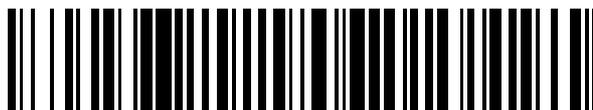


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 422 859**

51 Int. Cl.:

C07D 401/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2006 E 06794783 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2013 EP 1954690**

54 Título: **Compuestos de benzamida útiles como inhibidores de la histona desacetilasa**

30 Prioridad:

19.10.2005 GB 0521244

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

16.09.2013

73 Titular/es:

**ASTRAZENECA AB (100.0%)
151 85 Södertälje, SE**

72 Inventor/es:

**ANDREWS, DAVID MICHAEL;
STOKES, ELAINE SOPHIE ELIZABETH;
TURNER, ANDREW y
WARING, MICHAEL JAMES**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 422 859 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos de benzamida útiles como inhibidores de la histona desacetilasa

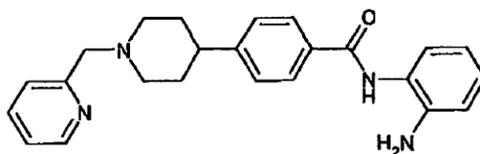
Esta invención se relaciona con ciertos compuestos novedosos de benzamida, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, los cuales son inhibidores potentes de la enzima histona desacetilasa (HDAC). La invención también se relaciona con procesos para la manufactura de estos compuestos novedosos de benzamida, con composiciones farmacéuticas que los contienen y con su uso en métodos terapéuticos, por ejemplo en la manufactura de medicamentos para inhibir HDAC en un animal de sangre caliente, tal como el hombre.

La actividad de la HDAC ha sido asociada con un cierto número de estados de enfermedad, tales como cáncer (Marks et al., *Nature Reviews*, 1, 194-202, (2001)), fibrosis quística (Li, S. et al, *J. Biol. Chem.*, 274, 7803-7815, (1999)), corea de Huntingdon (Steffan, J. S. et al., *Nature*, 413, 739-743, (2001)) y anemia de células falciformes (Gabbianelli, M. et al., *Blood*, 95, 3555-3561, (2000)). De acuerdo con lo anterior, la invención también se extiende a métodos para tratar cualquiera de las enfermedades antes mencionadas utilizando los compuestos de benzamida de la presente invención, así como al uso de estos compuestos de benzamida en la manufactura de un medicamento para el tratamiento de estos estados de enfermedad.

En la célula eucariota, el ADN está compactado rutinariamente para evitar la accesibilidad del factor de transcripción. Cuando la célula está activada este ADN compactado se hace disponible a las proteínas de enlazamiento al ADN, permitiendo por lo tanto la inducción de la transcripción genética (Beato, M., *J. Med. Chem.*, 74, 711-724 (1996); Wolffe, A. P., *Nature*, 387, 16-17 (1997)). El ADN nuclear se asocia con las proteínas nucleares conocidas como histonas para formar un complejo llamado cromatina. Las histonas de núcleo, denominadas H2A, H2B, H3 y H4, están rodeadas por 146 pares de bases de ADN para formar la unidad fundamental de la cromatina, y la cual es conocida como el nucleosoma. Las colas de los terminales N de las histonas nucleares contienen residuos de lisina que son sitios para la acetilación postranscripcional. La acetilación del grupo amino terminal en la cadena en el lado de la lisina neutraliza el potencial de la cadena lateral para formar una carga positiva, y se cree que tiene un impacto sobre la estructura de la cromatina.

Las histonas desacetilasas (HDAC) son enzimas que contienen zinc, las cuales catalizan la eliminación de grupos acetilo a partir de los terminales ϵ -amino de los residuos de lisina aglomerados cerca del terminal amino de las histonas nucleosómicas. Las HDAC pueden ser divididas en dos clases, la primera (HDAC 1, 2, 3 y 8) representada por proteínas similares a Rpd3 de levadura, y la segunda (HDAC 4, 5, 6, 7, 9 y 10) representadas por proteínas similares Hda1 de levadura. El proceso reversible de acetilación es conocido por su importancia en la regulación transcripcional y en la progresión del ciclo celular. Además, la desregulación de las HDAC ha sido asociada con varios cánceres, e inhibidores de HDAC, tales como Tricostatina A (un producto natural aislado de *Streptomyces hygroscopicus*), han demostrado exhibir inhibición significativa del crecimiento celular y efectos antitumorales (Meinke, P. T., *Current Medicinal Chemistry*, 8, 211-235 (2001)). Yoshida et al, (*Exper. Cell Res.*, 177, 122-131 (1988)) enseñan que la Tricostatina A produce la detención de los fibroblastos de rata en las fases G1 y G2 del ciclo celular, implicando por tanto el papel de la HDAC en la regulación del ciclo celular. Adicionalmente, la Tricostatina A ha demostrado inducir la diferenciación terminal, inhibir el crecimiento celular, y evitar la formación de tumores en ratones (Finnin et al., *Nature*, 401, 188-193 (1999)).

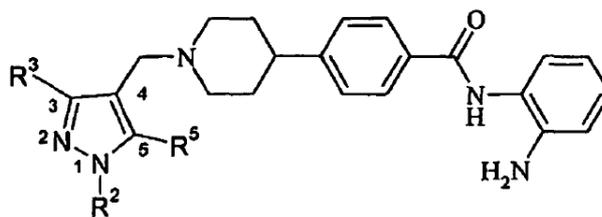
Se sabe a partir de las Solicitudes Internacionales de Patente publicadas Nos. WO 03/087057 y WO 03/092686 que ciertos derivados benzamida son inhibidores de HDAC. Un compuesto particular divulgado en WO 03/087057 es el N-(2-aminofenil)-4-[1-(pirid-2-ilmetil)piperidin-4-il]benzamida [1] (cuya estructura se muestra más abajo).



(1)

Se ha encontrado ahora que ciertos derivados de benzamida que portan un grupo pirazol opcionalmente sustituido en vez del grupo piridilo son inhibidores potentes de HDAC. Además, compuestos particulares de la presente invención también han demostrado poseer otras propiedades farmacéuticas favorables, incluyendo potencia ventajosa en células o in vivo, propiedades de DMPK ventajosas (por ejemplo, perfil de biodisponibilidad favorable y/o niveles libres en plasma favorables y/o una vida media favorable y/o un volumen favorable de distribución), así como una solubilidad buena o mejorada. Además, los derivados de benzamida de la presente invención en general muestran una actividad particularmente baja en el ensayo de inhibición del canal de potasio codificado por hERG, el cual es un indicador de efectos cardiovasculares colaterales indeseables y serios en la clínica.

De acuerdo con la presente invención se provee un compuesto de la Fórmula (IA):



(IA)

en donde R², R³ y R⁵ son seleccionados cada uno independientemente de hidrógeno o metilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 Se entiende que ciertos compuestos de la Fórmula (I) definida anteriormente pueden exhibir el fenómeno de tautomerismo. Debe entenderse que la presente invención incluye en su definición cualquiera de tales formas tautoméricas, o una mezcla de las mismas, las cuales poseen la actividad antes mencionada, y no está limitada solamente a cualquier forma tautomérica utilizada dentro de los dibujos de fórmulas o citadas en los Ejemplos.

- 10 Tal como se utiliza aquí, el término "alquilo" se refiere a cadenas rectas o ramificadas. El término "cicloalquilo" incluye estructuras anulares, pero pueden incluir adicionalmente cadenas en la forma de grupos cicloalquil-alquilo. Por analogía, los términos "alcoxi" y "cicloalcoxi" comprenden grupos alquilo, cicloalquilo o cicloalquil-alquilo enlazados a través de un átomo de oxígeno.

- 15 Será evidente que los átomos de anillo de la porción pirazol de la molécula de la fórmula (IA) están numerados en general como se muestra en el diagrama más arriba. Sin embargo, la molécula está sujeta a tautomerismo en el caso donde R² es hidrógeno, en donde la conmutación de los grupos hidrógeno de un nitrógeno del anillo pirazol al otro, significa que los pirazoles sustituidos, donde al menos uno de R³ o R⁵ es diferente de hidrógeno, son inevitablemente mezclas de cada tautómero, y que por lo tanto se considera que R³ y R⁵ son intercambiables.

En una realización particular, al menos uno, y preferiblemente dos grupos R², R³ y R⁵ son diferentes a hidrógeno.

Compuestos particulares de la invención incluyen cualquiera de los siguientes:

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

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 25 Debe entenderse que ciertos compuestos de la Fórmula IA anterior pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, tales como, por ejemplo, formas hidratadas. Debe entenderse que la presente invención abarca todas las tales formas solvatadas que poseen actividad antiproliferativa.

También debe entenderse que ciertos compuestos de la Fórmula IA pueden exhibir polimorfismo, y que la presente invención abarca todas las tales formas que poseen actividad antiproliferativa.

- 30 Una sal farmacéuticamente aceptable adecuada de un compuesto de la Fórmula IA es, por ejemplo, una sal de adición ácida de un compuesto de la Fórmula IA, por ejemplo, una sal de adición ácida con un ácido inorgánico u orgánico tal como ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, trifluoroacético, cítrico o maleico; o, por ejemplo, una sal de un compuesto de la Fórmula IA la cual es suficientemente ácida, por ejemplo, una sal con un metal alcalino o alcalinotérreo tal como una sal de calcio o magnesio, o un sal de amonio. Una sal farmacéuticamente aceptable
 35 adecuada adicional de un compuesto de la Fórmula IA es, por ejemplo, una sal formada dentro del cuerpo humano o animal después de la administración de un compuesto de la Fórmula IA.

- Los compuestos de la invención pueden ser administrados en la forma de un profármaco – esto es un compuesto que es escindido en el cuerpo humano o animal para liberar un compuesto de la invención. Un profármaco puede ser utilizado para alterar las propiedades físicas y/o las propiedades farmacocinéticas de un compuesto de la
 40 invención. Un profármaco puede ser formado cuando el compuesto de la invención contiene un grupo o sustituyente

adecuado al cual puede enlazarse un grupo modificador de las propiedades. Ejemplos de profármacos incluyen derivados amida escindibles in vivo que pueden ser formados en un grupo amino en un compuesto de la Fórmula IA.

- De acuerdo con lo anterior, la presente invención incluye aquellos compuestos de la Fórmula IA tal como se definieron aquí anteriormente en donde se hacen disponibles mediante síntesis orgánica. Se describe también un compuesto de la Fórmula IA disponible dentro del cuerpo humano o animal mediante una escisión de un profármaco del mismo. De acuerdo con lo anterior, la presente invención incluye aquellos compuestos de la Fórmula IA que son producidos por medios de síntesis orgánica y también se describen tales compuestos que son producidos en el cuerpo humano o animal por medio del metabolismo de un compuesto precursor, esto es un compuesto de la Fórmula IA puede ser un compuesto producido sintéticamente o un compuesto producido metabólicamente.
- 5
- 10 Un profármaco farmacéuticamente aceptable adecuado de un compuesto de la Fórmula IA es aquel que con base en un juicio médico razonable es adecuado para la administración en el cuerpo humano o animal sin actividades farmacológicas indeseables y sin toxicidad indebida.

Se han descrito diversas formas de profármacos, por ejemplo en los siguientes documentos:

- a) *Methods in Enzymology*, Vol. 42, p. 309-396, edited by K. Widder, et al. (Academic Press, 1985);
- 15 b) *Design of Pro-drugs*, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985);
- c) *A Textbook of Drug Design and Development*, edited by Krogsgaard-Larsen and H. Bundgaard, Chapter 5 "Design and Application of Pro-drugs", by H. Bundgaard p. 113-191 (1991);
- d) H. Bundgaard, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 8, 1-38 (1992);
- e) H. Bundgaard, et al., *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77, 285 (1988);
- 20 f) N. Kakeya, et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 692 (1984);
- g) T. Higuchi and V. Stella, "Pro-Drugs as Novel Delivery Systems", A.C.S. Symposium Series, Volume 14; and
- h) E. Roche (editor), "Bioreversible Carriers in Drug Design", Pergamon Press, 1987.

- Un profármaco farmacéuticamente aceptable adecuado de un compuesto de la Fórmula IA es, por ejemplo, un derivado amida escindible in vivo del mismo. Amidas farmacéuticamente aceptables adecuadas formadas a partir de un grupo amino incluyen, por ejemplo una amida formada con grupos (1-10C) alcanoilo tales como grupos acetilo, benzoilo, fenilacetilo y benzoilo y fenilacetilo sustituidos. Ejemplos de sustituyentes de anillo de los grupos fenilacetilo y benzoilo incluyen aminometilo, *N*-alquilaminometilo, *N,N*-dialquilaminometilo, morfolinometilo, piperazin-1-ilmetilo y 4-(1-4C)alquilpiperazin-1-ilmetilo.
- 25

- Los efectos in vivo de un compuesto de la Fórmula IA pueden ser ejercidos en parte por uno o más metabolitos que se forman dentro del cuerpo humano o animal después de la administración de un compuesto de la Fórmula IA. Como se estableció aquí anteriormente, los efectos in vivo de un compuesto de la Fórmula IA pueden ser ejercidos por medio del metabolismo de un compuesto precursor (un profármaco).
- 30

Preparación de los compuestos de la Fórmula IA

- Será evidente para una persona experimentada en la técnica que puede ser necesario/deseable proteger cualquier grupo sensible en los compuestos en algunos de los procesos/reacciones mencionados aquí. Las instancias en donde la protección es necesaria o deseable, y métodos adecuados para proveer tal protección son conocidos para los experimentados en la técnica. Pueden utilizarse grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica estándar (para ilustración véase T.W. Green & P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley and Sons, 1999). Así, si los reactivos incluyen grupos tales como amino, carboxi o hidroxilo puede ser deseable proteger el grupo en algunas de las reacciones mencionadas aquí.
- 35
- 40

- Cualquier grupo protector utilizado en los procesos descritos aquí puede ser escogido en general a partir de cualquiera de los grupos descritos en la literatura o conocidos para un químico experimentado según sea apropiado para la protección del grupo en cuestión y pueden ser introducidos por métodos convencionales. Los grupos protectores pueden ser retirados por cualquier método conveniente tal como se describe en la literatura o conocido para el químico experimentado según sea apropiado para la eliminación del grupo protector en cuestión, siendo escogidos tales métodos de tal forma que efectúen la eliminación del grupo protector con una perturbación mínima del resto de grupos en la molécula.
- 45

Ejemplos específicos de grupos protectores se dan más adelante en pro de la conveniencia, en los cuales "inferior", como en, por ejemplo, alquilo inferior, significa que el grupo al cual se aplica tiene preferiblemente 1-4 átomos de

carbono. Se entenderá que estos ejemplos no son exhaustivos. Cuando se dan más adelante ejemplos específicos de métodos para la eliminación de los grupos protectores éstos de la misma forma no son exhaustivos. El uso de grupos protectores y métodos de desprotección no mencionados específicamente está desde luego dentro del alcance de la invención.

5 Un grupo protector apropiado para un grupo amino o alquilamino es, por ejemplo, un grupo acilo, por ejemplo un grupo alcanilo tal como acetilo, un grupo alcoxicarbonilo, por ejemplo un grupo metoxicarbonilo, etoxicarbonilo o t-butoxicarbonilo, un grupo arilmetoxicarbonilo, por ejemplo benciloxicarbonilo, o un grupo aroilo, por ejemplo benzoilo. Las condiciones de desprotección para los grupos protectores anteriores varían necesariamente según con la selección del grupo protector. Así, por ejemplo, un grupo acilo tal como un grupo alcanilo o alcoxicarbonilo o un grupo aroilo pueden ser retirados por ejemplo, por hidrólisis con una base adecuada tal como un hidróxido de un metal alcalino, por ejemplo hidróxido de litio o sodio. Alternativamente, un grupo acilo tal como un grupo t-butoxicarbonilo puede ser retirado, por ejemplo, por tratamiento con un ácido adecuado tal como ácido clorhídrico, sulfúrico o fosfórico o ácido trifluoroacético y un grupo arilmetoxicarbonilo tal como un grupo benciloxicarbonilo puede ser retirado, por ejemplo, por hidrogenación sobre un catalizador tal como paladio sobre carbono, o por tratamiento con un ácido de Lewis por ejemplo tris(trifluoroacetato) de boro. Un grupo protector alternativo adecuado para un grupo amino primario es, por ejemplo, un grupo ftaloilo el cual puede ser retirado por tratamiento con una alquilamina, por ejemplo dimetilaminopropilamina, o con hidrazina.

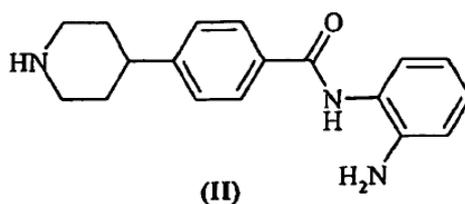
20 Un grupo protector adecuado para un grupo hidroxilo es, por ejemplo, un grupo acilo, por ejemplo un grupo alcanilo tal como acetilo, un grupo aroilo, por ejemplo benzoilo, o un grupo arilmetilo, por ejemplo bencilo. Las condiciones de desprotección para los grupos protectores anteriores variarán necesariamente con la selección del grupo protector. Así, por ejemplo, un grupo acilo tal como un alcanilo o un grupo aroilo puede ser retirado, por ejemplo, por hidrólisis con una base adecuada tal como un hidróxido de metal alcalino, por ejemplo hidróxido de litio o sodio. Alternativamente un grupo arilmetilo tal como un grupo bencilo puede ser retirado, por ejemplo, por hidrogenación sobre un catalizador tal como paladio sobre carbono.

25 Un grupo protector adecuado para un grupo carboxi es, por ejemplo, un grupo esterificante, por ejemplo un grupo metilo o etilo el cual puede ser retirado, por ejemplo, por hidrólisis con una base tal como hidróxido de sodio, o por ejemplo un grupo t-butilo el cual puede ser retirado, por ejemplo, por tratamiento con un ácido, por ejemplo un ácido orgánico tal como ácido trifluoroacético, o por ejemplo un grupo bencilo el cual puede ser retirado, por ejemplo, por hidrogenación sobre un catalizador tal como paladio sobre carbono.

30 Los grupos protectores pueden ser retirados en cualquier etapa conveniente de la síntesis utilizando técnicas convencionales bien conocidas en el arte químico.

En un aspecto adicional, la presente invención provee un proceso para preparar un compuesto de la fórmula (IA) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, proceso que comprende:

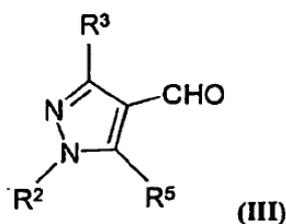
(a) reacción de un compuesto de la fórmula (II)



35

en donde una unidad estructural anilina puede ser protegida apropiadamente;

con un compuesto de la fórmula (III)

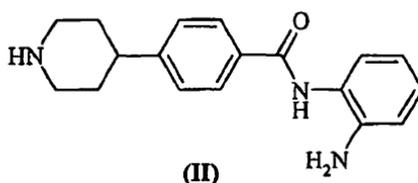


40 en presencia de un agente reductor, donde R^2 , R^3 y R^5 son como se definió aquí; y posteriormente, si es necesario, retirar cualquier grupo protector residual que pueda estar presente.

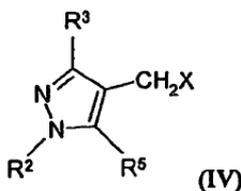
5 Un agente reductor adecuado para el proceso (a) incluye, por ejemplo, una sal de borohidruro inorgánica tal como borohidruro de sodio, triacetoxiborohidruro de sodio o cianoborohidruro de sodio e hidrógeno. Opcionalmente se lleva a cabo aminación reductiva utilizando hidrógeno en presencia de un catalizador adecuado, tal como, por ejemplo, Pd/C, Pd(OH)₂/C, Pt/C, PtO₂ o Rh sobre alúmina, y también puede llevarse a cabo bajo presión, por ejemplo 1-10 bar a lo largo de un rango de temperaturas, por ejemplo 0-150°C.

10 El proceso (a) puede ser llevado a cabo en la presencia de un ácido adecuado. Un ácido adecuado para el proceso (a), incluye un ácido de Bronsted tal como, por ejemplo ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido para-tolueno sulfónico o ácido canfor sulfónico; o un ácido de Lewis de fórmula MQ_z, donde M es un metal, Q es un grupo reactivo tal como, por ejemplo, un grupo halo o sulfonyloxi, por ejemplo un grupo cloro, bromo, yodo, metanosulfonyloxi, trifluorometanosulfonyloxi o toluen-4-sulfonyloxi, y z está en el rango de 1-6 y el valor de z dependerá del metal M. Ejemplos típicos de ácidos de Lewis adecuados incluyen trifluoruro de boro, trifluorometanosulfonato de escandio (III), cloruro de estaño (VI), isopropóxido de titanio (IV) o cloruro de zinc (II).

15 Alternativamente, los compuestos de la fórmula (IA) pueden ser preparados por (b) reacción de un compuesto de la fórmula (II),



en donde la anilina puede ser protegida apropiadamente;
con un compuesto de la fórmula (IV)



20 en la presencia de una base adecuada;

en donde R², R³ y R⁵ son como se define aquí y X es un grupo reactivo;

y posteriormente, si es necesario, retirar cualquier grupo protector residual que pueda estar presente.

Un grupo reactivo X adecuado es, por ejemplo, un grupo halógeno o sulfonyloxi, por ejemplo un grupo cloro, bromo, yodo, metanosulfonyloxi, trifluorometanosulfonyloxi o toluen-4-sulfonyloxi.

25 Una base adecuada para uso en el proceso (b) anterior es, por ejemplo, una base de amina orgánica tal como, por ejemplo, piridina, 2,6-lutidina, colidina, 4-dimetilaminopiridina, trietilamina, morfolina, diisopropiletilamina (DIPEA), N-metilmorfolina o diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene, o, por ejemplo, un carbonato o hidróxido de un metal alcalino o alcalinotérreo, por ejemplo carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de calcio, hidróxido de sodio o hidróxido de potasio, o, por ejemplo, un hidruro de metal alcalino, por ejemplo hidruro de sodio, un hidrogenocarbonato de metal alcalinotérreo tal como hidrogenocarbonato de sodio, o un alcóxido de un metal tal como etóxido de sodio.

30 Un grupo protector adecuado para la unidad estructural anilina o el anillo de piperidina puede ser un carbamato tal como un tert-butoxicarbonilo o benciloxicarbonilo.

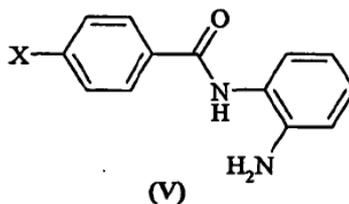
35 Las reacciones definidas en los procesos (a) y (b) se llevan a cabo convenientemente en la presencia de un solvente o diluyente inerte adecuado, por ejemplo un alcohol o un éster tal como metanol, etanol, isopropanol o acetato de etilo, un solvente halogenado tal como cloruro de metileno, cloroformo o tetracloruro de carbono, un éter tal como tetrahydrofurano, 1,2-dimetoxietano o 1,4-dioxano, un solvente aromático tal como tolueno, o un solvente aprótico dipolar tal como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidín-2-ona o dimetilsulfóxido.

Preparación del material de partida

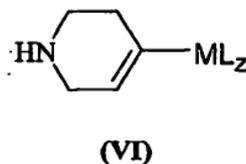
Preparación del compuesto de Fórmula II

El compuesto de Fórmula II anterior puede ser preparado por cualquiera de los siguientes procesos:

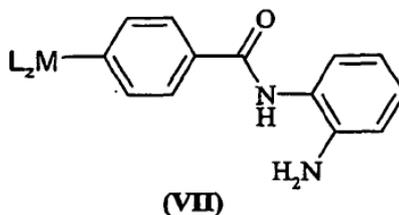
(c) La reacción de un compuesto de la fórmula (V), en donde la anilina puede ser protegida apropiadamente,



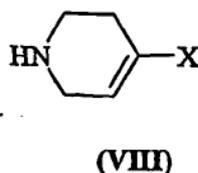
en donde X es un grupo reactivo tal como se definió aquí anteriormente,
con un compuesto de la fórmula (VI) en presencia de una base adecuada



10 en donde M es un metal, L es un ligando, el entero z va de 0 a 3, y el anillo tetrahidropiridina puede ser protegido; o la reacción de un compuesto de la fórmula (VII), en donde la anilina y la tetrahidropiridina pueden ser protegidas adecuadamente y M, L y Z son como se definió anteriormente,



con un compuesto de la fórmula (VIII):



15 en la presencia de una base adecuada;

en donde X es un grupo reactivo como se definió anteriormente,

y posteriormente, si es necesario, y en cualquier orden o combinación adecuados:

retirar cualquier grupo protector de la tetrahidropiridina, y/o

reducción de la tetrahidropiridina a piperidina y/o

20 eliminación de cualquier grupo protector residual presente.

Un grupo protector adecuado para el anillo de tetrahidropiridina es un grupo tal como tert-butoxicarbonilo (también denominado aquí como "BOC") o benciloxicarbonilo. Un grupo protector adecuado para la unidad estructural anilina también puede ser un carbamato tal como BOC o benciloxicarbonilo.

5 Una base adecuada para el proceso (c) es, por ejemplo, una base de amina orgánica tal como, por ejemplo, piridina, 2,6-lutidina, colidina, 4-dimetilaminopiridina, trietilamina, morfolina, N-metilmorfolina o diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno, o, por ejemplo, un carbonato o hidróxido de un metal alcalino o alcalinotérreo, por ejemplo carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de calcio, carbonato de cesio, hidróxido de sodio o hidróxido de potasio, o, por ejemplo, un hidruro de metal alcalino, por ejemplo hidruro de sodio, o un hidrogenocarbonato de metal alcalino tal como hidrogenocarbonato de sodio o un alcóxido de un metal tal como etóxido de sodio.

10 La reacción definida en el proceso (c) anterior se lleva a cabo convenientemente en la presencia de un solvente o diluyente inerte adecuado, por ejemplo un alcohol o éster tal como metanol, etanol, isopropanol o acetato de etilo, un solvente halogenado tal como cloruro de metileno, cloroformo o tetracloruro de carbono, un éter tal como tetrahidrofurano, 1,2-dimetoxietano, o 1,4-dioxano, un solvente aromático tal como tolueno, o un solvente aprótico dipolar tal como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidin-2-ona o dimetilsulfóxido. Las reacciones se llevan a cabo convenientemente a una temperatura en el rango de, por ejemplo, 10 a 250°C, preferiblemente en el rango de 40 a 80°C.

15 El metal M puede ser cualquier metal que sea conocido en la literatura por formar compuestos organometálicos que sufran reacciones de acoplamiento cruzado catalíticas. Ejemplos de metales adecuados incluyen boro, estaño, zinc, y magnesio.

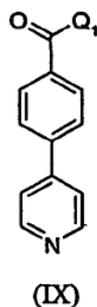
Un valor adecuado para el entero z depende del metal M pero usualmente está en el rango de 0-3.

20 Valores adecuados para el ligando L, cuando está presente, incluyen, por ejemplo, un ligando hidroxilo, halo, (1-4C) alquilo o (1-6C) alquilo, por ejemplo, un ligando hidroxilo, bromo, cloro, fluoro, yodo, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, metilo, etilo, propilo, isopropilo o butilo o, cuando el entero z es 2 y M es boro, los dos ligandos presentes pueden estar enlazados de tal forma que, junto con el átomo de boro al cual están unidos, forman un anillo. De manera adecuada, el grupo ML_z es un grupo de la fórmula $-BL^1L^2$, donde B es boro y L^1 y L^2 son como se definió el ligando L anteriormente. En particular, los ligandos L^1 y L^2 pueden estar enlazados de tal manera que, junto con el átomo de boro al cual están unidos, forman un anillo. Por ejemplo, L^1 y L^2 pueden definir juntos un grupo oxi-(2-4C)alquilen-oxi, por ejemplo un grupo oxietileneoxi, pinacolato ($-O-C(CH_3)_2C(CH_3)_2-O-$) o oxipropilenoxi de tal forma que, junto con el átomo de boro al cual están enlazados, forman un grupo de éster de ácido borónico cíclico.

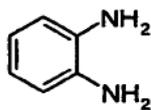
30 Un catalizador adecuado para el proceso (c) incluye, por ejemplo, un catalizador metálico tal como un catalizador de paladio (0), paladio (II), níquel (0) o níquel (II), por ejemplo tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0), paladio(II) cloruro, paladio (II) bromuro, bis(trifenilfosfina)paladio(II) cloruro, tetrakis(trifenilfosfina)níquel(0), níquel(II) cloruro, níquel(II) bromuro, bis(trifenilfosfina)níquel(II) cloruro o dicloro[1-1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio(II). Además puede agregarse convenientemente un iniciador de radicales libres, por ejemplo un compuesto azo tal como azo(bisisobutironitrilo).

35 De forma adecuada el anillo tetrahidropiridina se reduce a un anillo piperidina en el proceso (c) anterior por hidrogenación. La hidrogenación se lleva a cabo opcionalmente en presencia de un catalizador adecuado, tal como, por ejemplo, Pd/C, Pd(OH)₂/C, Pt/C, PtO₂ o Rh sobre alúmina, y también puede llevarse a cabo bajo presión, por ejemplo 1-10 bar. La hidrogenación también se lleva a cabo adecuadamente en la presencia de un ácido adecuado, por ejemplo ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido cítrico, ácido acético y ácido metanosulfónico, y en un solvente o mezcla de solventes apropiados tales como, por ejemplo, agua, etanol, tetrahidrofurano (THF), metanol, acetonitrilo o propan-2-ol.

40 d) La reacción de un compuesto de la fórmula (IX), en donde Q₁ es -OH, -Cl, o -O⁻ Q₂⁺ (en donde Q₂⁺ es un catión)

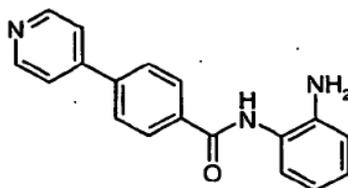


con un compuesto de la fórmula (X) en la presencia de un solvente adecuado y en donde uno de los grupos amino en el compuesto de la fórmula (X) puede ser protegido;



(X)

para formar un compuesto de la fórmula (XI)



(XI)

en donde la anilina puede ser protegida;

5 y posteriormente:

convertir el compuesto de la fórmula (XI) en un compuesto de la fórmula (II) reduciendo el anillo pirindín-4-il a un anillo piperidín-4-il utilizando un agente reductor adecuado y/o condiciones de reducción adecuadas; y

retirar opcionalmente cualquier grupo protector presente.

Un valor adecuado para Q_1 es $-O^- Na^+$ (i.e. $-O^- Q_2^+$, en donde Q_2^+ es Na^+).

10 De forma adecuada, uno de los grupos amino del compuesto de la fórmula (X) es protegido por un grupo protector amino adecuado tal como se definió aquí anteriormente, tal como un grupo BOC.

De forma adecuada, la anilina es protegida por un grupo protector amino como se definió aquí anteriormente, tal como un grupo BOC, en el compuesto de la fórmula (XI).

15 Cualquier solvente adecuado, tales como los mencionados previamente aquí, puede ser utilizado para la reacción de los compuestos IX y X.

20 El compuesto de la fórmula (XI) es convertido en un compuesto de la fórmula (II) utilizando un agente reductor adecuado y/o condiciones de reducción adecuadas. Un proceso adecuado es la hidrogenación. La hidrogenación se lleva a cabo de manera opcional en presencia de un catalizador adecuado, tal como, por ejemplo, Pd/C, Pd(OH)₂/C, Pt/C, PtO₂ o Rh en alúmina, y también puede ser llevado a cabo bajo presión, por ejemplo 1-10 bar. La hidrogenación también se lleva a cabo de manera adecuada en la presencia de un ácido adecuado, por ejemplo ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido cítrico, ácido acético y ácido metanosulfónico, y en un solvente o mezcla de solventes apropiados tales como, por ejemplo, agua, etanol, tetrahidrofurano (THF), metanol, acetonitrilo o propan-2-ol.

25 Un método adecuado para la preparación del compuesto de la fórmula (XI) comprende la conversión del compuesto (IX) en un derivado reactivo del ácido carboxílico (el cual puede ser producido in situ y no necesariamente es aislado), seguido por una reacción subsecuente con un compuesto de la fórmula (X).

30 Un derivado reactivo adecuado de un ácido carboxílico es, por ejemplo, un haluro de acilo, por ejemplo un cloruro de acilo formado por la reacción del ácido y un cloruro de ácido inorgánico, por ejemplo, cloruro de tionilo, un anhídrido mixto, por ejemplo un anhídrido formado por la reacción del ácido y un cloroformiato tal como cloroformiato de isobutilo; un éster activo; el producto de la reacción del ácido y una carbodiimida tal como dicitclohexilcarbodiimida; o el producto de la reacción de un ácido con cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazinil-2-il)-4-metilmorfolinio (DMTMM), o el producto de la reacción de un ácido con 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI).

35 Los compuestos de las fórmulas (III) y (IV) son obtenibles bien sea a partir de fuentes comerciales, por ejemplo Flurochem Ltd, Old Glossop, Derbyshire SK13 7RY, Reino Unido, o pueden bien ser sintetizados utilizando métodos que son conocidos para los experimentados en la técnica y/o reportados en la literatura, por ejemplo Makino, K.; Kim, H.S and Kurasawa Y; J. Heterocyclic Chem. 1998, 35, 489- 497 y referencias en la misma.

Ensayos

Los siguientes ensayos (a) a (c) pueden ser utilizados para medir los efectos de uno o más de los compuestos de la presente invención como inhibidores de HDAC, como inhibidores in vitro de HDAC1 humana recombinante producida con células Hi5 de insectos, y como inductores in vitro e in vivo de la acetilación de la histona H3 en células completas y tumores. También establecen la capacidad de tales compuestos para inhibir la proliferación de células tumorales humanas.

(a) Ensayo enzimático in vitro de HDAC1 recombinante

Los inhibidores de HDAC fueron examinados contra HDAC1 humano recombinante producido en células Hi5 de insectos. La enzima fue clonada con una etiqueta FLAG en el terminal C del gen y se purificó por afinidad utilizando agarosa anti-FLAG M2 de SIGMA (A2220).

Los ensayos de desacetilasa se llevaron a cabo en una reacción de 50 μ l. Se mezcló HDAC1 (75 ng de enzima) diluida en 15 μ l de regulador de reacción (Tris HCl 25 mM (pH 8), NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, MgCl₂ 1 mM) con regulador solo (10 μ l) o regulador que contiene el compuesto (10 μ l) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregó entonces péptido de histona H4 acetilada (KI 174 Biomol) 25 μ M en 25 μ l de regulador a la reacción y se incubó durante una hora a temperatura ambiente. La reacción fue detenida mediante la adición de un volumen igual (50 μ l) de desarrollador de Fluor de Lys (Biomol) que contiene tricostatina A a 2 μ M. La reacción se dejó desarrollar durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego se midió la fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 360 nm y una longitud de onda de emisión de 465 nm. Los valores IC₅₀ para los inhibidores de la enzima HDAC fueron determinados llevando a cabo curvas de respuesta a la dosis con compuestos individuales y determinando la concentración del inhibidor que producía el cincuenta por ciento de descenso en la señal máxima (control de diluyente).

(b) Ensayo in vitro de la inhibición de proliferación en células completas

La inhibición de la proliferación en células completas fue probada usando el ensayo de proliferación acuosa con título celular 96 de Promega (Promega # G5421). Se sembraron células HCT116 en placas de 96 pozos a 1×10^3 células/pozo, y se dejaron adherir durante la noche. Fueron tratadas con inhibidores durante 72 horas. Se agregaron 20 μ l del colorante tetrazolio MTS a cada pozo y las placas fueron reincubadas durante 3 horas. Se midió entonces la absorbancia en un lector de placas de 96 pozos a 490 nm. Los valores IC₅₀ para los inhibidores de HDAC fueron determinados llevando a cabo curvas de respuesta a dosis con compuestos individuales y determinando la concentración del inhibidor que produce el cincuenta por ciento de descenso en la señal máxima (control de diluyente).

(c) Ensayo enzimático in vitro de la actividad de la histona desacetilasa en células completas

La acetilación de la histona H3 en células completas fue medida utilizando inmunohistoquímica y análisis utilizando el detector de arreglo Cellomics. Se sembraron células A549 o HCT116 en placas de 96 pozos a 1×10^4 células/pozo, y se dejaron adherir durante la noche. Fueron tratadas con inhibidores durante 24 horas y luego fijadas en formaldehído al 1.8% en solución salina regulada con tris (TBS) durante una hora. Las células fueron permeabilizadas con metanol enfriado con hielo durante 5 minutos, enjuagadas en TBS y luego bloqueadas en leche en polvo baja en grasa en TBS al 3% durante 90 minutos. Las células fueron incubadas entonces con anticuerpos policlonales específicos para la histona H3 acetilada (Upstate # 06-599) diluido 1 en 500 en leche con TBS al 3% durante una hora. Las células fueron enjuagadas tres veces en TBS y luego incubadas con anticuerpos secundarios conjugados con fluoresceína (Molecular Probes #A11008) & Hoechst 333542 (1 μ g/ml) (Molecular Probes #H3570) en TBS más albúmina de suero bovino al 1% (Sigma #B6917) durante una hora. Los anticuerpos no enlazados fueron eliminados mediante tres enjuagues con TBS y después del enjuague final se agregaron 100 μ l de TBS a las células y las placas fueron selladas y analizadas utilizando el detector de arreglo Cellomics.

Los valores EC₅₀ para los inhibidores de HDAC fueron determinados llevando a cabo curvas de respuesta a la dosis con compuestos individuales y luego determinando la concentración del inhibidor que produce cincuenta por ciento de la señal máxima (control de compuesto de referencia - Tricostatina A (Sigma)).

También puede evaluarse la actividad hERG y la solubilidad de los compuestos de la invención utilizando los ensayos (d) a (f) citados a continuación:

(d) Ensayo de inhibición del canal de potasio codificado por hERG

50 Cultivo celular

Se cultivaron células de ovario de hámster chino (CHO) que expresan el canal codificado por hERG hasta semiconfluencia a 37°C en un ambiente humidificado (5% CO₂) en medio F-12 Ham que contiene L-glutamina, 10% de suero de ternera fetal (FCS) y 0.6 mg/ml de higromicina (todos de Sigma). Antes del uso la monocapa fue lavada

utilizando una alícuota precalentada (37°C) de 3 ml de Versene 1:5,000 (Invitrogen). Después de la aspiración de esta solución, el matraz fue incubado a 37°C en una incubadora con 2 ml adicionales de Versene 1:5,000 durante un período de 6 minutos. Las células fueron desprendidas entonces del fondo del matraz mediante golpeteo suave y se agregaron al matraz 10 ml de PBS de Dulbecco que contenía calcio (0.9 mM) y magnesio (0.5 mM) (PBS) (Invitrogen) y se aspiraron en un tubo de centrifuga de 15 ml antes de la centrifugación (50 g, durante 4 minutos).

El sobrenadante resultante fue descartado y la pella fue resuspendida suavemente en un alícuota de 3 ml de PBS. Se retiró una alícuota de 0.5 ml de la suspensión celular para un recuento automatizado de células (Innovatis Cedex) y el volumen de la suspensión celular final fue ajustado con PBS para dar la concentración celular final deseada.

Electrofisiología

Los principios y operación de este dispositivo han sido descritos previamente (Schroeder et al., Journal of Biomolecular Screening (2003) 8(1), 50-64). En resumen, la tecnología se basa en una placa de 384 pozos (PatchPlate™) en la cual se ejecuta un registro en cada pozo utilizando succión para tratar de posicionar y mantener una célula en un agujero pequeño que separa dos cámaras de fluido aisladas. Una vez que el sellamiento ha tenido lugar, la solución de la parte inferior de la PatchPlate™ es cambiada a una que contiene la anfotericina B (Sigma). Esto permeabiliza el parche de membrana celular que cubre el orificio en cada pozo y en efecto permite que se intente un registro de pinza en parche de célula completa perforado en cada pozo.

Para cada corrida de IonWorks™ HT se operó de la siguiente manera a temperatura ambiente (~ 21°C). El "bote" en la posición "Regulador" fue cargado con 4 ml de PBS y en la posición "células" con la suspensión celular CHO-hERG descrita más arriba. Se probó una placa de 96 pozos (fondo en V, Greiner Bio-ona) que contiene los compuestos que se van a probar (a 3X su concentración de prueba final) se colocó en la posición "Placa 1" y se colocó una PatchPlate™ en el dispositivo y se mantuvo en posición utilizando la cubierta PatchPlate™.

Cada placa de compuesto se dispuso para permitir la construcción de diez curvas de efecto de concentración de 8 puntos; las dos columnas restantes sobre la placa fueron tomadas con vehículo (DMSO al 0.33%), para definir la línea base del ensayo, y una concentración de bloqueo supramáxima de cisapride (10 µM), para definir el nivel de inhibición del 100%. El Fluidics-head (F-Head) de IonWorks™ HT agregó entonces 3.5 µl de PBS a cada pozo de la PatchPlate™ y su lado inferior fue perfusionado con solución "interna" que tenía la siguiente composición (en mM): K-Gluconato 100, KCl 40, MgCl₂ 3.2, EGTA 3 y HEPES 5 (todos Sigma) (pH 7.25-7.30 utilizando KOH 10 M). Después de iniciar y eliminar las burbujas, la Electronics-head (E-head) se movió alrededor de la PatchPlate™ para hacer una prueba en orificios (esto es, aplicar un pulso de voltaje para determinar si el agujero en cada pozo estaba abierto). La F-head dispuso entonces 3.5 µl de la suspensión celular descrita anteriormente en cada pozo de la PatchPlate™ y a las células se les dio 200 segundos para alcanzar y sellar el orificio en cada pozo. La E-head se movió entonces alrededor de la PatchPlate™ para determinar la resistencia de sellamiento obtenida en cada pozo.

La solución sobre el lado inferior de la PatchPlate™ fue cambiada a solución "Access" que tenía la siguiente composición (en mM): KCl 140, EGTA 1, MgCl₂ 1 y HEPES 20 (todos Sigma) (pH 7.25-7.30 usando KOH 10 M) más 100 µg/ml de anfotericina B. Después de 9 minutos para permitir que tuviera lugar la perforación del parche, la E-head se movió entonces alrededor de todos los 384 pozos de la PatchPlate para obtener mediciones de corriente de hERG precompuesto. La F-head agregó entonces 3.5 µl de solución desde cada pozo de la placa de compuesto a 4 pozos en la PatchPlate™. Se programó iniciar con el pozo más diluido en la placa de compuesto y mover hacia el pozo más concentrado para minimizar el impacto de contaminación cruzada.

Después de aproximadamente tres y medio minutos de incubación, la E-head se movió entonces alrededor de todos los 384 pozos de la PatchPlate™ para obtener mediciones de corriente de hERG postcompuesto. De esta manera, podrían producirse curvas de concentración-efecto no acumulativas donde, con la condición de que los criterios de aceptación fueran alcanzados en un porcentaje suficiente de pozos (véase más abajo), el efecto de cada concentración del compuesto de prueba estaba basado en el registro de entre 1 y 4 células.

Los criterios de aceptación para cada pozo fueron: resistencia al sellamiento prebarrido > 60 MΩ, amplitud de la corriente de cola hERG prebarrido > 0.15 nA; resistencia al sellamiento postbarrido > 60 MΩ. La corriente hERG pre y postcompuesto fue evocada mediante un pulso de voltaje consistente de un periodo de sostenimiento de 20 segundos a -70 mV, una etapa de 160 ms a -60 mV, una etapa de retroceso a ms 100 a -70 mV, una etapa de 1 ms a 40 mV, una etapa de 2 s a -30 mV y finalmente una etapa de 500 ms a -70mV. Entre los pulsos de voltaje de pre y postcompuesto no hubo represión del potencial de membrana.

e) Establecimiento de la solubilidad acuosa.

El compuesto de prueba (de 1 a 1.6 mg) se pesa en un vial y se agrega 1 ml de regulador de fosfato 0.1 M (pH 7.4). Se disuelven concurrentemente entre 1.0 y 1.6 mg del compuesto de prueba en 1.8 ml de DMSO en un vial, para utilizar como solución de calibración. Ambas soluciones se agitan durante 24 horas a 25°C. La solución acuosa saturada y la solución de calibración DMSO se transfieren entonces a placas de 96 pozos profundos. La placa de la solución reguladora saturada se centrifuga a una fuerza centrífuga relativa de 4310 g y luego el sobrenadante

- acuoso se transfiere a una segunda placa de pozo profundo y se centrifuga. Después de una transferencia adicional del sobrenadante acuoso y dilución al 50% con regulador, la placa de muestra final y la placa de calibración con DMSO se analizan utilizando HPLC-UV-MS. La cuantificación de la solubilidad de la muestra es por la comparación de las áreas de pico de la muestra y la calibración UK a 250 nm (longitud de onda alternativa seleccionada si 250 nm no es adecuada) con confirmación por MS del compuesto id.
- 5 f) Establecimiento de la solubilidad acuosa en reguladores y fluido intestinal simulado.
- La solubilidad es probada en el siguiente medio a las temperaturas especificadas:
- Fluido Intestinal Simulado (*En ayuno*) *FaSSiF* (Galia and Dressman et al, *Pharms Res*, 15(5), 1998, p698).
- 10 Taurocolato de sodio (3 mM); Lecitina de huevo (0.75 mM); KH_2PO_4 (0.03 M); KCl (0.1 M); NaOH (para ajustar a pH 6.5).
- Medido a 37°C
- Regulador de fosfato de Sørensen (Handbook of Biochemistry, pg 234-237).
- Solución A de fosfato de monopotasio 0.067 M
- Solución B de fosfato de disodio 0.067 M
- 15 Medidos a 25°C y 37°C.
- Se pesan con exactitud cantidades apropiadas (determinadas a partir de la prueba de solubilidad (f) anterior y/o predichas a partir de la curva de solubilidad de pH) del compuesto bajo investigación en duplicado en un vial de vidrio de 2 onzas.
- 20 A cada conjunto de viales replicados, se agrega un mínimo de 1.50 ml del medio apropiado al cual se agrega regulador de fosfato de Sørensen o *FaSSiF* de pH 6.8. Todos los pesajes deben ser suficientes para saturar el medio en cada caso.
- Se agrega un seguidor magnético recubierto con PTFE a cada vial antes de que sean sellados y colocados en un bloque de agitación de reacción magnética Variomag (Camlab). Los bloques de agitación se mantienen a la temperatura apropiada (véase más arriba), se cubren con hoja de aluminio para reducir la exposición a la luz y se agitan en direcciones alternas a 800 rpm.
- 25 De cada vial se toma una muestra en el punto del tiempo prescrito para los medios que están siendo probados. Se determinan en primer lugar el pH y luego el contenido activo en cada muestra a cada punto del tiempo de la forma siguiente.
- pH*
- 30 Utilizando un medidor de pH adecuado (Hydrus 400 - Fisher), electrodo y reguladores estándar de pH, se calibra el instrumento a pH 4.01 y 7.00 a temperatura ambiente.
- Colocando el electrodo en cada muestra replicada, se determina el pH a temperatura ambiente y se reporta el resultado con una cifra decimal. El electrodo es enjuagado con agua desionizada y secado entre las determinaciones.
- 35 Contenido activo por HPLC
- De cada muestra, se transfiere una alícuota de 0.4 ml a un tubo ultracentrífuga de policarbonato (Beckman). Las muestras son centrifugadas a 40000 rpm durante 15 minutos a la temperatura apropiada para el medio que está siendo probado utilizando la Ultracentrífuga TL Optima (Beckman). El sobrenadante de cada tubo de ultracentrífuga es transferido a un segundo tubo de ultracentrífuga y centrifugado una vez más bajo las mismas condiciones.
- 40 El sobrenadante de cada muestra es analizado bajo el método de HPLC optimizado para el compuesto bajo investigación y el contenido activo se determina contra un estándar externo. El sobrenadante puede requerir dilución con un solvente adecuado para llevar la concentración al rango lineal del método de HPLC. Este puede estimarse normalmente a partir de la curva de solubilidad acuosa según pH predicha y en el caso de los cosolventes a partir de la cantidad de compuesto que ha sido añadida.

Aunque las propiedades farmacológicas de los compuestos de la Fórmula IA varían con el cambio estructural tal como se espera, en general la actividad poseída por los compuestos de la Fórmula IA puede ser demostrada en las siguientes concentraciones o dosis en una o más de las pruebas anteriores (a), (b), (c) o (d): -

Prueba (a):- IC₅₀ en el rango de, por ejemplo, 100 nM o menos;

5 Prueba (b):- IC₅₀ en el rango de, por ejemplo, 1 µM o menos;

Prueba (c):- IC₅₀ en el rango de, por ejemplo, 1 µM o menos;

Prueba (d):- IC₅₀, por ejemplo, superior a 30 µM;

10 A manera de ejemplo, utilizando la prueba (a) para la inhibición de HDAC1 y la prueba (b) para la inhibición de la proliferación en células completas, el compuesto descrito en el Ejemplo 4 aquí dio los resultados de IC₅₀ mostrados más adelante en la Tabla A. La tabla también incluye el resultado correspondiente para *N*-(2-aminofenil)-4-(1-(pirid-2-il metil)piperidin-4-il)benzamida (Compuesto [1] más arriba):

Tabla A

Compuesto de Ejemplo	Prueba de IC ₅₀ (a) (ensayo <i>In vitro</i> para la inhibición de HDAC1)	Prueba de IC ₅₀ (b) (ensayo <i>In vitro</i> para la inhibición de proliferación en células completas)
4	0.081 µM	0.508 µM
Compuesto comparativo 1	0.1 µM	1.433 µM

15 No se observó ninguna toxicidad fisiológicamente inaceptable en la prueba (d) a la dosis efectiva para los compuestos probados de la presente invención. De acuerdo con lo anterior no se esperan efectos toxicológicos indebidos cuando un compuesto de la Fórmula IA, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en los rangos de dosificación definidos aquí más adelante.

20 Además, aunque la solubilidad de los compuestos de la Fórmula IA variará inevitablemente con el cambio estructural tal como se espera, los compuestos de la fórmula IA, en general, poseen una solubilidad medida por la prueba (e) anterior, por ejemplo, mayor de 100 µM.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención se provee una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 Las composiciones de la invención pueden estar en una forma adecuada para uso oral (por ejemplo como tabletas, pastillas, cápsulas duras o blandas, suspensiones acuosas u oleosas, emulsiones, polvos o gránulos dispersables, jarabes o elixires), para uso tópico (por ejemplo como cremas, ungüentos, geles o soluciones o suspensiones acuosas u oleosas), para administración por inhalación (por ejemplo en forma de un polvo finamente dividido o un aerosol líquido), para administración por insuflación (por ejemplo en forma de un polvo finamente dividido) o para administración parenteral (por ejemplo en forma de una solución acuosa u oleosa estéril para dosificación intravenosa, subcutánea, intramuscular o dosificación intramuscular o como un supositorio para dosificación rectal).

30 Las composiciones de la invención pueden ser obtenidas por procedimientos convencionales utilizando excipientes farmacéuticos convencionales, bien conocidos en la técnica. Así, las composiciones previstas para uso oral pueden contener, por ejemplo, uno o más agentes colorantes, endulzantes, saborizantes y/o conservantes.

35 Excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para la formulación en tabletas incluyen, por ejemplo, diluyentes inertes tales como lactosa, carbonato de sodio, fosfato de calcio o carbonato de calcio, agentes granuladores y desintegrantes tales como almidón de maíz o ácido algénico; agentes aglomerantes tales como almidón; agentes lubricante tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco; agentes conservantes tales como p-hidroxibenzoato de etilo o propilo, y antioxidantes, tales como ácido ascórbico. Las formulaciones en tableta pueden ser no cubiertas o recubiertas bien sea para modificar su desintegración y la subsecuente absorción del ingrediente activo dentro del tracto gastrointestinal, o para mejorar su estabilidad y/o apariencia, en cualquier caso, utilizando agentes de recubrimiento convencionales y procedimientos bien conocidos en el arte.

40 Las composiciones para uso oral pueden estar en la forma de cápsulas de gelatina dura en las cuales el ingrediente activo es mezclado con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o

como cápsulas de gelatina blandas en las cuales el ingrediente activo es mezclado con agua o un aceite tal como aceite de cacahuete, parafina líquida, aceite de soja, aceite de coco o preferiblemente aceite de oliva, o cualquier otro vehículo aceptable.

5 Las suspensiones acuosas en general contienen el ingrediente activo en forma finamente pulverizada junto con uno o más agentes de suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinil pirrolidona, goma de tragacanto y goma acacia; agentes dispersantes o humectantes tales como lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos (por ejemplo, estearato de polioxietileno), o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como polioxietilén sorbitol monooleato, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como polioxietilén sorbitol monooleato, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo polietilén sorbitano monooleato. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes (tales como p-hidroxibenzoato de etilo o propilo, antioxidantes (tales como ácido ascórbico), agentes colorantes, agentes saborizantes y/o agentes endulzantes (tales como sacarosa, sacarina o aspartame).

20 Las suspensiones oleosas pueden ser formuladas suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal (tal como aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco) o en un aceite mineral (tal como parafina líquida). Las suspensiones oleosas también pueden contener un agente espesante tal como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Agentes endulzantes tales como los definidos anteriormente, y pueden agregarse agentes saborizantes para proveer una preparación oral paladeable. Estas composiciones pueden ser conservadas mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

25 Los polvos y gránulos dispersables o liofilizados adecuados para preparación de una suspensión o solución acuosa mediante la adición de agua contienen generalmente el ingrediente activo junto con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados son ejemplificados por los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales tales como agentes endulzantes, saborizantes y colorantes.

30 Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en la forma de emulsiones aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, tal como un aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, tal como por ejemplo parafina líquida o una mezcla de cualquiera de éstos. Los agentes emulsificantes adecuados pueden ser, por ejemplo, gomas de origen natural tales como goma acacia o goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural tales como lecitina de soja, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol (por ejemplo monooleato de sorbitano) y productos de condensación de los dichos ésteres parciales con óxido de etileno tales como polioxietilén sorbitano monooleato. Las emulsiones también pueden contener agentes endulzantes, saborizantes y conservantes.

Los jarabes y elixires pueden ser formulados con agentes endulzantes tales como glicerol, propilén glicol, sorbitol, aspartame o sacarosa, y pueden también contener un agente demulcente, conservante, saborizante y/o colorante.

40 Las composiciones farmacéuticas también pueden estar en la forma de una suspensión inyectable acuosa u oleosa estéril, soluciones, emulsiones o sistemas particulares, los cuales pueden ser formulados de acuerdo con procedimientos conocidos utilizando uno o más de los agentes de dispersión o humectación y agentes de suspensión apropiados, los cuales han sido mencionados anteriormente. Una preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo una solución en polietilén glicol.

45 Las formulaciones en supositorios también pueden ser preparadas mezclando el ingrediente activo con un excipiente no irritante adecuado el cual es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y por lo tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, manteca de cacao y polietilén glicoles.

50 Las formulaciones tópicas, tales como cremas, ungüentos, geles y soluciones o suspensiones acuosas u oleosas, pueden ser obtenidas en general formulando un ingrediente activo con un vehículo o diluyente convencional, tópicamente aceptable, utilizando procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica.

55 Las composiciones para administración por insuflación pueden estar en la forma de un polvo finamente dividido que contiene partículas de diámetro promedio de, por ejemplo, 30 μm o mucho menos, preferiblemente 5 μm o menos y más preferiblemente entre 5 μm y 1 μm , comprendiendo el polvo mismo bien sea el ingrediente activo solo o diluido con uno o más portadores fisiológicamente aceptables tales como lactosa. El polvo para insuflación es

convenientemente retenido en una cápsula que contiene, por ejemplo, de 1 a 50 mg de ingrediente activo para uso con un dispositivo turboinhalador, tal como el utilizado para insuflación del agente conocido cromoglicato de sodio.

- 5 Las composiciones para administración por inhalación pueden estar en la forma de un aerosol presurizado convencional dispuesto para dispensar el ingrediente activo bien sea como un aerosol que contiene gotitas sólidas o líquidas finamente divididas. Pueden utilizarse propelentes de aerosol convencionales tales como hidrocarburos fluorados o hidrocarburos volátiles y el dispositivo de aerosol está dispuesto convenientemente para dispensar una cantidad medida de ingrediente activo.

Para información adicional sobre formulación el lector es referido a Capítulo 25.2 en el Volumen 5 de Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

- 10 En general las composiciones anteriores pueden prepararse de una manera convencional utilizando excipientes convencionales.

- 15 El compuesto de la fórmula (IA) se administrará normalmente a un animal de sangre caliente en una dosis unitaria dentro del rango de 5-5000 mg/m² de área corporal del animal, esto es, 0.1-100 mg/kg, y esto normalmente provee una dosis terapéuticamente efectiva. Una forma de dosis unitaria tal como una tableta o cápsula contendrá usualmente, por ejemplo 1-250 mg de ingrediente activo. Preferiblemente se emplea una dosis diaria en el rango de 1-50 mg/kg. Sin embargo la dosis diaria variará necesariamente dependiendo del receptor tratado, de la ruta particular de administración, y de la severidad de la enfermedad que está siendo tratada. De acuerdo con lo anterior la dosificación óptima puede ser determinada por el practicante que está tratando cualquier paciente particular.

- 20 Hemos encontrado que los compuestos definidos en la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, son inhibidores efectivos del ciclo celular (agentes antiproliferación celular), y se cree que esta propiedad surge de su actividad inhibidora de HDAC. También creemos que los compuestos de la presente invención pueden estar involucrados en la inhibición de la angiogénesis, la activación de la apoptosis y la diferenciación. De acuerdo con lo anterior se espera que los compuestos de la presente invención sean útiles en el tratamiento de enfermedades o condiciones médicas mediadas solo o en parte por enzimas de HDAC, esto es, los
- 25 compuestos pueden ser usados para producir un efecto inhibidor de HDAC en un animal de sangre caliente que requiere tal tratamiento. Así, los compuestos de la presente invención proveen un método para tratar la proliferación de células malignas caracterizada por la inhibición de enzimas de HDAC, esto es los compuestos pueden ser utilizados para producir un efecto antiproliferativo mediado solo o en parte por la inhibición de HDAC.

- 30 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención se provee un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente para uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal por terapia.

- 35 Así de acuerdo con un aspecto adicional de la invención se provee un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable o un profármaco del mismo, tal como se definieron aquí anteriormente para uso como un medicamento. De acuerdo con un aspecto adicional de la invención se provee el uso de un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco del mismo, tal como se definieron aquí anteriormente en la manufactura de un medicamento para uso en la producción de un efecto inhibidor de HDAC en un animal de sangre caliente tal como un hombre.

- 40 También se describe un método para producir un efecto inhibidor de HDAC en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que requiere tal tratamiento el cual comprende administrar a dicho animal una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente.

- 45 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención se provee el uso de un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente en la manufactura de un medicamento para uso en la producción de un efecto inhibidor del ciclo celular (antiproliferación celular) en un animal de sangre caliente tal como un hombre.

También se describe un método para producir un efecto inhibidor del ciclo celular (antiproliferación celular) en un animal de sangre caliente, tal como un hombre, que requiere tal tratamiento el cual comprende administrar a dicho animal una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió anteriormente.

- 50 También se describe un método para tratar cáncer en un animal de sangre caliente, tal como un hombre, que requiere de tal tratamiento el cual comprende administrar a dicho animal una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente.

De acuerdo con una característica adicional de la invención se provee un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente en la manufactura de un

medicamento para uso en el tratamiento de cáncer. De acuerdo con una característica adicional de éste aspecto de la invención se provee un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente, para uso en el tratamiento del cáncer.

5 De acuerdo con una característica adicional de este aspecto de la invención se provee el uso de un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente, para uso en la manufactura de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

10 En un aspecto adicional de la presente invención se provee el uso de un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente, en la manufactura de un medicamento para uso en cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de seno, cáncer de próstata, linfoma y/o leucemia.

También se describe un método para tratar cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de seno, cáncer de próstata, linfoma o leucemia, en un animal de sangre caliente, tal como un hombre, que requiere de tal tratamiento, el cual comprende administrar a dicho animal una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente.

15 Los cánceres que son susceptibles de tratamiento con la presente invención incluyen cáncer esofágico, mieloma, hepatocelular, pancreático y cáncer cervical, tumor de Ewings, neuroblastoma, sarcoma de Kaposi, cáncer de ovario, cáncer de seno, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, melanoma, cáncer de pulmón [incluyendo cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) y cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC)], cáncer gástrico, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de cerebro, cáncer renal, linfoma y leucemia.

20 La actividad inhibidora de HDAC definida aquí puede ser aplicada como una terapia única o puede involucrar, además de un compuesto de la invención, una o más sustancias y/o tratamientos. Tales tratamientos conjuntos pueden ser logrados por medio de administración simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento. En el campo de la oncología médica es una práctica normal utilizar una combinación de diferentes formas de tratamiento para tratar cada paciente con cáncer. En la oncología médica los otros
25 componentes de tales tratamientos conjuntos además del tratamiento inhibidor del ciclo celular definido aquí anteriormente pueden ser: cirugía, radioterapia o quimioterapia. Tal quimioterapia puede incluir una o más de las siguientes categorías de agentes antitumorales:

30 (i) fármacos antiproliferativos/antineoplásticos y combinación de los mismos, tales como los usados en la oncología médica, tales como agentes alquilantes (por ejemplo cis-platino, carboplatino, ciclofosfamida, mostaza de nitrógeno, melfalán, clorambucil, busulfán y nitrosoureas); antimetabolitos (por ejemplo antifolatos tales como fluoropirimidinas tales como 5-fluorouracilo y tegafur, raltitrexed, metotrexato, citosina arabinósido e hidroxiurea; antibióticos antitumorales (por ejemplo antraciclinas tales como la adriamicina, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarrubicina, mitomicina-C, dactinomicina y mitramicina); agentes antimitóticos (por ejemplo alcaloides de vinca tales como vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina y taxoides tales como taxol y taxotere); e
35 inhibidores de la topoisomerasa (por ejemplo epipodofilotoxinas tales como etopósido y tenipósido, amsacrina, topotecán y camptotecina);

40 (ii) agentes citostáticos tales como antiestrógenos (por ejemplo tamoxifén, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno y yodoxifeno), reguladores del descenso de receptor de estrógenos (por ejemplo fulvestrant), antiandrógenos (por ejemplo bicalutamida, flutamida, nilutamida y acetato de ciproterona), antagonistas de LHRH o agonistas de LHRH (por ejemplo goserelina, leuprorelina y buserelina), progestógenos (por ejemplo acetato de megestrol), inhibidores de la aromataasa (por ejemplo anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano) e inhibidores de la 5 α -reductasa tales como finasteride;

(iii) agentes que inhiben la invasión de células cancerosas (por ejemplo inhibidores de la metaloproteinasas como marimastat e inhibidores de la función receptora del activador de plasminógeno de uroquinasa);

45 (iv) inhibidores de la función de factor de crecimiento, por ejemplo tales inhibidores incluyen anticuerpos de factor de crecimiento, anticuerpos del receptor de factor de crecimiento (por ejemplo el anticuerpo anti-erbB2 trastuzumab [HerceptinTM] y el anticuerpo anti-erbB1 cetuximab [C225]), inhibidores de la farnesil transferasa, inhibidores de MEK, inhibidores de la tirosina quinasa e inhibidores de la serina/treonina quinasa, por ejemplo inhibidores de la familia del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo inhibidores de la familia de tirosina quinasa EGFR tales como *N*-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (gefitinib), *N*-(3-etinilfenil)-6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-amina (erlotinib, OSI-774) y 6-acrilamido-*N*-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (CI 1033)), por ejemplo inhibidores de la familia del factor de crecimiento derivado de plaquetas y por ejemplo inhibidores de la familia del factor de crecimiento de hepatocitos;

55 (v) agentes antiangiogénicos tales como aquellos que inhiben los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular (por ejemplo el anticuerpo del factor de crecimiento celular endotelial antivascular bevacizumab [AvastinTM], compuestos tales como los divulgados en las Solicitudes Internacionales de Patentes WO 97/22596, WO 97/30035,

WO 97/32856 y WO 98/13354) y compuestos que trabajan por otros mecanismos (por ejemplo linomida, inhibidores de la función de la integrina $\alpha v \beta 3$ y la angiostatina);

(vi) agentes de daño vascular tales como Combretastatina A4 y compuestos divulgados en las Solicitudes Internacionales de Patente WO 99/02166, WO00/40529, WO 00/41669, WO01/92224, WO02/04434 y WO02/08213;

5 (vii) terapias antisentido, por ejemplo las que están dirigidas a los objetivos listados anteriormente, tales como ISIS 2503, un antisentido anti-ras;

(viii) metodologías de terapia genética que incluyen por ejemplo metodologías para reemplazar genes aberrantes tales como p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrantes, metodologías GDEPT (terapia con profármacos de enzimas dirigidas a genes) tales como las que utilizan citosina desaminasa, timidina quinasa o la enzima nitrorreductasa bacteriana y metodologías para incrementar la tolerancia del paciente a quimioterapia o radioterapia tales como terapia genética de resistencia a fármacos múltiples;

10

(ix) metodologías de inmunoterapia, que incluyen por ejemplo metodologías ex vivo e in vivo para incrementar la inmunogenicidad de células tumorales del paciente, tales como transfección con citoquinas tales como interleucina 2, interleucina 4 o el factor estimulante de colonias granulocitos - macrófago, metodologías para disminuir la energía de las células T, metodologías que utilizan células inmunes transfectadas tales como células dendríticas transfectadas con citoquina, metodologías que utilizan líneas celulares de tumores transfectados con citoquinas y metodologías que utilizan anticuerpos anti-idiotípicos;

15

(x) inhibidores del ciclo celular que incluyen por ejemplo inhibidores de CDK (por ejemplo flavopiridol) y otros inhibidores de los puntos de verificación del ciclo celular (por ejemplo quinasa de punto de verificación); inhibidores de la aurora quinasa y otras quinasas involucradas en la mitosis y en la regulación de la citoquinesis (por ejemplo quinesinas mitóticas); y otros inhibidores de la histona desacetilasa; y

20

(xi) agentes de diferenciación (por ejemplo ácido retinoico y vitamina D).

De acuerdo con este aspecto de la invención se provee una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (IA) tal como se define aquí anteriormente y una sustancia adicional antitumoral tal como se definió aquí anteriormente para el tratamiento conjunto del cáncer.

25

Se provee adicionalmente un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente, para uso en un método de tratamiento de enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes y enfermedades alérgicas/atópicas.

En particular se provee un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente, para uso en un método para tratar inflamación de las articulaciones (especialmente artritis reumatoide, osteoartritis y gota), inflamación del tracto gastrointestinal (especialmente enfermedad inflamatoria del intestino, colitis ulcerativa y gastritis), inflamación de la piel (especialmente psoriasis, eccema, dermatitis), esclerosis múltiple, aterosclerosis, espondiloartropatías (espondilitis anquilosante, artritis psoriática, artritis conectada con colitis ulcerativa), neuropatías relacionadas con SIDA, lupus eritematoso sistémico, asma, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, bronquitis, pleuritis, síndrome de distensión respiratoria en adultos, sepsis, y hepatitis aguda y crónica (bien sea viral, bacteriana o tóxica).

30

35

Se provee adicionalmente un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se define aquí, para uso como un medicamento en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes y enfermedades alérgicas/atópicas en un animal de sangre caliente tal como un hombre.

40

En particular se provee un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se define aquí para uso como un medicamento en el tratamiento de inflamación de las articulaciones (especialmente artritis reumatoide, osteoartritis y gota), inflamación del tracto gastrointestinal (especialmente enfermedad inflamatoria del intestino, colitis ulcerativa y gastritis), inflamación de la piel (especialmente psoriasis, eccema, dermatitis), esclerosis múltiple, aterosclerosis, espondiloartropatías (espondilitis anquilosante, artritis psoriática, artritis conectada con colitis ulcerativa), neuropatías relacionadas con SIDA, lupus eritematoso sistémico, asma, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, bronquitis, pleuritis, síndrome de distensión respiratoria en adultos, sepsis, y hepatitis aguda y crónica (bien sea viral, bacteriana o tóxica).

45

Se provee adicionalmente el uso de un compuesto de la fórmula (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió aquí anteriormente, en la manufactura de un medicamento para uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes y enfermedades alérgicas/atópicas en un animal de sangre caliente tal como un hombre.

50

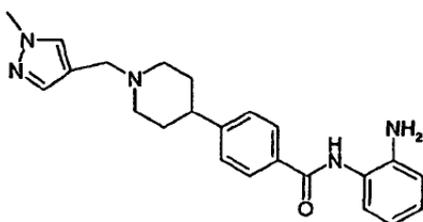
Como se estableció anteriormente el tamaño de la dosis requerida para el tratamiento terapéutico o profiláctico de una enfermedad particular de proliferación celular variará necesariamente dependiendo del receptor tratado, la ruta de administración y la severidad de la enfermedad que está siendo tratada. Se prevé una dosis unitaria en el rango de, por ejemplo, 1-100 mg/kg, preferiblemente 1-50 mg/kg.

- 5 Además de su uso en medicina terapéutica, los compuestos de la fórmula (IA) y sus sales farmacéuticamente aceptables, son también útiles como herramientas farmacológicas en el desarrollo y estandarización de sistemas de prueba in vitro e in vivo para la evaluación de los efectos de los inhibidores de la actividad del ciclo celular en animales de laboratorio tales como gatos, perros, conejos, monos, ratas y ratones, como parte de la investigación por nuevos agentes terapéuticos.
- 10 La invención se ilustrará ahora en los siguientes ejemplos en los cuales, en general:
- (i) las operaciones fueron llevadas a cabo a temperatura ambiente, esto es, en el rango de 17 a 25°C y bajo una atmósfera de un gas inerte tal como argón a menos que se establezca otra cosa;
- (ii) las evaporaciones fueron llevadas a cabo por evaporación rotativa in vacuo y los procedimientos de manipulación fueron llevados a cabo después de la eliminación de sólidos residuales por filtración;
- 15 (iii) la cromatografía de columna (por el procedimiento instantáneo) y la cromatografía líquida de presión media (MPLC) fueron llevados a cabo sobre sílica Merck Kieselgel (Art. 9385) o sílica de fase reversa Merck Lichroprep RP-18 (Art. 9303) obtenidos de E. Merck, Darmstadt, Alemania, o utilizando cartuchos de sílica de fase normal preempacados registrados, por ejemplo cartuchos de cromatografía desechables RedisepTM obtenidos de Presearch Ltd., Hitchin, Reino Unido, o la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) se llevó a cabo utilizando
- 20 sílica C18 en fase reversa, por ejemplo sobre una columna preparativa en fase reversa Dynamax C-18 60Å;
- (iv) los rendimientos, cuando aparecen, no son necesariamente los máximos obtenibles;
- (v) en general, las estructuras de los productos finales de la fórmula (IA) fueron confirmadas por técnicas de resonancia magnética nuclear (RMN) y/o espectroscopía de masas; los datos espectrales de masas por bombardeo de átomos rápidos (FAB) fueron obtenidos utilizando un espectrómetro Platform y, cuando era apropiado, se
- 25 recolectaron datos de iones positivos o iones negativos; los valores de desplazamiento químico de la RMN fueron medidos sobre la escala delta, los espectros de resonancia magnética protónica fueron determinados utilizando un espectrómetro Jeol JNM EX 400 operando con una fuerza de campo de 400 MHz, un espectrómetro Varian Gemini 2000 que operaba a una fuerza de campo de 300 MHz, un Bruker DPX-400 que operaba a 400 MHz o un
- 30 espectrómetro Bruker AM300 que operaba a una fuerza de campo de 300MHz – las mediciones fueron tomadas a temperatura ambiente a menos que se especifique otra cosa;
- (vi) los intermediarios no fueron caracterizados en general de manera completa y su pureza fue establecida por análisis de cromatografía en capa fina, HPLC, infrarrojo (IR) y/o RMN;
- (vii) los puntos de fusión son no corregidos y fueron determinados utilizando un aparato de punto de fusión
- 35 automático Mettler SP62 o un aparato de baño de aceite; los puntos de fusión para los productos finales de la fórmula (IA) fueron determinados después de cristalización desde un solvente orgánico convencional tal como etanol, metanol, acetona, éter o hexano, solos o en mezcla;
- (viii) se han utilizado las siguientes abreviaturas:-

DMSO	dimetilsulfóxido
THF	tetrahidrofurano
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
IPA	isopropilalcohol
Boc/BOC	tert butiloxicarbonilo
HCl	ácido clorhídrico
Cbz/CBZ	benciloxicarbonilo
Tf	trifluorometilsulfonilo

(continuación)

LiHMDS	hexametildisilazida de litio
PhNTf ₂	<i>N</i> -fenil-bis(trifluorometanosulfonimida)
DME	1,2-dimetoxietano
CDMT	2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina

Ejemplo 1*N*-(2-Aminofenil)-4-{1-[(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida

5

A un recipiente de reacción cargado con 1-metil-1*H*-pirazol-4-carboxaldehído (84.5 mg, 0.77 mmol) se agregó una solución de *tert*-butil 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato (preparada como se describe en el Método 1 más adelante; 300 mg, 0.76 mmol) en diclorometano (7 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0.5 ml), puede prepararse también *tert*-Butil 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de acuerdo con el proceso descrito en el Método 4 más adelante. Se agrega ácido acético (50 μ l, 0.87 mmol) y la mezcla de reacción se deja en agitación a temperatura ambiente durante 45 minutos. Se agrega entonces triacetoxiborohidruro de sodio (250 mg, 1.18 mmol) y las reacciones se dejan en agitación durante 76 horas adicionales, antes de ser diluidas con metanol y vertidas directamente sobre un cartucho SCX-2 (10 g). El cartucho fue lavado con metanol (80 ml) antes de eluir los productos con una solución 2 M de amoníaco en metanol (50 ml). Las fracciones relevantes fueron evaporadas hasta sequedad y el residuo resultante redisoluto en diclorometano (3 ml) y tratado con ácido trifluoroacético (1 ml). Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas antes de diluir con diclorometano y verter sobre un cartucho SCX-2 (5 g). El cartucho fue lavado con metanol (20 ml) y luego los productos fueron eluidos con una solución 2 M de amoníaco en metanol (20 ml). La fracción amoniaca fue evaporada hasta sequedad y el residuo resultante fue purificado por cromatografía instantánea sobre sílica, eluyendo con metanol al 10% en diclorometano, para producir el compuesto del título (117 mg, 40 %); Espectro de RMN: (DMSO d_6) δ 1.70 (m, 4H), 2.01 (t, 2H), 2.57 (m, 1H), 2.95 (m, 2H), 3.38 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 4.86 (s, 2H), 6.60 (m, 1H), 6.78 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 7.18 (m, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.37 (d, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.91 (d, 2H), 9.56 (s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 390.

10

15

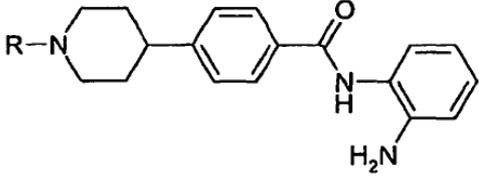
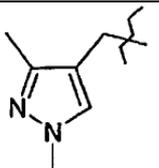
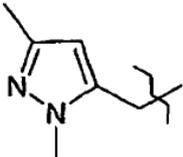
20

Ejemplo 2A & Ejemplo de referencia 2B

Utilizando un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 1, se hizo reaccionar *tert*-butil 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato con el material de partida de pirazolcarbaldehído apropiado (SM) para dar los compuestos descritos en la Tabla 1

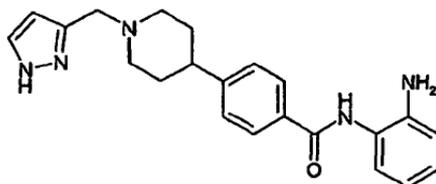
25

Tabla 1

			
Ejemplo	R	Datos analíticos	SM
2A		Espectro de RMN: (CDCl ₃) δ 1.81 (m, 4H), 2.07 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.56 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.85 (s, 2H), 6.84 (m, 2H), 7.08 (m, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.33 (m, 3H), 7.82 (m, 3H). Espectro de masas: M+Na ⁺ 426.	Disponible comercialmente
2B		Espectro de RMN: (DMSO d ₆) δ 1.67 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.08 (m, 5H), 2.59 (m, 1H), 2.93 (m, 2H), 3.48 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 4.86 (s, 2H), 5.92 (s, 1H), 6.60 (m, 1H), 6.78 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 7.17 (m, 1H), 7.38 (d, 2H), 7.91 (d, 2H), 9.56 (s, 1H); Espectro de masas: M+Na ⁺ 426.	Disponible comercialmente

Ejemplo de referencia 3

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



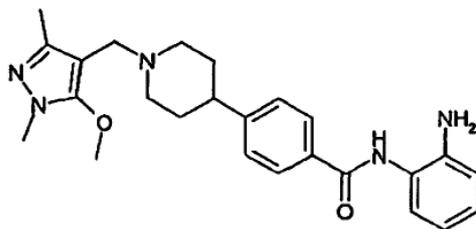
5

Se agitaron *tert*-Butil 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato (preparado como se describe en el Método 1 más adelante; 200 mg, 0.51 mmol) y 1*H*-pirazol-3-carbaldehído (50.7 mg, 0.53 mmol) a temperatura ambiente en diclorometano (5 ml) durante 1 hora. Se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (150 mg, 0.71 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. La solución resultante fue absorbida sobre una columna SCX-2, la cual fue lavada con metanol (2 volúmenes de columna) y luego el producto se eluyó con una solución 2 M de amoníaco en metanol (2 volúmenes de columna) para dar una espuma. Esta fue disuelta en 1,4-dioxano (2 ml), se agregó una solución de cloruro de hidrógeno 4M en 1,4-dioxano (2 ml) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. El producto fue filtrado y lavado con dietil éter y secado al aire. El sólido resultante fue disuelto en agua, basicado con hidróxido de sodio 2N y el sólido resultante fue filtrado, lavado con agua y secado bajo vacío para dar el compuesto del título (61 mg, 44 %). Espectro de RMN: ¹H NMR (DMSO d₆) δ 1.71 (m, 4H), 2.07 (m, 2H), 2.56 (m, 1H), 2.95 (m, 2H), 3.53 (s, 2H), 4.86 (s, 2H), 6.16 (s, 1H), 6.60 (m, 1H), 6.78 (d, 1H), 6.97 (t, 1H), 7.18 (d, 1H), 7.37 (d, 2H), 7.64 (m, 1H), 7.91 (d, 2H), 9.55 (s, 1H), 12.59 (m, 1H); Espectro de masas: M+H⁺ 376.

15

Ejemplo de referencia 4

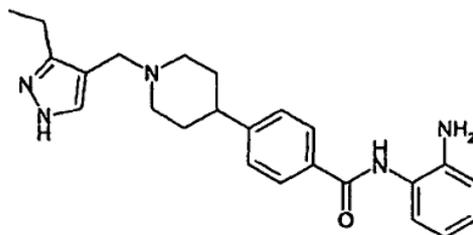
N-(2-Aminofenil)-4-[1-[(5-metoxi-1,3-dimetilil-1*H*-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il]benzamida



5 Utilizando un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo de referencia 3, se hizo reaccionar tert-butil 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato (preparado como se describe en el Método 1 más adelante; 200 mg, 0.51 mmol) con 5-metoxi-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carbaldehído (92.6 mg, 0.60 mmol) para dar el compuesto del título (68 mg, 36 %); Espectro de RMN: (DMSO d_6) δ 1.63 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.00 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.57 (m, 1H), 2.94 (m, 2H), 3.25 (s, 2H), 3.50 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 4.86 (br s, 2H), 6.60 (m, 1H), 6.78 (d, 1H), 6.97 (m, 1H), 7.17 (d, 1H), 7.37 (d, 2H), 7.91 (d, 2H), 9.55 (s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 434.

Ejemplo de referencia 5

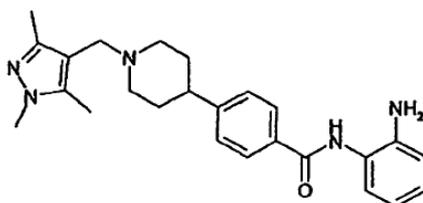
N-(2-Aminofenil)-4-{1-[(3-etil-1H-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida



10 Se agitaron a temperatura ambiente tert-Butil 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato (preparado como se describe en el Método 1 más adelante; 395 mg, 1.0 mmol) y 3-etil-1H-pirazol-4-carbaldehído (149 mg, 1.2 mmol) en diclorometano (10 ml) durante 1 hora. Se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (297 mg, 1.4 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La solución resultante fue absorbida sobre una columna SCX-2, la cual fue lavada con metanol (2 volúmenes de columna) y luego el producto se eluyó con una solución 2 M de amoníaco en metanol (2 volúmenes de columna) para dar el producto en forma de una espuma blanca. Esta fue purificada por cromatografía sobre sílica eluyendo con metanol al 10% en diclorometano. El residuo fue disuelto en diclorometano (4 ml) y se agregó ácido trifluoroacético (1 ml) y la mezcla se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La solución resultante fue absorbida sobre una columna de SCX-2 la cual fue lavada con metanol (2 volúmenes de columna) y luego el producto se eluyó con una solución 2 M de amoníaco en metanol (2 volúmenes de columna) para dar el compuesto del título (232 mg, 75 %). Espectro de RMN: (DMSO d_6) δ 1.18 (t, 3H), 1.65 (m, 2H), 1.77 (m, 2H), 2.00 (m, 2H), 2.57 (m, 3H), 2.95 (m, 2H), 3.34 (s, 2H), 4.86 (br s, 2H), 6.60 (m, 1H), 6.78 (d, 1H), 6.97 (m, 1H), 7.17 (d, 1H), 7.29 (br s, 1H), 7.37 (d, 2H), 7.91 (d, 2H), 9.55 (s, 1H), 12.39 (s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 404.

25 Ejemplo 6

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

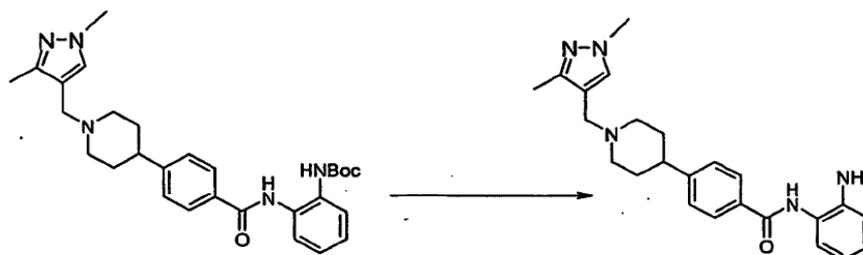


30 Utilizando un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo de referencia 5, se hizo reaccionar tert-butil 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato (preparado como se describe en el Método 1 más adelante; 200 mg, 0.51 mmol) con 1,3,5-trimetil-1H-pirazol-4-carbaldehído (83.5 mg, 0.60 mmol) para dar el compuesto del título (70 mg, 56 %); Espectro de RMN: (DMSO d_6) δ 1.65 (m, 2H), 1.77 (m, 2H), 1.98 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 2.57 (m, 1H),

2.92 (m, 2H), 3.24 (s, 2H), 3.63 (s, 3H), 4.86 (br s, 2H), 6.60 (m, 1H), 6.78 (d, 1H), 6.97 (m, 1H), 7.17 (d, 1H), 7.37 (d, 2H), 7.91 (d, 2H), 9.55 (s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 418.

Ejemplo 7A

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



5

Se disolvió *tert*-Butil (2-[[4-(1-(1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il)benzoil]amino)fenil)carbamato (preparado como se describe en el Método 6 más adelante; 7.61 g, 15.11 mmol) en 1,4 dioxano (70 ml) y se enfrió a 0°C, utilizando un baño de hielo - agua. Se agregó entonces lentamente una disolución 4 M de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (150 ml, 600 mmol). La suspensión resultante se dejó calentar hasta temperatura ambiente y los grumos se rompieron por agitación con una varilla de vidrio. La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla fue filtrada, bajo succión. El sólido obtenido fue disuelto en agua (200 ml), y la solución se ajustó a pH 12 mediante la adición lenta de solución acuosa 2M de hidróxido de sodio. La mezcla obtenida fue extraída con diclorometano (300 ml) y se separaron las fases orgánicas. La fase acuosa fue extraída adicionalmente con diclorometano (200 ml) y los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, filtraron y evaporaron para dar una goma clara. La goma fue tomada en dietil éter y reevaporada hasta sequedad para producir el compuesto del título (5.69 g, 93 %); Espectro de RMN ($CDCl_3$) δ 1.81 (m, 4H), 2.07 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.56 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.85 (s, 2H), 6.84 (m, 2H), 7.08 (m, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.33 (m, 3H), 7.82 (m, 3H).

10

15

Espectro de masas: $M+H^+$ 404.

20 Ejemplo 7B

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

25

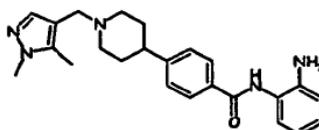
Se suspendió *tert*-Butil (2-[[4-(1-(1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il)benzoil]amino)fenil)carbamato (Método 6 más adelante; 92.3 g, 183.3 mmol) en metanol (754 ml) y agua (1.41 ml) y se enfrió a 0-5°C. Se agregó ácido clorhídrico concentrado manteniendo la temperatura por debajo de 20°C. La mezcla de reacción se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. La reacción fue enfriada a 0-5°C y se agregó solución acuosa de hidróxido de sodio manteniendo la temperatura por debajo de 20°C hasta que se obtuvo un pH de 12-14. La mezcla de reacción fue calentada a temperatura de reflujo durante 30 minutos antes de enfriar a 20°C durante otras 4 horas. El producto fue recolectado por filtración y lavado con metanol acuoso antes de ser secado in vacuo a 45°C hasta peso constante para dar el compuesto del título (63.3 g 86 %).

30

Espectro de RMN ($DMSO-d_6$), 1.65 (m, 2H), 1.73 (m, 2H), 1.96 (t, 2H), 2.08 (s, 3H), 2.55 (m, 1H), 2.92 (d, 2H), 3.28 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 4.87 (s, 2H), 6.59 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.96 (m, 1H), 7.2 (d, 1H), 7.35 (d, 2H), 7.44 (s, 1H), 7.90 (d, 2H), 9.56 (s, 1H). Espectro de masas: $M+H^+$ 404.

Ejemplo 8

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



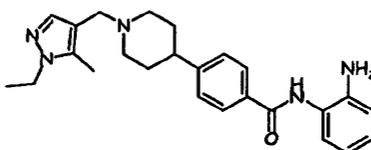
35

tert-Butil {2-[[4-{1-[(1,5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzoil]amino]fenil)carbamato (preparada como se describe en el Método 7, 308 mg, 0.61 mmol) fue tomada en diclorometano (2 ml) y se agregó ácido trifluoroacético (1 ml). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 1 hora antes de ser vertida sobre un

5 cartucho SCX-3 (5 g). El cartucho fue lavado con diclorometano (50 ml) y metanol (50 ml), antes de eluir el producto con una solución 2 M de amoníaco en metanol (50 ml). La fracción amoniacal fue evaporada para producir un sólido blanco (182 mg) que fue purificada por HPLC preparativa en fase reversa para producir el compuesto del título (134 mg), fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para producir el compuesto del título (134 mg, 55%); Espectro de RMN: (DMSO d_6) δ 1.70 (m, 4H), 2.01 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.57 (m, 1H), 2.95 (m, 2H), 3.28 (s, 2H), 3.71 (s, 3H), 4.86 (s, 2H), 6.60 (m, 1H), 6.78 (m, 1H), 6.97 (m, 1H), 7.17 (m, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.37 (d, 2H), 7.90 (d, 2H), 9.55 (s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 404.

Ejemplo de referencia 9

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

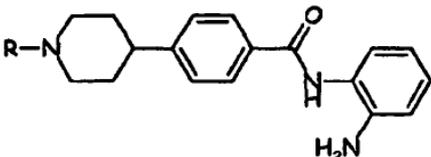
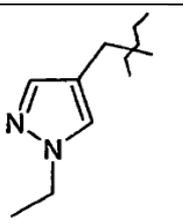
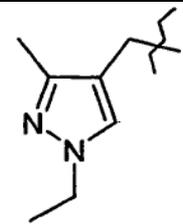


10 Se agregó una solución de 1-etil-5-metil-1*H*-pirazol-4-carbaldehído (141 mg, 1.02 mmol) en diclorometano (1 ml) a una solución de *tert*-butil-2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato (preparada como se describe en el Método 1 más adelante; 300 mg, 0.76 mmol) en diclorometano (6.5 ml). Se agregó ácido acético (45 ml, 0.79 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 horas. Se agregó entonces *N,N*-dimetilformamida (1 ml) y la agitación continuó durante 30 minutos adicionales antes de la adición de triacetoxiborohidruro de sodio (245 mg, 1.16 mmol) en forma sólida. La mezcla de reacción se dejó entonces en agitación a temperatura ambiente durante 18 horas (durante la noche). La mezcla de reacción fue diluida a volumen doble mediante la adición de metanol y vertida directamente sobre un cartucho SCX-2 (10 g) prelavado (con metanol). El cartucho fue lavado con metanol (60 ml) antes de eluir los productos con una solución 2 M de amoníaco en metanol (50 ml). El eluyente amoniacal fue evaporado para dar una goma incolora (420 mg), la cual fue tomada en diclorometano (5 ml) y tratada con ácido trifluoroacético (2 ml). La mezcla se dejó en agitación durante 2 horas antes de diluir con diclorometano (10 ml) y verter sobre un cartucho SCX-2 (10 g) prelavado (con metanol). El cartucho fue lavado con diclorometano (40 ml), metanol (50 ml) y luego los productos fueron eluidos con una solución 2 M de amoníaco en metanol (50 ml). La evaporación de la fracción amoniacal produjo una goma de color amarillo pálido (300 mg), la cual fue purificada por HPLC preparativa en fase reversa para producir el compuesto del título (172 mg, 54%); Espectro de RMN: (DMSO d_6) δ 1.27 (t, 3H), 1.66 (m, 4H), 1.98 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.56 (m, 1H), 2.92 (m, 2H), 3.29 (s, 2H), 4.02 (q, 2H), 4.85 (s, 2H), 6.59 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.35 (d, 2H), 7.89 (d, 2H), 9.54 (s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 418.

Ejemplos de referencia 10 y 11

30 Utilizando un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo de referencia 9, se hizo reaccionar *tert*-butil 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato (preparado como se describe en el Método 1 más adelante) con el material de partida apropiado de pirazolcarbaldehído para dar los compuestos descritos en la Tabla 2.

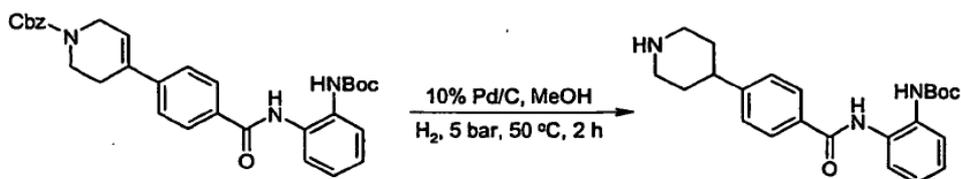
Tabla 2

			
Ejemplo	R	Datos analíticos	SM
10		Espectro RMN: (DMSO d_6) δ 1.35 (t, 3H), 1.68 (m, 4H), 1.99 (m, 2H), 2.56 (m, 1H), 2.94 (m, 2H), 3.32 (s, 2H), 4.08 (q, 2H), 4.85 (s, 2H), 6.58 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.36 (d, 2H), 7.60 (s, 1H), 7.89 (d, 2H), 9.54 (s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 404	Comercialmente disponible
11		Espectro RMN: (DMSO d_6) δ 1.32 (t, 3H), 1.67 (m, 4H), 1.98 (m, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.56 (m, 1H), 2.92 (m, 2H), 3.28 (s, 2H), 3.99 (q, 2H), 4.85 (s, 2H), 6.58 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.35 (d, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.89 (d, 2H), 9.54 (s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 418	Comercialmente disponible

Sección de métodos – Preparación de materiales de partida

Método 1

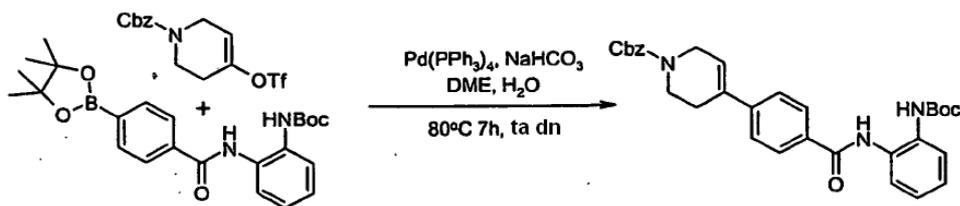
5 tert-Butil {2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenil}carbamato



10 A una solución de 4-{4-[(2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]fenil)amino]carbonil]fenil}-3,6-dihidropiridina-1(2*H*)-carboxilato de bencilo (269 g, 524 mmol; preparada como se describe en el Método 2 más adelante) en metanol (3000 ml) se agregó paladio al 10% sobre carbón (10 g). La mezcla de reacción fue colocada bajo una presión de 5 bar de gas hidrógeno y se calentó a 50°C durante 1 hora. La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente, filtrada a través de un lecho de celite y el solvente fue evaporado bajo presión reducida. La espuma resultante fue triturada con dietil éter y filtrada para dar un sólido blanco. Este producto fue triturado finamente y agitado con dietil éter/acetato de etilo 95:5 y luego recolectado por filtración con succión. Este sólido fue lavado con dietil éter, isohexano y secado in vacuo para producir el compuesto del título (167 g, 81 %); Espectro de RMN: (DMSO- d_6) 1.45 (s, 9H), 1.57 (m, 2H), 1.72 (m, 2H), 2.61 (t, 2H), 2.69 (m, 1H), 3.07 (m, 2H), 7.18 (m, 2H), 7.40 (d, 2H), 7.53 (d, 2H), 7.91 (d, 2H), 8.70 (br s, 1H), 9.82 (br s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 396.

Método 2

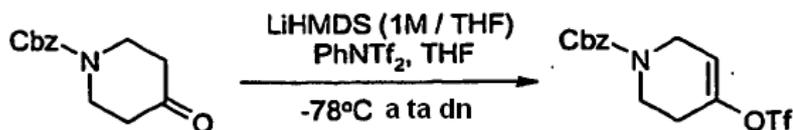
4-{4-[(2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino] fenil)amino]carbonil]fenil}-3,6-dihidropiridina-1(2*H*)-carboxilato de bencilo



Se agregó tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (8.0 g, 6.92 mmol) a una suspensión en agitación de *N*-(2-*t*-butoxicarbonilaminofenil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) benzamida (288 g, 657 mmol; preparado como se describe en la Publicación de Patente Internacional No. WO 03/087057, Método 13, página 60) y 4-[[trifluorometil]sulfonil]oxi-3,6-dihidropiridina-1(2*H*)-carboxilato de bencilo (240 g, 657 mmol; preparado como se describe en el Método 3 más adelante) en 1,2-dimetoxietano (3000 ml) y solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (3000 ml). La mezcla de reacción fue calentada a 80°C durante 7 horas, antes de dejarse enfriar hasta temperatura ambiente, con agitación. La mezcla de reacción se vertió entonces sobre agua (2000 ml) y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos fueron secados entonces sobre sulfato de magnesio, filtrados y evaporados hasta sequedad para dar el producto crudo en forma de un sólido gris. Este fue purificado por cromatografía de columna instantánea sobre sílica, eluyendo con acetato de etilo/hexano (30:70 v / v) para producir el compuesto del título (279 g, 82 %); Espectro de RMN: (DMSO-*d*₆) δ 1.44 (s, 9H), 2.56 (m, 2H), 3.66 (m, 2H), 4.14 (m, 2H), 5.13 (s, 2H), 6.34 (m, 1H), 7.18 (m, 2H), 7.33 (m, 1H), 7.40 (m, 4H), 7.54 (m, 2H), 7.62 (d, 2H), 7.94 (d, 2H), 8.64 (br s, 1H), 9.81 (br s, 1H); Espectro de masas: MNa⁺ 550.

15 Método 3

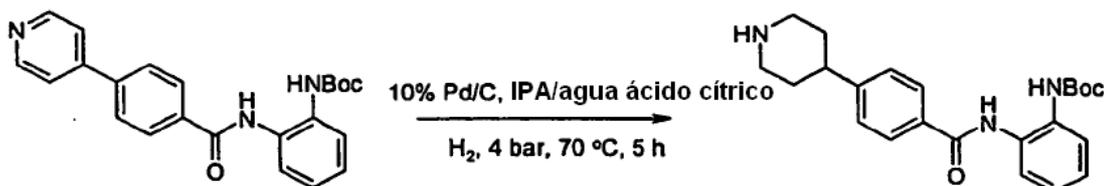
4-[[trifluorometil]sulfonil]oxi-3,6-dihidropiridina-1(2*H*)-carboxilato de bencilo.



Se disolvió 4-oxopiperidina-1-carboxilato de bencilo (147 g, 630 mmol) en tetrahidrofurano (500 ml), bajo una atmósfera de nitrógeno. Esta solución fue agregada, gota a gota durante 2 horas, a una solución en agitación de hexametildisilazida de litio (solución al 20% en tetrahidrofurano, 556 ml, 662 mmol) bajo nitrógeno manteniendo la temperatura de la reacción por debajo de -70°C. La mezcla de reacción se dejó en agitación a -75°C durante 1 hora adicional antes de agregar gota a gota durante 2 horas, una solución de *N*-fenil-bis(trifluorometanosulfonimida) (236 g, 661 mmol) en tetrahidrofurano (950 ml) manteniendo de nuevo la temperatura de reacción por debajo de -70°C. La reacción se dejó entonces calentar hasta temperatura ambiente durante la noche seguida por la adición en porciones de solución acuosa de hidróxido de sodio 2M (800 ml). Las capas fueron separadas y la capa orgánica fue lavada con solución acuosa de hidróxido de sodio 2 M adicional (600 ml), antes de evaporar hasta sequedad. El sólido resultante fue disuelto en dietil éter y lavado con agua. La capa orgánica fue filtrada entonces a través de celite, secada sobre sulfato de sodio y evaporada hasta sequedad para producir el compuesto del título (140 g, 61%), el cual fue llevado a la siguiente etapa sin purificación adicional.

30 Método 4

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



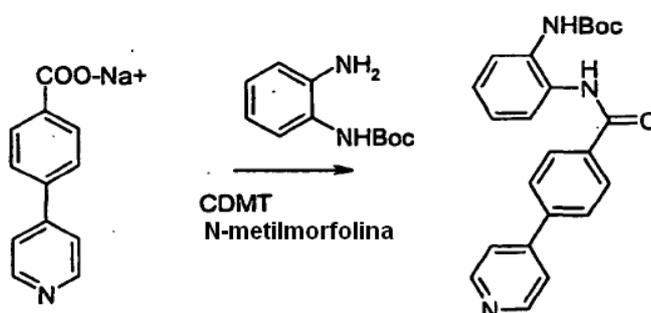
A {2-[4-pirid-4-ilbenzoil)amino]fenil}carbamato de tert-butilo (20 g, 51.35 mmol; preparado como se describe en el Método 5A o 5B más abajo), paladio al 10% sobre carbón (3.17 g) y ácido cítrico (4.75 g, 24.65 mmol) se agregó

agua (80 ml) e IPA (80 ml). La mezcla de reacción fue colocada bajo presión de 4 bar de gas hidrógeno y se calentó a 70°C durante 5 horas. La mezcla de reacción fue enfriada a 50°C y filtrada a través de un lecho de Celite. La mezcla fue calentada a 70°C antes de agregar solución acuosa de hidróxido de sodio al 20% p/p (15 ml) durante 10 minutos a pH 10-11. Se agregó agua adicional (30 ml) y luego la mezcla se enfrió a 40°C durante 1 hora, luego se recalentó a 60°C durante 30 minutos antes de enfriar de regreso a temperatura ambiente. El precipitado resultante fue recolectado por filtración, lavado con agua (2 x 20 ml) y secado in vacuo, a 50°C, para producir el compuesto del título (17.6 g, 84 %); Espectro de RMN: (DMSO-d₆) δ 1.45 (s, 9H), 1.53 (m, 2H), 1.70 (m, 2H), 2.58 (m, 1H), 2.66 (m, 2H), 3.03 (m, 2H), 3.31 (br s, 1H), 7.17 (m, 2H), 7.35 (d, 2H), 7.54 (m, 2H), 7.89 (d, 2H), 8.65 (br s, 1H), 9.75 (br s, 1H).

10 Espectro de masas: M+H⁺ 396.

Método 5A

{2-[4-pirid-4-ilbenzoil)amino]fenil}carbamato de tert-butilo

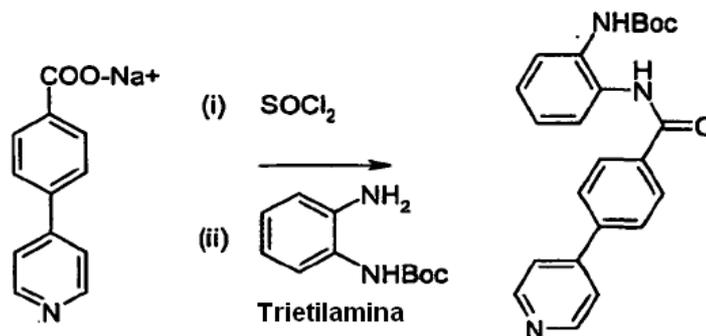


15 A 4-(4-piridil)benzoato de sodio (55.2 g, 236.2 mmol), boc o-fenilén diamina (45.7 g, 217.6 mmol) y *N*-metilmorfolina (24 ml) en acetonitrilo (300 ml) se agregó una solución filtrada de 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (48.5 g, 270.5 mmol) en acetonitrilo (152 ml) durante 3 horas. La mezcla fue agitada durante 22 horas antes de agregar agua (460 ml). El precipitado resultante fue recolectado por filtración, lavado con acetonitrilo acuoso al 50% (3 x 100 ml) y secado in vacuo, a 50°C, para producir el compuesto del título (75.6 g, 90 %); Espectro de RMN: (DMSO-d₆): δ 1.45 (s, 9H), 7.17 (m, 2H), 7.56 (m, 2H), 7.81 (d, 2H), 7.99 (d, 2H), 8.11 (d, 2H), 8.69 (d, 2H), 9.94 (br s, 1H).

20 Espectro de masas: M+H⁺ 390.

Método 5B

{2-[4-pirid-4-ilbenzoil)amino]fenil}carbamato de tert-butilo



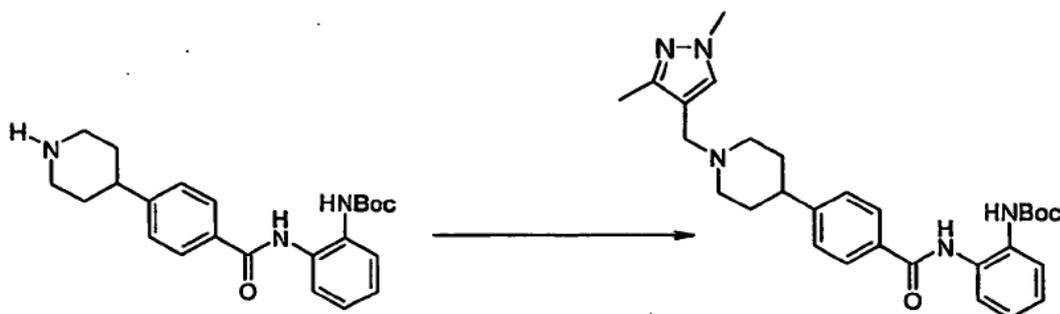
25 Se calentó 4-(4-piridil)benzoato de sodio (10 g, 45.2 mmol) en acetonitrilo (60 ml) a 70°C y luego se agregó cloruro de tionilo (6.6 ml, 90.4 mmol). La reacción se calentó a temperatura de reflujo durante 5 horas antes de ser enfriada a temperatura ambiente. Se agregó cuidadosamente trietilamina (12.6 ml, 90.4 mmol) seguida por una solución tibia de Boc o-fenilén diamina (9.42 g, 45.2 mmol) en acetonitrilo (15 ml) agregada a lo largo de 10 minutos. Se agregó una solución de hidróxido de sodio (8.6 g, 109 mmol) en agua (60 ml) y el sólido resultante se recolectó por filtración, se lavó con agua (20 ml) y se secó in vacuo a 50°C, para producir el compuesto del título (12.6 g, 68 %).

30 Espectro de RMN: (DMSO-d₆): δ 1.45 (s, 9H), (7.17 (m, 2H), 7.56 (m, 2H), 7.81 (d, 2H), 7.99 (d, 2H), 8.11 (d, 2H) 8.69 (d, 2H), 9.94 (br s, 1H).

Espectro de masas: $M+H^+$ 390.

Método 6A

(2-[[4-(1-(1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-ilmetil)piperidin-4-il)benzoil]amino]fenil)carbamato de tert-butilo



- 5 Se disolvieron tert-Butil 2-[[4-(1-(1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-ilmetil)piperidin-4-il)benzoil]amino]fenilcarbamato (6.83 g, 17.3 mmol) y 1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-carbaldehído (3.0 g, 24.2 mmol) en diclorometano (150 ml). Se agregó entonces ácido acético (996 μ l, 17.3 mmol) y la mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante cuatro horas. Se agregó entonces triacetoxiborohidruro de sodio (5.49 g, 25.9 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 18 horas adicionales. Se agregó entonces cuidadosamente solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (300 ml) seguida por diclorometano (100 ml). La capa orgánica fue separada y la capa acuosa fue reextraída con más diclorometano (150 ml). Los extractos orgánicos combinados fueron secados sobre sulfato de magnesio, filtrados y evaporados hasta sequedad. El residuo obtenido fue purificado por cromatografía instantánea sobre sílica, eluyendo con una solución al 5% (v/v) de metanol en diclorometano seguida por un gradiente de enjuague de 5 -10% de metanol (v/v) en diclorometano para producir una goma clara, la cual fue tomada en dietil éter y evaporada hasta sequedad para producir el compuesto del título (7.61 g, 87 %); Espectro de RMN: (DMSO d_6) δ 1.43 (s, 9H), 1.69 (m, 4H), 1.98 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.56 (m, 1H), 2.92 (m, 2H), 3.26 (s, 2H), 3.70 (s, 3H), 7.15 (m, 2H), 7.40 (m, 3H), 7.52 (m, 2H), 7.87 (d, 2H), 8.60 (s, 1H), 9.73 (s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 504.

Método 6B

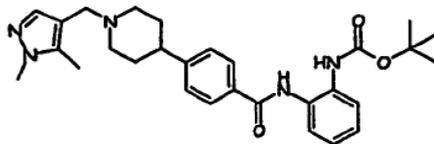
(2-[[4-(1-(1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-ilmetil)piperidin-4-il)benzoil]amino]fenil)carbamato de tert-butilo

- 20 2-[[4-(1-(1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-ilmetil)piperidin-4-il)benzoil]amino]fenilcarbamato de tert-butilo (preparado como se describe en el Método 4 anterior; 108.1 g, 273.3 mmol), 1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-carbaldehído (35.6 g, 287 mmol) y paladio sobre carbón (3.09 g, 1.37 mmol) fueron cargados en un recipiente a presión adecuado. Se cargaron tetrahidrofurano (920 ml), agua (54 ml) y ácido acético (32.8 g, 546.7 mmol) y la mezcla en agitación se calentó a 60°C bajo 3 bar de hidrógeno hasta que la reacción se consideró completa. La mezcla fue enfriada entonces a 40°C y se agregó solución 2 M de hidróxido de sodio (410 ml, 820 mmol). Al enfriar a 25°C la mezcla fue filtrada para eliminar el catalizador antes de agregar tetrahidrofurano (650 ml) y se separó la fase orgánica. La fase orgánica fue concentrada parcialmente por destilación antes de agregar tolueno (575 ml). La destilación se continuó a la vez que se mantenía el volumen de reacción con adición sustitutiva de tolueno (690 ml). La mezcla de reacción se dejó enfriar a la temperatura ambiente a lo largo de aproximadamente 3 horas durante las cuales cristaliza el producto. El sólido fue recolectado por filtración, lavado con tolueno (460 ml), luego acetato de etilo (230 ml) antes de ser secado in vacuo a 45°C hasta peso constante para dar el compuesto del título (114.9 g, 83 %).

Espectro: (DMSO d_6) δ 1.434(s, 9H), 1.70 (m, 4H), 1.98 (m, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.56 (m, 1H), 2.93 (m, 2H), 3.28 (s, 2H), 3.71 (s, 3H), 7.16 (m, 2H), 7.40 (m, 3H), 7.52 (m, 2H), 7.87 (d, 2H), 8.60 (s, 1H), 9.73 (s, 1H); Espectro de masas: $M+H^+$ 504.

35 Método 7

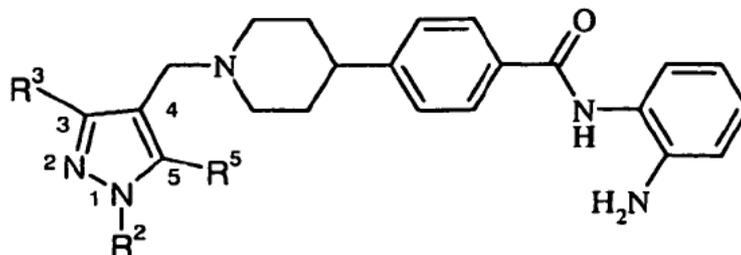
{2-[[4-(1-(1,5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)metil)piperidin-4-il)benzoil]amino]fenil}carbamato de tert-butilo



Se agregó 1,5-Dimetil-1H-pirazol-4-carbaldehído (114 mg, 0.92 mmol) a una solución de 2-[(4-piperidin-4-ilbenzoil)amino]fenilcarbamato de tert-butilo (289 mg, 0.73 mmol) en diclorometano (6 ml) seguido por ácido acético (50 ml, 0.87 mmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación bajo nitrógeno durante 2.5 horas. Se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (233 mg, 1.10 mmol) y la mezcla de reacción se dejó en agitación, a temperatura ambiente, durante 18 horas (durante la noche). Se agregó entonces solución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (10 ml) a la reacción y se dejó en agitación durante 15 minutos. La fase orgánica fue separada y la fase acuosa fue reextraída con diclorometano (10 ml). Las fases orgánicas combinadas fueron lavadas con agua, secadas sobre sulfato de magnesio y evaporadas hasta sequedad para generar el producto en forma de una goma incolora (308 mg, 84%), la cual fue utilizada sin purificación posterior; Espectro de masas: $M+H^+$ 504.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (IA)



(IA)

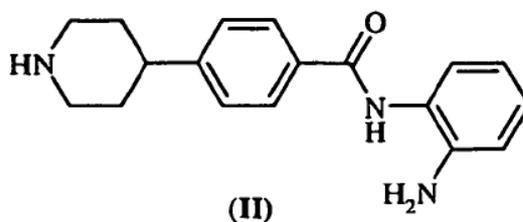
- 5 en donde R^2 , R^3 y R^5 son seleccionados cada uno independientemente de; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde al menos un grupo seleccionado de R^2 , R^3 and R^5 es diferente a hidrógeno.
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, el cual es *N*-(2-aminofenil)-4-{ 1-[(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, el cual es *N*-(2-aminofenil)-4-{ 1-[(1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, el cual es *N*-(2-aminofenil)-4-{ 1-[(1,3,5-trimetil-1*H*-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 15 6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, el cual es *N*-(2-Aminofenil)-4-{1-[(1,5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)metil]piperidin-4-il}benzamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 8. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como medicamento.
9. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de cáncer.
10. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de seno, cáncer de próstata, linfoma y/o leucemia.
- 25 11. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en la producción de un efecto inhibidor de HDAC en un animal de sangre caliente, tal como un hombre.
12. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en el tratamiento de cáncer, en donde el compuesto se administra simultáneamente, secuencialmente o separadamente con un agente quimioterapéutico seleccionado de una o más de las siguientes categorías de agentes antitumorales:-
- 30 (i) fármacos antiproliferativos/antineoplásticos;
- (ii) agentes citostáticos;
- 35 (iii) agentes que inhiben invasión de células cancerosas;
- (iv) inhibidores de la función del factor de crecimiento;

- (v) agentes antiangiogénicos;
- (vi) agentes de daño vascular;
- (vii) terapias antisentido;
- (viii) metodologías de terapia genética;

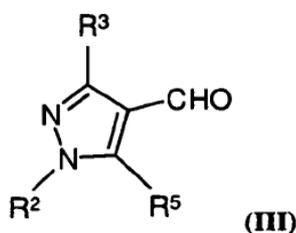
- 5 (ix) metodologías de inmunoterapia;
- (x) inhibidores del ciclo celular; y
 - (xi) agentes de diferenciación.

13. Un proceso para preparar un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptables del mismo, proceso que comprende:

- 10 (a) la reacción de un compuesto de la fórmula (II)

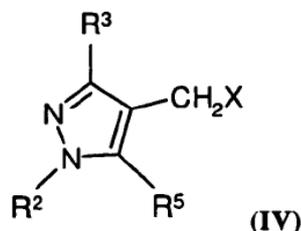


en donde la unidad estructural anilina puede ser protegida apropiadamente;
con un compuesto de la fórmula (III)



- 15 en presencia de un agente reductor, donde R^2 , R^3 y R^5 son como se definió en la reivindicación 1; o

(b) la reacción de un compuesto de la fórmula (II) como se definió anteriormente con un compuesto de la fórmula (IV)



en presencia de una base adecuada;

- 20 en donde R^2 , R^3 y R^5 son como se define en la reivindicación 1 y X es un grupo reactivo;

y después de esto, si es necesario, eliminar cualquier grupo protector que pueda estar presente.