em isopropanol (3,3 mL) com aquecimento. Foi adicionado cloreto de hidrogénio concentrado (37%, 0,0465 mL, 1,05 equivalentes) à solução de base livre à temperatura ambiente. A reacção foi deixada em ciclo de temperatura (0-40 °C) durante um fim de semana. O sólido branco foi isolado, lavado com isopropanol e seco ao ar durante cerca de 2 h antes de ser seco no forno de vácuo durante a noite a 40 °C (peso 137 mg).

Na Figura 1 é mostrado um padrão XRPD representativo para o sal cloridrato do ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico (Exemplo 3).

Os ângulos de pico são apresentados na tabela abaixo.

<b>2θ/°</b>	<b>Espaçamento d-/Å</b>
2,2	39,7
4,2	20,8
6,3	14,0
8,4	10,5
10,5	8,4
12,6	7,0
15,5	5,7
16,0	5,5
17,0	5,2
18,1	4,9
18,4	4,8
18,9	4,7
20,9	4,2
22,4	4,0
25,6	3,5
25,9	3,4
26,8	3,3

Na Figura 2 é mostrado um termograma DSC representativo para o sal cloridrato do ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico (Exemplo 3) com uma fusão de aproximadamente 164 °C.

### **Dados Biológicos**

Os compostos da invenção podem ser testados para actividade biológica *in vitro* ou *in vivo*, por exemplo, de acordo com os ensaios seguintes ou semelhantes:

## **Produção da linha celular do receptor H1 e protocolo de ensaio FLIP**

### **1. Produção da linha celular do H1 da histamina**

O receptor H1 humano pode ser clonado utilizando processos conhecidos, descritos na literatura [*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **201**(2): 894 (1994)]. Podem ser produzidas células de ovário de hamster Chinês (CHO), expressando de um modo estável o receptor H1 humano, de acordo com processos conhecidos, descritos na literatura [*Br. J. Pharmacol.*, **117**(6):1071 (1996)].

### **Ensaio antagonista funcional do H1 da histamina: Determinação dos valores de pKi funcionais**

É inoculada a linha celular do H1 da histamina em placas de cultura de tecidos de 384 poços de fundo transparente com paredes negras não-revestidas em meio essencial mínimo alfa (Gibco/ Invitrogen, Nº de cat. 22561-021, suplementado com soro de vitelo fetal dialisado a 10% (Gibco/Invitrogen Nº de cat. 12480-021) e L-glutamina 2 mM (Gibco/Invitrogen Nº de cat. 25030-024) e é mantida durante a noite sob CO<sub>2</sub> a 5%, a 37 °C.

O meio em excesso é removido de cada poço para deixar 10 µL. São adicionados 30 µL de corante de aplicação (Brilliant Black 250 µM, Fluo-4 2 µM diluídos em tampão Tyrodes + probenecid (NaCl 145 mM, KCl 2,5 mM, HEPES 10 mM, D-glicose 10 mM, MgCl<sub>2</sub> 1,2 mM, CaCl<sub>2</sub> 1,5 mM, probenecid 2,5 mM, pH ajustado para 7,40 com NaOH 1,0 M)) a cada poço e as placas são incubadas durante 60 min sob CO<sub>2</sub> a 5%, a 37 °C.

São adicionados 10 µL do composto de teste, diluídos na concentração necessária em tampão Tyrodes + probenecid (ou 10 µL de tampão Tyrodes + probenecid como um controlo) a cada poço e a placa é incubada durante 30 min a 37 °C, CO<sub>2</sub> a 5%. As placas são seguidamente colocadas num FLIPR™ (Molecular Devices, UK) para monitorizar a fluorescência das células ( $\lambda_{ex} = 488$  nm,  $\lambda_{EM} = 540$  nm) da forma descrita em Sullivan et al., (Em: Lambert DG (ed.), *Calcium Signaling Protocols*, New Jersey: Humana Press, 1999, 125-136) antes e após a adição de 10 µL de histamina a uma concentração que resulte na concentração de ensaio final da histamina sendo EC<sub>80</sub>.

O antagonismo funcional é indicado por uma supressão do aumento na fluorescência induzido pela histamina, como medido pelo sistema FLIPR™ (Molecular Devices). As afinidades funcionais são determinadas utilizando análise matemática farmacológica padrão, através de curvas de efeito de concentração.

**Ensaio do antagonista funcional do H1 da histamina:  
Determinação do antagonista pA2**

O receptor H1 da histamina, expressando células CHO, é inoculado em placas de recolha de tecidos de 96 poços de fundo transparente com paredes negras não-revestidas, como descrito acima.

Após cultura durante a noite, o meio de cultura é removido de cada poço, é lavado com 200 µL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) e é substituído por 50 µL de corante de aplicação (Brilliant Blue 250 µM, Fluo-4 1 µM diluído em tampão

Tyrodes + probenecid (NaCl 145 mM, KCl 2,5 mM, HEPES 10 mM, D-glicose 10 mM, MgCl<sub>2</sub> 1,2 mM, CaCl<sub>2</sub> 1,5 mM, probenecid 2,5 mM, pH ajustado para 7,40 com NaOH 1,0 M)). As células são incubadas durante 45 min a 37 °C. O tampão de aplicação é removido e as células são lavadas como acima e são adicionados 90 µL de tampão Tyrodes + probenecid a cada poço. São adicionados 10 µL do composto de teste, diluído na concentração necessária em tampão Tyrodes + probenecid (ou 10 µL de tampão Tyrodes + probenecid como controlo) a cada poço e a placa é incubada durante 30 min a 37 °C, CO<sub>2</sub> a 5%.

As placas são, depois, colocadas num FLIPR™ (Molecular Devices, UK) para monitorizar a fluorescência celular ( $\lambda_{ex} = 488$  nm,  $\lambda_{EM} = 540$  nm) da forma descrita em Sullivan et al., (Em: Lambert DG (ed.), *Calcium Signaling Protocols*, New Jersey: Humana Press, 1999, 125-136) antes e após a adição de 50 µL de histamina numa gama de concentração de 1 mM-0,1 nM. As curvas de resposta à concentração resultantes são analisadas por regressão não-linear, utilizando uma equação logística de quatro parâmetros padrão, para determinar a EC<sub>50</sub>, a concentração de histamina necessária para produzir uma resposta a 50% da resposta máxima à histamina. O antagonista pA2 é calculado utilizando a seguinte equação padrão: pA2 = log(DR-1)-log[B], em que DR = proporção de dose, definida como EC560 do tratado com antagonista/EC50 do controlo e [B] = concentração do antagonista.

## **2. Produção da linha celular do receptor H3, preparação de membrana e protocolos de ensaio GTPvS funcionais**

### **Produção da linha celular do H3 da histamina**

É isolado ADNc do H3 da histamina a partir do seu vector de retenção, pCDNA3.1 TOPO (InVitrogen), por digestão de restrição do ADN plasmídico com as enzimas BamH1 e Not-1 e é ligado ao vector de expressão induzível pGene (InVitrogen) digerido com as mesmas enzimas. O sistema GeneSwitch™ (um sistema em que a expressão transgénica é interrompida na ausência de um indutor e é restabelecida na presença de um indutor) é utilizado como descrito nas Patentes U.S. Nº 5364791; 5874534; e 5935934. O ADN ligado é transformado em células bacterianas hospedeiras *E. coli* DH5 $\alpha$  competentes e são plaqueadas em agar de Meio de Luria (LB) contendo Zeocin™ (um antibiótico que permite a selecção de células expressando o gene *sh ble* que está presente em pGene e pSwitch) a 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . As colónias contendo o plasmídeo religado são identificadas por análise de restrição. É preparado ADN para transfecção em células de mamífero a partir de culturas de 250 mL da bactéria hospedeira, contendo o plasmídeo pGeneH3 e é isolado utilizando um kit de preparação de ADN (Qiagen Midi-Prep) de acordo as normas dos fabricantes (Qiagen).

As células CHO K1, previamente transfectadas com o plasmídeo regulador pSwitch (InVitrogen) são inoculadas a  $2 \times 10^6$  células por frasco T75 em Meio Completo, contendo meio Hams F12 (GIBCOBRIL, Life Technologies), suplementado com soro de vitelo fetal dialisado a 10% v/v, L-glutamina e higromicina ( $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 24 h antes da utilização. O ADN plasmídico é transfectado nas células utilizando Lipofectamine plus de acordo com as instruções dos fabricantes (InVitrogen). As células são

colocadas em meio completo, suplementado com 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de Zeocin<sup>TM</sup> 48 h após a transfecção.

É adicionada mifepristone (InVitrogen) 10 nM ao meio de recolha, 10-14 dias após a selecção, para induzir a expressão do receptor. As células são destacadas do frasco utilizando ácido etilenodiaminatetra-acético (EDTA; 1:5000; InVitrogen) 18 h após a indução, seguido por várias lavagens com solução salina tamponada com fosfato a pH 7,4 e são, depois, ressuspensas em Sorting Medium contendo Minimum Essential Medium (MEM), sem vermelho de fenol e suplementado com sais de Earles e Foetal Clone II (Hyclone) a 3%. São examinadas aproximadamente  $1 \times 10^7$  células para a expressão do receptor por coloração com um anticorpo policlonal de coelho, 4a, produzido contra o domínio do terminal N do receptor H3 da histamina, são incubadas em gelo durante 60 min, seguido por duas lavagens em meio de separação. O anticorpo ligado ao receptor é detectado por incubação das células durante 60 minutos em gelo com um anticorpo de cabra anti-coelho, conjugado com marcador de fluorescência Alexa 488 (Molecular Probes). Após mais duas lavagens com Sorting medium, as células são filtradas através de um Filcon<sup>TM</sup> (BD Biosciences) de 50  $\mu\text{m}$  e são, depois, analisadas num FACS Vantage SE Flow Cytometer equipado com uma Automatic Cell Deposition Unit. As células de controlo são células não-induzidas, tratadas de uma forma semelhante. As células coradas positivamente são separadas sob a forma de células isoladas para placas de 96 poços, contendo Complete Medium contendo Zeocin<sup>TM</sup> 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e foi permitida a sua expansão antes da reanálise para a expressão do receptor através de estudos de ligação de anticorpo e ligando. O clone 3H3 é seleccionado para preparação de membranas.

### **Preparação de membranas a partir de células cultivadas**

Todos os passos do protocolo são realizados a 4 °C e com reagentes pré-arrefecidos. O sedimento celular é ressuspenso em 10 volumes de tampão de homogeneização (ácido N-2-hidroxietilpiperazino-N'-2-etanossulfónico (HEPES) 50 mM, ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA) 1 mM, pH 7,4 com KOH, suplementado com leupeptina (acetil-leucil-leucil-arginal; Sigma L2884)  $10^{-6}$  M, bacitracina 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Sigma B0125), fluoreto de fenilmethylsulfonilo (PMSF) 1 mM e pepstatina A (Sigma)  $2 \times 10^{-6}$  M). As células são, depois, homogeneizadas por impulsos de 2 x 15 segundos num misturador Waring de vidro de 1 litro, seguida por centrifugação a 500 g durante 20 min. O sobrenadante é, depois, centrifugado a 48000 g durante 30 min. O sedimento é ressuspenso em tampão de homogeneização (4 x o volume do sedimento celular original) por vórtex durante 5 segundos, seguido por homogeneização num homogeneizador (10-15 pulsos). Nesse momento a preparação é dividida em aliquotas em tubos de polipropileno e é armazenada a -80 °C.

### **Ensaio antagonista funcional do h3 da histamina**

Para cada composto a ser ensaiado, numa placa branca opaca de 384 poços, são adicionados:

- (a) 0,5  $\mu\text{L}$  de composto de teste diluído na concentração necessária em DMSO (ou 0,5  $\mu\text{L}$  DMSO como um controlo);
- (b) 30  $\mu\text{L}$  de mistura de esfera/membrana/GDP, que é preparada por mistura de esferas de ensaio de proximidade de cintilação (SPA) Wheat Germ Agglutinin Polystyrene LeadSeeker® (WGA PS LS) com

membrana (preparada de acordo com a metodologia descrita acima) e diluição em tampão de ensaio (ácido N-2-hidroxietilpiperazino-N'-2-etanossulfónico (HEPES) 20 mM + NaCl 100 mM + MgCl<sub>2</sub> 10 mM, pH 7,4 NaOH) para originar um volume final de 30 µL, que contém 5 µg de proteína, 0,25 mg de esferas por poço e concentração de ensaio final de guanosina 5' difosfato (GDP) 10 µM (Sigma, diluída em tampão de ensaio), incubando à temperatura ambiente durante 60 min num rotor;

c) 15 µL de [<sup>35</sup>S]-GPTγS 0,38 nM (Amersham; Concentração de radioactividade = 37 NBqml<sup>-1</sup>; Actividade específica = 1160 Ci mmol<sup>-1</sup>), histamina (numa concentração que resulta na concentração de ensaio final de histamina sendo EC<sub>80</sub>).

Após 2-6 h, a placa é centrifugada durante 5 min a 1500 rpm e é contada num contador Viewlux utilizando um filtro 613/5 durante 5 min placas<sup>-1</sup>. Os dados são analisados utilizando uma equação logística de 4 parâmetros. A actividade basal é utilizada como mínimo, *i. e.*, histamina não adicionada ao poço.

### **Modelo de pápulas e erupções anti-inflamatórias *in vivo***

São doseados cobaios Dunkin-Hartley do sexo masculino com 500 g - 1 kg com o composto ou veículo de teste, utilizando uma seringa de 1 mL, para o interior da cavidade oral (0,5 mL/kg p. o.) ou através de uma veia marginal da orelha (0,33 mL/kg i. v.). Os compostos são formulados em DMSO a 5%/PEG200 a 45%/água a 50%.

Os cobaios são anestesiados com isoflurano (5%, 2-3 L/min O<sub>2</sub>) e recebem solução azul de Evans (2% em soro fisiológico),

0,33 mL/kg i. v. através de uma veia marginal da orelha quer 2 h após administração oral do composto ou 15 min após intravenosa.

Imediatamente após administração de azul de Evans e enquanto ainda sob isoflurano, os animais são colocados numa posição de decúbito ventral e é rapada uma área das costas. São injectados histamina (10 µg/100 µL x 4) e veículo (1 x 100 µL PBS) intradermicamente na superfície dorsal rapada.

Após desafio com histamina, é permitido aos animais recuperarem da anestesia e, 30 minutos mais tarde, são eutanasiados com uma overdose i. p. de pentobarbitona. A pele dorsal é cuidadosamente removida e as áreas da pápula (coradas de azul) são medidas a partir da superfície interna da pele pela determinação de dois diâmetros perpendiculares utilizando um compasso de calibre e calculando o raio médio. Este valor é utilizado para calcular a área de cada pápula e o valor médio de todas as pápulas induzidas por histamina é subsequentemente calculado para cada animal. Se for observado azul de Evans na pápula desafiada com veículo, então esse animal é excluído do conjunto de dados.

São construídas curvas de dose-resposta para cada composto de teste e podem ser determinados valores de ID<sub>50</sub> para cada via de administração (oral e intravenosa).

## **Penetração no SNC**

### **(i) Penetração no SNC por administração de bolus**

Os compostos são doseados intravenosamente a um nível de dose nominal de 1 mg/kg em ratos Sprague Dawley CD do sexo masculino. Os compostos são formulados em DMSO a 5%/PEG200 a 45%/água a 50%. São recolhidas amostras de sangue, sob anestesia terminal com isoflurano a 5 minutos após-dose e os cérebros são também removidos para avaliação da penetração no cérebro são recolhidas amostras de sangue directamente para tubos heparinizados. São preparadas amostras de sangue para análise utilizando precipitação de proteína e são preparadas amostras de cérebro utilizando extracção do fármaco do cérebro por homogeneização e subsequente precipitação da proteína. A concentração do fármaco precursor nos extractos de sangue e cérebro é determinada por análise LC-MS/MS quantitativa, utilizando transições de massa específicas para o composto.

### **(ii) Penetração no SNC após infusão intravenosa no estado estacionário**

É administrada uma dose de carga dos compostos a ratos Sprague Dawley CD a um nível de dose nominal de 0,4 mg/kg. Os compostos são, depois, infundidos intravenosamente durante quatro horas a um nível de dose nominal de 0,1 mg/kg/h. Os compostos são formulados em DMSO a 2%/PEG200 a 30%/água a 68%. São recolhidas amostras de sangue em série ou terminais 0,5, 1,5, 2,5, 3, 3,5 e 4 horas após dose. A amostra de sangue final é recolhida sob anestesia terminal com isoflurano e os cérebros são também removidos para avaliação da penetração no cérebro. As

amostras de sangue são recolhidas directamente para tubos heparinizados. São preparadas amostras de sangue para análise, utilizando precipitação de proteína e são preparadas amostras de cérebro utilizando extracção do fármaco do cérebro por homogeneização e subsequente precipitação da proteína. A concentração do fármaco precursor nos extractos de sangue e cérebro é determinada por análise LC-MS/MS quantitativa, utilizando transições de massa específicas para o composto.

### **Farmacocinética no rato**

Os compostos são doseados em ratos Sprague Dawley CD por administração intravenosa ou oral única a um nível de dose nominal respectivamente de 1 mg/kg e 3 mg/kg. Os compostos são formulados em DMSO a 5%/PEG200 45%/água 50%. É obtido um perfil intravenoso por recolha de amostras de sangue em série ou terminais a 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4 e 7 horas após dose (para alguns estudos podem ser recolhidas amostras de 12 e 24 h). Um perfil oral é obtido por recolha de amostras de sangue em série ou terminais a 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 7 e 12 horas após dose (para alguns estudos podem ser amostras de 24 e 30 horas). São recolhidas amostras de sangue directamente para tubos heparinizados. São preparadas amostras de sangue por precipitação de proteína e são submetidas a análise quantitativa por LC-MS/MS utilizando transições de massa específicas para o composto. São produzidos perfis de concentração de fármaco - tempo e é utilizada análise PK não-compartimental para produzir estimativas de meia-vida, eliminação, volume de distribuição e biodisponibilidade oral.

### **Farmacocinética no cão**

Os compostos são doseados em cães Beagle do sexo masculino por administração única intravenosa ou oral a um nível de dose nominal, respectivamente, de 1 mg/kg e 2 mg/kg. O estudo é realizado de acordo com uma concepção cruzada, de modo a que seja utilizado o mesmo cão nos eventos de dosagem e nos eventos de dosagem ocorridos com um intervalo de 1 semana. Os compostos são formulados em DMSO a 5%/Peg200 a 45%/água a 50%. É obtido um perfil intravenoso por recolha de amostras de sangue em série às 0,083, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 4, 6 e 12 h após dose (para alguns estudos, podem ser recolhidas amostras às 24 h). Um perfil oral é obtido recolha de amostras de sangue em série a 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 4, 6, 12 e 24 h após dose. As amostras de sangue são retiradas directamente para tubos heparinizados. As amostras de sangue são preparadas por precipitação da proteína e são submetidas a análise quantitativa por LC-MS/MS, utilizando transições de massa específicas do composto. São produzidos perfis de concentração de fármaco - tempo e é utilizada análise PK não-compartmental para produzir estimativas de meia-vida, eliminação, volume de distribuição e biodisponibilidade oral.

### **Resultados**

Nestes ou em ensaios semelhantes, o composto dos Exemplos 1 e 3 apresentava

- (i) uma pKi média (pkb) em H3 de aproximadamente 7,4 para o Exemplo 1 e 7,3 para o Exemplo 3

(ii) uma pKi média (pK<sub>b</sub>) em H1 de aproximadamente 7,8 para o Exemplo 1 e 7,9 para o Exemplo 3 e um pA<sub>2</sub> de cerca de 8,1 para o Exemplo 3

(iii) actividade anti-inflamatória *in vivo* (no modelo de pápula e erupções uma ID<sub>50</sub> de cerca de 0,6 mg/kg i. v. e cerca de 2,8 mg/kg oral (Exemplo 3)

(iv) biodisponibilidade oral no rato e no cão (cerca de 59% no rato para o Exemplo 1 e dados combinados para o Exemplo 1 e 3 de cerca de 60% no cão)

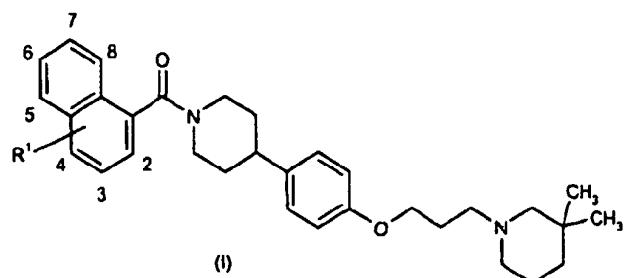
(v) baixa eliminação do plasma no rato e no cão (Exemplo 1 uma meia-vida de cerca de 4-5 horas (via IV) no rato) e dados combinados para o Exemplo 1 e 3 uma meia-vida de aproximadamente 3 horas no cão)

(vi) baixa penetração no SNC, inferior a 50 ng/g (Exemplo 1 e 3).

Lisboa, 23 de Fevereiro de 2010

## REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula (I)



em que

o anel naftaleno é substituído na posição 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 com R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> representa -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH ou CH=C(CH<sub>3</sub>)COOH.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que o anel naftaleno é substituído na posição 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 com R<sup>1</sup>, e R<sup>2</sup> representa -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH ou um seu sal.
3. Composto de acordo com a reivindicação 1 o qual é o ácido 3,3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico ou um seu sal.
4. Composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 3, em que o composto está sob a forma de um sal farmaceuticamente aceitável.
5. Composto de acordo com a reivindicação 1 o qual é o ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-

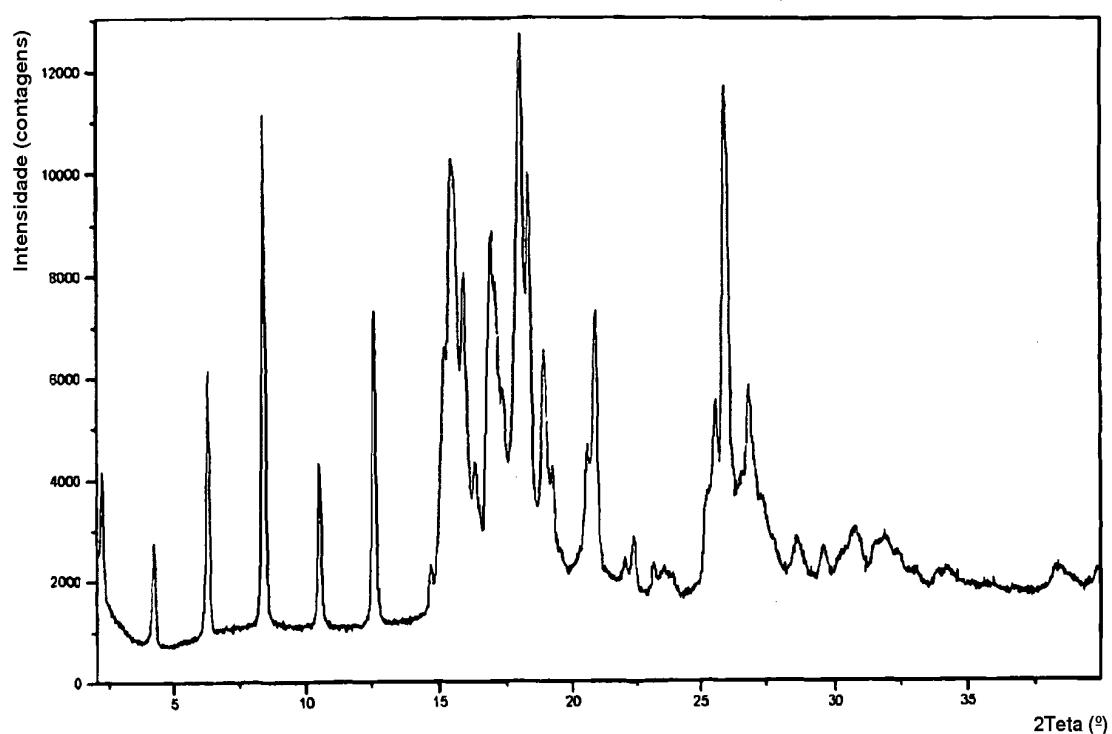
piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico, em que o composto está sob a forma de um sal cloridrato

6. Composto de acordo com a reivindicação 3 sob a forma de base livre.
7. Composto ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, como reivindicado em qualquer das reivindicações 1 a 5 para utilização em terapia.
8. Composto para utilização em terapia de acordo com a reivindicação 7, em que o composto é O ácido 3-(4-{[4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil]-1-piperidinil] carbonil}-1-naftalenil)propanóico sob a forma de um sal cloridrato.
9. Composto ou um seu sal farmaceuticamente aceitável para utilização de acordo com a reivindicação 7 ou reivindicação 8, em que a utilização é no tratamento de distúrbios inflamatórios e/ou alérgicos.
10. Composto ou seu sal farmaceuticamente aceitável, para utilização de acordo com a reivindicação 9, em que a utilização é no tratamento da rinite alérgica.
11. Composição que comprehende um composto ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, como reivindicado em qualquer das reivindicações 1 a 5, com um ou mais veículos e/ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

12. Composição de acordo com a reivindicação 11, no qual o composto é o ácido 3-(4-{[4-(4-{(3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico sob a forma de um sal cloridrato.
13. Composição de acordo com a reivindicação 11 ou reivindicação 12, a qual está adaptada à distribuição oral.
14. Combinação compreendendo um composto ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, como reivindicado em qualquer das reivindicações 1 a 5 e um ou mais outros compostos terapêuticos.
15. Utilização de um composto ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável, como reivindicado em qualquer das reivindicações 1 a 5, na preparação de um medicamento para o tratamento ou a profilaxia de distúrbios inflamatórios e/ou alérgicos.
16. Utilização de acordo com a reivindicação 15, em que o composto é o ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidini]carbonil}-1-naftfalenil)propanóico sob a forma de um sal cloridrato.
17. Utilização de acordo com a reivindicação 15 ou a reivindicação 16, no qual o distúrbio é a rinite alérgica.

Lisboa, 23 de Fevereiro de 2010

**Figura 1: Padrão XRPD para o sal cloridrato do ácido 3-(4-{[4-(4-{[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)propil]oxi}fenil)-1-piperidinil]carbonil}-1-naftalenil)propanóico (Exemplo 3)**



**Figura 2:** Termograma DSC do sal cloridrato do ácido 3-(4-{[4-(4-[3-(3,3-dimetil-1-piperidinil)carbonil]-1-naftalenil)propanóico (Exemplo 3). Eventos observados: Endotérmico com uma temperatura de início de aproximadamente 164 °C devido a fusão da amostra.

