



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 322 950**

51 Int. Cl.:
C07D 295/20 (2006.01)
C07D 239/42 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03708214 .6**
96 Fecha de presentación : **11.03.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1485364**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.12.2004**

54 Título: **Derivados de aminocarbonilo como nuevos inhibidores de histona-desacetilasa.**

30 Prioridad: **13.03.2002 US 363799 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.07.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.07.2009

73 Titular/es: **Janssen Pharmaceutica N.V.**
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse, BE

72 Inventor/es: **Van Emelen, Kristof;**
De Winter, Hans L.J.;
Dyatkin, Alexey, B.;
Verdonck, Marc G.C.;
Meerpoel, Lieven y
Van Heusden, Jimmy Arnold Viviane

74 Agente: **Justo Vázquez, Jorge Miguel de**

ES 2 322 950 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

Derivados de aminocarbonilo como nuevos inhibidores de histona-desacetilasa.

5 Esta invención concierne a compuestos que tienen actividad enzimática inhibidora de histona-desacetilasa (HDAC). La misma se refiere adicionalmente a procesos para su preparación, a composiciones que comprenden los mismos, así como a su uso, tanto *in vitro* como *in vivo*, para inhibir HDAC y como medicamento, por ejemplo como medicamento para inhibir condiciones proliferativas, tales como cáncer y psoriasis.

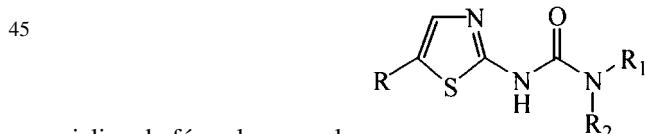
10 En todas las células eucariotas, el DNA genómico contenido en la cromatina se asocia con histonas para formar nucleosomas. Cada nucleosoma consiste en un octámero proteínico constituido por dos copias de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4. El DNA se enrolla alrededor de este núcleo proteínico, interaccionando los aminoácidos básicos de las histonas con los grupos fosfato del DNA cargados negativamente. La modificación más común posterior a la traducción de estas histonas del núcleo es la acetilación reversible de los grupos ϵ -amino de residuos lisina N-terminales conservados, altamente básicos. El estado estacionario de la acetilación de las histonas se establece por el equilibrio dinámico entre la(s) histona-acetiltransferasa(s) y la(s) histona-desacetilasa(s) competidoras, a las que se hace referencia en esta memoria como "HDAC". La acetilación y desacetilación de las histonas ha estado ligada durante mucho tiempo al control de la transcripción. La reciente clonación de los genes que codifican diferentes histona-acetiltransferasas e histona-desacetilasas proporcionó una posible explicación para la relación entre la acetilación de las histonas y el control de la transcripción. La acetilación reversible de las histonas puede dar como resultado remodelación de la cromatina y como tal actuar como mecanismo de control para la transcripción de los genes. En general, la hiper-acetilación de las histonas facilita la expresión génica, en tanto que la desacetilación de las histonas está correlacionada con la represión de la transcripción. Se demostró que las histona-acetiltransferasas actúan como coactivadores de la transcripción, encontrándose en cambio que las histona-desacetilasas pertenecen a los caminos de represión de la transcripción.

El equilibrio dinámico entre la acetilación y la desacetilación de las histonas es esencial para el crecimiento normal de las células. La inhibición de la histona-desacetilasa da como resultado detención del ciclo celular, diferenciación celular, apoptosis e inversión del fenotipo transformado. Por esta razón, los inhibidores de HDAC pueden tener un gran potencial terapéutico en el tratamiento de enfermedades o condiciones proliferativas de las células (Marks *et al.*, Nature Reviews: Cancer 1:194-202, 2001).

El estudio de los inhibidores de las histona-desacetilasas (HDAC) indica que de hecho estas enzimas juegan un papel importante en la proliferación y diferenciación celular. El inhibidor tricostatina A (TSA) causa detención del ciclo celular en ambas fases G1 y G2, invierte el fenotipo transformado de diferentes líneas de células, e induce diferenciación de las células de la leucemia de Friend y otras. Se ha informado que TSA (y el ácido suberoilamida-hidroxiámico, SAHA) inhiben el crecimiento celular, inducen diferenciación terminal, y previenen la formación de tumores en los ratones (Finnin *et al.*, Nature, 401:188-193, 1999).

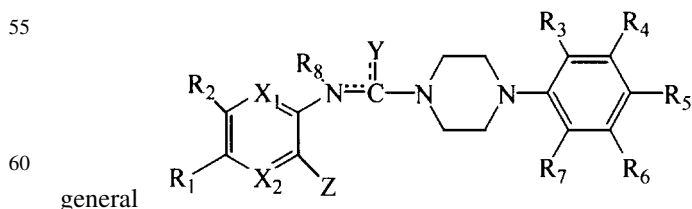
Se ha confirmado también que la tricostatina A es útil en el tratamiento de la fibrosis, v.g. la fibrosis hepática y la cirrosis hepática. (Geerts *et al.*, Solicitud de Patente Europea EP 0 827 742, publicada el 11 de marzo de 1998).

La solicitud de Patente WO 00/26203 publicada el 11 de mayo de 2000 describe inhibidores de la quinasa cdk/-



50 ciclina de fórmula general . La misma describe adicionalmente composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos, procesos para su preparación y mezclas de estos compuestos para el tratamiento de trastornos celulares proliferativos asociados con actividad de quinasas dependiente de células alteradas.

La solicitud de Patente WO 00/52001 publicada el 8 de septiembre de 2000, describe compuestos de fórmula



60 general , que exhiben actividades antitumorales. La misma proporciona adicionalmente procesos para las preparaciones de estos compuestos.

65 La solicitud de Patente WO 01/38322, publicada el 31 de mayo de 2001, describe entre otros inhibidores de histona-desacetilasa de fórmula general $Cy-L^1-Ar-Y^1-C(O)-NH-Z$, proporcionando composiciones y métodos para el tratamiento de enfermedades y afecciones proliferativas de las células.

ES 2 322 950 T3

La solicitud de Patente WO 01/70675, publicada del 27 de septiembre de 2001, describe inhibidores de histona-desacetilasa de fórmula Cy-X-Y¹-W o Cy-S(O)₂-NH-Y³-W y proporciona adicionalmente composiciones y métodos para el tratamiento de enfermedades y condiciones proliferativas de las células.

5 El problema a resolver El problema a resolver estriba en proporcionar inhibidores de histona-desacetilasa con alta actividad enzimática y que presentan también propiedades ventajosas tales como actividad celular y biodisponibilidad incrementada, preferiblemente biodisponibilidad oral, y tienen pocos o ningún efecto secundario.

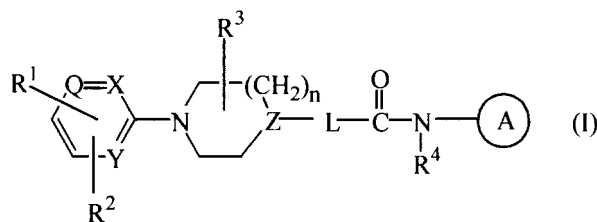
10 Los nuevos compuestos de la presente invención resuelven el problema arriba descrito. Los compuestos difieren de la técnica anterior en estructura.

15 Los compuestos de la presente invención exhiben una actividad enzimática excelente como inhibidores de histona-desacetilasa *in vitro*. Los presentes compuestos tienen propiedades ventajosas en lo que respecta a actividad celular y propiedades específicas con relación a la inhibición de la progresión del ciclo celular en ambos puntos de comprobación G1 y G2 (capacidad de inducción de p21). Los compuestos de la presente invención exhiben una estabilidad metabólica satisfactoria y biodisponibilidad alta, y de modo más particular exhiben biodisponibilidad oral.

Esta invención concierne a compuestos de fórmula (I)

20

25



30

las formas de *N*-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables y las formas estereoquímicamente isómeras de los mismos, en donde

n es 0, 1, 2 ó 3 y cuando n es 0, entonces se sobreentiende un enlace directo;

35

cada Q es nitrógeno o

40

cada X es nitrógeno o

45

cada Y es nitrógeno o

cada Z es nitrógeno o

50

R¹ es -C(O)NR⁷R⁸, o
-NHC(O)alcanodifloC₁₋₆-SH

en donde R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxilo, o hidroxialquiloC₁₋₆;

55

R² es hidrógeno, halo, hidroxilo, amino, nitro, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, trifluorometilo, di(alquiloC₁₋₆)amino, hidroxiamino o naftalenilsulfonilpirazinilo;

60

R³ es hidrógeno, hidroxilo, amino, hidroxialquiloC₁₋₆, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, arilalquiloC₁₋₆, aminocarbonilo, hidroxicarbonilo, aminoalquiloC₁₋₆, aminocarbonilalquiloC₁₋₆, hidroxicarbonilalquiloC₁₋₆, hidroxiaminocarbonilo, alquiloxiC₁₋₆-carbonilo, alquilaminoC₁₋₆-alquiloC₁₋₆ o di(alquiloC₁₋₆)amino-alquiloC₁₋₆;


cuando Z es igual a nitrógeno, entonces -L- es un enlace directo;

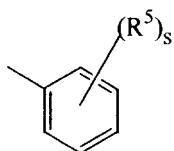
65

cuando Z es igual a , entonces -L- es -NH- o el radical bivalente -alcanodifloC₁₋₆NH-;

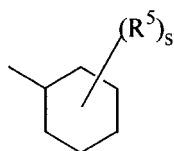
ES 2 322 950 T3

R^4 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-10} , hidroxialquilo C_{1-6} , alquiloxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} , di-(alquilo C_{1-6}) aminoalquilo C_{1-6} o arilo;

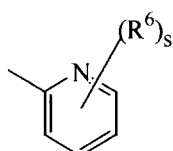
5  es un radical seleccionado de



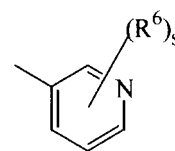
(a-1)



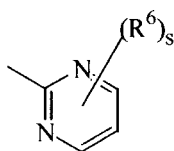
(a-2)



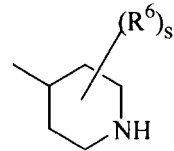
(a-3)



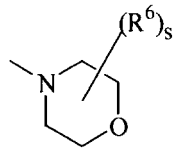
(a-4)



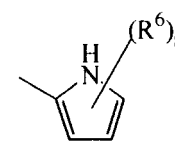
(a-5)



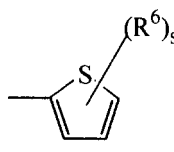
(a-6)



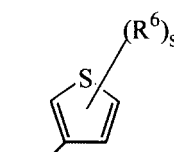
(a-7)



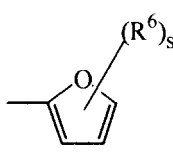
(a-8)



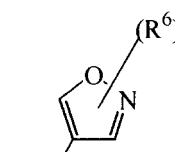
(a-9)



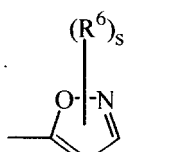
(a-10)



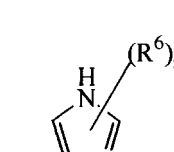
(a-11)



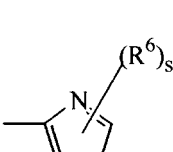
(a-12)



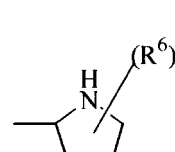
(a-13)



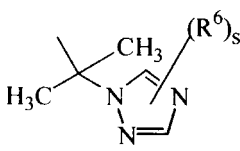
(a-14)



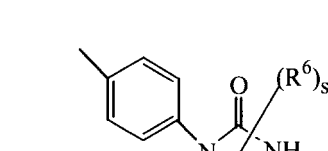
(a-15)



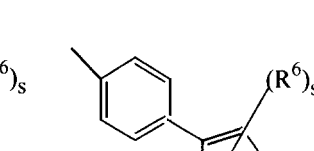
(a-16)



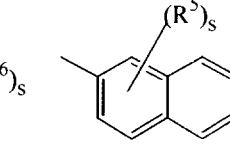
(a-17)



(a-18)

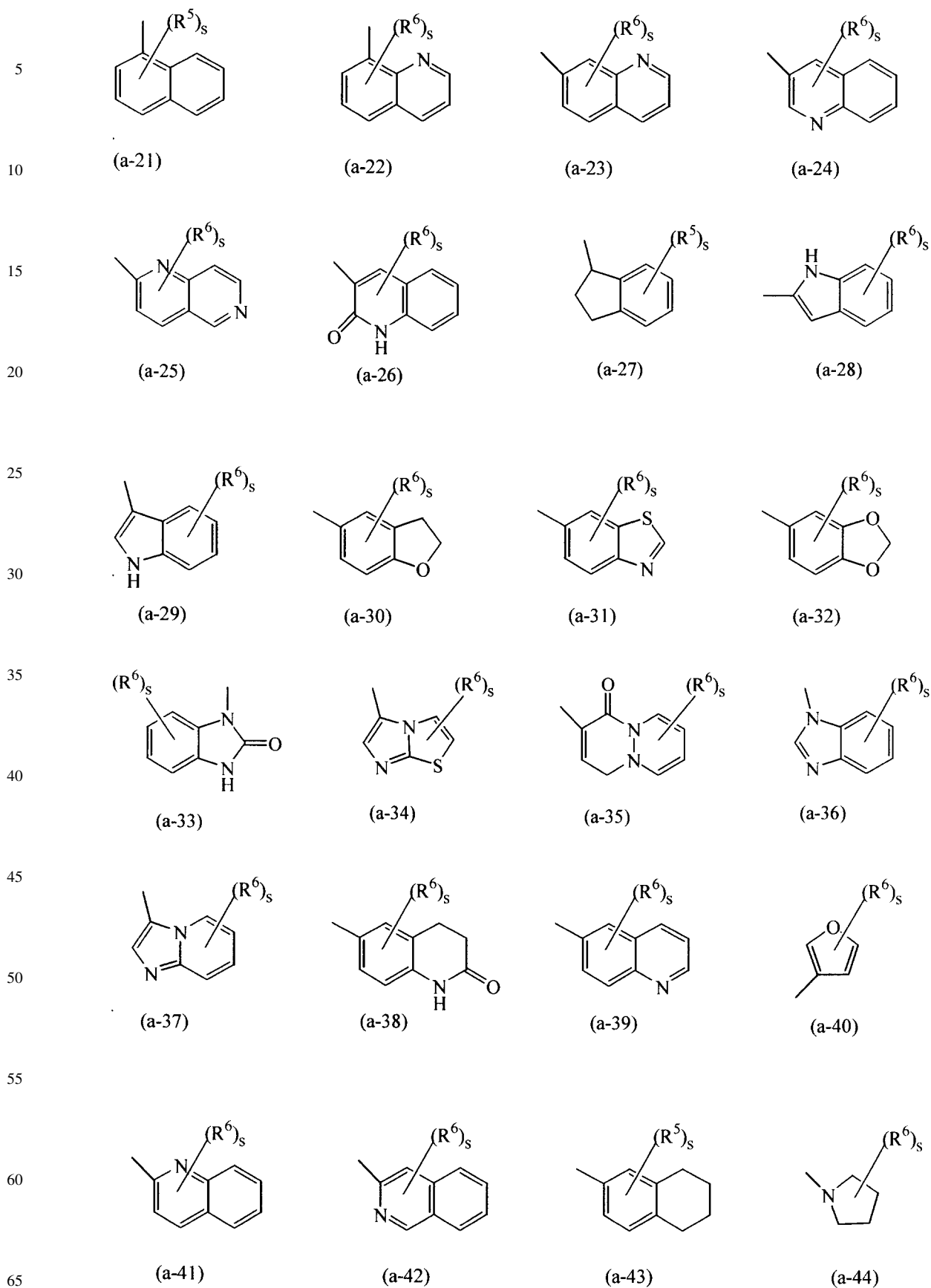


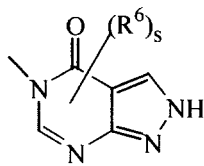
(a-19)



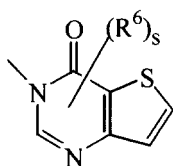
(a-20)

65

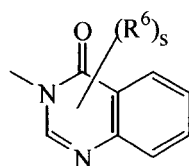




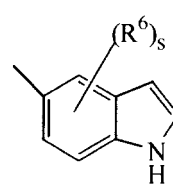
(a-45)



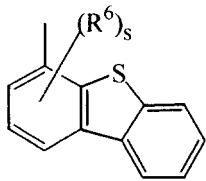
(a-46)



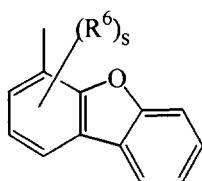
(a-47)



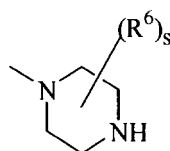
(a-48)



(a-49)



(a-50)



(a-51)

en donde

cada s es independientemente 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

cada R^5 y R^6 se seleccionan independientemente de hidrógeno; halo; hidroxilo; amino; nitro; trihaloalquilo C_{1-6} ; trihaloalquiloxi C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} sustituido con arilo y cicloalquilo C_{3-10} ; alquiloxi C_{1-6} ; alquiloxi C_{1-6} alquiloxi C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} carbonilo; alquiloxi C_{1-6} carbonilo; alquilsulfonilo C_{1-6} ; cianoalquilo C_{1-6} ; hidroxialquilo C_{1-6} ; hidroxialquiloxi C_{1-6} ; hidroxialquilamino C_{1-6} ; aminoalquiloxi C_{1-6} ; di-(alquilo C_{1-6})aminocarbonilo; di-(hidroxialquilo C_{1-6})amino; (arilo)(alquilo C_{1-6})amino; di-(alquilo C_{1-6})aminoalquiloxi C_{1-6} ; di-(alquilo C_{1-6})aminoalquilamino C_{1-6} ; di-(alquilo C_{1-6})aminoalquilamino C_{1-6} alquilo C_{1-6} ; arilsulfonilo; arilsulfonilamino; ariloxi; ariloxialquilo C_{1-6} ; arilalqueno-diílo C_{2-6} ; di-(alquilo C_{1-6})amino; di-(alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} ; di-(alquilo C_{1-6})amino(amino(alquilo C_{1-6})-aminoalquilo C_{1-6}); di-(alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} -alquilo C_{1-6} amino; di-(alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} -alquilo C_{1-6} aminoalquilo C_{1-6} ; aminosulfonilamino-(alquilo C_{1-6})amino; aminosulfonilamino-(alquilo C_{1-6})-aminoalquilo C_{1-6} ; di-(alquilo C_{1-6})aminosulfonilamino-(alquilo C_{1-6})amino; di-(alquilo C_{1-6})aminosulfonilamino-(alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} ; ciano; tiofenilo; tiofenilo sustituido con di-(alquilo C_{1-6})amino-alquilo C_{1-6} (alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} , di-(alquilo- C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} -piperazinilalquilo- C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} -piperazinilalquilo C_{1-6} , hidroxialquiloxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} piperazinilalquilo- C_{1-6} , di-(alquilo C_{1-6})aminosulfonilpiperazinilalquilo C_{1-6} , alquiloxi C_{1-6} piperidinilo, alquiloxi C_{1-6} piperidinilalquilo C_{1-6} , morfolinilalquilo C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} (alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} , o di-(hidroxialquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} ; furanilo; furanilo sustituido con hidroxialquilo C_{1-6} ; benzofuranilo; imidazolilo; oxazolilo; oxazolilo sustituido con arilo y alquilo C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} triazolilo; tetrazolilo; pirrolidinilo; pirrolilo; piperidinilalquiloxi C_{1-6} ; morfolinilo; alquilo C_{1-6} morfolinilo; morfolinilalquilo C_{1-6} ; morfolinilalquilo C_{1-6} ; morfolinilalquilamino C_{1-6} ; morfolinilalquilamino- C_{1-6} alquilo C_{1-6} ; piperazinilo; alquilo C_{1-6} -piperazinilo; alquilo C_{1-6} piperazinilalquiloxi C_{1-6} ; piperazinilalquilo C_{1-6} ; naftalenilsulfonilpiperazinilo; naftalenilsulfonilpiperidinilo; naftalenilsulfonilo; alquilo C_{1-6} -piperazinilalquilo C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} piperazinilalquilamino C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} -piperazinilalquilamino- C_{1-6} alquilo C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} -piperazinilsulfonilo; aminosulfonilpiperazinilalquilo C_{1-6} ; aminosulfonilpiperazinilo; aminosulfonilpiperazinilalquilo C_{1-6} ; di-(alquilo C_{1-6})aminosulfonilpiperazinilo; di-(alquilo C_{1-6})aminosulfonilpiperazinilalquilo C_{1-6} ; hidroxialquilo C_{1-6} -piperazinilo; hidroxialquilo C_{1-6} piperazinilalquilo C_{1-6} ; alquiloxi C_{1-6} piperidinilo; alquiloxi C_{1-6} piperidinil-alquilo C_{1-6} ; piperidinilaminoalquilamino C_{1-6} ; piperidinilaminoalquilo C_{1-6} -aminoalquilo C_{1-6} ; (alquilo C_{1-6} piperidinil)-(hidroxialquilo C_{1-6})aminoalquilamino C_{1-6} ; (alquilo- C_{1-6} piperidinil)-(hidroxialquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} ; hidroxialquiloxi C_{1-6} -alquilo- C_{1-6} -piperazinilo; hidroxialquiloxi C_{1-6} -alquilo- C_{1-6} piperazinilalquilo C_{1-6} ; (hidroxialquilo C_{1-6})-(alquilo C_{1-6})amino; (hidroxialquilo C_{1-6})-(alquilo- C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} ; hidroxialquilamino- C_{1-6} alquilo C_{1-6} ; di(hidroxialquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} ; pirrolidinilalquilo C_{1-6} ; pirrolidinilalquiloxi C_{1-6} ; pirazolilo; tiopirazolilo; pirazolilo sustituido con dos sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-6} o trihaloalquilo C_{1-6} ; piridinilo; piridinilo sustituido con alquiloxi C_{1-6} , ariloxi o arilo; pirimidinilo; tetrahidropirimidinilpiperazinilo; tetrahidropirimidinilpiperazinilalquilo C_{1-6} ; quinolinilo; indolilo; fenilo; fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente de halo, amino, nitro, alquilo C_{1-6} , alquiloxi C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-4} , trifluorometilo, trifluorometiloxi, hidroxialquiloxi C_{1-4} , alquilsulfonilo C_{1-4} , alquiloxi C_{1-4} alquiloxi C_{1-4} , alquiloxi C_{1-4} carbonilo, aminoalquiloxi C_{1-4} , di-(alquilo C_{1-4})aminoalquiloxi C_{1-4} , di-(alquilo C_{1-4})amino, di-(alquilo C_{1-4})aminocarbonilo, di-(alquilo C_{1-4})aminoalquilo C_{1-4} , di-(alquilo C_{1-4})amino-alquilo C_{1-4} aminoalquilo C_{1-4} , di-(alquilo C_{1-4})amino(alquilo C_{1-4})amino, di-(alquilo C_{1-4})amino(alquilo C_{1-4})-aminoalquilo C_{1-4} , di-(alquilo C_{1-4})aminoalquilo C_{1-4} (alquilo C_{1-4})amino, di-(alquilo C_{1-4})

ES 2 322 950 T3

aminoalquiloC₁₋₄(alquilo-C₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄, aminosulfonilamino(alquilo-C₁₋₄)amino, aminosulfonilamino(alquiloC₁₋₄)amino-alquiloC₁₋₄, di(alquiloC₁₋₄)aminosulfonilamino-(alquiloC₁₋₄)amino, di(alquiloC₁₋₄)aminosulfonilamino-(alquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₆, ciano, piperidinilalquiloxiC₁₋₄, pirrolidinilalquiloxiC₁₋₄, aminosulfonilpiperazinilo, aminosulfonilpiperazinilalquiloC₁₋₄, di-(alquiloC₁₋₄)aminosulfonil-piperazinilo, di
5 (alquilo-C₁₋₄)aminosulfonil-piperazinilalquiloC₁₋₄, hidroxialquiloC₁₋₄piperazinilo, hidroxialquiloC₁₋₄piperazinilalquiloC₁₋₄, alquiloxiC₁₋₄-piperidinilo, alquiloxiC₁₋₄piperidinilalquiloC₁₋₄, hidroxialquiloxiC₁₋₄-alquiloC₁₋₄piperazinilo, hidroxialquiloxiC₁₋₄alquilo-C₁₋₄piperazinilalquiloC₁₋₄, (hidroxialquiloC₁₋₄)-(alquiloC₁₋₄)amino, (hidroxialquiloC₁₋₄)-(alquiloC₁₋₄)-aminoalquiloC₁₋₄, di(hidroxialquiloC₁₋₄)amino, di-(hidroxialquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄, furanilo, furanilo sustituido con -CH=CH-CH=CH-, pirrolidinil-alquiloC₁₋₄, pirrolidinilalquiloxiC₁₋₄, morfolinilo, morfolinilalquiloxiC₁₋₄, morfolinilalquiloC₁₋₄, morfolinilalquilaminoC₁₋₄, morfolinilalquiloC₁₋₄amino-alquiloC₁₋₄, piperazinilo, alquiloC₁₋₄-piperazinilo, alquiloC₁₋₄-piperazinilalquiloxiC₁₋₄, piperazinilalquiloC₁₋₄, alquiloC₁₋₄piperazinilalquiloC₁₋₄, alquiloC₁₋₄piperazinilalquilaminoC₁₋₄, alquiloC₁₋₄piperazinilalquilaminoC₁₋₄-alquiloC₁₋₆, tetrahidropirimidinilpiperazinilo, tetrahidropirimidinil-piperazinil-alquiloC₁₋₄, piperidinilaminoalquilaminoC₁₋₄,
10 piperidinilaminoC₁₋₄-alquilaminoalquiloC₁₋₄, (alquiloC₁₋₄piperidinil)-(hidroxialquiloC₁₋₄)aminoalquilaminoC₁₋₄, (alquiloC₁₋₄piperidinil)(hidroxialquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄-aminoalquiloC₁₋₄, piridinilalquiloxiC₁₋₄, hidroxialquilaminoC₁₋₄, hidroxialquilaminoC₁₋₄-alquilo-C₁₋₄, di(alquiloC₁₋₄)aminoalquilaminoC₁₋₄, aminotiadiazolilo, aminosulfonilpiperazinilalquiloxiC₁₋₄, o tiofenilalquilaminoC₁₋₄;

20 cada R⁵ y R⁶ puede estar situado en el nitrógeno en sustitución del hidrógeno;

arilo en lo anterior es fenilo, o fenilo sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, trifluorometilo, ciano o hidroxicarbonilo.

25 La expresión “inhibidor de las histona-desacetilasas” o “inhibidor de histona-desacetilasa” se utiliza para identificar un compuesto, que es capaz de interactuar con una histona-desacetilasa e inhibir su actividad, más particularmente su actividad enzimática. La inhibición de la actividad enzimática de las histona-desacetilasas significa reducción de la capacidad de una histona-desacetilasa para eliminar un grupo acetilo en una histona. Preferiblemente, dicha inhibición es específica, es decir el inhibidor de la histona-desacetilasa reduce la capacidad de una histona-desacetilasa para
30 eliminar un grupo acetilo de una histona a una concentración que es menor que la concentración del inhibidor que se requiere para producir cualquier otro efecto biológico no afín.

Como se utiliza en las definiciones que anteceden y en lo sucesivo, halo es genérico para fluoro, cloro, bromo y yodo; alquiloC₁₋₄ define radicales hidrocarbonados saturados de cadena lineal y ramificados que tienen de 1 a 4
35 átomos de carbono tales como, v.g. metilo, etilo, propilo, butilo, 1-metiletilo, 2-metilpropilo y análogos; alquiloC₁₋₆ incluye alquiloC₁₋₄ y los homólogos superiores del mismo que tienen 5 a 6 átomos de carbono tales como, por ejemplo, pentilo, 2-metilbutilo, hexilo, 2-metilpentilo y análogos; alcanodifloC₁₋₆ define radicales hidrocarbonados saturados bivalentes de cadena lineal y ramificados que tienen de 1 a 6 átomos de carbono tales como, por ejemplo, metileno, 1,2-etanodiflo, 1,3-propanodiflo, 1,4-butanodiflo, 1,5-pentanodiflo, 1,6-hexanodiflo, y los isómeros ramificados de los
40 mismos tales como 2-metilpentanodiflo, 3-metilpentanodiflo, 2,2-dimetilbutanodiflo, 2,3-dimetilbutanodiflo y análogos; trihaloalquiloC₁₋₆ define alquiloC₁₋₆ que contiene 3 sustituyentes halógeno idénticos o diferentes, por ejemplo trifluorometilo; alcanodiflo C₂₋₆ define radicales hidrocarbonados bivalentes de cadena lineal y ramificados que contienen un enlace doble y que tienen 2 a 6 átomos de carbono tales como, por ejemplo, etilenodiflo, 2-propenodiflo, 3-butenodiflo, 2-pentenodiflo, 3-pentenodiflo, 3-metil-2-butenodiflo, y análogos; arilo define fenilo, y fenilo sustituido
45 con uno o más sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆ o trifluorometilo, ciano, hidroxicarbonilo; aminoarilo define arilo sustituido con amino; cicloalquiloC₃₋₁₀ incluye grupos hidrocarbonados cíclicos que tienen de 3 a 10 carbonos, tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, cicloctilo y análogos.

50 Las sales de adición farmacéuticamente aceptables abarcan sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y sales de adición de base farmacéuticamente aceptables. Debe entenderse que las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables como se mencionan anteriormente en esta memoria comprenden las formas de sal de adición de ácido no tóxicas y terapéuticamente activas que son capaces de formar los compuestos de fórmula (I). Los compuestos de fórmula (I) que tienen propiedades básicas pueden convertirse en sus sales de adición de ácido farmacéuticamente
55 aceptables por tratamiento de dicha forma de base con un ácido apropiado. Ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como hidrácidos halogenados, v.g. ácido clorhídrico o bromhídrico; ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y los ácidos afines; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, acético, trifluoroacético, propanoico, hidroxil-acético, láctico, pirúvico, oxálico, malónico, succínico (es decir ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, *p*-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, *p*-aminosalicílico, pamoico y los ácidos afines.

60 Los compuestos de fórmula (I) que tienen propiedades ácidas pueden convertirse en sus sales de adición de base farmacéuticamente aceptables por tratamiento de dicha forma de ácido con una base orgánica o inorgánica adecuada. Formas apropiadas de sales con bases comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, v.g. las sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y análogos, sales con bases orgánicas, v.g. las sales de benzatina, *N*-metil-D-glucamina, sales de hidrabamina, y sales con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y análogos.

ES 2 322 950 T3

La expresión “sales de adición de ácido o base” comprende también los hidratos y las formas de adición de disolvente, que son capaces de formar los compuestos de fórmula (I). Ejemplos de dichas formas son p.ej. hidratos, alcoholatos y análogos.

- 5 La expresión “formas estereoquímicamente isómeras de los compuestos de fórmula (I)”, como se utiliza en esta memoria, define todos los compuestos posibles formados por los mismos átomos unidos por la misma secuencia de enlaces pero que tienen estructuras tridimensionales diferentes, que no son intercambiables, que pueden poseer los compuestos de fórmula (I). A no ser que se mencione o indique otra cosa, la designación química de un compuesto abarca la mezcla de todas las formas estereoquímicamente isómeras posibles, que pueda poseer dicho compuesto.
- 10 Dicha mezcla puede contener todos los diastereoisómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Todas las formas estereoquímicamente isómeras de los compuestos de fórmula (I), tanto en forma pura como en mezclas entre sí deben considerarse abarcadas dentro del alcance de la presente invención.




15 Debe entenderse que las formas de *N*-óxido de los compuestos de fórmula (I) comprenden aquellos compuestos de fórmula (I) en los cuales uno o varios átomos de nitrógeno están oxidados formando el denominado *N*-óxido, particularmente aquellos *N*-óxidos en los cuales uno o más de los nitrógenos de piperidina, piperazina o piridazinilo están oxidados en *N*.

20 Algunos de los compuestos de fórmula (I) pueden existir también en sus formas tautómeras. Dichas formas, aunque no se indica explícitamente en la fórmula anterior, debe entenderse que están incluidas dentro del alcance de la presente invención.

25 Siempre que se utilice en lo sucesivo, debe entenderse que la expresión “compuestos de fórmula (I)” incluye también las sales de adición farmacéuticamente aceptables y todas las formas estereoisómeras.

30 Como se utilizan en esta memoria, debe entenderse que los términos “histona-desacetilasa” y “HDAC” se refieren a una cualquiera de una familia de enzimas que eliminan grupos acetilo de los grupos ϵ -amino de los residuos lisina en la expresión N de una histona. A no ser que el contexto indique otra cosa, debe entenderse que la expresión “histona” se refiere a cualquier proteína histona, con inclusión de H1, H2A, H2B, H3, H4, y H5, de cualquier especie. Las proteínas o productos génicos de HDAC humanos incluyen, pero sin carácter limitante, HDAC-1, HDAC-2, HDAC-3, HDAC-4, HDAC-5, HDAC-6, HDAC-7, HDAC-8, HDAC-9 y HDAC-10. La histona-desacetilasa puede derivarse también de una fuente protozoaria o fúngica.


35 Un primer grupo de compuestos interesantes está constituido por aquellos compuestos de fórmula (I) en los cuales se aplican una o más de las restricciones siguientes:

- a) n es 1;
- 40 b) cada Q es ;
- c) R^1 es $-C(O)NR^7R^8$, o $-NHC(O)alcanodifloC_{1-6}-SH$ en donde R^7 y R^8 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxilo o hidroxialquilo C_{1-6} ;
- 45 d) R^2 es hidrógeno o nitro;
- e) R^3 es hidrógeno; y
- 50 f) cuando Z es igual a , entonces -L- es el radical bivalente $-alcanodifloC_{1-6}-NH-$;
- g) R^4 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} o arilo;
- 55 h)  es un radical seleccionado de (a-1) o (a-21);
- i) cada s es independientemente 0, 1 ó 2;
- 60 j) cada R^5 se selecciona independientemente de hidrógeno; halo; trihalo-alquilo C_{1-6} ; trihalo-alquilo C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} -carbonilo; ariloxi; ciano o fenilo.

65 Un segundo grupo de compuestos interesantes está constituido por aquellos compuestos de fórmula (I) en los cuales se aplican una o más de las restricciones siguientes:

- a) n es 1;

ES 2 322 950 T3

b) cada Q es  ;


5 c) cada X es nitrógeno;

d) cada Y es nitrógeno;

e) R¹ es -C(O)NH(OH);

10 f) R² es hidrógeno;

g) R³ es hidrógeno;

15 h) cuando Z es igual a , entonces -L- es el radical bivalente -alcanodifloC₁₋₆-NH-;

i) R⁴ es hidrógeno, alquiloC₁₋₆ o arilo;

20 j)  es el radical (a-1);

25 k) cada s es independientemente 0 ó 1;

l) cada R⁵ se selecciona independientemente de hidrógeno o fenilo.

30 Un tercer grupo de compuestos interesantes está constituido por aquellos compuestos de fórmula (I) en la cual se aplican una o más de las restricciones siguientes:

a) cada Z es nitrógeno;

b) R¹ es -C(O)NR⁷R⁸, o


35 -NHC(O)alcanodifloC₁₋₆-SH

en donde R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxi, o hidroxialquiloC₁₋₆;

40 c) R² es hidrógeno, halo, hidroxi, amino, nitro, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, trifluorometilo o di(alquiloC₁₋₆) amino;

d) R³ es hidrógeno, hidroxi, amino, hidroxialquiloC₁₋₆, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, arilalquiloC₁₋₆, aminocarbonilo, aminoalquiloC₁₋₆, alquilaminoC₁₋₆-alquiloC₁₋₆ o di(alquiloC₁₋₆)aminoalquiloC₁₋₆;

45 e) R⁴ es hidrógeno;

f)  es un radical seleccionado de (a-1), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11),
50 (a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42), (a-44), (a-45), (a-46), (a-47), (a-48) o (a-51);

55 g) cada s es independientemente 0, 1, 2, 3 ó 4;

60 h) R⁵ es hidrógeno; halo, hidroxi; amino; nitro; trihaloalquiloC₁₋₆; trihaloalquiloxiC₁₋₆; alquiloC₁₋₆; alquiloxiC₁₋₆; alquiloC₁₋₆-carbonilo; alquiloxiC₁₋₆-carbonilo; alquilsulfoniloC₁₋₆; hidroxialquiloC₁₋₆; ariloxi; di (alquiloC₁₋₆)amino; ciano; tiofenilo; furanilo; furanilo sustituido con hidroxialquiloC₁₋₆; benzo-furanilo; imidazolilo; oxazolilo; oxazolilo sustituido con arilo y alquiloC₁₋₆; alquiloC₁₋₆-triazolilo; tetrazolilo; pirrolidinilo; pirrolilo; morfolinilo; alquiloC₁₋₆-morfolinilo; piperazinilo; alquiloC₁₋₆-piperazinilo; hidroxialquiloC₁₋₆-piperazinilo; alquiloxiC₁₋₆-piperidinilo; pirazolilo; pirazolilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de alquiloC₁₋₆ y trihaloalquiloC₁₋₆; piridinilo; piridinilo sustituido con alquiloxiC₁₋₆, ariloxi o arilo; pirimidinilo; quinolinilo; indol; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆ o trifluorometilo;

65 i) R⁶ es hidrógeno; halo; hidroxi; amino; nitro; trihaloalquiloC₁₋₆; trihaloalquiloxiC₁₋₆; alquiloC₁₋₆; alquiloxiC₁₋₆; alquiloC₁₋₆-carbonilo; alquiloxiC₁₋₆-carbonilo; alquilsulfoniloC₁₋₆; hidroxialquiloC₁₋₆; ari-

ES 2 322 950 T3

loxi; di (alquiloC₁₋₆)amino; ciano; piridinilo; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆ o trifluorometilo.

Un grupo de compuestos preferidos está constituido por aquellos compuestos de fórmula (I) en donde

cada Z es nitrógeno;

R¹ es -C(O)NR⁷R⁸, o


-NHC(O)alcanodifloC₁₋₆-SH,

en donde R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxilo, o hidroxialquiloC₁₋₆;

R² es hidrógeno, halo, hidroxilo, amino, nitro, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, trifluorometilo o di(alquiloC₁₋₆)amino;

R³ es hidrógeno, hidroxilo, amino, hidroxialquiloC₁₋₆, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, arilalquiloC₁₋₆, aminocarbonilo, aminoalquiloC₁₋₆, alquilaminoC₁₋₆-alquiloC₁₋₆ o di(alquiloC₁₋₆)aminoalquiloC₁₋₆;

R⁴ es hidrógeno;

 es un radical seleccionado de (a-1), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11), (a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42), (a-44), (a-45), (a-46), (a-47), (a-48) o (a-51);


cada s es independientemente 0, 1, 2, 3, ó 4;

R⁵ es hidrógeno; halo, hidroxilo; amino; nitro; trihaloalquiloC₁₋₆; trihaloalquiloxiC₁₋₆; alquiloC₁₋₆; alquiloxiC₁₋₆; alquiloC₁₋₆-carbonilo; alquiloxiC₁₋₆-carbonilo; alquilsulfoniloC₁₋₆; hidroxialquiloC₁₋₆; ariloxi; di (alquiloC₁₋₆)amino; ciano; tiofenilo; furanilo; furanilo sustituido con hidroxialquiloC₁₋₆; benzo-furanilo; imidazolilo; oxazolilo; oxazolilo sustituido con arilo y alquiloC₁₋₆; alquiloC₁₋₆-triazolilo; tetrazolilo; pirrolidinilo; pirrolilo; morfolinilo; alquiloC₁₋₆-morfolinilo; piperazinilo; alquiloC₁₋₆-piperazinilo; hidroxialquiloC₁₋₆-piperazinilo; alquiloxiC₁₋₆-piperidinilo; pirazolilo; pirazolilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de alquiloC₁₋₆ o trihaloalquiloC₁₋₆; piridinilo; piridinilo sustituido con alquiloxiC₁₋₆, ariloxi o arilo; pirimidinilo; quinolinilo; indol; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆ o trifluorometilo; y

R⁶ es hidrógeno; halo; hidroxilo; amino; nitro; trihaloalquiloC₁₋₆; trihaloalquiloxiC₁₋₆; alquiloC₁₋₆; alquiloxiC₁₋₆; alquiloC₁₋₆-carbonilo; alquiloxiC₁₋₆-carbonilo; alquilsulfoniloC₁₋₆; hidroxialquiloC₁₋₆; ariloxi; di (alquiloC₁₋₆)amino; ciano; piridinilo; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆ o trifluorometilo.

Otro grupo de compuestos preferidos está constituido por aquellos compuestos de fórmula (I)


en donde n es 1; cada Q es ; R¹ es -C(O)NR⁷R⁸, o -NHC(O)alcanodifloC₁₋₆-SH en donde R⁷ y R⁸


se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxilo o hidroxialquiloC₁₋₆; R² es hidrógeno o nitro; R³ es hidrógeno; cuando Z es igual a , entonces -L- es el radical bivalente -alcanodifloC₁₋₆-

NH-; R⁴ es hidrógeno, alquiloC₁₋₆ o arilo;  es un radical seleccionado de (a-1) o (a-21); cada


s es independientemente 0, 1 ó 2; y cada R⁵ se selecciona independientemente de hidrógeno; halo; trihaloalquiloC₁₋₆; trihaloalquiloxiC₁₋₆; alquiloC₁₋₆; alquiloxiC₁₋₆; alquiloC₁₋₆carbonilo; ariloxi; ciano o fenilo.

Un grupo de compuestos más preferidos está constituido por aquellos compuestos de fórmula (I)

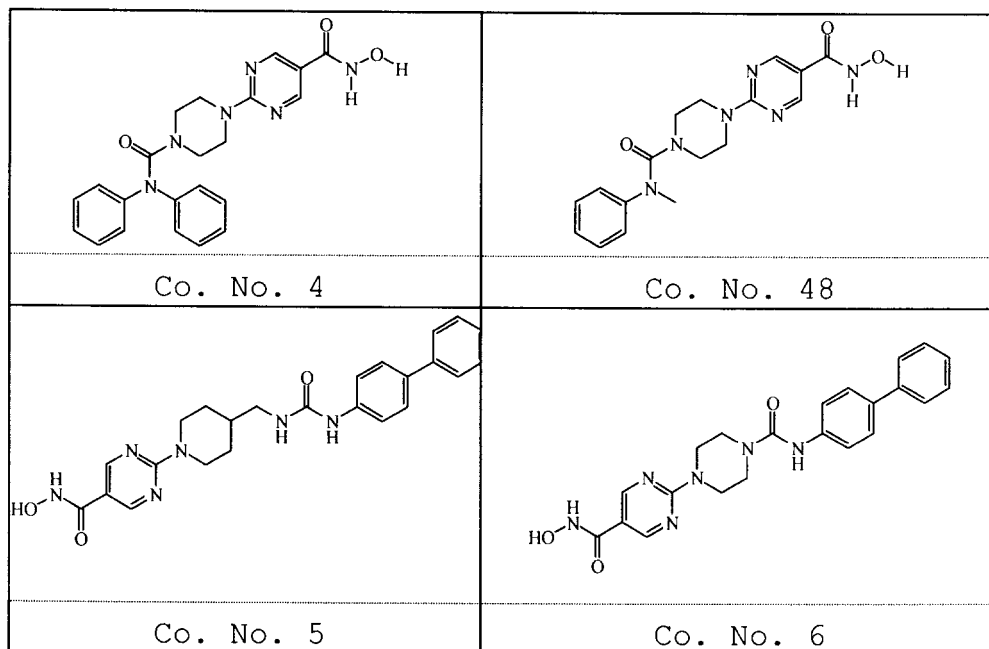
en donde n es 1; cada Q es ; cada X es nitrógeno; cada Y es nitrógeno; R¹ es -C(O)NH(OH);

R² es hidrógeno; R³ es hidrógeno; cuando Z es igual a , entonces -L- es el radical bivalente -alcano-difloC₁₋₆-NH-; R⁴ es hidrógeno, alquiloC₁₋₆ o arilo;

ES 2 322 950 T3

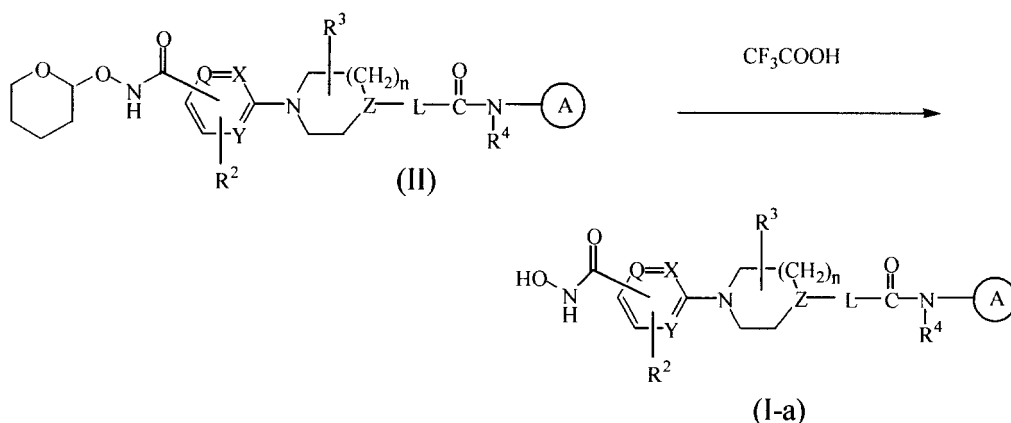
 es el radical (a-1); cada s es independientemente 0 ó 1; y cada R⁵ se selecciona independientemente de hidrógeno o fenilo.

Compuestos muy preferidos son los compuestos No. 4, No. 48, No. 5 y No. 6. Co. No. 4 Co. No. 48 Co. No. 5 Co. No. 6

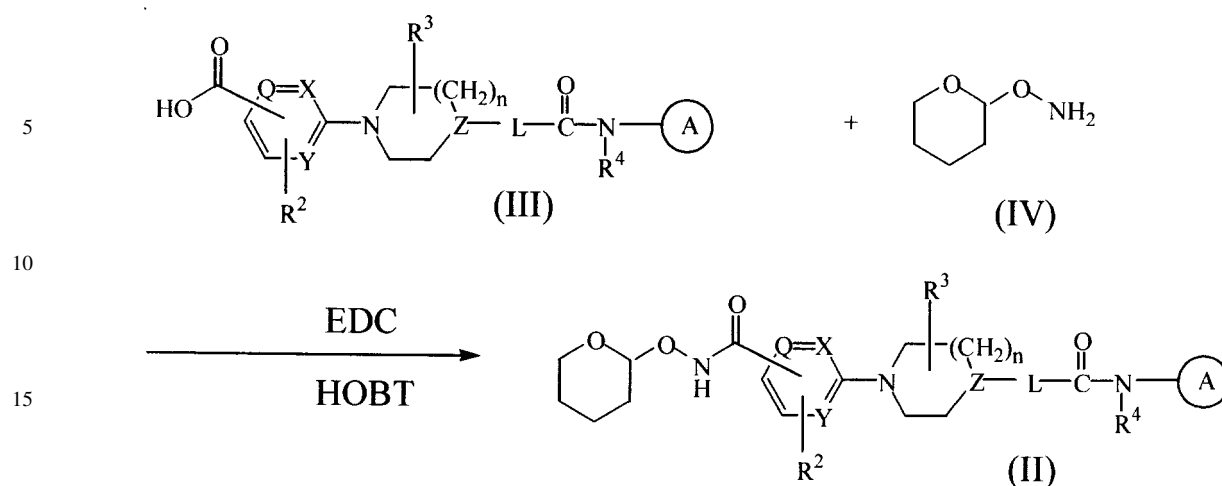


Los compuestos de fórmula (I) y sus sales y *N*-óxidos farmacéuticamente aceptables y formas estereoquímicamente isómeras de los mismos se pueden preparar de manera convencional. Una ruta de síntesis general se abarca como ejemplo:

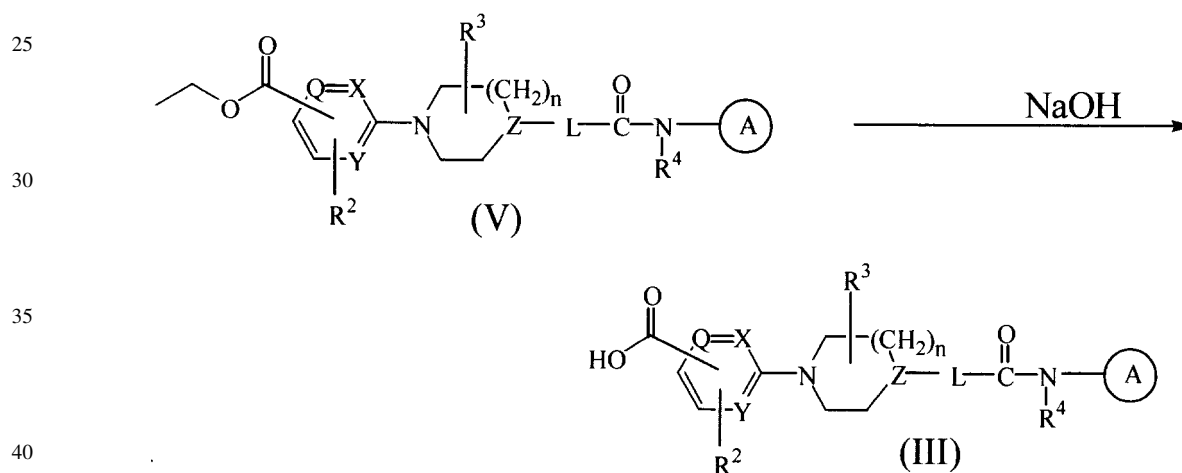
a) los ácidos hidroxámicos de fórmula (I) en la cual R¹ es -C(O)NH(OH), compuestos a los que se hace referencia como compuestos de fórmula (I-a), se pueden preparar por reacción de un compuesto intermedio de fórmula (II) con un ácido apropiado, tal como por ejemplo, ácido trifluoroacético. Dicha reacción se efectúa en un disolvente apropiado, tal como, por ejemplo, metanol.



b) Los compuestos intermedios de fórmula (II) se pueden preparar por reacción de un compuesto intermedio de fórmula (III) con un compuesto intermedio de fórmula (IV) en presencia de reactivos apropiados tales como monohidrócloruro de *N'*-(etilcarbonimidóil)-*N,N*-dimetil-1,3-propanodiamina, (EDC) y 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol (HOBT). La reacción puede efectuarse en un disolvente adecuado tal como una mezcla de diclorometano y tetrahidrofurano.



20 c) Los compuestos intermedios de fórmula (III) se pueden preparar por reacción de un compuesto intermedio de fórmula (V) con una base apropiada tal como NaOH en presencia de un disolvente adecuado tal como etanol.



45 Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar también convenientemente utilizando técnicas de síntesis en fase sólida. En general, la síntesis en fase sólida implica hacer reaccionar un compuesto intermedio en una síntesis con un soporte polímero. Este compuesto intermedio soportado por polímero puede llevarse luego adelante pasando por varios pasos de síntesis. Después de cada paso, la filtración de la resina y el lavado de la misma numerosas veces con diversos disolventes eliminan las impurezas. En cada paso, la resina puede fraccionarse para reaccionar con diversos compuestos intermedios en el paso siguiente, permitiendo así la síntesis de un gran número de compuestos. Después del último paso del procedimiento, la resina se trata con un reactivo o proceso para escindir la resina de la muestra. Una explicación más detallada de las técnicas utilizadas en la química de fase sólida se describe por ejemplo en "The Combinatorial Index" (B. Bunin, Academic Press) y Novabiochem's 1999 Catalogue & Peptide Synthesis Handbook (Novabiochem AG, Suiza) los dos cuales se incorporan en esta memoria por referencia.

55 Los compuestos de fórmula (I) y algunos de los compuestos intermedios pueden tener al menos un centro estereogénico en su estructura. Este centro estereogénico puede estar presente en configuración R o configuración S.

60 Los compuestos de fórmula (I) como se prepararan en los procesos descritos anteriormente en esta memoria son generalmente mezclas racémicas de enantiómeros, que pueden separarse unos de otros siguiendo procedimientos de resolución conocidos en la técnica. Los compuestos racémicos de fórmula (I) pueden convertirse en las formas de sal diastereoisómeras correspondientes por reacción con un ácido quiral adecuado. Dichas formas diastereoisómeras de sal se separan subsiguientemente, por ejemplo, por cristalización selectiva o fraccionada y los enantiómeros se liberan de ellas por medio de álcali. Una manera alternativa de separación de las formas enantiómeras de los compuestos de fórmula (I) implica cromatografía líquida utilizando una fase estacionaria quiral. Dichas formas estereoquímicamente isómeras puras pueden derivarse también de las formas estereoquímicamente isómeras puras correspondientes de los materiales de partida apropiados, con tal que la reacción tenga lugar estereoespecíficamente. Preferiblemente, si se desea un estereoisómero específico, dicho compuesto podría sintetizarse por métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

ES 2 322 950 T3

Los compuestos de fórmula (I), las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y las formas estereoisómeras de los mismos tienen propiedades farmacológicas valiosas en el sentido de que tienen un efecto inhibitorio de las histona-desacetilasas (HDAC).

5 Esta invención proporciona un método para inhibir el crecimiento anormal de las células, con inclusión de células transformadas, por administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención. El crecimiento anormal de las células hace referencia al crecimiento de las células independiente de los mecanismos reguladores normales (v.g. pérdida de la inhibición por contacto). Esto incluye la inhibición del crecimiento de los tumores tanto directamente por causar detención del crecimiento, diferenciación terminal y/o apoptosis de las células del cáncer, como indirectamente, por inhibición de la neovascularización de los tumores.

15 Esta invención proporciona también un método para inhibir el crecimiento de los tumores por administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención a un individuo, v.g. un mamífero (y más particularmente un humano) que se encuentra en necesidad de dicho tratamiento. En particular, esta invención proporciona un método para inhibir el crecimiento de los tumores por la administración de una cantidad eficaz de los compuestos de la presente invención. Ejemplos de tumores que pueden ser inhibidos, pero sin carácter limitante, son cáncer de pulmón (v.g. adenocarcinoma con inclusión del cáncer de pulmón de células no pequeñas), cánceres de páncreas (v.g. carcinoma pancreático tal como, por ejemplo, carcinoma pancreático exocrino), cánceres de colon (v.g. carcinomas colorrectales, tales como, por ejemplo, adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), cáncer de próstata con inclusión de la enfermedad avanzada, tumores hematopoyéticos de linaje linfoide (v.g. leucemia linfocítica aguda, linfoma de células B, linfoma de Burkitt), leucemias mieloides (por ejemplo, leucemia mielógena aguda (AML)), cáncer folicular de tiroides, síndrome mielodisplásico (MDS), tumores de origen mesenquimático (v.g. fibrosarcomas y rhabdomyosarcomas), melanomas, teratocarcinomas, neuroblastomas, gliomas, tumor benigno de la piel (v.g. queratoacantomas), carcinoma de mama (v.g. cáncer de mama avanzado), carcinoma de riñón, carcinoma de ovario, carcinoma de vejiga y carcinoma epidérmico.

El compuesto de acuerdo con la invención puede utilizarse para otros propósitos terapéuticos, por ejemplo:

- 30 a) la sensibilización de tumores a la radioterapia por administración del compuesto de acuerdo con la invención antes, durante o después de la irradiación del tumor para tratamiento del cáncer;
- b) tratamiento de artropatías y condiciones osteopatológicas tales como artritis reumatoide, osteoartritis, artritis juvenil, gota, poliartritis, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante y lupus eritematoso sistémico;
- 35 c) inhibición de la proliferación de células musculares lisas con inclusión de trastornos vasculares proliferativos, aterosclerosis y restenosis;
- d) tratamiento de afecciones inflamatorias y afecciones dérmicas tales como colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, rinitis alérgica, enfermedad de rechazo inverso, conjuntivitis, asma, ARDS, enfermedad de Behcets, rechazo de trasplantes, urticaria, dermatitis alérgica, alopecia areata, escleroderma, exantema, eccema, dermatomiositis, acné, diabetes, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Kawasaki, esclerosis múltiple, enfisema, fibrosis quística y bronquitis crónica;
- 40 e) tratamiento de la endometriosis, fibroides uterinos, hemorragia uterina disfuncional e hiperplasia endometrial;
- f) tratamiento de la vascularización ocular con inclusión de vasculopatía que afecte a la retina y los vasos coroides;
- 50 g) tratamiento de una disfunción cardíaca;
- h) inhibición de condiciones inmunosupresoras tales como el tratamiento de infecciones por HIV;
- i) tratamiento de la disfunción renal;
- 55 j) supresión de trastornos endocrinos;
- k) inhibición de la disfunción de la gluconeogénesis;
- 60 l) tratamiento de una neuropatología, por ejemplo enfermedad de Parkinson o una neuropatología que dé como resultado un trastorno cognitivo, por ejemplo, enfermedad de Alzheimer o enfermedades neuronales relacionadas con poliglutaminas;
- m) inhibición de una patología neuromuscular, por ejemplo, esclerosis amiotrófica lateral;
- 65 n) tratamiento de la atrofia muscular espinal;

ES 2 322 950 T3

- o) tratamiento de otras condiciones patológicas susceptibles de terapia por potenciación de la expresión de un gen;
- p) mejora de la terapia génica.

5

Por tanto, la presente invención describe los compuestos de fórmula (I) para uso como un medicamento, así como el uso de estos compuestos de fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para tratar una o más de las condiciones arriba mencionadas.

10 Los compuestos de fórmula (I), sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, y sus formas estereoisómeras pueden tener propiedades valiosas de diagnóstico en el sentido de que pueden utilizarse para detectar o identificar una HDAC en una muestra biológica que comprende la detección o medición de la formación de un complejo entre un compuesto marcado y una HDAC.

15 Los métodos de detección o identificación pueden utilizar compuestos que están marcados con agentes marcadores tales como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas, etc. Ejemplos de los radioisótopos incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^3H y ^{14}C . Las enzimas se hacen usualmente detectables por conjugación de un sustrato apropiado que, a su vez, cataliza una reacción detectable. Ejemplos de los mismos incluyen, por ejemplo, β -galactosidasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, peroxidasa y malato-deshidrogenasa, preferiblemente peroxidasa de rábano picante. Las sustancias luminosas incluyen, por ejemplo, luminol, derivados de luminol, luciferina, eucorina y luciferasa.

20 Las muestras biológicas pueden definirse como tejido corporal o fluidos corporales. Ejemplos de fluidos corporales son fluido cerebroespinal, sangre, plasma, suero, orina, esputos, saliva y análogos.

25 Teniendo en cuenta sus útiles propiedades farmacológicas, los presentes compuestos pueden formularse en diversas formas farmacéuticas para propósitos de administración.

30 Para preparar las composiciones farmacéuticas de la invención, una cantidad eficaz de un compuesto particular, en forma de sal de adición de base o de ácido, como ingrediente activo, se combina en mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable, vehículo que puede tomar una gran diversidad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para administración. Estas composiciones farmacéuticas se encuentran deseablemente en forma de dosis unitaria adecuada, preferiblemente, para administración por vías oral, rectal, percutánea, o por inyección parenteral. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, puede emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos usuales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y análogos en el caso de preparaciones orales líquidas tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o vehículos sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglomerantes, agentes desintegrantes y análogos en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y tabletas.

40 Debido a su facilidad de administración, tabletas y cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean obviamente vehículos farmacéuticos sólidos. Para las composiciones parenterales, el vehículo comprenderá usualmente agua estéril, al menos en gran parte, aunque pueden incluirse otros ingredientes, por ejemplo para favorecer la solubilidad. Se pueden preparar por ejemplo soluciones inyectables, en las cuales el vehículo comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y glucosa. Pueden prepararse también suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear vehículos líquidos apropiados, agentes de suspensión y análogos. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el vehículo comprende opcionalmente un agente mejorador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, combinado opcionalmente con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en menores proporciones, aditivos que no causan un efecto deletéreo significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones pueden administrarse de diversas maneras, v.g., como un parche transdérmico, como un toque o como un ungüento.

55 Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en forma de dosis unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma de dosis unitaria, tal como se utiliza en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas a la misma, hace referencia a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de ingrediente activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas de dosis unitaria son tabletas (con inclusión de tabletas ranuradas o recubiertas), cápsulas, píldoras, paquetes de polvos, pastillas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharadas de té, cucharadas de mesa y análogas, así como múltiples segregados de las mismas.

60 Los expertos en la técnica podrían determinar fácilmente la cantidad eficaz a partir de los resultados de tests que se presentan más adelante en esta memoria. En general se contempla que una cantidad terapéuticamente eficaz podría ser de 0,05 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal, y en particular desde 0,05 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Puede ser apropiado administrar la dosis requerida como dos, tres, cuatro o más subdosis a intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas subdosis pueden formularse como formas de dosificación unitaria, por ejemplo, que contienen 0,5 a 500 mg, y en particular 10 mg a 500 mg de ingrediente activo por forma unitaria de dosificación.

ES 2 322 950 T3

Como otro aspecto de la presente invención, se contempla una combinación de un inhibidor de HDAC con otro agente anticáncer, especialmente para uso como medicamento, más específicamente en el tratamiento del cáncer o enfermedades afines.

5 Para el tratamiento de las condiciones anteriores, los compuestos de la invención pueden emplearse ventajosamente en combinación con uno o más agentes medicinales distintos, más particularmente, con otros agentes anticáncer. Ejemplos de agentes anticáncer son:

- 10 - compuestos de coordinación de platino, por ejemplo cisplatino, carboplatino u oxaliplatino;
- compuestos de taxano, por ejemplo paclitaxel o docetaxel;
- inhibidores de la topoisomerasa I, tales como compuestos de camptotecina, como por ejemplo irinotecán o topotecán;
- 15 - inhibidores de la topoisomerasa II tales como derivados antitumorales de podofilotoxina, por ejemplo etoposido o teniposido;
- alcaloides antitumorales de la vinca, por ejemplo vinblastina, vincristina o vinorelbina;
- 20 - derivados antitumorales nucleosídicos, por ejemplo 5-fluorouracilo, gemcitabina o capecitabina;
- agentes alquilantes tales como mostaza nitrogenada o nitrosourea, por ejemplo ciclofosfamida, clorambucil, carmustina o lomustina;
- 25 - derivados antitumorales de antraciclina, por ejemplo daunorrubicina, doxorrubicina, idarrubicina o mitoxantrona;
- anticuerpos HER2, por ejemplo trastuzumab;
- 30 - antagonistas receptores de estrógenos o moduladores selectivos de receptores de estrógenos, por ejemplo tamoxifeno, toremifeno, droloxifeno, faslodex o raloxifeno;
- inhibidores de las aromatasas, tales como exemestano, anastrozol, letrozol y vorozol;
- 35 - agentes de diferenciación tales como retinoides, vitamina D y agentes bloqueantes del metabolismo del ácido retinoico (RAMBA), por ejemplo accutano;
- inhibidores de la DNA-metiltransferasa, por ejemplo azacitidina;
- 40 - inhibidores de quinasas, por ejemplo flavoperidol, imatinib-mesilato o gefitinib;
- inhibidores de la farnesiltransferasa; u
- 45 - otros inhibidores de HDAC.

La expresión “compuesto de coordinación de platino” se utiliza en esta memoria para designar cualquier compuesto de coordinación de platino inhibidor del crecimiento de las células tumorales que proporciona platino en forma de un ion.

50 La expresión “compuestos de taxano” indica una clase de compuestos que contienen el sistema de anillos del taxano y están relacionados con o se derivan de extractos de ciertas especies de tejo (*Taxus*).

La expresión “inhibidores de las topoisomerasas” se utilizan para indicar enzimas que son capaces de alterar la topología del DNA en las células eucariotas. Las mismas son críticas para funciones celulares importantes y para la proliferación celular. Existen dos clases de topoisomerasas en las células eucariotas, saber tipo I y tipo II. La topoisomerasa I es una enzima monómera de peso molecular aproximado 100.000. La enzima se fija al DNA e introduce una ruptura monocatenaria transitoria, desenrolla la doble hélice (o permite que la misma se desenrolle) y subsiguientemente sella de nuevo la rotura antes de la disociación de la cadena de DNA. La topoisomerasa II tiene un mecanismo de acción similar que implica la inducción de roturas de cadena de DNA o la formación de radicales libres.

65 La expresión “compuestos de camptotecina” se utiliza para indicar compuestos que están relacionados con o se derivan del compuesto parental camptotecina que es un alcaloide insoluble en agua derivado del árbol chino *Camptothecin acuminata* y el árbol indio *Nothapodytes foetida*.

La expresión “compuestos de podofilotoxina” se utiliza para indicar compuestos que son afines a o se derivan de la podofilotoxina parental, que se extrae de la planta de la mandrágora.

ES 2 322 950 T3

La expresión “alcaloides antitumorales de la vinca” se utiliza para indicar compuestos que son afines a o se derivan de extractos de la planta vincapervinca (*Vinca rosea*).

La expresión “agentes alquilantes” abarca un diverso grupo de productos químicos que tienen la característica común de que poseen capacidad para aportar, en condiciones fisiológicas, grupos alquilo a macromoléculas biológicamente vitales tales como el DNA. Con la mayoría de los agentes más importantes tales como las mostazas nitrogenadas y las nitrosoureas, los restos alquilantes activos se generan *in vivo* después de reacciones de degradación complejas, algunas de las cuales son enzimáticas. Las acciones farmacológicas más importantes de los agentes alquilantes son aquéllas que perturban los mecanismos fundamentales relacionados con la proliferación celular, en particular la síntesis del DNA y la división celular. La capacidad de los agentes alquilantes para interferir con la función y la integridad del DNA en los tejidos que proliferan rápidamente, proporciona la base para sus aplicaciones terapéuticas y para muchas de sus propiedades tóxicas.

La expresión “derivados antitumorales de tetraciclina” comprende antibióticos obtenidos del hongo *Strep. peiticus var. caesi* y sus derivados, caracterizados por tener una estructura de anillos de tetraciclina con un azúcar inusual, daunosamina, unido por un enlace glicosídico.

Se ha demostrado que la amplificación de la proteína del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER 2) en los carcinomas de mama primarios está en correlación con una prognosis clínica mala para ciertos pacientes. Trastuzumab es un anticuerpo kappa IgG1 monoclonal humanizado derivado de DNA recombinante y altamente purificado que se fija con afinidad y especificidad altas al dominio extracelular del receptor HER2.

Muchos cánceres de mama tienen receptores de estrógenos y el crecimiento de estos tumores puede ser estimulado por estrógenos. Los términos “antagonistas de receptores de estrógenos” y “moduladores selectivos de receptores de estrógenos” se utilizan para indicar inhibidores competitivos de la fijación de estradiol al receptor de estrógenos (ER). Los moduladores selectivos de receptores de estrógenos, cuando se fijan al ER, inducen un cambio en la forma tridimensional del receptor, inhibiendo su fijación al elemento sensible a los estrógenos (ERE) en el DNA.

En las mujeres posmenopáusicas, la fuente principal de estrógenos circulantes procede de la conversión de los andrógenos suprarrenales y ováricos (androstenediona y testosterona) en estrógenos (estrone y estradiol) por la enzima aromatasas en los tejidos periféricos. La privación de estrógenos por inhibición o desactivación de las aromatasas es un tratamiento eficaz y selectivo para algunas pacientes posmenopáusicas con cáncer de mama dependiente de hormonas.

La expresión “agente antiestrógenos” se utiliza en esta memoria para incluir no sólo antagonistas de los receptores de estrógenos y moduladores selectivos de los receptores de estrógenos, sino también inhibidores de las aromatasas como se ha expuesto arriba.

La expresión “agentes de diferenciación” abarca compuestos que pueden inhibir de diversas maneras la proliferación celular e inducir diferenciación. Se sabe que la vitamina D y los retinoides juegan un papel fundamental en la regulación del crecimiento y la diferenciación de una gran diversidad de tipos de células normales y malignas. Los agentes bloqueantes del metabolismo del ácido retinoico (RAMBA's) aumentan los niveles de ácidos retinoicos endógenos por inhibición del catabolismo de los ácidos retinoicos mediado por el citocromo P450.

Los cambios de metilación del DNA se encuentran entre las anomalías más comunes en la neoplasia humana. La hipermetilación dentro de los promotores de genes seleccionados está asociada usualmente con desactivación de los genes implicados. La expresión “inhibidores de la DNA-metiltransferasa” se utiliza para indicar compuestos que actúan por inhibición farmacológica de la DNA-metiltransferasa y reactivación de la expresión de genes supresores de tumores.

La expresión “inhibidores de quinasas” comprende inhibidores potentes de las quinasas que están implicados en la progresión del ciclo celular y la muerte celular programada (apoptosis).

La expresión “inhibidores de la farnesiltransferasa” se utiliza para indicar compuestos que fueron diseñados para prevenir la farnesilación de Ras y otras proteínas intracelulares. Se ha demostrado que los mismos tienen efecto sobre la proliferación y supervivencia de las células malignas.

La expresión “otros inhibidores de HDAC” comprende, pero sin carácter limitante:

- ácidos grasos de cadena corta, por ejemplo butirato, 4-fenilbutirato o ácido valproico;
- ácidos hidroxámicos, por ejemplo ácido suberoil-anilida-hidroxámico (SAHA), biaril-hidroxamato A-161906, aril-N-hidroxicarboxamidas bicíclicas, piroxamida, CG-1521, PXD-101, ácido sulfonamida-hidroxámico, LAQ-824, tricostatina A (TSA), oxamflatina, scriptaid, ácido m-carboxi-cinámico, ácido bishidroxicinámico, o análogo del ácido trapoxin-hidroxámico;
- tetrapéptidos cíclicos, por ejemplo trapoxina, apidicina o depsipéptido;
- benzamidas, por ejemplo MS-275 o CI994, o

ES 2 322 950 T3

- depudecina.

Para el tratamiento del cáncer, los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden administrarse a un paciente como se ha descrito arriba, en asociación con irradiación. La irradiación significa radiación ionizante, y en particular reacción gamma, especialmente la emitida por aceleradores lineales o por radionucleidos que son de uso común en la actualidad. La irradiación del tumor por los radionucleidos puede ser externa o interna.

La presente invención se refiere también a una combinación de acuerdo con la invención de un agente anticáncer y un inhibidor de HDAC de acuerdo con la invención.

La presente invención se refiere también a una combinación de acuerdo con la invención para uso en terapia médica, por ejemplo para inhibición del crecimiento de células tumorales.

La presente invención se refiere también a una combinación de acuerdo con la invención para inhibición del crecimiento de células tumorales.

La presente invención se refiere también a un método de inhibición del crecimiento de células tumorales en un individuo humano, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de una combinación de acuerdo con la invención.

Esta invención proporciona adicionalmente un método para inhibición del crecimiento anormal de las células, con inclusión de células transformadas, por administración de una cantidad eficaz de una combinación de acuerdo con la invención.

El otro agente medicinal y el inhibidor de HDAC pueden administrarse simultáneamente (v.g. en composiciones separadas o unitarias) o secuencialmente en cualquier orden. En el último caso, los dos compuestos se administrarán dentro de un periodo y en una cantidad y de un modo que sean suficientes para asegurar que se consigue un efecto ventajoso o sinérgico. Se apreciará que el método y el orden de administración preferidos y las cantidades y regímenes de dosificación respectivas para cada componente de la combinación dependerán del otro agente medicinal e inhibidor de HDAC que se administre, su ruta de administración, el tumor particular de que se trate y el hospedador particular que se esté tratando. El método y orden de administración óptimos, así como las cantidades y regímenes de dosificación pueden ser determinados fácilmente por los expertos en la técnica utilizando métodos convencionales y teniendo en cuenta la información expuesta en esta memoria.

El compuesto de coordinación de platino se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 50 a 400 mg/m^2 , particularmente para cisplatino en una dosis de aproximadamente 75 mg/m^2 y para carboplatino en aproximadamente 300 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El compuesto de taxano se administra ventajosamente en una dosis de 50 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 75 a 250 mg/m^2 , particularmente para paclitaxel en una dosis de aproximadamente 175 a 250 mg/m^2 y para docetaxel en aproximadamente 75 a 150 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El compuesto camptotecina se administra ventajosamente en una dosis de 0,1 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 1 a 300 mg/m^2 , particularmente para irinotecán en una dosis de aproximadamente 100 a 350 mg/m^2 y para topotecán en aproximadamente 1 a 2 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El derivado antitumoral de podofilotoxina se administra ventajosamente en una dosis de 30 a 300 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 50 a 250 mg/m^2 , particularmente para etoposido en una dosis de aproximadamente 35 a 100 mg/m^2 y para teniposido aproximadamente 50 a 250 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El alcaloide antitumoral de la vinca se administra ventajosamente en una dosis de 2 a 30 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, particularmente para vinblastina en una dosis de aproximadamente 3 a 12 mg/m^2 , para vincristina en una dosis de aproximadamente 1 a 2 mg/m^2 , y para vinorelbina en una dosis de aproximadamente 10 a 30 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El derivado antitumoral nucleosídico se administra ventajosamente en una dosis de 200 a 2500 mg por m^2 (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 700 a 1500 mg/m^2 , particularmente para 5-FU en una dosis de 200 a 500 mg/m^2 , para gemcitabina en una dosis de aproximadamente 800 a 1200 mg/m^2 y para capecitabina en aproximadamente 1000 a 2500 mg/m^2 por curso de tratamiento.

Los agentes alquilantes tales como mostaza nitrogenada o nitrosourea se administran ventajosamente en una dosis de 100 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 120 a 200 mg/m^2 , particularmente para ciclofosfamida en una dosis de aproximadamente 100 a 500 mg/m^2 , para clorambucil en una dosis de aproximadamente 0,1 a 0,2 mg/kg , para carmustina en una dosis de aproximadamente 150 a 200 mg/m^2 , y para lomustina en una dosis de aproximadamente 100 a 150 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El derivado antitumoral de antraciclina se administra ventajosamente en una dosis de 10 a 75 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal, por ejemplo 15 a 60 mg/m^2 , particularmente para doxorubicina en una dosis

ES 2 322 950 T3

de aproximadamente 40 a 75 mg/m², para daunorrubicina en una dosis de aproximadamente 25 a 45 mg/m², y para idarrubicina en una dosis de aproximadamente 10 a 15 mg/m² por curso de tratamiento.

5 El trastuzumab se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m²) de superficie corporal, particularmente 2 a 4 mg/m² por curso de tratamiento.

10 El agente antiestrógenos se administra ventajosamente en una dosis de aproximadamente 1 a 100 mg diariamente dependiendo del agente particular y la condición de que se trate. El tamoxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 5 a 50 mg, preferiblemente 10 a 20 mg dos veces al día, continuando la terapia durante el tiempo suficiente para alcanzar y mantener un efecto terapéutico. El toremifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez al día, continuando la terapia durante tiempo suficiente para alcanzar y mantener un efecto terapéutico. El anastrozol se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 1 mg una vez al día. El droloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 20-100 mg una vez al día. El raloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez al día. El exemestano se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 25 mg una vez al día.

20 Estas dosis pueden administrarse por ejemplo una vez, dos veces o más por curso de tratamiento, que puede repetirse por ejemplo cada 7, 14, 21 ó 28 días.

25 Teniendo en cuenta sus útiles propiedades farmacológicas, los componentes de las combinaciones de acuerdo con la invención, es decir el otro agente medicinal y el inhibidor de HDAC pueden formularse en diversas formas farmacéuticas para propósitos de administración. Los componentes se pueden formular por separado en composiciones farmacéuticas individuales o en una composición farmacéutica unitaria que contenga ambos componentes.

30 La presente invención se refiere también por tanto a una composición farmacéutica que comprende el otro agente medicinal y el inhibidor de HDAC junto con uno o más vehículos farmacéuticos.

35 La presente invención se refiere también a una combinación de acuerdo con la invención en la forma de una composición farmacéutica que comprende un agente anticáncer y un inhibidor de la HDAC de acuerdo con la invención junto con uno o más vehículos farmacéuticos.

40 La presente invención se refiere adicionalmente al uso de una combinación de acuerdo con la invención en la fabricación de una composición farmacéutica para inhibición del crecimiento de las células tumorales.

45 La presente invención se refiere adicionalmente a un producto que contiene como primer ingrediente activo un inhibidor de la HDAC de acuerdo con la invención y como segundo ingrediente activo un agente anticáncer, como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de pacientes que sufren cáncer.

40 Parte experimental

Los ejemplos siguientes se proporcionan para propósitos de ilustración.

45 En lo sucesivo “DCM” significa diclorometano, “DIC” significa diisopropilcarbodiimida, “DIEA” significa diisopropiletilamina, “DIPE” significa diisopropiléter, “DMF” significa dimetilformamida, “EDC” significa *N*’-(etilcarbonyl)imidazol, “HOBT” significa 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol, “MeOH” significa metanol, “PyBop” significa hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris-pirrolidino-fosfonio, “PyBrOP” significa hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidino-fosfonio, “TFA” significa ácido trifluoroacético y “THF” significa tetrahidrofurano. ExtrelutTM es un producto de Merck KgaA, Darmstadt, Alemania, y es una columna corta que comprende tierra de diatomeas.

A. Preparación de los compuestos intermedios

Ejemplo A1

55 a) Una solución de 1-isocianato-4-metil-benceno (0,051 mol) en DCM p.a. (75 ml) se añadió gota a gota a una solución de ácido 4-(1-piperazinil)-benzoico, éster etílico (0,043 mol) y trietilamina (0,051 mol) en DCM p.a. (75 ml) mientras se agitaba a 0°C (hielo) durante 20 minutos. La mezcla de reacción se agitó a la temperatura ambiente durante 1 hora y se extrajo luego con agua. La capa orgánica se extrajo con una solución saturada de NaCl y nuevamente con agua, se separó luego, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el filtrado. El residuo se agitó en DIPE y el precipitado formado se separó por filtración, se lavó con DIPE y se secó. Una parte (0,5 g) del residuo (14,3 g, 90%) se cristalizó en 2-propanol (10 ml) y el precipitado formado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,42 g de ácido 4-[4-[(4-metilfenil)amino]carbonil]-1-piperazinil]-benzoico, éster etílico (compuesto intermedio 1).

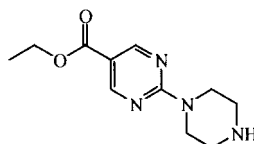
65 b) Una mezcla de compuesto intermedio 1 (0,021 mol) y HCl al 36% (150 ml) se agitó y se mantuvo a reflujo durante 3 horas, después de lo cual se vertió en agua (400 ml), y se agitó durante 30 minutos. El precipitado se separó por filtración, se lavó con agua y se secó, obteniéndose 6,57 g (92%) de ácido 4-[4-[(4-metilfenil)amino]carbonil]-1-piperazinil]-benzoico.HCl (1:1) (compuesto intermedio 2).

ES 2 322 950 T3

c) Se agitó una mezcla de compuesto intermedio 2 (0,0009 mol), DIC (0,002 mol) y 4-metilmorfolina (0,44 mol) en DCM (50 ml). Se añadió hidrocloreuro de O-(fenilmetil)-hidroxilamina (0,002 mol). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 24 horas. Se añadió agua (50 ml). Se filtró la mezcla. Se separaron las capas. La capa orgánica se secó, se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo se trituró en 2-propanol. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,133 g (33%) de *N*-(4-metilfenil)-4-[4-[[[fenilmetoxi]amino]carbonil]-fenil]-1-piperazina carboxamida (compuesto intermedio 3).

Ejemplo A2

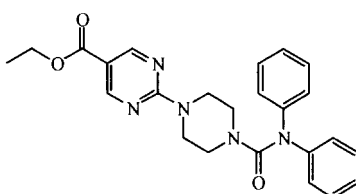
a) Preparación de



compuesto intermedio 4

Una mezcla de piperazina (0,5 mol) en acetonitrilo (500 ml) y carbonato de potasio (50 g) se agitó a la temperatura ambiente, y se añadió luego una solución de ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidinacarboxílico, éster etílico (0,10 mol) en acetonitrilo (200 ml), gota a gota a la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a la temperatura ambiente durante 1 hora y se diluyó con agua. Se evaporó el disolvente orgánico (para eliminar CH₃CN) y el concentrado acuoso se extrajo tres veces con DCM. Se combinaron las capas orgánicas, se lavaron con agua y se secaron (MgSO₄). Se separó el disolvente por evaporación, se cristalizó el residuo en DIPE, y el precipitado resultante se separó por filtración y se secó, obteniéndose 3,8 g de compuesto intermedio 4. El filtrado se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: DCM/MeOH 95/5). Las fracciones de producto se recogieron y se evaporó el disolvente, obteniéndose 11,9 g de compuesto intermedio 4. Rendimiento global, 15,7 g de compuesto intermedio 4.

b) Preparación de



compuesto intermedio 5

Una mezcla de compuesto intermedio 4 (0,0002 mol), cloruro difenil-carbámico (0,0003 mol) y agente de barrido morfolinometil-PS (suministrador Novabiochem cat. No. 01-64-0171: morfolinometil-poliestireno-HL (mallas 200-400), 2% divinilbenceno) (0,150 g) en DCM (5 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante 20 horas, se añadió luego agente de barrido tris(2-aminoetil)amina-PS (suministrador Novabiochem, cat. No. 01-64-0170: Tris-2-aminometil) amina-poliestireno HL (mallas 200-400), 1% divinilbenceno) (0,150 g) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 horas más. Se separaron por filtración los agentes de barrido, se lavaron con DCM y se evaporó el disolvente, obteniéndose el compuesto intermedio 5.

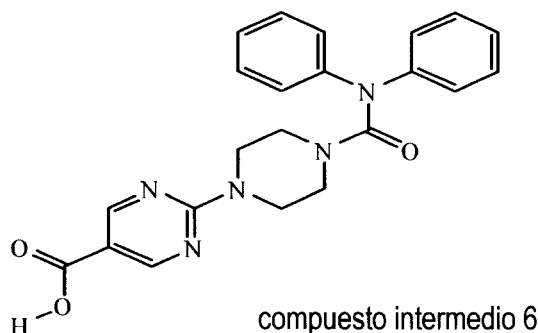
ES 2 322 950 T3

c) Preparación de

5

10

15



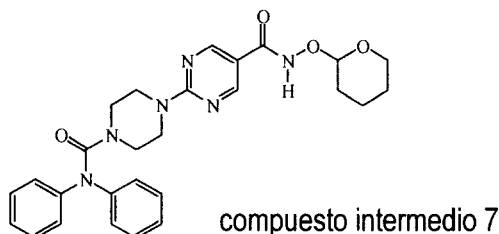
20

Una mezcla de compuesto intermedio 5 (0,0003 mol) en hidróxido de sodio 1N (1,5 ml), THF (4 ml) y MeOH (1 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante 3 días, y la mezcla de reacción se neutralizó luego con HCl (1,5 ml, 1N). La mezcla se filtró a través de Extrelut™ NT (suministrador: Merck) y se secó en corriente de N₂, obteniéndose el compuesto intermedio 6.

d) Preparación de

25

30



35

40

45

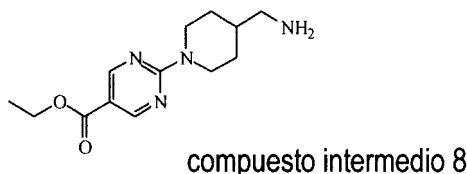
Una mezcla de compuesto intermedio 6 (0,0003 mol), agente de barrido HOBt-6-carboxamidometil-PS (0,200 g, Novabiochem cat. No. 01-64-0425) y *N,N*-dimetil-4-piridinamina (0,00015 mol) en DCM/DMF (5 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante 15 min, se añadió luego *N,N'*-metanotetraetilbis-2-propanamina (0,070 ml) y la mezcla de reacción se agitó con sacudidas durante 4 horas. La resina se levó tres veces con DCM, tres veces con DMF y tres veces más con DCM y otras tres veces con DMF, y finalmente seis veces con DCM. Se añadió una solución de *O*-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-hidroxilamina (0,00026 mol) en DCM (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó mediante sacudidas durante 20 horas, después de lo cual se añadió metilisocianato enlazado a PS (0,150 g) y la mezcla se agitó mediante sacudidas durante 4 horas. Se separaron por filtración los agentes de barrido, se lavaron dos veces con DCM y se evaporó el filtrado, obteniéndose el compuesto intermedio 7.

Ejemplo A3

a) Preparación de

50

55



60

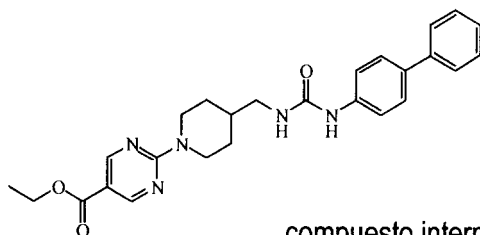
65

Una solución de ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidinacarboxílico, éster etílico (0,0434 mol) en acetonitrilo (100 ml) se añadió gota a gota a 10°C a una solución de 4-piperidinmetanamina (0,0868 mol) y carbonato de potasio (0,0434 mol) en acetonitrilo (200 ml) en corriente de N₂. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas, se vertió en agua con hielo y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró, y se evaporó el disolvente. El residuo (14,18 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (20-45 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 90/10/1 a 80/20/2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, obteniéndose 3,7 g (32%) de compuesto intermedio 8.

ES 2 322 950 T3

b) Preparación de

5



10

compuesto intermedio 9

15

Una mezcla de compuesto intermedio 8 (0,0049 mol) y 4-isocianato-1,1'-bifenilo (0,0074 mol) en THF (30 ml) se agitó a 60°C durante 20 horas, se enfrió luego a la temperatura ambiente, y se vertió en agua con hielo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua, a continuación con dietil-éter y se secó, obteniéndose 2,215 g (98%) de compuesto intermedio 9.

20

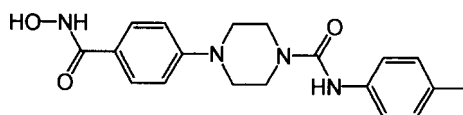
B. Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B1

25

Preparación de

30



35

compuesto 1

40

El compuesto intermedio 3 (0,0013 mol) en DMF (10 ml) se hidrogenó con Pd/C al 10% (0,2 g) como catalizador. Después de la absorción de H₂ (1 equiv.), se separó el catalizador por filtración sobre dicalite y se evaporó el disolvente. El residuo se disolvió en DCM/MeOH (300 ml; 50/50) y se filtró sobre un papel de filtro. Se evaporó el disolvente del filtrado. El residuo se trituró con DCM. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,35 g (76%) de compuesto 1.

45

Ejemplo B2

50

Se desprotegió resina N-Fmoc-hidroxilamina-2-clorotritilo (Novabiochem, 01-64-0165) con piperidina al 50% en DMF (temperatura ambiente, 24 h)¹. La resina se lavó² varias veces con DCM y DMF, y se hinchó en DMF. Se añadieron como una sola porción 2 equivalentes de ácido³, PyBrOP⁴ y 4 equivalentes de DIEA. La mezcla se agitó mediante sacudidas durante 24 horas, se escurrió el líquido y se lavó la resina varias veces con DCM y DMF. Se hinchó la resina en DMF que contenía 2 equivalentes de amina, se agitó mediante sacudidas 24 h a la temperatura ambiente, se escurrió el líquido y se lavó la resina con DCM y DMF. Se agitaron mediante sacudidas 3 equivalentes de ácido, DIC y DIEA con la resina durante una noche a la temperatura ambiente. La resina se escurrió y se lavó con DCM y DMF. El producto final se escindió por medio de TFA al 5% en DCM, se analizó por HPLC y MS y se evaporó en los tubos de test previamente pesados.

55

¹. En un ejemplo se utilizó el compuesto 2, resina de glicinol-2-clorotritilo (Novabiochem, 01-64-0087). En otro ejemplo se utilizó el compuesto 3, resina de carboximetanotiol-4-metoxitritilo (Novabiochem, 01-64-0238).

60

². En dos casos se utilizó también MeOH en los diferentes procesos de lavado de los compuestos 2 y 3.

³. Basado en la carga de la resina.

⁴. En dos casos se reemplazó PyBrOP por los compuestos PyBOP 2 y 3.

65

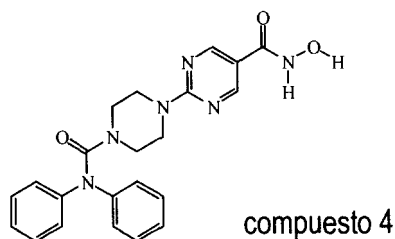
ES 2 322 950 T3

Ejemplo B3

Preparación de

5

10



15

Una mezcla de compuesto intermedio 7 (0,0003 mol) en TFA (5 ml, 5% en MeOH) se agitó a la temperatura ambiente durante 20 horas, después de lo cual la mezcla de reacción se secó por soplado, obteniéndose el compuesto 4.

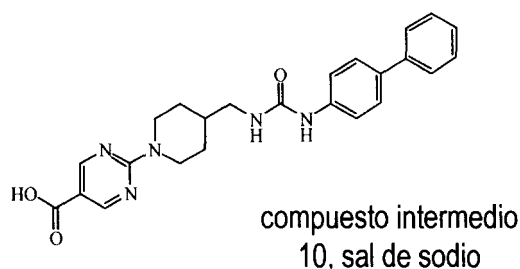
20

Ejemplo B4

a) Preparación de

25

30



35

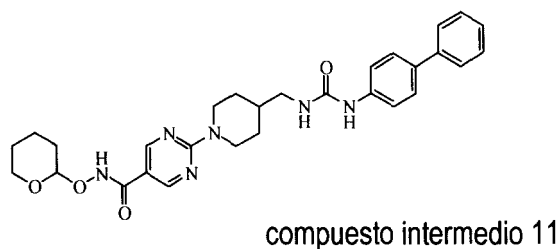
Una mezcla de compuesto intermedio 9 (0,0032 mol) e hidróxido de sodio (0,0128 mol) en EtOH (20 ml) se agitó a 80°C durante 24 horas, y se enfrió luego a la temperatura ambiente. Se filtró el precipitado, se lavó con di-etil-éter y se secó, obteniéndose 1,31 g (90%) del compuesto intermedio 10.Na

40

b) Preparación de

45

50



55

Se añadieron EDC (0,0037 mol) y HOBt (0,0037 mol) a la temperatura ambiente a una solución de compuesto intermedio 10.Na (0,0029 mol) en DMF (25 ml) en corriente de N₂. La mezcla se agitó durante 45 minutos. Se añadió O-(tetrahydro-2H-piran-2-yl)-hidroxilamina (0,0037 mol). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 3 días y se vertió en agua con hielo. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO₄), se filtró, y se evaporó el disolvente. El precipitado se filtró, se lavó con agua y se secó. El residuo (0,8 g) se cristalizó en DMF (8 ml)/agua (2 ml). El precipitado se filtró, se lavó con dietil-éter y se secó, obteniéndose 0,734 g (48%) de compuesto intermedio 11, punto de fusión 188°C.

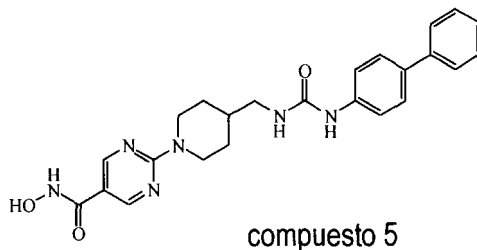
65

ES 2 322 950 T3

c) Preparación de

5

10



15

Una mezcla de compuesto intermedio 11 (0,0014 mol) en TFA (2 ml), MeOH (20 ml) y DCM (2 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante 3 días. El precipitado se separó por filtración y se secó. El residuo (0,553 g) se recogió en DCM/MeOH. La mezcla se agitó durante 4 horas, y se mantuvo luego a la temperatura ambiente durante 2 días. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,055 g del compuesto 5, punto de fusión $>260^{\circ}\text{C}$.

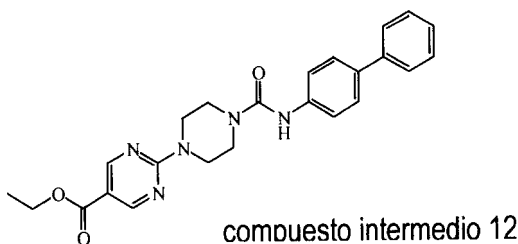
20

Ejemplo B5

Preparación de

25

30



35

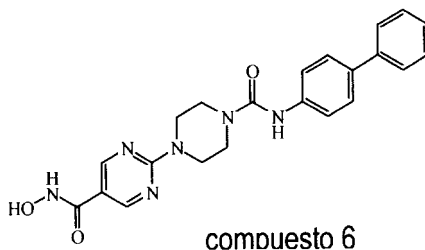
Una mezcla de compuesto intermedio 4 (0,0031 mol) y 4-isocianato-1,1'-bifenilo (0,0046 mol) en THF (20 ml) se agitó a 60°C durante 20 horas, se enfrió luego a la temperatura ambiente y se vertió en agua con hielo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua/dietil-éter y se secó, obteniéndose 1,31 g (98%) de compuesto intermedio 12.

40

El compuesto intermedio 12 se trató análogamente a lo descrito en el Ejemplo [B4] para dar 0,069 g (75%) del compuesto 6, punto de fusión $>260^{\circ}\text{C}$

45

50



55

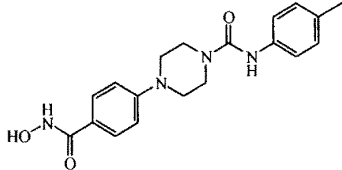
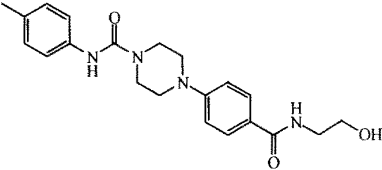
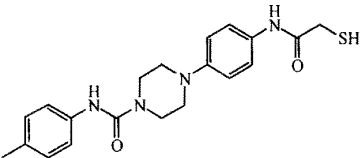
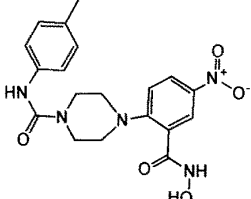
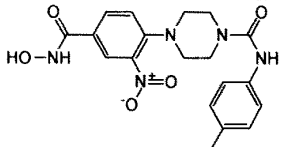
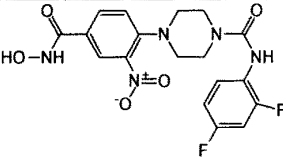
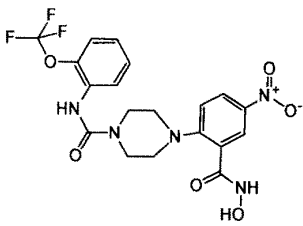
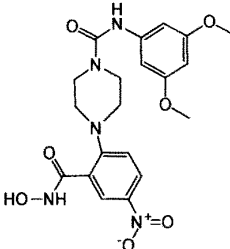
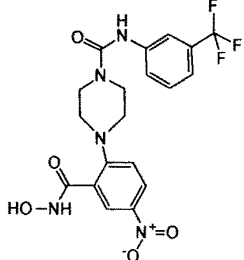
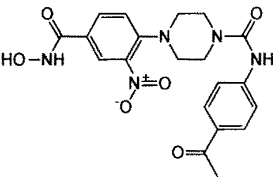
La tabla F1 enumera los compuestos que se prepararon de acuerdo con uno de los ejemplos anteriores. Se utilizaron en las tablas las abreviaturas siguientes: Co.No. significa Número de Compuesto, Ej. [Bn⁰] hace referencia al mismo método que se describe en los Ejemplos Bn⁰, C₂HF₃O₂ significa la sal trifluoroacetato. Algunos compuestos se han caracterizado por punto de fusión (pf.), y otros compuestos se caracterizaron por datos Espectrales de Masas [MH⁺] (ms.).

60

65

ES 2 322 950 T3

TABLA F1

<p>5</p> 	
<p>10</p> <p>Co. No. 1; Ej. [B1]; pf. °C</p>	<p>Co. No. 2; Ej. [B2]</p>
<p>15</p> 	
<p>20</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 3; Ej. [B2]</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 7; Ej. [B2]; ms. 400</p>
<p>25</p> 	
<p>30</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 8; Ej. [B2]; ms.400</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 9; Ej. [B2]; ms. 422</p>
<p>35</p> 	
<p>40</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 10; Ej. [B2]; ms. 470</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 11; Ej. [B2]; ms. 446</p>
<p>45</p> 	
<p>50</p> <p>55</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No.12; Ej. [B2]; ms. 454</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 13; Ej. [B2]; ms. 428</p>

60

65

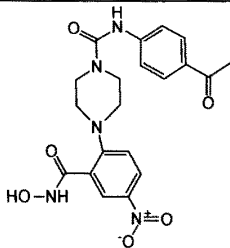
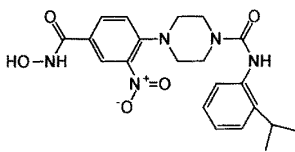
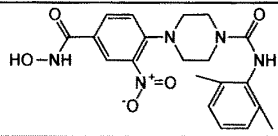
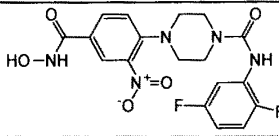
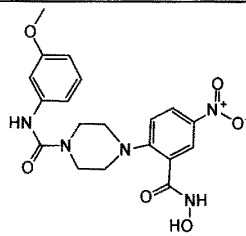
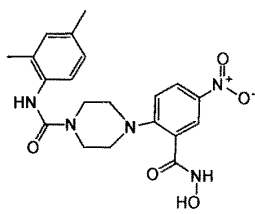
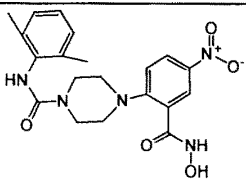
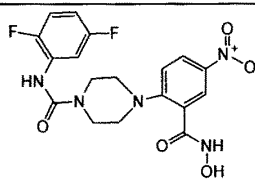
ES 2 322 950 T3

<p>5</p>	
<p>10</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 14; Ej. [B2]; ms. 422</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No.15; Ej. [B2]; ms. 478</p>
<p>15</p>	
<p>20</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 16; Ej. [B2]; ms. 414</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 17; Ej. [B2]; ms. 420</p>
<p>25</p>	
<p>30</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 18; Ej. [B2]; ms. 414</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 19; Ej. [B2]; ms. 478</p>
<p>35</p>	
<p>40</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 20; Ej. [B2]; ms. 422</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 21; Ej. [B2]; ms. 416</p>
<p>45</p>	
<p>50</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 22; Ej. [B2]; ms. 436</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 23; Ej. [B2]; ms. 420</p>

60

65

ES 2 322 950 T3

<p>5</p> 	
<p>10</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 24; Ej. [B2]; ms. 428</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 25; Ej. [B2]; ms. 428</p>
<p>15</p> 	
<p>20</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 26; Ej. [B2]; ms. 414</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 27; Ej. [B2]; ms. 422</p>
<p>25</p> 	
<p>30</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 28; Ej. [B2]; ms. 416</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 29; Ej. [B2]; ms. 414</p>
<p>35</p> 	
<p>40</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 30; Ej. [B2]; ms. 414</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 31; Ej. [B2]; ms. 422</p>

45

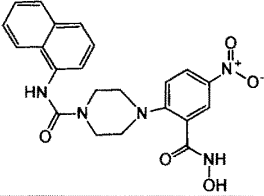
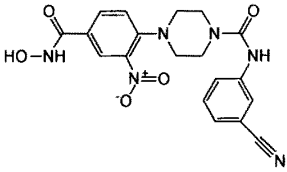
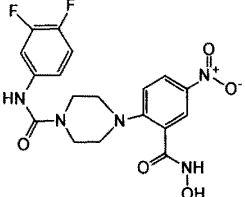
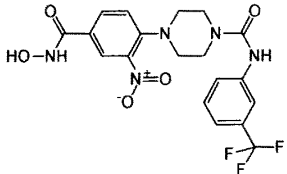
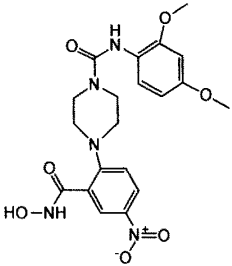
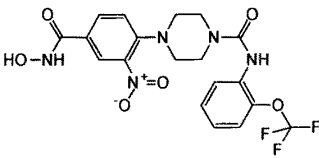
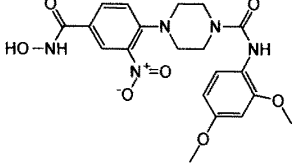
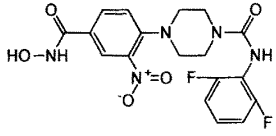
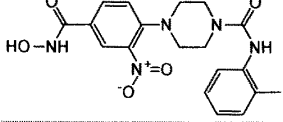
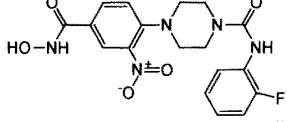
50

55

60

65

ES 2 322 950 T3

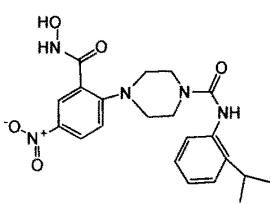
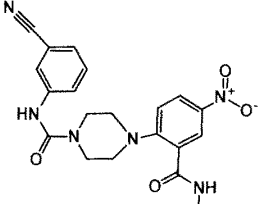
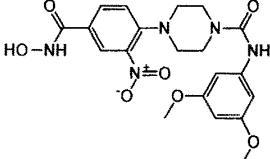
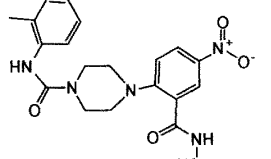
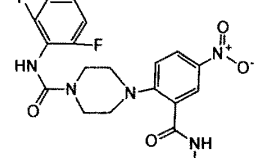
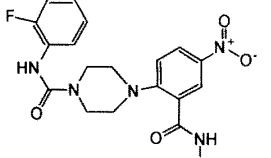
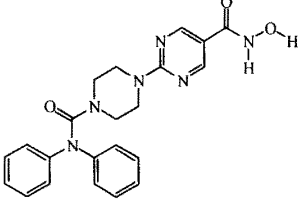
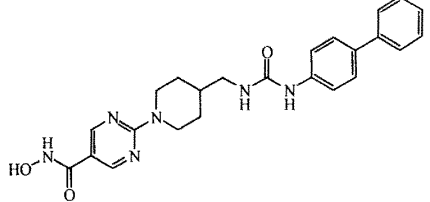
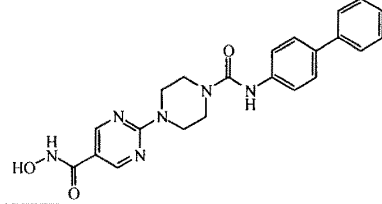
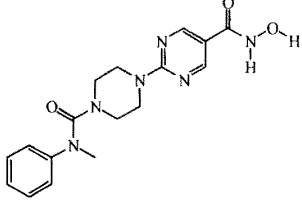
<p>5</p> 	
<p>10</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 32; Ej. [B2]; ms. 436</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 33; Ej. [B2]; ms. 411</p>
<p>15</p> 	
<p>20</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 34; Ej. [B2]; ms. 422</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 35; Ej. [B2]; ms. 454</p>
<p>25</p> 	
<p>30</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 36; Ej. [B2]; ms. 446</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 37; Ej. [B2]; ms. 470</p>
<p>35</p> 	
<p>40</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 38; Ej. [B2]; ms. 446</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 39; Ej. [B2]; ms. 422</p>
<p>45</p> 	
<p>50</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 40; Ej. [B2]; ms. 400</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 41; Ej. [B2]; ms. 404</p>

55

60

65

ES 2 322 950 T3

<p>5</p> 	
<p>10</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 42; Ej. [B2]; ms. 428</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 43; Ej. [B2]; ms. 411</p>
<p>15</p> 	
<p>20</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 44; Ej. [B2]; ms. 446</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 45; Ej. [B2]; ms. 400</p>
<p>25</p> 	
<p>30</p> <p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 46; Ej. [B2]; ms. 422</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1), Co. No. 47; Ej. [B2]; ms. 404</p>
<p>35</p> 	
<p>40</p> <p>Co. No. 4; Ej. [B3]; ms 419</p>	<p>Co. No. 5; Ej. [B4]; pf. > 260 °C</p>
<p>45</p> 	
<p>50</p> <p>Co. No. 6; Ej. [B5]; pf. >260 °C</p>	<p>Co. No. 48; Ej. [B3]; ms 357</p>

55

C. Ejemplo farmacológico

60 El ensayo *in vitro* para inhibición de las histona-desacetilasas (véase Ejemplo C.1) mide la inhibición de la actividad enzimática de HDAC obtenida con los compuestos de fórmula (I).

La actividad celular de los compuestos de fórmula (I) se determinó sobre células tumorales A2780 utilizando un ensayo colorimétrico para toxicidad celular o supervivencia (Mosmann Tim, Journal of Immunological Methods 65:55-63, 1983) (véase Ejemplo C.2).

65 La solubilidad cinética en medios acuosos mide la capacidad de un compuesto para mantenerse en solución acuosa después de dilución (véase Ejemplo C.3).

ES 2 322 950 T3

Se diluyen soluciones stock en DMSO con un disolvente tampón acuoso simple en 3 pasos consecutivos. Para cada dilución se mide la turbidez con un nefelómetro.

La permeabilidad de un fármaco expresa su capacidad para pasar de un medio en o a través de otro. Específicamente, su capacidad para pasar a través de la membrana intestinal al torrente sanguíneo y/o del torrente sanguíneo a la diana. La permeabilidad (véase Ejemplo C.4) puede medirse por la formación de una bicapa fosfolipídica de membrana artificial inmovilizada en filtro. En el ensayo de la membrana artificial inmovilizada en filtro, se forma un “sándwich” con una placa de microtitulación de 96 pocillos y una placa de filtración de 96 pocillos, de tal modo que cada pocillo compuesto se divide en dos cámaras con una solución donante en el fondo y una solución aceptora en la parte superior, separadas por un disco de microfiltración de $125\ \mu\text{m}$ (poros de $0,45\ \mu\text{m}$), recubierto con solución en dodecano al 2% (p/v) de dioleoilfosfatidil-colina, en condiciones tales que se forman bicapas multi-laminares en el interior de los canales del filtro cuando el sistema entra en contacto con una solución tampón acuosa. La permeabilidad de los compuestos a través de esta membrana artificial se mide en cm/s. El propósito es investigar la permeación de los fármacos a través de una membrana artificial paralela a dos valores de pH diferentes: 4,0 y 7,4. La detección de los compuestos se realiza por espectrometría UV a la longitud de onda óptima entre 250 y 500 nm.

El metabolismo de los fármacos significa que un compuesto liposoluble xenobiótico o endobiótico se transforma enzimáticamente en uno o más metabolitos polares, solubles en agua, y excretables. El órgano principal para el metabolismo de los fármacos es el hígado. Los productos metabólicos son a menudo menos activos que el fármaco parental, o inactivos. Sin embargo, algunos metabolitos pueden exhibir una actividad incrementada, o efectos tóxicos. Así pues, el metabolismo de los fármacos puede incluir procesos tanto de “destoxificación” como de “toxificación”. Uno de los sistemas enzimáticos principales que determinan la capacidad de un organismo para gestionar fármacos y productos químicos está representado por las monooxigenasas del citocromo P450, que son enzimas dependientes de NADPH. La estabilidad metabólica de los compuestos puede determinarse *in vitro* con el uso de tejido subcelular humano (véase Ejemplo C.5). En este caso, la estabilidad metabólica de los compuestos se expresa como % de fármaco metabolizado después de 15 minutos de incubación de estos compuestos con microsomas. La cuantificación de los compuestos se determinó por análisis LC-MS.

Ejemplo C.1

Ensayo in vitro para Inhibición de la histona-desacetilasa

Se incubaron extractos nucleares HeLa (suministrador: Biomol) a $60\ \mu\text{g}/\text{ml}$ con $2 \times 10^{-8}\ \text{M}$ de sustrato peptídico radiomarcado. Como sustrato para medida de la actividad de HDAC se utilizó un péptido sintético, a saber los aminoácidos 14-21 de la histona H4. El sustrato está biotinilado en la parte del terminal NH_2 con un espaciador de ácido 6-aminohexanoico, y está protegido en la parte del terminal COOH por un grupo amida y específicamente [^3H]acetilado en la lisina 16. El sustrato, biotin-(6-aminohexanoico)Gly-Ala-(^3H)-acetil-Lys-Arg-His-Arg-Lys-Val- NH_2), se añadió en un tampón que contenía Hepes 25 mM, sacarosa 1 M, 0,1 mg/ml de BSA y 0,01% de Triton X-100 a pH 7,4. Después de 30 min, se terminó la reacción de desacetilación por la adición de HCl y ácido acético (concentración final 0,035 mM y 3,8 mM, respectivamente). Después de detener la reacción, se extrajo el ^3H -acetato libre con acetato de etilo. Después de mezcla y centrifugación, se contó la radiactividad en una parte alícuota de la fase superior (orgánica) en un contador β .

Para cada experimento, se corrieron en paralelo controles (que contenían extracto nuclear HeLa y DMSO sin compuesto), una incubación en blanco (que contenía DMSO pero no extracto nuclear HeLa o compuesto) y muestras (que contenían compuesto disuelto en DMSO y extractos nucleares HeLa). En el primer caso, los compuestos se testaron a una concentración de $10^{-5}\ \text{M}$. Cuando los compuestos exhibían actividad a $10^{-5}\ \text{M}$, se construyó una curva concentración-respuesta en la cual los compuestos se testaron a concentraciones comprendidas entre $10^{-5}\ \text{M}$ y $10^{-12}\ \text{M}$. En cada test, el valor en blanco se sustrajo tanto del valor del control como del valor de la muestra. La muestra de control representaba 100% de desacetilación del sustrato. Para cada muestra se expresó la radiactividad como porcentaje del valor medio de los controles. Cuando se computaron valores CI_{50} apropiados (concentración del fármaco necesaria para reducir la cantidad de metabolitos al 50% del control) utilizando análisis probit para datos graduados. En este caso, los efectos de los compuestos de test se expresan como pCI_{50} (el valor del logaritmo negativo del valor CI_{50}). Todos los compuestos testados exhibían actividad enzimática para una concentración de test de $10^{-5}\ \text{M}$, y 28 compuestos tenían un valor $\text{pCI}_{50} \geq 5$ (véase tabla F-2).

Ejemplo C.2

Determinación de la actividad antiproliferativa en las Células A2780

Todos los compuestos testados se disolvieron en DMSO y se hicieron diluciones adicionales en medio de cultivo. Las concentraciones finales en DMSO no excedían nunca de 0,1% (v/v) en los ensayos de proliferación celular. Los controles contenían células A2780 y DMSO sin compuesto y las muestras en blanco contenían DMSO pero no células. Se disolvió MTT a 5 mg/ml en PBS. Se preparó un tampón de glicina que comprendía glicina 0,1 M y NaCl 0,1 M tamponados a pH 10,5 con NaOH (1 N) (todos los reactivos eran de Merck).

ES 2 322 950 T3

Las células de carcinoma de ovario humano A2780 (un obsequio amable del Dr. T.C. Hamilton [Fox Chase Cancer Centre, Pennsylvania, EE.UU.]) se cultivaron en medio RPMI 1640 suplementado con L-glutamina 2 mM, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de gentamicina y 10% de suero de ternero fetal. Las células se mantuvieron rutinariamente como cultivos monocapa a 37°C en una atmósfera humidificada con 5% de CO_2 . Las células se sometieron a pasos una vez a la semana utilizando una solución tripsina/EDTA con una relación de división de 1:40. Todos los medios y suplementos se obtuvieron de Life Technologies. Las células estaban exentas de contaminación por micoplasmas como se determinó utilizando el kit Gen-Probe Mycoplasma Tissue Culture (suministrador: BioMérieux).

Se sembraron las células en placas de cultivo NUNCTM de 96 pocillos (suministrador: Life Technologies) y se dejó que se adhirieran al plástico durante una noche. Las densidades utilizadas para la extensión en placa eran 1500 células por pocillo en un volumen total de 200 μl de medio. Después de la adhesión de las células a las placas, se cambió el medio y se añadieron fármacos y/o disolventes hasta un volumen final de 200 μl . Después de 4 días de incubación, se reemplazó el medio por 200 μl de medio nuevo y se evaluaron la densidad y la viabilidad de las células utilizando un ensayo basado en MTT. Se añadieron a cada pocillo 25 μl de solución de MTT y se incubaron ulteriormente las células durante 2 horas a 37°C. Se aspiró cuidadosamente el medio y se solubilizó el producto azul MTT-formazano por adición de 25 μl de tampón de glicina seguido por 100 μl de DMSO. Las placas de microtest se agitaron mediante sacudidas durante 10 min en un agitador de sacudidas de microplacas y se midió la absorbancia a 540 nm utilizando un espectrofotómetro Emax de 96 pocillos (suministrador: Sopachem). Dentro de un experimento, los resultados para cada condición experimental son el valor medio de 3 pocillos replicados. Para propósitos iniciales de cribado, los compuestos se testaron a una concentración fija individual de 10^{-6} M. Para los compuestos activos, se repitieron los experimentos para establecer curvas totales concentración-respuesta. Para cada experimento, se corrieron en paralelo controles (que no contenían cantidad alguna de fármaco) y una incubación en blanco (que no contenía células ni fármacos). El valor en blanco se sustrajo de todos los valores de control y de las muestras. Para cada muestra, se expresó el valor medio para crecimiento celular (en unidades de absorbancia) como porcentaje del valor medio para el crecimiento de las células del control. En caso apropiado, se computaron valores CI_{50} (concentración del fármaco necesaria para reducir el crecimiento celular al 50% del control) utilizando análisis probit para datos graduados (Finney, D.J., Probit Analyses, 2ª edición capítulo 10, Graded Responses, Cambridge University Press, Cambridge 1962). En este caso, los efectos de los compuestos de test se expresan como pCI_{50} (el valor del logaritmo negativo del valor CI_{50}). La mayoría de los compuestos testados exhibían actividad celular a una concentración de test de 10^{-6} M, y 5 compuestos tenían un valor $\text{pCI}_{50} \geq 5$ (véase tabla F-2).

Ejemplo C.3

Solubilidad cinética en medios acuosos

En el primer paso de dilución, se añadieron 10 μl de una solución stock concentrada del compuesto activo, disuelto en DMSO (5 mM), a 100 μl de tampón fosfato-citrato de pH 7,4, y se mezclaron. En el segundo paso de dilución, se dosificó adicionalmente una parte alícuota (20 μl) del primer paso de dilución en 100 μl de tampón fosfato-citrato de pH 7,4 y se mezcló. Finalmente, en el tercer paso de dilución, se diluyó ulteriormente una muestra (20 μl) del segundo paso de dilución en 100 μl de tampón fosfato-citrato de pH 7,4 y se mezcló. Todas las diluciones se realizaron en placas de 96 pocillos. Inmediatamente después del último paso de dilución, se midió la turbidez de los tres pasos de dilución consecutivos con un nefelómetro. La dilución se realizó por triplicado para cada compuesto a fin de excluir errores ocasionales. Basándose en las medidas de turbidez, se realiza una clasificación en 3 clases. Los compuestos con solubilidad alta obtuvieron un registro de 3 y para estos compuestos la primera dilución es transparente. Los compuestos con solubilidad intermedia obtuvieron un registro de 2. Para estos compuestos, la primera dilución no es transparente y la segunda dilución es transparente. Los compuestos con solubilidad baja obtuvieron un registro de 1 y para estos compuestos tanto la primera como la segunda dilución no son transparentes. Se midió la solubilidad de 3 compuestos. Un solo compuesto exhibía un registro de 1, un compuesto exhibía un registro de 2, y un compuesto exhibía un registro de 3 (véase tabla F-2).

Ejemplo C.4

Análisis paralelo de la permeabilidad de membrana artificial

Las muestras stock (partes alícuotas) de 10 μl de una solución stock de 5 mM en DMSO 100%) se diluyeron en una placa de pocillo profundo o de Pre-mezcla que contenía 2 ml de un sistema tampón acuoso de pH 4 o pH 7,4 (Concentrado de Solución PSR4 System (pION)).

Antes de añadir las muestras a la placa de referencia, se añadieron 150 μl de tampón a los pocillos y se realizó una medida IV de una muestra en blanco. Se desechó después el tampón y la placa se utilizó como placa de referencia. Todas las medidas se realizaron en placas resistentes a UV (suministrador: Costar o Greiner).

Después de la medida en blanco de la placa de referencia, se añadieron 150 μl de las muestras diluidas a la placa de referencia y se añadieron 200 μl de las muestras diluidas a la placa donante 1. Una placa de filtro aceptora 1 (suministrador: Millipore, tipo: MAIP N45) se recubrió con 4 μl de la solución formadora de membrana artificial (1,2-dioleoil-sn-Glicer-3-Fosfocolina en dodecano que contenía 0,1% de 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol y se colocó encima de la placa donante 1 para formar un "sándwich". Se dosificó tampón (200 μl) en los pocillos aceptores superiores. Se cubrió el sándwich con una tapa y se dejó en reposo durante 18 h a la temperatura ambiente en la oscuridad.

ES 2 322 950 T3

Se realizó una medida en blanco de la placa aceptora 2 por adición de 150 μl de tampón a los pocillos, seguido por una medida UV. Después de la medida en blanco de la placa aceptora 2, se desechó el tampón y se transfirieron 150 μl de solución aceptora desde la placa de filtro aceptora 1 a la placa aceptora 2. A continuación, se retiró del sándwich la placa de filtro aceptora 1. Después de la medida en blanco de la placa donante 2 (véase arriba) se transfirieron 150 μl de la solución donante desde la placa donante 1 a la placa donante 2. Los espectros UV de los pocillos de la placa donante 2, la placa aceptora 2 y la placa de referencia se escanearon (con un Spectra MAX 190. Todos los espectros se procesaron para calcular la permeabilidad con el software PSR4p Command. Todos los compuestos se midieron por triplicado. Como estándares se utilizaron en cada experimento carbamazepina, griseofulvina, acicloguanisina, atenolol, furosemida y clorotiazida. Los compuestos se clasificaron en 3 categorías según que tuvieran una permeabilidad baja (efecto medio $< 0,5 \times 10^{-6}$ cm/s; registro 1), una permeabilidad media (1×10^{-6} cm/s $>$ efecto medio $\geq 0,5 \times 10^{-6}$ cm/s; registro 2) o una permeabilidad alta ($\geq 0,5 \times 10^{-6}$ cm/s; registro 3). Se midió un compuesto y exhibía solamente un registro de 1 para uno de los valores de pH medidos.

Ejemplo C.5

Estabilidad Metabólica

Se realizaron preparaciones de tejido subcelular de acuerdo con Gorrod *et al.* (Xenobiotica 5:453-462, 1975) por separación centrífuga después de homogeneización mecánica del tejido. Se lavó el tejido hepático en Tris-HCl 0,1 M enfriado en hielo (pH 7,4) para eliminar por lavado el exceso de sangre. El tejido se secó luego con papel secante, se pesó y se trituró groseramente utilizando tijeras quirúrgicas. Los fragmentos de tejido se homogeneizaron en 3 volúmenes de tampón de fosfato 0,1 M enfriado en hielo (pH 7,4) utilizando un Potter-S (Braun, Italia) equipado con una mano de Teflón o un homogeneizador Sorvall Omni-Mix, durante 7 x 10 s. En ambos casos, el recipiente se mantuvo en o sobre hielo durante el proceso de homogeneización.

Los homogeneizados de tejido se centrifugaron a 9000 x g durante 20 minutos a 4°C utilizando una centrífuga Sorvall o una Ultracentrífuga Beckman. El sobrenadante resultante se dejó en reposo a -80°C y se designa "S9".

La fracción S9 puede centrifugarse ulteriormente a 100.000 x g durante 60 minutos (4°C) utilizando una ultracentrífuga Beckman. El sobrenadante resultante se aspiró cuidadosamente, se dividió en partes alícuotas y se designó "citosol". El sedimento se suspendió de nuevo en tampón de fosfato 0,1 M (pH 7,4) en un volumen final de 1 ml por 0,5 g de peso del tejido original y se designó "microsomas".

Todas las fracciones subcelulares se dividieron en partes alícuotas, se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se guardaron a -80°C hasta su utilización.

Para las muestras a testar, la mezcla de incubación contenía PBS (0,1 M), compuesto (5 μM), microsomas (1 mg/ml) y un sistema generador de NADPH (glucosa-6-fosfato 0,8 mM, cloruro de magnesio 0,8 mM y 0,8 unidades de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa). Las muestras de control contenían el mismo material, pero los microsomas se reemplazaron por microsomas desactivados por calentamiento (10 min a 95°C). La recuperación de los compuestos en la muestra de control fue en todos los casos 100%.

Las mezclas se preincubaron durante 5 min a 37°C. La reacción se inició en el tiempo cero ($t = 0$) por adición de NADP 0,8 mM, y las muestras se incubaron durante 15 min ($t = 15$). La reacción se terminó por la adición de 2 volúmenes de DMSO. Se centrifugaron luego las muestras durante 10 min a 900 x g y los sobrenadantes se guardaron a la temperatura ambiente durante no más de 24 h antes del análisis. Todas las incubaciones se realizaron por duplicado. El análisis de los sobrenadantes se realizó por análisis LC-MS. La elución de las muestras se realizó en una columna Xterra MS C₁₈ (50 x 4,6 mm, 5 μm , Waters, EE.UU.). Se utilizó un sistema de HPLC Alliance 2790 (suministrador: Waters, EE.UU.). La elución se realizó con tampón A (acetato de amonio 25 mM (pH 5,2) en agua/acetronitrilo (95/5)), siendo el disolvente B acetonitrilo y el disolvente C metanol a un caudal de 2,4 ml/min. El gradiente empleado era tal que la concentración de la fase orgánica aumentaba desde 0% pasando por 50% B y 50% C en 5 min hasta 100% B en 1 min de manera lineal, y la concentración de la fase orgánica se mantuvo estacionaria durante 1,5 min adicionales. El volumen total de inyección de las muestras era 25 μl .

Se utilizó como detector un espectrómetro de masas Quattro (suministrador: Micromass, Manchester, Reino Unido) de cuadrupolo triple provisto de una fuente ESI. La fuente y la temperatura de desolvatación se ajustaron a 120 y 350°C respectivamente, y se utilizó nitrógeno como nebulizador y gas desecante. Se adquirieron los datos en modalidad positiva de barrido (reacción de iones simples). El voltaje del cono se ajustó a 10 V y el tiempo de residencia fue de 1 s.

La estabilidad metabólica se expresó como % de metabolismo del compuesto después de 15 min de incubación en presencia de microsomas activos (E (act)) (% metabolismo

=

$$100\% - \left(\left(\frac{\text{Corriente Iónica Total (TIC) de E (act) a } t = 15}{\text{TIC de E (act) a } t = 0} \right) \times 100 \right).$$

ES 2 322 950 T3

Los compuestos que tenían un metabolismo porcentual menor que 20% se definieron como compuestos de alta estabilidad metabólica. Los compuestos que tenían un metabolismo entre 20 y 70% se definieron como compuestos de estabilidad intermedia, y los compuestos que exhibían un porcentaje de metabolismo mayor que 70 se definieron como compuestos de baja estabilidad metabólica. Se incluyeron en todos los casos tres compuestos de referencia cada vez que se realizaba un cribado de estabilidad metabólica. Como compuesto de estabilidad metabólica baja se incluyó verapamil (% metabolismo = 73%). Como compuesto con estabilidad metabólica intermedia se incluyó cisaprida (% metabolismo 45%) y como compuesto con estabilidad metabólica intermedia a alta se incluyó propanol (25% de metabolismo). Estos compuestos de referencia se utilizaron para validar el ensayo de estabilidad metabólica.

Se testó un solo compuesto. Este compuesto tenía un porcentaje de metabolismo menor que 20%.

TABLA F-2

La Tabla F-2 enumera los resultados de los compuestos que se testaron de acuerdo con los Ejemplos C.1, C.2 y C.3.

Co. No.	Actividad enzimática pCI50	Actividad celular pIC50	Registro de Solubilidad
1	6,754	5,328	1
3	5,332	<5	
2	<5	<5	
8	>5		
9	>5		
12	5,37		
13	5,686		
15	>5		
16	>5		
17	>5		
18	>5		
20	>5		
21	>5		
22	5,614		
25	>5		
26	>5		
27	>5		
30	>5		
33	>5		
35	>5		
37	>5		
38	>5		
39	>5		
40	>5		
41	<5		
44	>5		
4	7,127	6,114	

ES 2 322 950 T3

Co. No.	Actividad enzimática pCI50	Actividad celular pIC50	Registro de Solubilidad
48	7,163	6,141	
5	7,65	6,148	2
6	7,728	6,558	3

5

10

15 *D. Ejemplo de composición: Tabletas recubiertas de película*

Preparación del núcleo de la tableta

20 Una mezcla de 100 g de un compuesto de fórmula (I), 570 g de lactosa y 200 g de almidón se mezcla bien y se humidifica después de ello con una solución de 5 g de dodecilsulfato de sodio y 10 g de polivinilpirrolidona en aproximadamente 200 ml de agua. La mezcla húmeda en polvo se tamiza, se seca y se tamiza nuevamente. Se añaden a continuación 100 g de celulosa microcristalina y 15 g de aceite vegetal hidrogenado. Se mezcla bien el todo y se comprime en tabletas, obteniéndose 10.000 tabletas, cada una de las cuales comprende 10 mg de un compuesto de fórmula (I).

25

Recubrimiento

30 A una solución de 10 g de metil-celulosa en 75 ml de etanol desnaturalizado se añade una solución de 5 g de etil-celulosa en 150 ml de diclorometano. Se añaden luego 75 ml de diclorometano y 2,5 ml de 1,2,3-propanotriol; se funden 10 g de polietilenglicol y se disuelven en 75 ml de diclorometano. Se añade la última solución a la primera y se añaden después 2,5 g de octadecanoato de magnesio, 7,5 g de polivinilpirrolidona y 30 ml de suspensión concentrada de colorante, y se homogeneiza el todo. Los núcleos de las tabletas se recubren con la mezcla así obtenida en un aparato de recubrimiento.

35

40

45

50

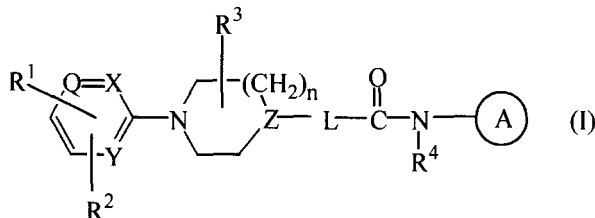
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



las formas de *N*-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables y las formas estereoquímicamente isómeras de los mismos, en donde

n es 0, 1, 2 ó 3 y cuando *n* es 0, entonces se sobreentiende un enlace directo;

cada Q es nitrógeno o ;

cada X es nitrógeno o ;

cada Y es nitrógeno o ;

cada Z es nitrógeno o ;

R¹ es -C(O)NR⁷R⁸, o

-NHC(O)alcanodifiloC₁₋₆-SH

en donde R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxilo, o hidroxialquiloC₁₋₆;


R² es hidrógeno, halo, hidroxilo, amino, nitro, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, trifluorometilo, di(alquiloC₁₋₆)amino, hidroxiamino o naftalenilsulfonilpirazinilo;

R³ es hidrógeno, hidroxilo, amino, hidroxialquiloC₁₋₆, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, arilalquiloC₁₋₆, aminocarbonilo, hidroxicarbonilo, aminoalquiloC₁₋₆, amino-carbonilalquiloC₁₋₆, hidroxicarbonilalquiloC₁₋₆, hidroxiaminocarbonilo, alquiloxiC₁₋₆-carbonilo, alquilaminoC₁₋₆-alquiloC₁₋₆ o di(alquiloC₁₋₆)amino-alquiloC₁₋₆;

cuando Z es igual a nitrógeno, entonces -L- es un enlace directo;

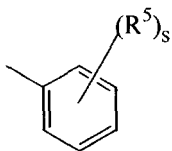
cuando Z es igual a , entonces -L- es -NH- o el radical bivalente -alcanodifiloC₁₋₆NH-;

R⁴ es hidrógeno, alquiloC₁₋₆, cicloalquiloC₃₋₁₀, hidroxialquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆-alquiloC₁₋₆, di(alquiloC₁₋₆) aminoalquiloC₁₋₆ o arilo;

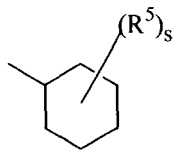
 es un radical seleccionado de

5

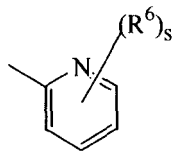
10



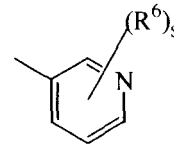
(a-1)



(a-2)

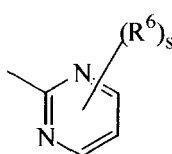


(a-3)

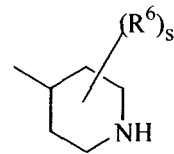


(a-4)

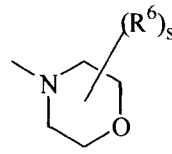
15



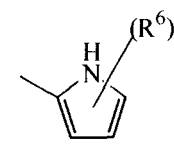
(a-5)



(a-6)

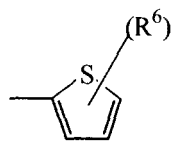


(a-7)

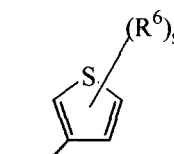


(a-8)

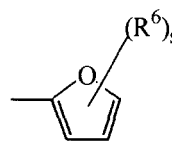
25



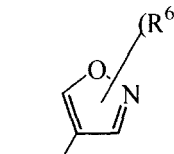
(a-9)



(a-10)



(a-11)



(a-12)

30

35

40

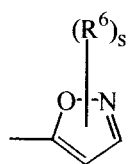
45

50

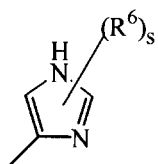
55

60

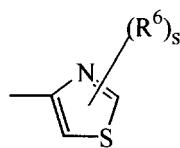
65



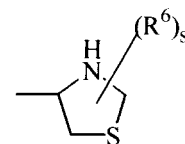
(a-13)



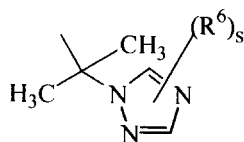
(a-14)



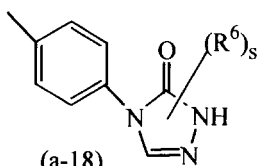
(a-15)



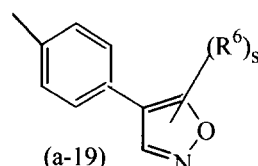
(a-16)



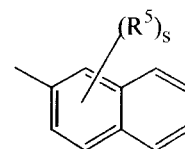
(a-17)



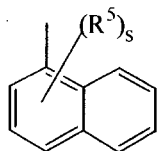
(a-18)



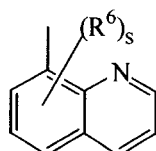
(a-19)



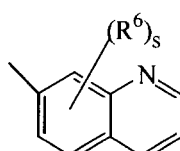
(a-20)



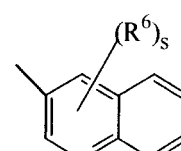
(a-21)



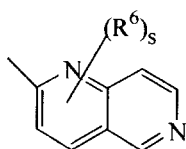
(a-22)



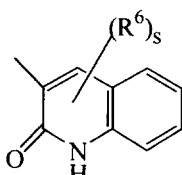
(a-23)



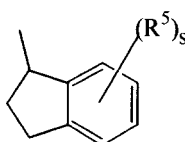
(a-24)



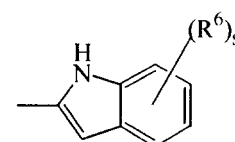
(a-25)



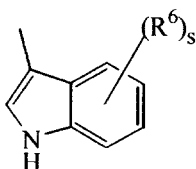
(a-26)



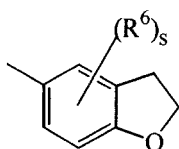
(a-27)



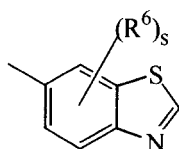
(a-28)



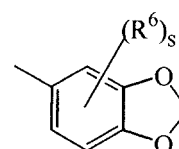
(a-29)



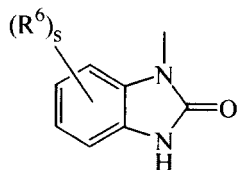
(a-30)



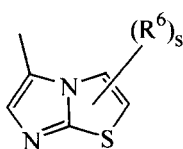
(a-31)



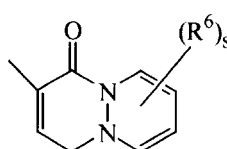
(a-32)



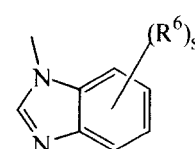
(a-33)



(a-34)

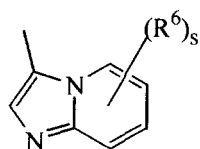


(a-35)

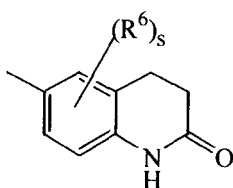


(a-36)

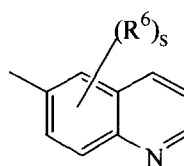
65



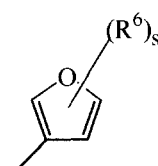
(a-37)



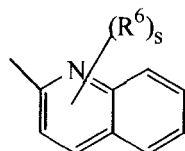
(a-38)



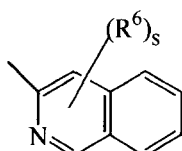
(a-39)



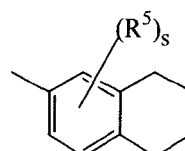
(a-40)



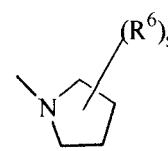
(a-41)



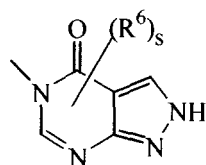
(a-42)



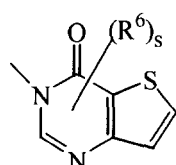
(a-43)



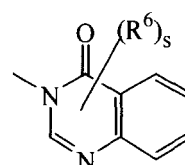
(a-44)



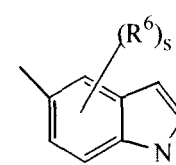
(a-45)



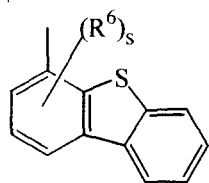
(a-46)



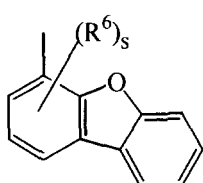
(a-47)



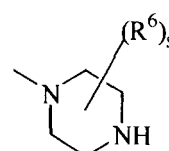
(a-48)



(a-49)



(a-50)



(a-51)

45 en donde

cada s es independientemente 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

50 cada R^5 y R^6 se seleccionan independientemente de hidrógeno; halo; hidroxilo; amino; nitro; trihaloalquilo C_{1-6} ; trihaloalquilo $oxiC_{1-6}$; alquilo C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} sustituido con arilo y cicloalquilo C_{3-10} ; alquilo $oxiC_{1-6}$; alquilo $oxiC_{1-6}$ alquilo $oxiC_{1-6}$; alquilo C_{1-6} carbonilo; alquilo $oxiC_{1-6}$ carbonilo; alquilsulfonilo C_{1-6} ; cianoalquilo C_{1-6} ; hidroxialquilo C_{1-6} ; hidroxialquilo $oxiC_{1-6}$; hidroxialquilamino C_{1-6} ; aminoalquilo $oxiC_{1-6}$; di-(alquilo C_{1-6})aminocarbonilo; di-(hidroxialquilo C_{1-6})-amino; (arilo)(alquilo C_{1-6})amino; di-(alquilo C_{1-6})-aminoalquilo $oxiC_{1-6}$; di-(alquilo C_{1-6})aminoalquilamino C_{1-6} ; di-(alquilo C_{1-6})aminoalquilamino C_{1-6} alquilo C_{1-6} ; arilsulfonilo; arilsulfonilamino; arilo oxi ; ariloalquilo C_{1-6} ; arilalqueno-diflo C_{2-6} ; di-(alquilo C_{1-6})amino; di-(alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} ; di-(alquilo C_{1-6})amino-(alquilo C_{1-6})amino; di-(alquilo C_{1-6})amino(alquilo C_{1-6})-aminoalquilo C_{1-6} ; di-(alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} (alquilo C_{1-6})amino; di-(alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} (alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} ; aminosulfonilamino(alquilo- C_{1-6})amino; aminosulfonilamino-(alquilo C_{1-6})amino-alquilo C_{1-6} ; di-(alquilo C_{1-6})aminosulfonilamino-(alquilo C_{1-6})amino; di-(alquilo C_{1-6})aminosulfonilamino-(alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} ; ciano; tiofenilo; tiofenilo sustituido con di-(alquilo C_{1-6})amino-alquilo C_{1-6} (alquilo C_{1-6})-aminoalquilo C_{1-6} , di-(alquilo- C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} -piperazinilalquilo- C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} -piperazinilalquilo C_{1-6} , hidroxialquilo $oxiC_{1-6}$ -alquilo C_{1-6} piperazinilalquilo- C_{1-6} , di-(alquilo C_{1-6})aminosulfonil-piperazinil-alquilo C_{1-6} , alquilo $oxiC_{1-6}$ piperidinilo, alquilo $oxiC_{1-6}$ piperidinilalquilo C_{1-6} , morfolinilalquilo C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} (alquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} , o di-(hidroxialquilo C_{1-6})aminoalquilo C_{1-6} ; furanilo; furanilo sustituido con hidroxialquilo C_{1-6} ; benzofuranilo; imidazolilo; oxazolilo; oxazolilo sustituido con arilo y alquilo C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} triazolilo; tetrazolilo; pirrolidinilo; pirrolilo; piperidinil-alquilo $oxiC_{1-6}$; morfolinilo; alquilo C_{1-6} -morfolinilo; morfolinilalquilo $oxiC_{1-6}$; morfolinilalquilo C_{1-6} ; morfolinilalquilamino C_{1-6} ; morfolinilalquilamino- C_{1-6} alquilo C_{1-6} ; piperazinilo; alquilo C_{1-6} -piperazinilo; alquilo C_{1-6} piperazinil-

ES 2 322 950 T3

alquiloxiC₁₋₆; piperazinilalquiloC₁₋₆; naftalenilsulfonilpiperazinilo; naftalenilsulfonilpiperidinilo; naftalenilsulfonilo; alquiloC₁₋₆-piperazinilalquiloC₁₋₆; alquiloC₁₋₆-piperazinilalquilaminoC₁₋₆; alquiloC₁₋₆-piperazinilalquilamino-C₁₋₆-alquiloC₁₋₆; alquiloC₁₋₆-piperazinisulfonilo; aminosulfonilpiperazinilalquiloC₁₋₆; aminosulfonilpiperazinilo; aminosulfonilpiperazinilalquiloC₁₋₆; di(alquiloC₁₋₆)aminosulfonilpiperazinilo; di(alquiloC₁₋₆)amino-sulfonil-piperazinil-alquiloC₁₋₆; hidroxialquiloC₁₋₆-piperazinilo; hidroxialquiloC₁₋₆-piperazinilalquiloC₁₋₆; alquiloxiC₁₋₆-piperidinilo; alquiloxiC₁₋₆-piperidinilalquiloC₁₋₆; piperidinilaminoalquilaminoC₁₋₆; piperidinilaminoalquiloC₁₋₆-aminoalquiloC₁₋₆; (alquiloC₁₋₆-piperidinil)-(hidroxialquiloC₁₋₆)aminoalquilaminoC₁₋₆; (alquiloC₁₋₆-piperidinil)(hidroxialquiloC₁₋₆)aminoalquiloC₁₋₆; hidroxialquiloC₁₋₆-alquiloC₁₋₆-piperazinilo; hidroxialquiloC₁₋₆-alquiloC₁₋₆-piperazinil-alquiloC₁₋₆; (hidroxialquiloC₁₋₆)(alquiloC₁₋₆)amino; (hidroxialquiloC₁₋₆)-(alquiloC₁₋₆)aminoalquiloC₁₋₆; hidroxialquilamino-C₁₋₆-alquiloC₁₋₆; di(hidroxialquiloC₁₋₆)aminoalquiloC₁₋₆; pirrolidinilalquiloC₁₋₆; pirrolidinilalquiloC₁₋₆-alquiloC₁₋₆; pirazolilo; tiopirazolilo; pirazolilo sustituido con dos sustituyentes seleccionados de alquiloC₁₋₆ o trihaloalquiloC₁₋₆; piridinilo; piridinilo sustituido con alquiloxiC₁₋₆, ariloxi o arilo; pirimidinilo; tetrahidropirimidinilpiperazinilo; tetrahidropirimidinilpiperazinilalquiloC₁₋₆; quinolinilo; indolilo; fenilo; fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente de halo, amino, nitro, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, hidroxialquiloC₁₋₄, trifluoro-metilo, trifluoro-metiloxi, hidroxialquiloxiC₁₋₄, alquilsulfoniloC₁₋₄, alquiloxiC₁₋₄-alquiloxiC₁₋₄, alquiloxiC₁₋₄-carbonilo, aminoalquiloxiC₁₋₄, di(alquiloC₁₋₄)-aminoalquiloxiC₁₋₄, di(alquiloC₁₋₄)amino, di(alquiloC₁₋₄)aminocarbonilo, di(alquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄, di(alquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄-aminoalquiloC₁₋₄, di(alquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄-amino, di(alquiloC₁₋₄)-amino(alquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄, di(alquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄-amino, di(alquiloC₁₋₄)amino-alquiloC₁₋₄(alquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄, aminosulfonilamino(alquiloC₁₋₄)amino, aminosulfonilamino-(alquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄, di(alquiloC₁₋₄)aminosulfonilamino(alquiloC₁₋₄)amino, di(alquiloC₁₋₄)aminosulfonilamino(alquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₆, ciano, piperidinilalquiloxiC₁₋₄, pirrolidinilalquiloxiC₁₋₄, aminosulfonilpiperazinilo, aminosulfonilpiperazinilalquiloC₁₋₄, di(alquiloC₁₋₄)aminosulfonil-piperazinilo, di(alquiloC₁₋₄)aminosulfonil-piperazinilalquiloC₁₋₄, hidroxialquiloC₁₋₄-piperazinilo, hidroxialquilo-C₁₋₄-piperazinilalquiloC₁₋₄, alquiloxiC₁₋₄-piperidinilo, alquiloxiC₁₋₄-piperidinilalquiloC₁₋₄, hidroxialquiloxiC₁₋₄-alquiloC₁₋₄-piperazinilo, hidroxialquiloxiC₁₋₄-alquiloC₁₋₄-piperazinilo, (hidroxialquiloC₁₋₄)-(alquiloC₁₋₄)amino, (hidroxialquiloC₁₋₄)-(alquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄, di(hidroxialquiloC₁₋₄)-amino, di(hidroxialquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄, furanilo, furanilo sustituido con -CH=CH-CH=CH-, pirrolidinilalquiloC₁₋₄, pirrolidinilalquiloxiC₁₋₄, morfolinilo, morfolinilalquiloxiC₁₋₄, morfolinilalquiloC₁₋₄, morfolinilalquilaminoC₁₋₄, morfolinilalquiloC₁₋₄-aminoalquiloC₁₋₄, piperazinilo, alquiloC₁₋₄-piperazinilo, alquiloC₁₋₄-piperazinilalquiloxiC₁₋₄, piperazinilalquiloC₁₋₄, alquiloC₁₋₄-piperazinilalquiloC₁₋₄, alquiloC₁₋₄-piperazinilalquilaminoC₁₋₄, alquiloC₁₋₄-piperazinilalquilaminoC₁₋₄, alquilaminoC₁₋₄-alquiloC₁₋₆, tetrahidropirimidinilpiperazinilo, tetrahidropirimidinil-piperazinilalquiloC₁₋₄, piperidinilaminoalquilaminoC₁₋₄, piperidinilaminoC₁₋₄-alquilaminoalquiloC₁₋₄, (alquiloC₁₋₄-piperidinil)-(hidroxialquiloC₁₋₄)aminoalquilaminoC₁₋₄, (alquiloC₁₋₄-piperidinil)(hidroxialquiloC₁₋₄)aminoalquiloC₁₋₄, aminoalquiloC₁₋₄-alquiloC₁₋₄, piridinilalquiloxiC₁₋₄, hidroxialquilaminoC₁₋₄, hidroxialquilaminoC₁₋₄-alquiloC₁₋₄, di(alquiloC₁₋₄)aminoalquilaminoC₁₋₄, aminotiadiazolilo, aminosulfonilpiperazinilalquiloxiC₁₋₄, o tiofenilalquilaminoC₁₋₄;

cada R⁵ y R⁶ puede estar situado en el nitrógeno en sustitución del hidrógeno;

arilo en lo anterior es fenilo, o fenilo sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, trifluorometilo, ciano o hidroxicarbonilo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde

cada Z es nitrógeno;

R¹ es -C(O)NR⁷R⁸, o

-NHC(O)alcanodifiloC₁₋₆-SH

en donde R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxilo, o hidroxialquiloC₁₋₆;

R² es hidrógeno, halo, hidroxilo, amino, nitro, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, trifluorometilo o di(alquiloC₁₋₆)amino;

R³ es hidrógeno, hidroxilo, amino, hidroxialquiloC₁₋₆, alquiloC₁₋₆, alquiloxiC₁₋₆, arilalquiloC₁₋₆, aminocarbonilo, aminoalquiloC₁₋₆, alquilaminoC₁₋₆-alquiloC₁₋₆ o di(alquiloC₁₋₆)aminoalquiloC₁₋₆;

R⁴ es hidrógeno;



es un radical seleccionado de (a-1), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11),




(a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42), (a-44), (a-45), (a-46), (a-47), (a-48) o (a-51);




ES 2 322 950 T3

cada s es independientemente 0, 1, 2, 3 ó 4;

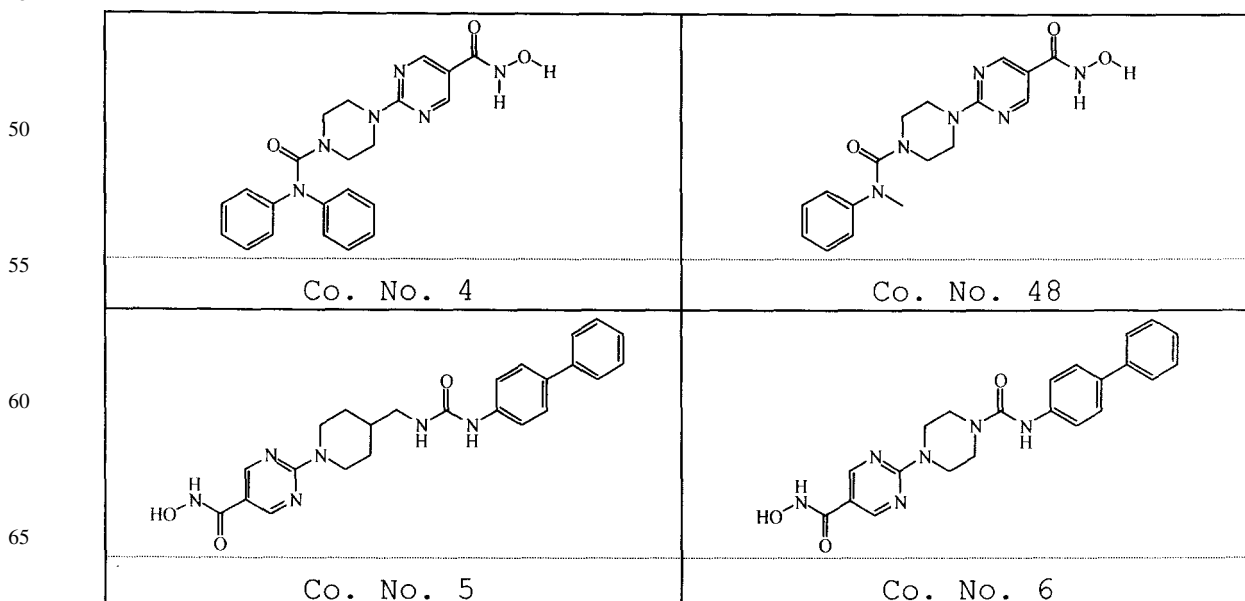
5 R^5 es hidrógeno; halo; hidroxilo; amino; nitro; trihaloalquilo C_{1-6} ; trihaloalquiloxi C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} ; alquiloxi C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} -carbonilo; alquiloxi C_{1-6} -carbonilo; alquilsulfonilo C_{1-6} ; hidroxialquilo C_{1-6} ; ariloxi; di (alquilo C_{1-6})amino; ciano; tiofenilo; furanilo; furanilo sustituido con hidroxialquilo C_{1-6} ; benzofuranilo; imidazolilo; oxazolilo; oxazolilo sustituido con arilo y alquilo C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} -triazolilo; tetrazolilo; pirrolidinilo; pirrolilo; morfolinilo; alquilo C_{1-6} -morfolinilo; piperazinilo; alquilo C_{1-6} -piperazinilo; hidroxialquilo C_{1-6} -piperazinilo; alquiloxi C_{1-6} -piperidinilo; pirazolilo; pirazolilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-6} y trihaloalquilo C_{1-6} ; piridinilo; piridinilo sustituido con alquiloxi C_{1-6} , ariloxi o arilo; pirimidinilo; quinolinilo; indol; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquilo C_{1-6} , alquiloxi C_{1-6} o trifluorometilo;

15 R^6 es hidrógeno; halo; hidroxilo; amino; nitro; trihaloalquilo C_{1-6} ; trihaloalquiloxi C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} ; alquiloxi C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} -carbonilo; alquiloxi C_{1-6} -carbonilo; alquilsulfonilo C_{1-6} ; hidroxialquilo C_{1-6} ; ariloxi; di (alquilo C_{1-6})amino; ciano; piridinilo; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquilo C_{1-6} , alquiloxi C_{1-6} o trifluorometilo.

20 3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde n es 1; cada Q es ; R^1 es $-C(O)NR^7R^8$, o $-NHC(O)alcanodifloC_{1-6}-SH$ en donde R^7 y R^8 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxilo o hidroxialquilo C_{1-6} ; R^2 es hidrógeno o nitro; R^3 es hidrógeno; cuando Z es igual a , entonces -L- es el radical bivalente -alcanodiflo $C_{1-6}-NH-$; R^4 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} o arilo;  es un radical seleccionado de (a-1) o (a-21); cada s es independientemente 0, 1 ó 2; y cada R^5 se selecciona independientemente de hidrógeno; halo; trihalo-alquilo C_{1-6} ; trihalo-alquiloxi C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} ; alquiloxi C_{1-6} ; alquilo C_{1-6} -carbonilo; ariloxi, ciano o fenilo.

35 4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y 3 en donde n es 1; cada Q es ; cada X es nitrógeno; cada Y es nitrógeno; R^1 es $-C(O)NH(OH)$; R^2 es hidrógeno; R^3 es hidrógeno; cuando Z es igual a , entonces -L- es el radical bivalente -alcanodiflo $C_{1-6}-NH-$; R^4 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} o arilo;  es el radical (a-1); cada s es independientemente 0 ó 1; y cada R^5 se selecciona independientemente de hidrógeno o fenilo.

45 5. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1, 3 y 4 seleccionado de los compuestos No. 4, No. 48, No. 5 y No. 6. Co. No. 4 Co. No. 48 Co. No. 5 Co. No. 6



ES 2 322 950 T3

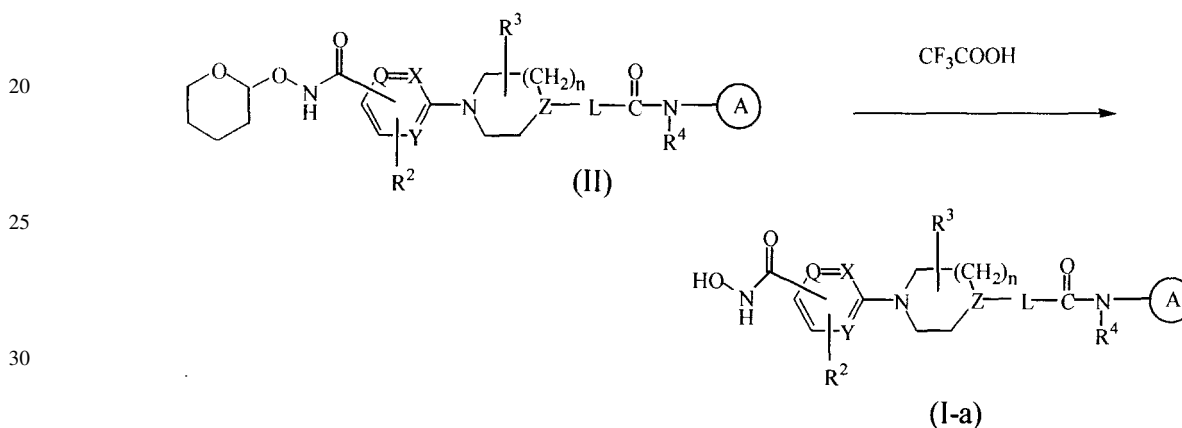
6. Una composición farmacéutica que comprende vehículos farmacéuticamente aceptables y como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5.

7. Un proceso de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6 en donde los vehículos farmacéuticamente aceptables y un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5 se mezclan íntimamente.

8. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para uso como medicamento.

9. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades proliferativas.

10. Un proceso para preparar un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado** por hacer reaccionar un compuesto intermedio de fórmula (II) con un ácido apropiado, tal como por ejemplo ácido trifluoroacético, produciéndose un ácido hidroxámico de fórmula (Ia), en donde R^1 es $-C(O)NH(OH)$.



11. Un método de detección o identificación de una HDAC en una muestra biológica, que comprende detectar o medir la formación de un complejo entre un compuesto marcado como se define en la reivindicación (I) y una HDAC.

12. Una combinación de un agente anticáncer y un inhibidor de HDAC de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.