



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 322 252**

51 Int. Cl.:  
**C07D 401/12** (2006.01)  
**C07D 403/12** (2006.01)  
**C07D 413/12** (2006.01)  
**A61K 31/506** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03708216 .1**  
96 Fecha de presentación : **11.03.2003**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1485370**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.12.2004**

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

30 Prioridad: **13.03.2002 US 363799 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**18.06.2009**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**18.06.2009**

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

72 Inventor/es: **Angibaud, Patrick René;**  
**Van Emelen, Kristof;**  
**Poncelet, Virginie Sophie y**  
**Roux, Bruno**

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

ES 2 322 252 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

Aminoderivados 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 proliferantes, tales como cáncer y psoriasis.

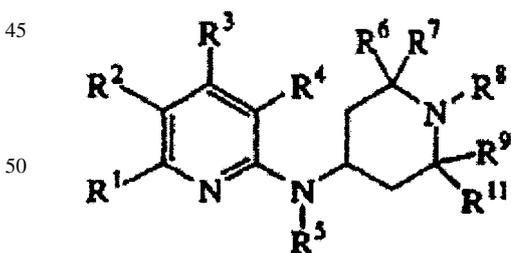
10 En todas las células eucariotas, el DNA genómico contenido en la cromatina se asocia con histonas para formar nucleosomas. Cada nucleosoma consiste en un octámero proteínico constituido por dos copias de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4. El DNA se enrolla alrededor de este núcleo proteínico, interaccionando los aminoácidos básicos de las histonas con los grupos fosfato cargados negativamente del DNA. 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 altamente básicos N-terminales conservados. 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) en competencia, 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 hiperacetilación 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.

15 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).

20 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 suberoilánilidihidroxámico, 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).

25 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 0827742, publicada el 11 de marzo de 1998).

La solicitud de patente DE 4228792 publicada el 3 de marzo de 1994 describe compuestos de la fórmula general



55 . La misma proporciona procesos para la preparación de estos compuestos, composiciones que los contienen, así como su uso como fungicida.

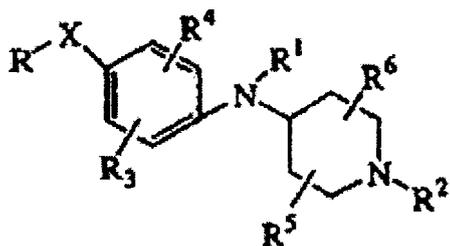
La solicitud de patente WO 97/23916 publicada el 3 de julio de 1997 describe antagonistas selectivos de subti-



pos de receptores de N-metil-D-aspartato de fórmula general. La misma presenta composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos y describe la utilidad de dichos compuestos para el tratamiento de afecciones neurológicas y otras.

ES 2 322 252 T3

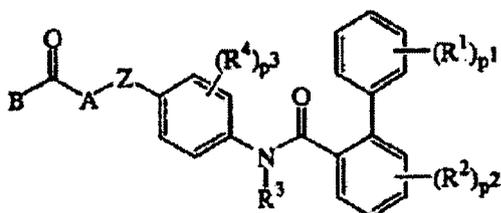
La patente de los Estados Unidos 5952349, publicada el 14 de septiembre de 1999 describe compuestos de fórmula



general . La misma describe adicionalmente composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos, el uso de dichos compuestos para el tratamiento de trastornos cognitivos y el uso de dichos compuestos en combinación con inhibidores de la acetilcolinesterasa.

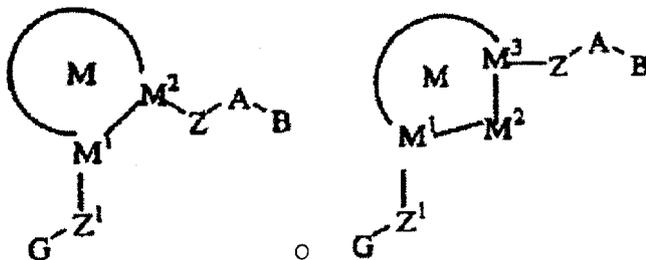
La solicitud de patente WO 00/71516 publicada el 30 de noviembre de 2000 describe compuestos de fórmula general A-Y-D-E-G-J-Z-L que tienen actividad contra el factor Xa de los mamíferos, composiciones farmacéuticas que contienen los mismos y el uso de dichos compuestos para prevenir o tratar trastornos de la coagulación.

La Solicitud de Patente WO 02/42271 describe compuestos de fórmula general



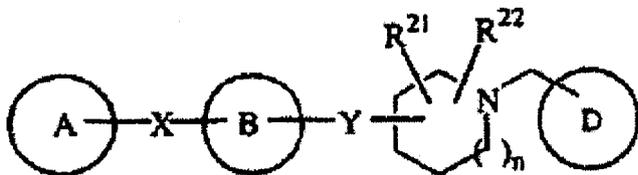
. La misma proporciona adicionalmente composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos así como el uso de dichos compuestos como medicamento para el tratamiento de la hiperlipidemia, obesidad y diabetes tipo II.

La solicitud de patente WO 02/00651 publicada el 3 de enero de 2002 describe inhibidores de enzimas serina-



proteasa afines a la tripsina de fórmulas generales . La misma presenta composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos y el uso de tales compuestos como agentes anticoagulantes para el tratamiento y la prevención de trastornos tromboembólicos.

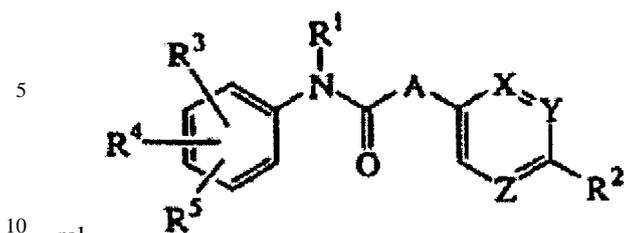
La solicitud de patente WO 02/18335 publicada el 7 de marzo de 2002 describe compuestos de fórmula general



. La misma estipula el uso de dichos compuestos en el tratamiento de enfermedades relacionadas con CCR3.

## ES 2 322 252 T3

La solicitud de patente WO 03/000653 publicada el 3 de enero de 2003 describe compuestos de fórmula gene-



10 ral . La misma proporciona procesos para la preparación de estos compuestos, composiciones que los contienen, así como su uso como agente inhibidor de la trombina.

15 Los compuestos de la presente invención difieren de la técnica anterior descrita en DE4228792, WO 97/23216, US 5.952.349, WO 00/71516, WO 02/00651, WO 02/18335 y WO 03/000653 en estructura y en actividad.

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

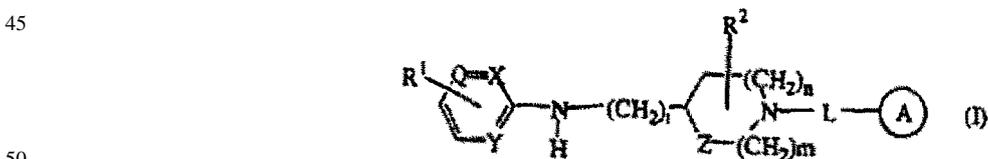
25 La solicitud de patente WO 01/70675 publicada el 27 de septiembre de 2001 describe inhibidores de la histona-desacetilasa de fórmula -Cy<sup>2</sup>-Cy<sup>1</sup>-X-Y<sup>1</sup>-W y Cy-S(O)<sub>2</sub>-NH-Y<sup>3</sup>-W y proporciona adicionalmente composiciones y métodos para el tratamiento de enfermedades y condiciones proliferativas de las células.

30 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.

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

40 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.

45 Esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I)



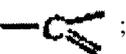
55 las formas de *N*-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables y las formas estereoquímicamente isómeras de la misma, en donde

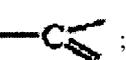
n es 0, 1, 2 ó 3 y cuando n es 0 entonces debe entenderse un enlace directo;

m es 0, 1, 2 ó 3, y cuando m es 0 entonces debe entenderse un enlace directo;

60 t es 0 ó 1, y cuando t es 0 entonces debe entenderse un enlace directo;

65 cada Q es nitrógeno o ;

cada X es nitrógeno o  ;

5 cada Y es nitrógeno o  ;

cada Z es -CH<sub>2</sub>- o -O-;

10

R<sup>1</sup> es -C(O)NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -N(H)C(O)R<sup>7</sup>, -C(O)-alcanodifilC<sub>1-6</sub>-SR<sup>7</sup>, -NR<sup>8</sup>C(O)N(OH)R<sup>7</sup>, -NR<sup>8</sup>C(O)alcanodifilC<sub>1-6</sub>-SR<sup>7</sup> o -NR<sup>8</sup>C(O)C=N(OH)R<sup>7</sup> en donde R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxil, alquiloC<sub>1-6</sub>, hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>, aminoalquiloC<sub>1-6</sub> o amino-arilo;

15

R<sup>7</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquilC<sub>1-6</sub>-carbonilo, aril-alquiloC<sub>1-6</sub>, alquilC<sub>1-6</sub>-pirazinilo, piridinona, pirrolidinona o metilimidazolilo;

R<sup>8</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno o alquiloC<sub>1-6</sub>;

20

R<sup>2</sup> es hidrógeno, hidroxil, amino, hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub>, aril-alquiloC<sub>1-6</sub>, aminocarbonilo, hidroxicarbonilo, aminoalquiloC<sub>1-6</sub>, amino-carbonil-alquiloC<sub>1-6</sub>, hidroxicarbonil-alquiloC<sub>1-6</sub>, hidroxiaminocarbonilo, alquiloxiC<sub>1-6</sub>carbonilo, alquilaminoC<sub>1-6</sub>-alquiloC<sub>1-6</sub>, o di(alquiloC<sub>1-6</sub>)amino-alquiloC<sub>1-6</sub>;

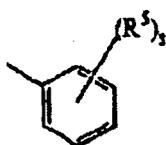
25

-L- es un radical bivalente seleccionado de alcanodifiloC<sub>1-6</sub>, carbonilo, sulfonilo, o alcanodifiloC<sub>1-6</sub> sustituido con fenilo;

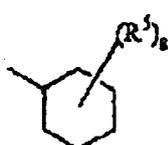


es un radical seleccionado de

30



(a-1)



(a-2)



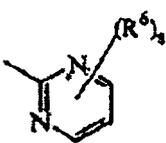
(a-3)



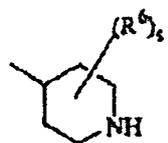
(a-4)

35

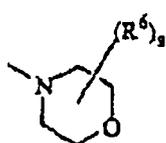
40



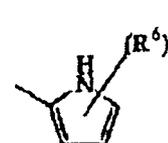
(a-5)



(a-6)



(a-7)



(a-8)

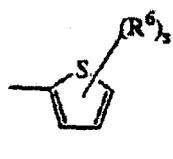
45

50

55

60

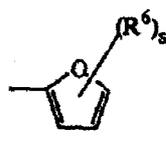
65



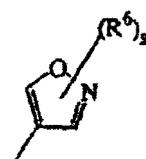
(a-9)



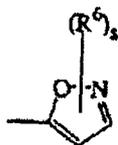
(a-10)



(a-11)



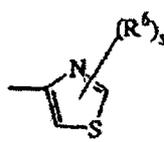
(a-12)



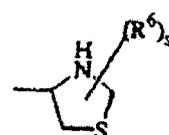
(a-13)



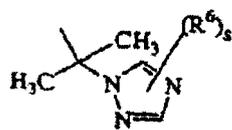
(a-14)



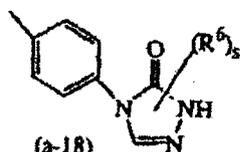
(a-15)



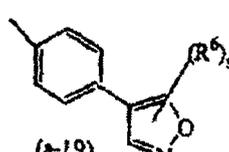
(a-16)



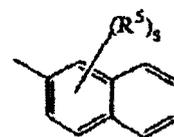
(a-17)



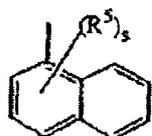
(a-18)



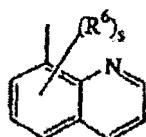
(a-19)



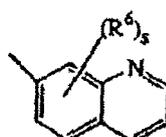
(a-20)



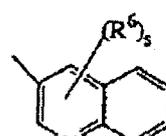
(a-21)



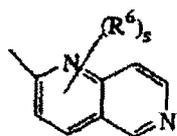
(a-22)



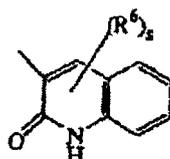
(a-23)



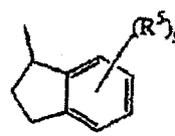
(a-24)



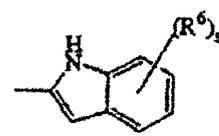
(a-25)



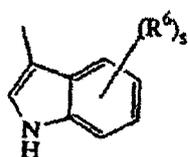
(a-26)



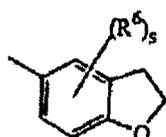
(a-27)



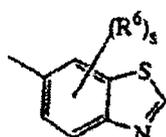
(a-28)



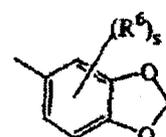
(a-29)



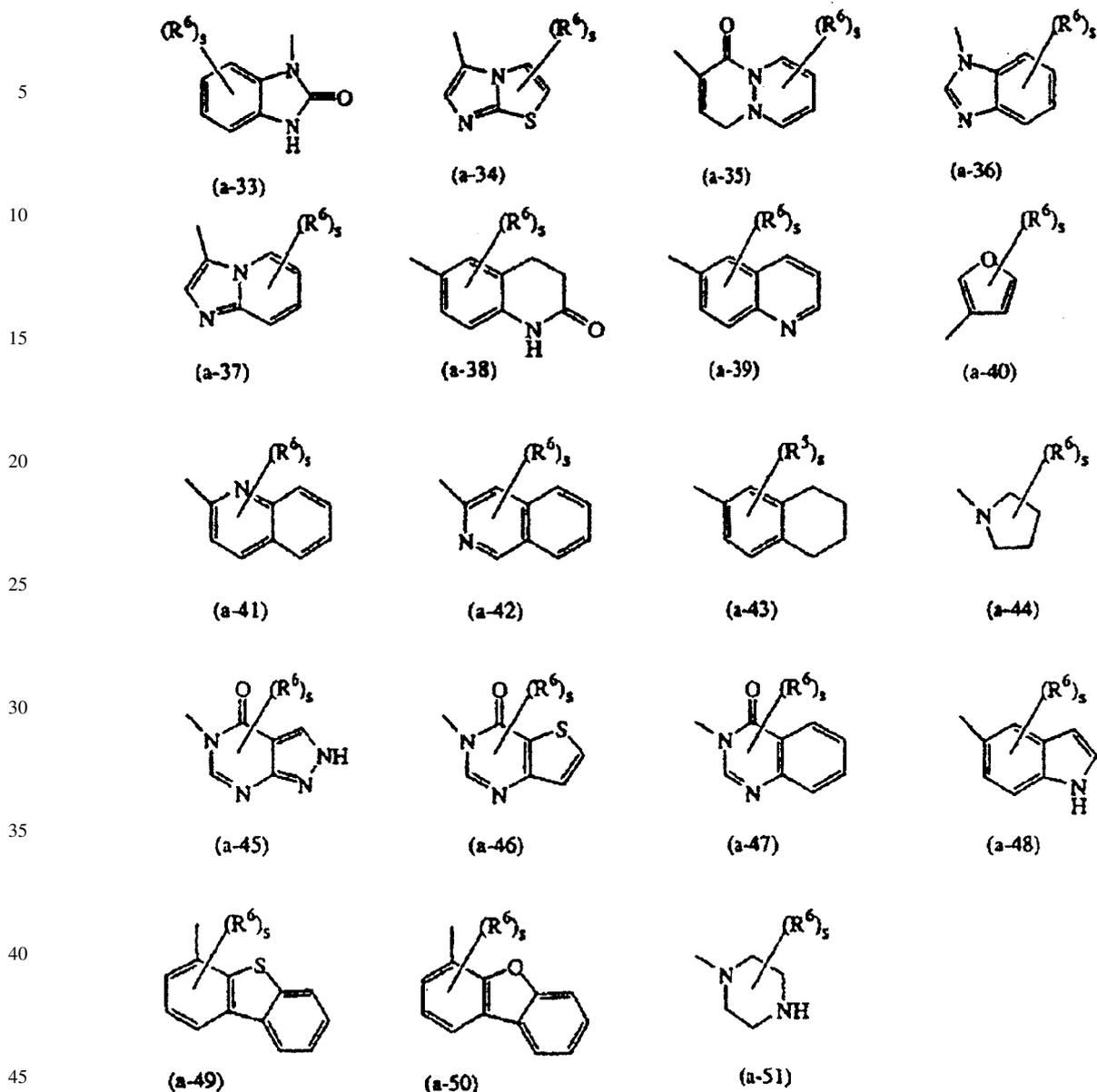
(a-30)



(a-31)



(a-32)



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 $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$  sustituido con arilo y cicloalquilo $C_{3-10}$ ; alquilo $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$ alquilo $C_{1-6}$ ; alquil- $C_{1-6}$ carbonilo; alquilo $C_{1-6}$ carbonilo; alquilsulfonilo $C_{1-6}$ ; cianoalquilo $C_{1-6}$ ; hidroxialquilo $C_{1-6}$ ; hidroxialquilo $C_{1-6}$ ; hidroxialquilamino $C_{1-6}$ ; aminoalquilo $C_{1-6}$ ; di(alquilo $C_{1-6}$ )aminocarbonilo; di(hidroxialquilo $C_{1-6}$ )amino; (aril)(alquilo $C_{1-6}$ )amino; di(alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$ ; di(alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilamino $C_{1-6}$ ; di(alquil  $C_{1-6}$ )aminoalquil-amino $C_{1-6}$ alquilo $C_{1-6}$ ; arilsulfonilo; arilsulfonilamino; ariloxi; ariloxialquilo $C_{1-6}$ ; aril $C_{2-6}$ alqueno-difilo; di(alquilo $C_{1-6}$ )amino; di(alquilo $C_{1-6}$ )amino-alquilo $C_{1-6}$ ; 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 $C_{1-6}$ )aminoalquil $C_{1-6}$ (alquilo $C_{1-6}$ )amino; di(al-quilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$  (alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$ ; amino-sulfonilamino(alquilo $C_{1-6}$ )amino; aminosulfonilamino-(alquilo $C_{1-6}$ )-aminoalquilo $C_{1-6}$ ; di(alquilo $C_{1-6}$ )-amino-sulfonil-amino(alquilo $C_{1-6}$ )amino; di(alqui-lo $C_{1-6}$ )amino-sulfonilamino(alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$ ; ciano; tiofenilo; tiofenilo sustituido con di(alquilo $C_{1-6}$ )-aminoalquil $C_{1-6}$ (alquilo $C_{1-6}$ )aminoalqui-lo $C_{1-6}$ , di(alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$ , alquil $C_{1-6}$ -piperazinil-alquilo $C_{1-6}$ , hidroxialquil $C_{1-6}$ -piperazinil-alquilo $C_{1-6}$ , hidroxialquilo $C_{1-6}$ -alquil $C_{1-6}$ -piperazin-il-alquilo $C_{1-6}$ , di(alquil  $C_{1-6}$ )-aminosulfonil-piperazinil-alquilo $C_{1-6}$ , alquilo $C_{1-6}$ -piperidinilo, alquilo $C_{1-6}$ -piperidinil-alquilo $C_{1-6}$ , morfolinil-alquilo $C_{1-6}$ , hidroxialquil $C_{1-6}$ (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 $C_{1-6}$ ; alquil- $C_{1-6}$ triazolilo; tetrazolilo; pirrolidinilo; pirrolilo; piperidinil-alquilo $C_{1-6}$ ; morfolinilo; alquil $C_{1-6}$ morfolinilo; morfolinil-alquilo $C_{1-6}$ ; morfo-linil-

## ES 2 322 252 T3

alquiloC<sub>1-6</sub>; morfolinil-alquilaminoC<sub>1-6</sub>; morfolinil-alquilaminoC<sub>1-6</sub>alquiloC<sub>1-6</sub>; piperazinilo; alquilC<sub>1-6</sub>-piperazinilo; alquilC<sub>1-6</sub>piperazinil-alquil-oxiC<sub>1-6</sub>; piperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; naftalenilsulfonilpiperazinilo; naftalenilsulfonilpiperidinilo; naftalenilsulfonilo; alquilC<sub>1-6</sub>-piperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; alquilC<sub>1-6</sub>piperazinil-alquilaminoC<sub>1-6</sub>; alquilC<sub>1-6</sub>-pi-perazinil-alquilamino-C<sub>1-6</sub>alquiloC<sub>1-6</sub>; alquil C<sub>1-6</sub>-piperazinilsulfonilo; aminosulfonilpiperazinil-alquiloxiC<sub>1-6</sub>; 5 aminosulfonilpiperazinilo; aminosulfonilpiperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; di(alquiloC<sub>1-6</sub>)-amino-sulfonilpiperazinilo; di(alquiloC<sub>1-6</sub>)amino-sulfonil-piperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; hidroxialquil C<sub>1-6</sub>piper-azinilo; hidroxialquilC<sub>1-6</sub>piperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; alquiloxiC<sub>1-6</sub>piperidinilo; alquiloxiC<sub>1-6</sub>piperidinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; piperidinilaminoalquilaminoC<sub>1-6</sub>; pi-peridinilaminoalquil C<sub>1-6</sub>-aminoalquiloC<sub>1-6</sub>; (alquilC<sub>1-6</sub>-piperidinil)-(hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>)aminoalquilaminoC<sub>1-6</sub>; (alquilC<sub>1-6</sub>piperidinil)(hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>) amino - alquiloC<sub>1-6</sub>aminoalquiloC<sub>1-6</sub>; hidroxialquiloxiC<sub>1-6</sub> - 10 alquilC<sub>1-6</sub>piperazinilo; hidroxialquiloxiC<sub>1-6</sub>-alquil-C<sub>1-6</sub>piperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; (hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>)(al-quiloC<sub>1-6</sub>) amino; (hidroxialquil C<sub>1-6</sub>)(alquiloC<sub>1-6</sub>)-aminoalquiloC<sub>1-6</sub>; hidroxialquilaminoC<sub>1-6</sub>alquiloC<sub>1-6</sub>; di(hidroxialquil C<sub>1-6</sub>)aminoalquiloC<sub>1-6</sub>; pirrolidinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; pirrolidinil-alquiloxiC<sub>1-6</sub>; pirazolilo; tiopirazolilo; pirazolilo sustituido con dos sustituyentes seleccionados de alquiloC<sub>1-6</sub> o trihaloalquiloC<sub>1-6</sub>; piridinilo; piridinilo sustituido con alquiloxiC<sub>1-6</sub>, ariloxi o arilo; pirimidinilo; tetrahidropirimidinilpiperazinilo; tetrahidropirimidinilpiperazinil- 15 alquiloC<sub>1-6</sub>; quinolinilo; indolilo; fenilo; fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente de halo, amino, nitro, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub>, hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>, trifluorometilo, trifluorometiloxi, hidroxialquiloxiC<sub>1-4</sub>, alquilsulfoniloC<sub>1-4</sub>, alquiloxiC<sub>1-4</sub>alquil-oxiC<sub>1-4</sub>, alquiloxiC<sub>1-4</sub>carbonilo, aminoalquiloxiC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloxiC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminocarbonilo, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoal-quiloC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)-aminoalquilC<sub>1-4</sub>aminoalqui-loC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)-amino(alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)amino(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, di(al-quiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, di(al-quiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>(alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, (hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)- 20 (alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, aminosulfonilamino(alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, aminosulfonilamino(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, di(C<sub>1-4</sub>alquil)-aminosulfonilamino(alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, di(alquil C<sub>1-4</sub>)aminosulfonilamino(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-6</sub>, ciano, piperidinil-alquiloxiC<sub>1-4</sub>, pirrolidinil-alquiloxiC<sub>1-4</sub>, aminosulfonilpiperazinilo, aminosulfonilpiperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)-aminosul-fonilpiperazinilo, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)- 25 amino-sulfonil-piperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, hidroxialquilC<sub>1-4</sub>piperazinilo, hidroxialquilC<sub>1-4</sub>piperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, alquiloxiC<sub>1-4</sub>-piperidinilo, alquiloxiC<sub>1-4</sub>piperidinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, hidroxialquiloxiC<sub>1-4</sub>-alquilC<sub>1-4</sub>piperazinilo, hidroxialquiloxiC<sub>1-4</sub>alquilC<sub>1-4</sub>piperazinil-alquilC<sub>1-4</sub>, (hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)-(alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, (hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)-(alquil C<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, di(hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)-amino, di(hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, furanilo, furanilo sustituido con -CH=CH-CH=CH-, pirrol-idinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, pirrolidinil-alquiloxiC<sub>1-4</sub>, morfolinilo, morfolinil- 30 alquiloxiC<sub>1-4</sub>, morfolinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, morfolinil-alquilaminoC<sub>1-4</sub>, morfolinilalquilC<sub>1-4</sub>aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, piperazi-nilo, alquilC<sub>1-4</sub>-piperazinilo, alquilC<sub>1-4</sub>piperazinil-alquiloxiC<sub>1-4</sub>, piperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, alquil C<sub>1-4</sub>piperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, alquilC<sub>1-4</sub>piperazinil-alquilaminoC<sub>1-4</sub>, alquilC<sub>1-4</sub>piperazinilalquilaminoC<sub>1-4</sub>-alquiloC<sub>1-6</sub>, tetra-hidropirimidinilpiperazinilo, tetrahidropirimidinil-piperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, piperidinilaminoalquilaminoC<sub>1-4</sub>, piperidinilaminoC<sub>1-4</sub>-alquilaminoalquiloC<sub>1-4</sub>, (alquilC<sub>1-4</sub>piper-idinil)(hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)amino-alquilaminoC<sub>1-4</sub>, 35 (alquilC<sub>1-4</sub>piperidinil)(hidroxialqui-loC<sub>1-4</sub>) aminoalquilC<sub>1-4</sub>aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, piridinil - alquiloxiC<sub>1-4</sub>, hidroxialquilaminoC<sub>1-4</sub>, hidroxialquilaminoC<sub>1-4</sub>-alquiloC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquil-aminoC<sub>1-4</sub>, aminotia-diazolilo, aminosulfonilpiperazinilalquiloxiC<sub>1-4</sub>, o tiofenil-alquilaminoC<sub>1-4</sub>;

40 cada R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> 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, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub>, trifluorometilo, ciano o hidroxicarbonilo.

45 El término “inhibidor de histona-desacetilasas” o “inhibidor de histona-desacetilasa” se utiliza para identificar un compuesto, que es capaz de interaccionar con una histona-desacetilasa e inhibir su actividad, más particularmente su actividad enzimática. La inhibición de la actividad enzimática de la histona-desacetilasa 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 50 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; alquiloC<sub>1-4</sub> define radicales hidrocarbonados saturados de cadena lineal y ramificados que tienen de 1 a 4 55 átomos de carbono tales como, v.g. metilo, etilo, propilo, butilo, 1-metiletilo, 2-metilpropilo y análogos; alquiloC<sub>1-6</sub> incluye alquiloC<sub>1-4</sub> 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; alcanodifiloC<sub>1-6</sub> 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-etanodifilo, 1,3-propanodifilo, 1,4-butanodifilo, 1,5-pentanodifilo, 1,6-hexanodifilo, y los isómeros ramificados de los mismos tales como 2-metilpentanodifilo, 3-metilpentanodifilo, 2,2-dimetilbutanodifilo, 2,3-dimetilbutanodifilo y análo- 60 gos; trihaloalquiloC<sub>1-6</sub> define alquiloC<sub>1-6</sub> que contiene 3 sustituyentes halógeno idénticos o diferentes, por ejemplo trifluorometilo; alcanodifilo C<sub>2-6</sub> 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, etilenodifilo, 2-propenodifilo, 3-butenodifilo, 2-pentenodifilo, 3-pentenodifilo, 3-metil-2-butenodifilo, y análogos; y aminoarilo define arilo sustituido con amino.

Sales de adición farmacéuticamente aceptables abarcan sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y sales de adición de base farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables

## ES 2 322 252 T3

como se mencionan anteriormente en esta memoria debe entenderse que 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 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, hidroxí-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.

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.

El término “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.

El término “formas esteroquímicamente 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 esteroquímicamente isómeras posibles, que podría poseer dicho compuesto. Dicha mezcla puede contener todos los diastereoisómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Todas las formas esteroquímicamente 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.

Las formas de *N*-óxido de los compuestos de fórmula (I) debe entenderse que 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*.

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.

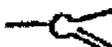
Siempre que se utilice en lo sucesivo, debe entenderse que el término “compuestos de fórmula (I)” incluye también las sales de adición farmacéuticamente aceptables y todas las formas esteroisómeras.

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  $\epsilon$ -amino de los residuos lisina en el término N de una histona. A no ser que el contexto indique otra cosa, debe entenderse que el término “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.

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 0, 1 ó 2;

b)  $m$  es 0, 1 ó 2;

c) cada Q es  ;

d) cada X es nitrógeno;

e)  $R^1$  es  $-C(O)NH(OH)$ ;

f)  $R^2$  es hidrógeno;

g)  $-L-$  es un radical bivalente seleccionado de carbonilo, sulfonilo, o alcanodifilo  $C_{1-6}$  sustituido con fenilo;

## ES 2 322 252 T3

h)  es un radical seleccionado de (a-1), (a-20) o (a-43);

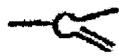
5 i) cada s es independientemente 0 ó 1;

j) cada R<sup>5</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno o fenilo.

10 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 0, 1 ó 2;

15 b) m es 0, 1 ó 2;

c) cada Q es  ;

20 d) cada X es nitrógeno;

d) (sic) R<sup>1</sup> es -C(O)NH(OH);

25 f) R<sup>2</sup> es hidrógeno;

e) (sic) -L- es un radical bivalente seleccionado de carbonilo o sulfonilo;

30 f) (sic)  es un radical seleccionado de (a-1) o (a-20);

g) cada s es independientemente 0 ó 1;

35 h) cada R<sup>5</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno o arilo.

40 Un tercer grupo de compuestos interesantes está constituido por aquellos compuestos de fórmula (I) en la cual R<sup>1</sup> es -C(O)NH(OH).

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

45 a) t es 0;

b) R<sup>1</sup> es -C(O)NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -C(O)-alcanodifilC<sub>1-6</sub>-SR<sup>7</sup>, -NR<sup>8</sup>C(O)N(OH)R<sup>7</sup>; -NR<sup>8</sup>C(O)alcanodifilC<sub>1-6</sub>-SR<sup>7</sup> o -NR<sup>8</sup>C(O)C=N(OH)R<sup>7</sup>,

50 en donde R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxil, hidroxialquiloC<sub>1-6</sub> o aminoalquiloC<sub>1-6</sub>;

c) R<sup>2</sup> es hidrógeno, hidroxil, amino, hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub>, aril-alquiloC<sub>1-6</sub>, aminocarbonilo, aminoalquiloC<sub>1-6</sub>, alquilaminoC<sub>1-6</sub>alquiloC<sub>1-6</sub> o di(alquiloC<sub>1-6</sub>)aminoalquiloC<sub>1-6</sub>;

55 d) -L- es un radical bivalente seleccionado de alcanodifiloC<sub>1-6</sub>, carbonilo o sulfonilo;

60 e)  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);

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

g) R<sup>5</sup> es hidrógeno; halo; hidroxil; amino; nitro; trihaloalquiloC<sub>1-6</sub>; trihaloalquiloxiC<sub>1-6</sub>; alquiloC<sub>1-6</sub>; alquiloxiC<sub>1-6</sub>; alquilC<sub>1-6</sub>-carbonilo; alquiloxiC<sub>1-6</sub>oxicarbonilo; alquilsulfoniloC<sub>1-6</sub>; hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>; ari-

## ES 2 322 252 T3

loxi; di (alquiloC<sub>1-6</sub>)amino; ciano; tiofenilo; furanilo; furanilo sustituido con hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>; benzofuranilo; imidazolilo; oxazolilo; oxazolilo sustituido con arilo y alquiloC<sub>1-6</sub>; alquilC<sub>1-6</sub>-triazolilo; tetrazolilo; pirrolidinilo; pirrolilo; morfolinilo; alquilC<sub>1-6</sub>-morfolinilo; piperazinilo; alquilC<sub>1-6</sub>-piperazinilo; hidroxialquilC<sub>1-6</sub>-piperazinilo; alquiloxiC<sub>1-6</sub>-piperidinilo; pirazolilo; pirazolilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de alquiloC<sub>1-6</sub> o trihaloalquiloC<sub>1-6</sub>; piridinilo; piridinilo sustituido con alquiloxiC<sub>1-6</sub>, ariloxi o arilo; pirimidinilo; quinolinilo; indol; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub> o trifluorometilo;

h) R<sup>6</sup> es hidrógeno; halo; hidroxilo; amino; nitro; trihaloalquiloC<sub>1-6</sub>; trihaloalquiloxiC<sub>1-6</sub>; alquiloC<sub>1-6</sub>; alquiloxiC<sub>1-6</sub>; alquilC<sub>1-6</sub>-carbonilo; alquiloxiC<sub>1-6</sub>-carbonilo; alquilsulfoniloC<sub>1-6</sub>; hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>; ariloxi; di (alquiloC<sub>1-6</sub>)amino; ciano; piridinilo; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub> o trifluorometilo.

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

t es 0;

R<sup>1</sup> es -C(O)NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -C(O)-alcanodifilC<sub>1-6</sub>-SR<sup>7</sup>, -NR<sup>8</sup>C(O)N-(OH)R<sup>7</sup>, -NR<sup>8</sup>C(O)alcanodifilC<sub>1-6</sub>-SR<sup>7</sup> o -NR<sup>8</sup>C(O)C=N(OH)R<sup>7</sup>, en donde R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxilo, hidroxialquiloC<sub>1-6</sub> o aminoalquiloC<sub>1-6</sub>;

R<sup>2</sup> es hidrógeno, hidroxilo, amino, hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub>, aril-alquiloC<sub>1-6</sub>, aminocarbonilo, aminoalquiloC<sub>1-6</sub>, alquilaminoC<sub>1-6</sub>-alquiloC<sub>1-6</sub> o di (alquiloC<sub>1-6</sub>)aminoalquiloC<sub>1-6</sub>;

-L- es un radical bivalente seleccionado de alcanodifiloC<sub>1-6</sub>, carbonilo o sulfonilo;



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);

s es 0, 1, 2, 3 ó 4;

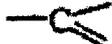
R<sup>5</sup> es hidrógeno; halo; hidroxilo; amino; nitro; trihaloalquiloC<sub>1-6</sub>; trihaloalquiloxiC<sub>1-6</sub>; alquiloC<sub>1-6</sub>; alquiloxiC<sub>1-6</sub>; alquilC<sub>1-6</sub>-carbonilo; alquiloxiC<sub>1-6</sub>-carbonilo; alquilsulfoniloC<sub>1-6</sub>; hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>; ariloxi; di (alquiloC<sub>1-6</sub>)amino; ciano; tiofenilo; furanilo; furanilo sustituido con hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>; benzofuranilo; imidazolilo; oxazolilo; oxazolilo sustituido con arilo y alquiloC<sub>1-6</sub>; alquilC<sub>1-6</sub>-triazolilo; tetrazolilo; pirrolidinilo; pirrolilo; morfolinilo; alquilC<sub>1-6</sub>-morfolinilo; piperazinilo; alquilC<sub>1-6</sub>-piperazinilo; hidroxialquilC<sub>1-6</sub>-piperazinilo; alquiloxiC<sub>1-6</sub>-piperidinilo; pirazolilo; pirazolilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de alquiloC<sub>1-6</sub> y trihaloalquiloC<sub>1-6</sub>; piridinilo; piridinilo sustituido con alquiloxiC<sub>1-6</sub>, ariloxi o arilo; pirimidinilo; quinolinilo; indol; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub> o trifluorometilo; y

R<sup>6</sup> es hidrógeno; halo; hidroxilo; amino; nitro; trihaloalquiloC<sub>1-6</sub>; trihaloalquiloxiC<sub>1-6</sub>; alquiloC<sub>1-6</sub>; alquiloxiC<sub>1-6</sub>; alquilC<sub>1-6</sub>-carbonilo; alquiloxiC<sub>1-6</sub>-carbonilo; alquilsulfoniloC<sub>1-6</sub>; hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>; ariloxi; di (alquiloC<sub>1-6</sub>)amino; ciano; piridinilo; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub> o trifluorometilo.

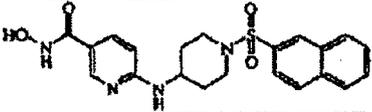
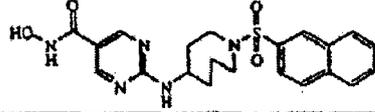
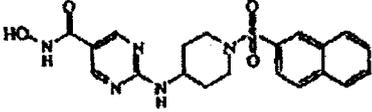
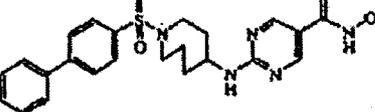
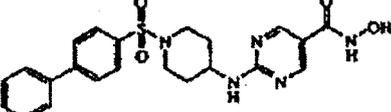
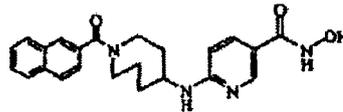
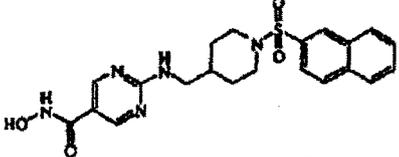
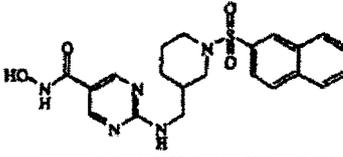
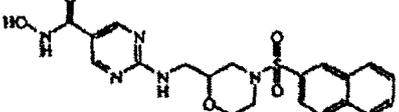
Un grupo de compuestos más preferidos está constituido por aquellos compuestos de fórmula (I) en la cual n es 0, 1 ó 2; m es 0, 1 ó 2; cada Q es ; cada X es nitrógeno; R<sup>1</sup> es -C(O)NH(OH); R<sup>2</sup> es hidrógeno; -L- es

un radical bivalente seleccionado de carbonilo, sulfonilo, o alcanodifiloC<sub>1-6</sub> sustituido con fenilo; es un radical seleccionado de (a-1), (a-20) o (a-43); s es 0 ó 1; y cada R<sup>5</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno o fenilo.

# ES 2 322 252 T3

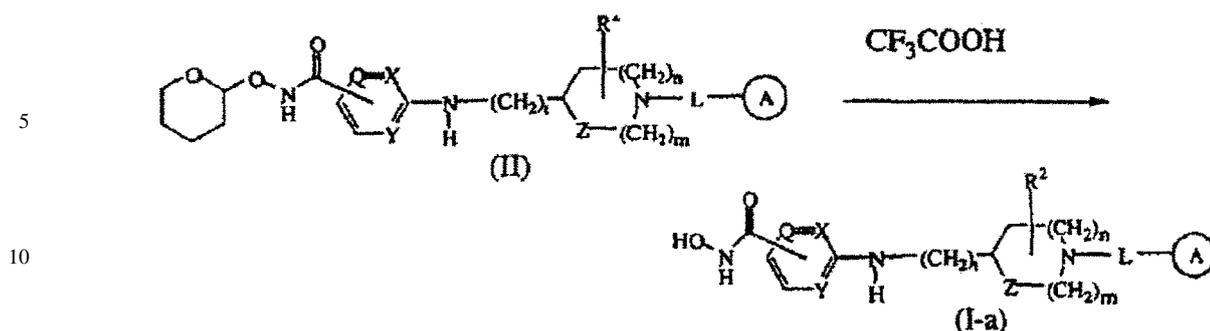
Un grupo de compuestos aún más preferidos está constituido por aquellos compuestos de fórmula (I) en la cual n es 0, 1 ó 2; m es 1 ó 2; cada Q es ; cada X es nitrógeno; R<sup>1</sup> es -C(O)NH(OH); R<sup>2</sup> es hidrógeno; -L- es un radical bivalente seleccionado de carbonilo o sulfonilo;  es un radical seleccionado de (a-1) o (a-20); cada s es independientemente 0 ó 1; y cada R<sup>5</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno o arilo.

Compuestos muy preferidos son los compuestos No 1, No. 3, No. 5, No. 4, No. 14, No. 12, No. 7, No. 8 o No. 9.

	
.0.79 C <sub>2</sub> HF <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ; Co. No. 1	.0.22 C <sub>2</sub> HF <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ; Co. No. 3
	
.0.17 C <sub>2</sub> HF <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ; Co. No. 5	.C <sub>2</sub> HF <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ; Co. No. 4
	
Co. No. 14	.2 H <sub>2</sub> O .0.53 C <sub>2</sub> HF <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ; Co. No. 12
	
Co. No. 7	Co. No. 8
	
Co. No. 9	

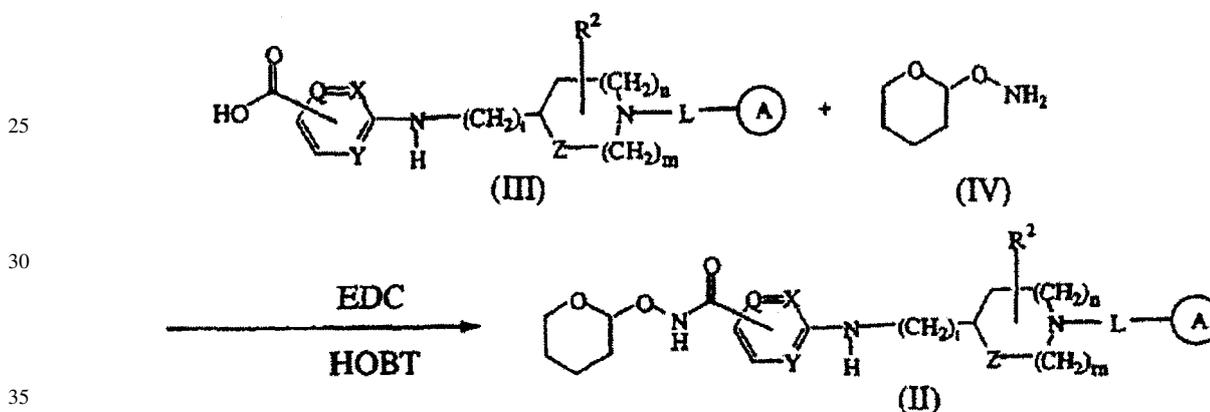
Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables y *N*-óxidos y formas estereoquímicamente isómeras de los mismos se pueden preparar de manera convencional. Una ruta de síntesis general se abarca como ejemplo:

a) los ácidos hidroxámicos de fórmula (I) en la cual R<sup>1</sup> 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.



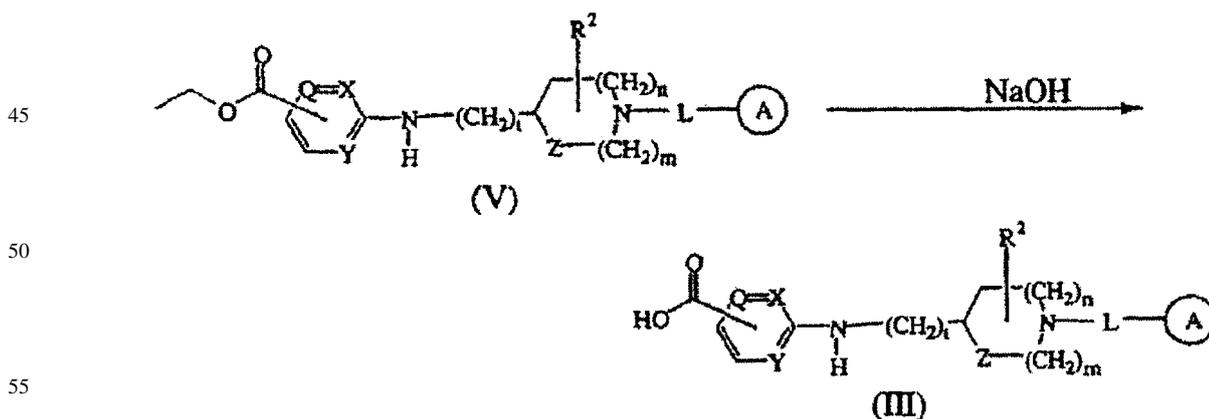
15 b) Los compuestos intermedios de fórmula (II) se pueden preparar por reacción de un compuesto intermedio de fórmula (III) con un compuesto intermedio de fórmula (IV) en presencia de reactivos apropiados tales como monohidrocloruro de N'-(etilcarbonimidóil)-N,N-dimetil-1,3-propanodiamina, (EDC) y 1-hidroxi-1H-benzotriazol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

20



40 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



60 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.

65 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.

## ES 2 322 252 T3

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 una configuración R o una configuración S.

5 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 quirál adecuado. Dichas formas de sal diastereoisómeras se separan subsiguientemente, por ejemplo, por cristalización selectiva o fraccionada y los enantiómeros se liberan  
10 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 quirál. 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.  
15 Estos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

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 inhibidor de la histona-desacetilasa (HDAC).  
20

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 células de cáncer, e indirectamente, por inhibición de la neovascularización de los tumores.  
25

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 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 mielodisplástico (MDS), tumores de origen mesenquimático (v.g. fibrosarcomas y rhabdomiomas), 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.  
30  
35  
40

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

- 45 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;
- 50 c) inhibición de la proliferación de células musculares lisas con inclusión de trastornos proliferativos vasculares, 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;
- 55 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;
- 60 g) tratamiento de una disfunción cardíaca;
- 65

## ES 2 322 252 T3

- h) inhibición de condiciones inmunosupresoras tales como el tratamiento de infecciones por HIV;
- i) tratamiento de la disfunción renal;
- 5 j) supresión de trastornos endocrinos;
- k) inhibición de la disfunción de la gluconeogénesis;
- 10 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;
- 15 n) tratamiento de la atrofia muscular espinal;
- o) tratamiento de otras condiciones patológicas susceptibles de terapia por potenciación de la expresión de un gen;
- 20 p) mejora de la terapia génica.

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.

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 detectar o medir la formación de un complejo entre un compuesto marcado y una HDAC.

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  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$ . 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,  $\beta$ -galactosidasa,  $\beta$ -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.

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.

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

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.

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.

## ES 2 322 252 T3

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 análogos, así como múltiples segregados de las mismas.

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.

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.

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:

- 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;
- 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;
- 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;
- derivados antitumorales de antraciclina, por ejemplo daunorrubicina, doxorubicina, idarrubicina o mitoxantrona;
- anticuerpos HER2, por ejemplo trastuzumab;
- 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;
- 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;
- inhibidores de quinasas, por ejemplo flavoperidol, imatinib-mesilato o gefitinib;
- inhibidores de la farnesiltransferasa; u
- otros inhibidores de HDAC.

El término “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.

## ES 2 322 252 T3

El término “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*).

5 El término “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.

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

El término “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.

20 El término “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*).

25 El término “agentes anquilantes” 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 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 aquellas 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.

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

40 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.

45 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.

50 En las mujeres posmenopáusicas, la fuente principal de estrógeno circulante 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.

55 El término “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.

60 El término “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.

65 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 la desactivación de los genes implicados. El término “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.

## ES 2 322 252 T3

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

5 El término “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.

El término “otros inhibidores de HDAC” comprende, pero sin carácter limitante:

- 10 - 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, tricotatina A (TSA), oxamflatina, scriptaid, ácido *m*-carboxi-cinámico, ácido bishidroxicinámico, o análogos del ácido trapoxin-hidroxámico;
- 15 - tetrapéptidos cíclicos, por ejemplo trapoxina, apidicina o depsipéptido;
- benzamidas, por ejemplo MS-275 o CI994, o
- 20 - depudecina.

25 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.

30 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.

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

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

45 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.

50 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 y del 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.

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

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

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

## ES 2 322 252 T3

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

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

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

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

20 El derivado antitumoral de antraciclina se administra ventajosamente en una dosis de 10 a 75 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de superficie corporal, por ejemplo 15 a 60  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para doxorrubicina en una dosis de aproximadamente 40 a 75  $\text{mg}/\text{m}^2$ , para daunorrubicina en una dosis de aproximadamente 25 a 45  $\text{mg}/\text{m}^2$ , y para idarrubicina en una dosis de aproximadamente 10 a 15  $\text{mg}/\text{m}^2$  por curso de tratamiento.

25 Trastuzumab se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 5 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de superficie corporal, particularmente 2 a 4  $\text{mg}/\text{m}^2$  por curso de tratamiento.

30 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.

40 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.

45 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.

50 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.

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.

55 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.

60 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.

65

*Parte experimental*

Los ejemplos siguientes se proporcionan para propósitos de ilustración.

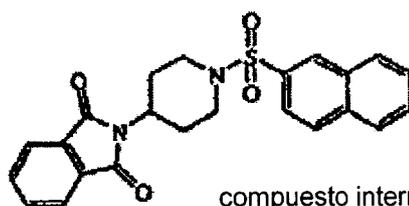
5 En lo sucesivo, "DCM" significa diclorometano, "DMA" significa dimetilacetamida, "DMF" significa dimetilformamida, "EtOAc" significa acetato de etilo, "iPrOH" significa isopropilo, "MeOH" significa metanol, "EtOAc" significa acetato de etilo, "EtOH" significa etanol, "TEA" significa trietilamina, "TFA" significa ácido trifluoroacético, y "THF" significa tetrahidrofurano.

10 *A. Preparación de los compuestos intermedios*

## Ejemplo A1

a) *Preparación de*

15



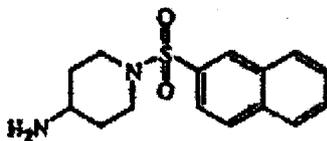
compuesto intermedio 1

25 Una solución de cloruro de 2-naftalenosulfonilo (0,0094 mol) en DCM (10 ml) se añadió a 5°C a una mezcla de 2-(4-piperidinil)-1*H*-isoindol-1,3 (2*H*)-diona (0,0078 mol) y TEA (0,0109 mol) en DCM (20 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se mantuvo a la temperatura ambiente durante un fin de semana. Se añadió carbonato de potasio al 10%. La mezcla se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y el disolvente se evaporó hasta sequedad, obteniéndose 3,3 g (100%) de compuesto intermedio 1.

30

b) *Preparación de*

35



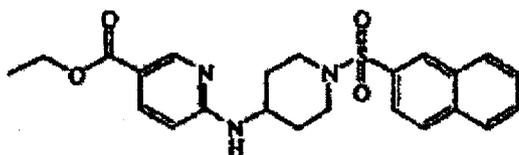
compuesto intermedio 2

45 Una mezcla de compuesto intermedio 1 (0,0078 mol) en monohidrato de hidrazina (3,5 ml) y EtOH (35 ml) se agitó y se mantuvo a reflujo durante 1 hora. Se añadió cloruro de sodio saturado. La mezcla se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad, obteniéndose 2 g (92%) de compuesto intermedio 2, punto de fusión 135°C.

50

c) *Preparación de*

55



compuesto intermedio 3

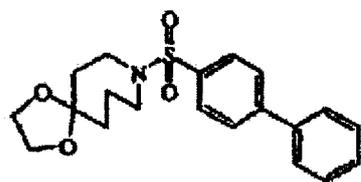
60

65 Una mezcla de compuesto intermedio 2 (0,0036 mol), ácido 6-cloro-3-piridinacarboxílico, éster etílico (0,0043 mol) y carbonato de sodio (0,0054 ml) en DMA (10 ml) se agitó a 130°C durante 18 horas, se vertió en agua y se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo (2,5 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH 99,5/0,5). Las fracciones puras se recogieron y se evaporó el disolvente. El residuo (0,68 g, 43%) se cristalizó en dietil-éter. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,477 g (30%) de compuesto intermedio 3, punto de fusión 215°C.

## Ejemplo A2

## a) Preparación de

5



10

compuesto intermedio 4

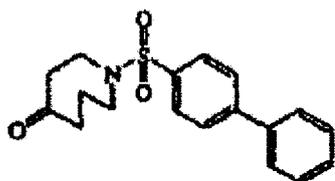
15

Se añadieron TEA (0,0112 mol) y luego una solución de cloruro de [1,1'-bifenil]-4-sulfonilo (0,0112 mol) en DCM (5 ml) a 5°C a una mezcla de 1,4-dioxo-8-azaspiro-[4.6]undecano (0,01 mol) en DCM (10 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 18 horas. Se añadió carbonato de potasio al 10%. La mezcla se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad, obteniéndose 5,1 g (> 100%) de compuesto intermedio 4.

20

## b) Preparación de

25



30

compuesto intermedio 5

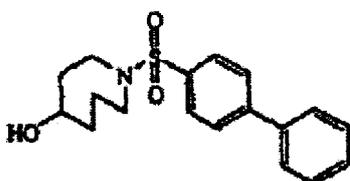
35

Una mezcla de compuesto intermedio 4 (0,01 mol) en HCl 3 N (40 ml) y MeOH (20 ml) se agitó y se mantuvo a reflujo, después de lo cual se enfrió, se vertió en hielo, se basificó con NH<sub>4</sub>OH concentrado y se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad, obteniéndose 3,4 g (100%) de compuesto intermedio 5.

40

## c) Preparación de

45



50

compuesto intermedio 6

55

Se añadió poco a poco hidrobórato de sodio (0,011 mol) a 5°C a una mezcla de compuesto intermedio 5 (0,01 mol) en MeOH (35 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se mantuvo a la temperatura ambiente durante 1 hora, se vertió en agua con hielo y se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente hasta sequedad, obteniéndose 3,2 g (97%) de compuesto intermedio 6.

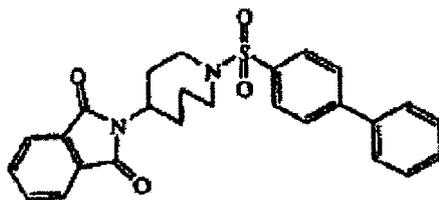
60

65

## ES 2 322 252 T3

### d) Preparación de

5



10

compuesto intermedio 7

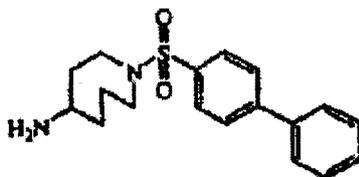
15

Se añadió gota a gota ácido diazenodicarboxílico, bis (1-metiletil)éster (0,0126 mol) a una mezcla de compuesto intermedio 6 (0,0096 mol), 1*H*-isoindol-1,3 (2*H*)-diona (0,0126 mol) y trifenil-fosfina (0,0126 mol) en THF (35 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se mantuvo a la temperatura ambiente durante 18 horas. Se añadió carbonato de potasio al 10%. La mezcla se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y el disolvente se evaporó hasta sequedad. El residuo, (13,1 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente DCM/EtOAc 99/1). Las fracciones puras se recogieron y se evaporó el disolvente, obteniéndose 2,9 g (66%) de compuesto intermedio 7.

20

### e) Preparación de

25



30

compuesto intermedio 8

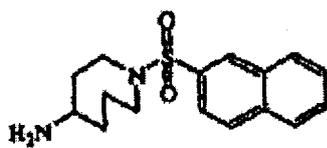
35

Una mezcla de compuesto intermedio 7 (0,0063 mol) en monohidrobromuro de hidrazina (2,9 ml) y EtOH (30 ml) se agitó y se mantuvo a reflujo durante 1 hora, después de lo cual se enfrió. Se añadió NaCl saturado. La mezcla se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo (2,5 g) se cristalizó en aceto-nitrilo/dietil-éter. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,89 g (89%) de compuesto intermedio 8, punto de fusión 141°C.

40

### Preparación de

45



50

compuesto intermedio 19

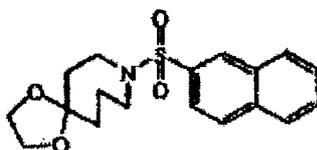
El compuesto intermedio 19 se trató análogamente a lo descrito en el Ejemplo A2 (c, d, e) para dar 0,157 g (52%) de compuesto intermedio 19, punto de fusión 123°C.

55

### Ejemplo A3

#### a) Preparación de

60



65

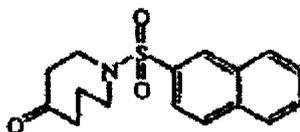
compuesto intermedio 9

## ES 2 322 252 T3

Se añadieron TEA (0,0112 mol) y luego una solución de cloruro de 2-naftalenosulfonilo (0,0112 mol) en DCM (5 ml) a 5°C a una mezcla de 1,4-dioxa-8-azaspiro[4.6]-undecano (0,01 mol) en DCM (10 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 18 horas. Se añadió carbonato de potasio al 10%. La mezcla se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad, obteniéndose 3,9 g (> 100%) de compuesto intermedio 9.

### b) Preparación de

10



15

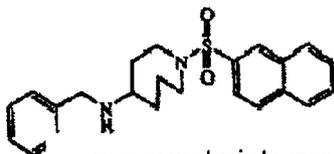
compuesto intermedio 10

Una mezcla de compuesto intermedio 9 (0,01 mol) en ácido clorhídrico (35 ml) y MeOH (35 ml) se agitó y se mantuvo a reflujo durante 30 minutos, se vertió en hielo, se basificó con NH<sub>4</sub>OH y se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó el disolvente a sequedad, obteniéndose 3,4 g (> 100%) de compuesto intermedio 10.

20

### c) Preparación de

25



30

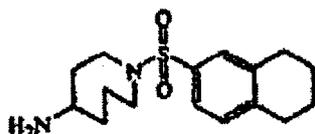
compuesto intermedio 11

Se añadió tetraisopropanolato de titanio (0,012 mol) a la temperatura ambiente a una mezcla de compuesto intermedio 10 (0,01 mol) y benzenometanamina (0,011 mol) en EtOH (40 ml). La mezcla se agitó durante 18 horas. Se añadió poco a poco hidrobórato de sodio (0,011 mol). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 1 hora y 30 minutos. Se añadió carbonato de potasio al 10%. La mezcla se extrajo con DCM. Se filtraron las sales y se lavaron con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad, obteniéndose 2,7 g (70%) de compuesto intermedio 11.

35

### d) Preparación de

40



45

compuesto intermedio 12

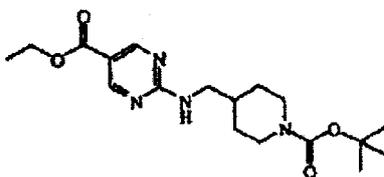
50

Una mezcla de compuesto intermedio 11 (0,0068 mol) y Pd/C al 10% (0,5 g) en ácido acético (3 ml) y MeOH (30 ml) se hidrogenó a 50°C durante 48 horas a una presión de 3 bar, se filtró luego y se lavó con DCM. Se evaporó el filtrado, obteniéndose: 2,55 g (> 100%) de compuesto intermedio 12.

## 55 Ejemplo A4

### a) Preparación de

60



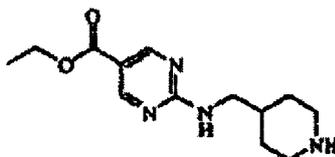
65

compuesto intermedio 13

## ES 2 322 252 T3

Se añadió poco a poco hidruro de sodio al 60% (0,008 mol) a 0°C a una mezcla de ácido 4-(aminometil)-1-piperidinacarboxílico, 1,1-dimetiléster etílico (0,004 mol) en THF (20 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se agitó a 0°C durante 1 hora. Se añadió gota a gota a 0°C una solución de ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidina-carboxílico, éster etílico (0,0052 mol) en THF (10 ml). La mezcla se llevó a la temperatura ambiente, se agitó durante 2 horas, se vertió en agua con hielo y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente. El residuo (1,5 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98/2/0,1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo (0,5 g, 35%) se cristalizó en DIPE. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,28 g de compuesto intermedio 13, punto de fusión 110°C.

b) Preparación de

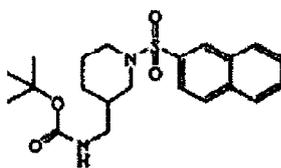


compuesto intermedio 14

Una mezcla de compuesto intermedio 13 (0,016 mol) en ácido clorhídrico 3N (60 ml) y THF (15 ml) se agitó a 80°C durante 6 horas, se vertió en agua con hielo, se basificó con NH<sub>4</sub>OH y se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente, obteniéndose 1,4 g (33%) de compuesto intermedio 14.

Ejemplo A5

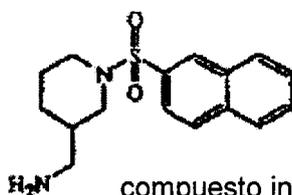
a) Preparación de



compuesto intermedio 15

Se añadió una solución de 1-hidroxi-1H-benzotriazol (0,011 mol) en DCM (5 ml) a 5°C a una mezcla de ácido (3-piperidinilmetil)-carbámico, 1,1-dimetiléster etílico (0,01 mol) y TEA (0,014 mol) en DCM (5 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 18 horas. Se añadió agua. La mezcla se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad, obteniéndose 4 g (100%) de compuesto intermedio 15.

b) Preparación de



compuesto intermedio 16

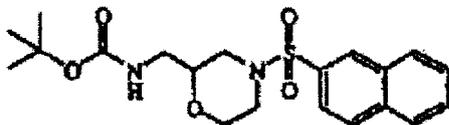
Una mezcla de compuesto intermedio 15 (0,01 mol) en HCl/2-propanol (50 ml) se agitó a 50°C durante 15 minutos, se basificó con NH<sub>4</sub>OH concentrado y se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo se recogió en DCM y se filtró. El filtrado se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó el disolvente a sequedad, obteniéndose 0,53 g (18%) de compuesto intermedio 16.

## ES 2 322 252 T3

### Ejemplo A6

#### a) Preparación de

5



10

compuesto intermedio 17

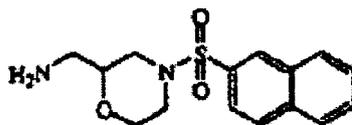
15

Se añadió poco a poco hidruro de sodio al 60% (0,014 mol) a 0°C a una mezcla de ácido (2-morfolinilmetil)-carbámico, 1,1-dimetiletiléster (0,0092 mol) en THF (30 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se agitó a 0°C durante 1 hora. Se añadió una solución de cloruro de 2-naftalenosulfonilo (0,0111 mol) en THF (30 ml). La mezcla se llevó a la temperatura ambiente durante una noche, se vertió en agua con hielo y se extrajo con EtOAc. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente. El residuo (4,9 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: ciclohexano/EtOAc 70/30). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, obteniéndose 2,15 g (58%) de compuesto intermedio 17.

20

#### b) Preparación de

25



30

compuesto intermedio 18

35

Una mezcla de compuesto intermedio 17 (0,0052 mol) en HCl 6N (25 ml) se agitó a 80°C durante 12 horas, se vertió en hielo, se basificó con hidróxido de sodio y se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente, obteniéndose 1 g (63%) de compuesto intermedio 18.

40

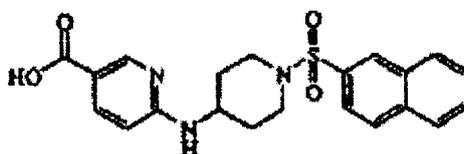
### B. Preparación de los compuestos finales

#### Ejemplo B1

45

#### a) Preparación de

50



55

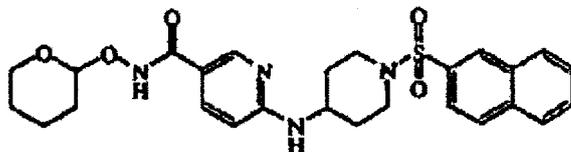
sal de sodio del  
compuesto intermedio 20

60

Una mezcla de compuesto intermedio 3 (0,0014 mol) e hidróxido de sodio (0,0028 mol) en EtOH (10 ml) se agitó y se mantuvo a reflujo durante 2 horas, y se enfrió luego. Se filtró el precipitado, se lavó con EtOH, a continuación con dietil-éter y se secó, obteniéndose 0,5 g (82%) de compuesto intermedio 20.

65

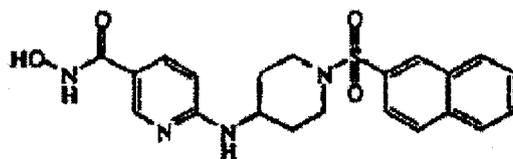
## b) Preparación de



compuesto intermedio 21

Se añadió monohidrocloruro de *N*'-(etilcarbonimidoil)-*N,N*-dimetil-1,3-propanodiamina (0,0013 mol) a una mezcla de compuesto intermedio 20 (0,0011 mol), *O*-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-hidroxilamina (0,0013 mol) y 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol (0,0013 mol) en DCM/THF (10 ml) en corriente de  $N_2$ . La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante una noche. Se añadió carbonato de potasio al 10%. La mezcla se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó ( $MgSO_4$ ), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo (0,95 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40  $\mu m$ ) (eluyente: DCM/MeOH/ $NH_4OH$  97/3/0,2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo (0,48 g, 82%) se cristalizó en acetonitrilo/dietil-éter. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,455 g (77%) de compuesto intermedio 21, punto de fusión 129°C.

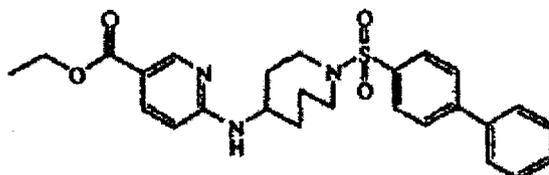
## c) Preparación de

.0,79  $C_2HF_3O_2$   
compuesto 1

Se añadió ácido trifluoroacético (0,5 ml) a una mezcla de compuesto intermedio 21 (0,0007 mol) en MeOH (5 ml). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 18 horas. Se añadió ácido trifluoroacético (0,5 ml). Se agitó la mezcla a la temperatura ambiente durante 18 horas. El disolvente se evaporó hasta sequedad. El residuo se cristalizó en MeOH/DCM/dietil-éter. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,195 g (48%) de compuesto 1.0,79  $C_2HF_3O_2$ , punto de fusión 160°C.

## Ejemplo B2

## Preparación de

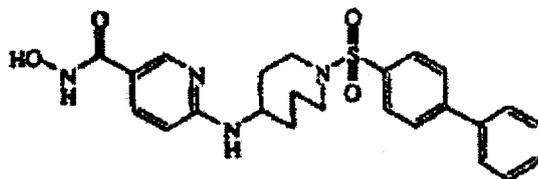


compuesto intermedio 22

Una mezcla de compuesto intermedio 8 (0,0031 mol), ácido 6-cloro-3-piridinacarboxílico, éster etílico (0,0037 mol) y carbonato de sodio (0,0046 mol) en DMA (10 ml) se agitó a 130°C durante 18 horas. Se añadió agua. La mezcla se extrajo varias veces con EtOAc. Se separó la capa orgánica, se secó ( $MgSO_4$ ), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo (2,1 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40  $\mu m$ ) (eluyente: DCM/MeOH 99/1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo (0,414 g, 28%) se cristalizó en dietil-éter. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,294 g (20%) del compuesto intermedio 22, punto de fusión 176°C.

## ES 2 322 252 T3

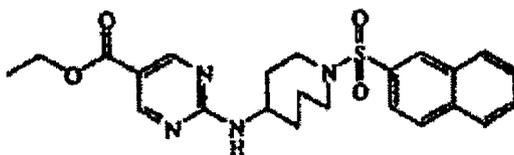
El compuesto intermedio 22 se trató análogamente a lo descrito en el Ejemplo [B1] para dar 0,084 g (61%) de compuesto 2.1,2 H<sub>2</sub>O.0,71 C<sub>2</sub>HF<sub>3</sub>O<sub>2</sub> (1:1), punto de fusión 115°C.



.1,2 H<sub>2</sub>O.0,71 C<sub>2</sub>HF<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
compuesto 2

### Ejemplo B3

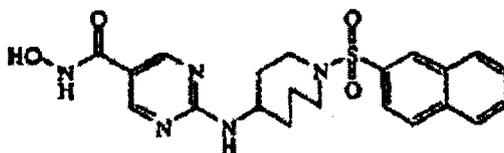
#### Preparación de



compuesto intermedio 23

Se añadió hidruro de sodio al 60% en aceite (0,0045 mol) a 5°C a una mezcla de compuesto intermedio 19 (0,003 mol) en THF (20 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se dejó en reposo durante 1 hora. Se añadió una solución de ácido 2-(metilsulfonil)-5-pirimidinacarboxílico, éster etílico (0,0039 mol) en THF (10 ml). La mezcla se agitó a 5°C durante 2 horas. Se añadió agua. La mezcla se extrajo dos veces con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo (1,5 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH (99/1)). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo (0,47 g, 34%) se cristalizó en dietil-éter. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,224 g (16%) de compuesto intermedio 23, punto de fusión 186°C.

El compuesto intermedio 23 se trató análogamente a lo descrito en el Ejemplo [B1] para dar 0,032 g (26%) de compuesto 3.0,22 C<sub>2</sub>HF<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, punto de fusión 140°C.



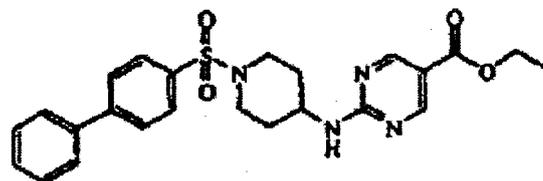
.0,22 C<sub>2</sub>HF<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
compuesto 3

## ES 2 322 252 T3

### Ejemplo B4

#### Preparación de

5



10

15

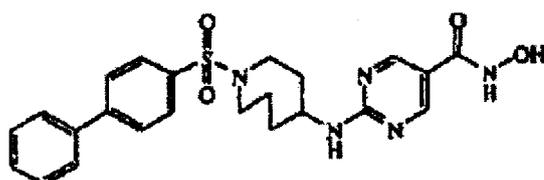
compuesto intermedio 24

20 Se añadió hidruro de sodio (0,0038 mol) a 5°C a una mezcla de compuesto intermedio 8 (0,0025 mol) en THF (20 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se dejó en reposo durante 1 hora. Se añadió una solución de ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidinacarboxílico, éster etílico (0,0033 mol) en THF (10 ml). La mezcla se agitó a 5°C durante 18 horas. Se añadió agua. La mezcla se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y el disolvente se evaporó a sequedad. El residuo (1,1 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-35 μm) (eluyente: ciclohexano/EtOAc 70/30). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo (0,18 g, 15%) se cristalizó en dietil-éter. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,141 g (12%) de compuesto intermedio 24, punto de fusión 151°C.

25

30 El compuesto intermedio 24 se trató análogamente a lo descrito en el Ejemplo [B1] para dar 0,04 g (57%) de compuesto 4.C<sub>2</sub>HF<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, punto de fusión 227°C.

30



35

40

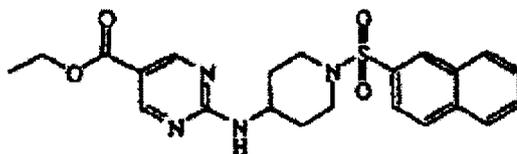
.C<sub>2</sub>HF<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
compuesto 4

### Ejemplo B5

#### Preparación de

45

50



55

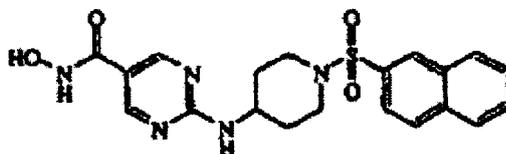
compuesto intermedio 25

60

65 Se añadió hidruro de sodio al 60% en aceite (0,0045 mol) a 5°C a una mezcla de compuesto intermedio 2 (0,003 mol) en THF (15 ml) en corriente de N<sub>2</sub>. La mezcla se dejó en reposo durante 1 hora. Se añadió una solución de ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidinacarboxílico, éster etílico (0,0039 mol) en THF (10 ml). La mezcla se agitó a 5°C durante 2 horas. Se añadió agua. La mezcla se extrajo dos veces con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo (1,1 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH 99/1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo (0,49 g, 36%) se cristalizó en acetonitrilo. Se filtró el precipitado, se lavó con dietil-éter y se secó, obteniéndose 0,172 g (13%) de compuesto intermedio 25, punto de fusión 226°C.

## ES 2 322 252 T3

El compuesto intermedio 25 se trató análogamente a lo descrito en el Ejemplo [B1] para dar 0,064 g (49%) de compuesto  $5.0,17\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$ , punto de fusión  $256^\circ\text{C}$ .

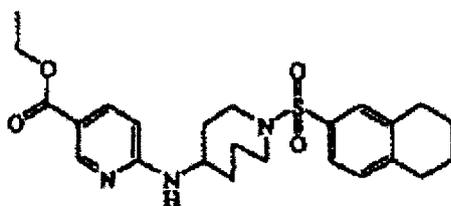


$.0,17\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$

compuesto 5

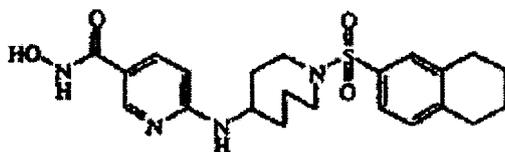
### 20 Ejemplo B6

*Preparación de*



compuesto intermedio 26

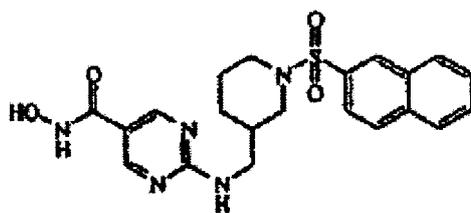
Una mezcla de compuesto intermedio 12 (0,0052 mol) ácido 6-cloro-3-piridinacarboxílico, éster etílico (0,0062 mol) y carbonato de sodio (0,0078 mol) en DMA (20 ml) se agitó a  $130^\circ\text{C}$  durante 18 horas. Se añadió agua. La mezcla se extrajo con EtOAc. Se separó la capa orgánica, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró, y se evaporó el disolvente hasta sequedad. El residuo (2,6 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice ( $15\text{-}40\ \mu\text{m}$ ) (eluyente: DCM/MeOH 99/1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, obteniéndose 0,64 g (27%) de compuesto intermedio 26, punto de fusión  $146^\circ\text{C}$ . El compuesto intermedio 26 se trató análogamente a lo descrito en el Ejemplo [B1] para dar 0,263 (67%) del compuesto  $6\ \text{H}_2\text{O} \cdot 0,73\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$ , punto de fusión  $115^\circ\text{C}$ .



$\cdot\text{H}_2\text{O} \cdot 0,73\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$

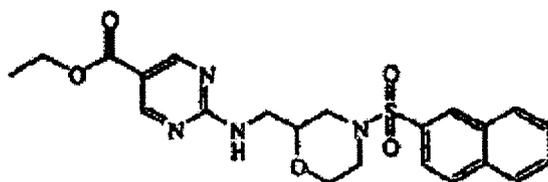
compuesto 6





compuesto 8

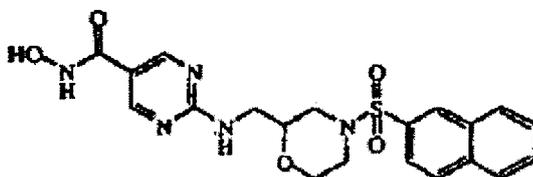
## Ejemplo B9

*Preparación de*

compuesto intermedio 29

Se agitó una mezcla de compuesto intermedio 18 (0,0019 mol), ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidina-carboxílico, éster etílico (0,0025 mol) y carbonato de potasio (0,0039 mol) en acetonitrilo (15 ml) a la temperatura ambiente durante 12 horas, se vertió en agua con hielo y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se evaporó el disolvente. El residuo (1 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/EtOAc 80/20). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo (0,48 g, 89%) se cristalizó en CH<sub>3</sub>CN/dietil-éter. El precipitado se separó por filtración y se secó, obteniéndose 0,2 g de compuesto intermedio 29, punto de fusión 168°C.

El compuesto intermedio 29 se manipuló análogamente a lo descrito en el Ejemplo [B1] para dar 0,08 g (73%) de compuesto 9, punto de fusión 226°C.



compuesto 9

# ES 2 322 252 T3

La Tabla F-1 enumera los compuestos que se prepararon de acuerdo con uno de los ejemplos anteriores. En la tabla se utilizaron las abreviaturas siguientes:  $C_2HF_3O_2$  representa la sal trifluoroacetato.

TABLA F-1

5

10

15

20

25

30

35

40

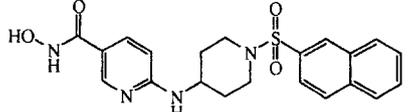
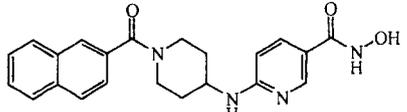
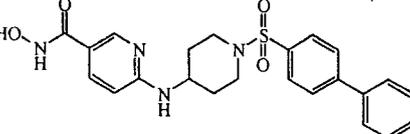
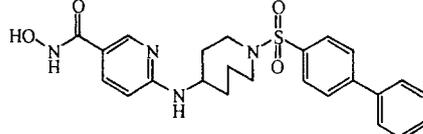
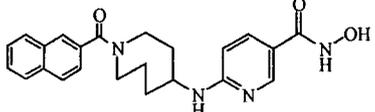
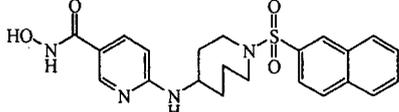
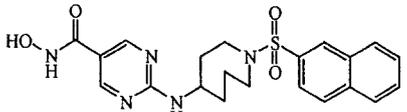
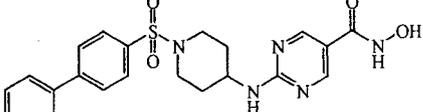
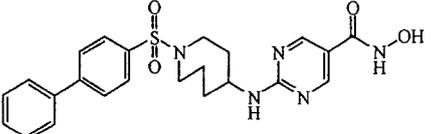
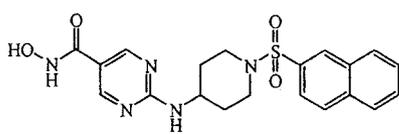
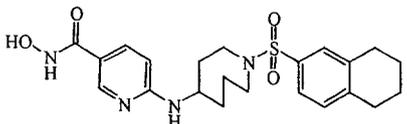
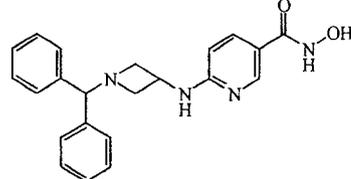
45

50

55

60

65

	
<p>.0,79 <math>C_2HF_3O_2</math>; Co. No. 1; Ej. [B1]; pf. 160°C</p>	<p>.0,83 <math>C_2HF_3O_2</math>; Co. No. 10; Ej. [B1]; pf. 182°C</p>
	
<p>0,84 <math>C_2HF_3O_2</math>; Co. No. 11; Ej. [B1]; pf. 188°C</p>	<p>.1,2 <math>H_2O</math> .0,71 <math>C_2HF_3O_2</math>; Co. No. 2; Ej. [B2]; pf. 115°C</p>
	
<p>.2 <math>H_2O</math> .0,53 <math>C_2HF_3O_2</math>; Co. No. 12; Ej. [B2]; pf. 147°C</p>	<p>Co. No. 13; Ej. [B2]; pf. 213°C</p>
	
<p>.0,22 <math>C_2HF_3O_2</math>; Co. No. 3; Ej. [B3]; pf. 140 °C</p>	<p>Co. No. 14; Ej. [B3]; pf. 250°C</p>
	
<p>.<math>C_2HF_3O_2</math>; Co. No. 4; Ej. [B4]; pf. 227°C</p>	<p>.0,17 <math>C_2HF_3O_2</math>; Co. No. 5; Ej. [B5]; pf. 256°C</p>
	
<p>.<math>H_2O</math> .0,73 <math>C_2HF_3O_2</math>; Co. No. 6; Ej. [B6]; pf. 146°C</p>	<p>.2,27 <math>C_2HF_3O_2</math>; Co. No. 15; Ej. [B6]; pf. 192°C</p>

5		
10	Co. No. 7; Ej. [B7]; pf. 240°C	Co. No. 8; Ej. [B8]; pf. 137°C
15		
20	Co. No. 9; Ej. [B9]; pf. 226°C	

### C. Ejemplo farmacológico

25 El ensayo *in vitro* para inhibición de la histona-desacetilasa (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  
30 65:55-63, 1983) (véase Ejemplo C.2).

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

35 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.

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 del organismo para manejar 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 el Ejemplo C.4). 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.

50 El supresor de tumores p53 activa por transcripción cierto número de genes que incluyen el gen WAF1/CIP1 en respuesta al deterioro del DNA. El producto de 21 kDa del gen WAF1 se encuentra en un complejo que implica ciclinas, quinasas dependientes de ciclinas (CDKs), y el antígeno nuclear de las células proliferantes (PCNA) en células normales, pero no en células transformadas, y parece ser un inhibidor universal de la actividad de CDK. Una consecuencia de la unión p21WAF1 a las CDKs e inhibición de las mismas es la prevención de la fosforilación dependiente de CDK y la desactivación subsiguiente de la proteína Rb, que es esencial para la progresión del ciclo celular. La inducción de p21WAF1 en respuesta al contacto celular con un inhibidor de HDAC es por consiguiente un indicador potente y específico de la inhibición de la progresión del ciclo celular en ambos puntos de comprobación G1 y G2.

60 La capacidad de los compuestos para inducir p21WAF1 se midió con el ensayo de inmunsorbente unido a enzima de p21WAF1 (ELISA WAF1 de Oncogene). El ensayo p21WAF1 es un inmunoensayo enzimático "sándwich" que emplea a la vez anticuerpos monoclonales de ratón y policlonales de conejo. Un anticuerpo policlonal de conejo, específico para la proteína humana WAF1, ha sido inmovilizado en la superficie de los pocillos de plástico proporcionados en el kit. Cualquier p21WAF presente en la muestra a ensayar se unirá al anticuerpo de captura. El anticuerpo monoclonal detector biotinilado reconoce también la proteína humana p21WAF1, y se unirá a cualquier p21WAF1, que haya sido retenida por el anticuerpo de captura. El anticuerpo detector, a su vez, está unido por estreptavidina conjugada a peroxidasa de rábano picante. La peroxidasa de rábano picante cataliza la conversión del sustrato cromógeno tetrametilbencidina de una solución incolora a una solución azul (o amarilla después de la adición de reactivo de parada),

## ES 2 322 252 T3

cuya intensidad es proporcional a la cantidad de proteína p21WAF1 unida a la placa. El producto de reacción coloreado se cuantifica utilizando un espectrofotómetro. La cuantificación se consigue por la construcción de una curva estándar utilizando concentraciones conocidas de p21WAF1 (que se proporciona liofilizada) (véase Ejemplo C.5).

### 5 Ejemplo C.1

#### *Ensayo in vitro para Inhibición de la Histona-desacetilasa*

10 Se incubaron extractos nucleares HeLa (suministrador: Biomol) a 60  $\mu\text{g/ml}$  con  $2 \times 10^{-8}$  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  $\text{NH}_2$  con un espaciador de ácido 6-aminohexanoico, y está protegido en la parte del terminal COOH por un grupo amida y específicamente [ $^3\text{H}$ ]acetilado en la lisina 16. El sustrato, biotin-(6-aminohexanoico)Gly-Ala-([ $^3\text{H}$ ]-acetil-Lys-Arg-His-Arg-Lys-Val- $\text{NH}_2$ ), se añadió  
15 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  $^3\text{H}$ -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  $\beta$ .

20 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  $10^{-5}$  M. Cuando los compuestos exhibían actividad a  $10^{-5}$  M, se construyó una curva  
25 concentración-respuesta en la cual los compuestos se testaron a concentraciones comprendidas entre  $10^{-5}$  M y  $10^{-12}$  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  $\text{CI}_{50}$  apropiados (concentración del fármaco necesaria para reducir la cantidad de metabolitos al 50% del control) utilizando análisis probit para datos graduados.  
30 En este caso, los efectos de los compuestos de test se expresan como  $\text{pCI}_{50}$  (el valor del logaritmo negativo del valor  $\text{CI}_{50}$ ). Todos los compuestos testados exhibían actividad enzimática para una concentración de test de  $10^{-5}$  M, y 14 compuestos tenían un valor  $\text{pCI}_{50} \geq 5$  (véase tabla F-2).

### 35 Ejemplo C.2

#### *Determinación de la Actividad Antiproliferativa en las Células A2780*

40 Todos los compuestos testados se disolvieron en DMSO y se hicieron diluciones adicionales en medio de cultivo. Las concentraciones finales de 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).

45 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  $\mu\text{g/ml}$  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  $\text{CO}_2$ . 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  
50 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 de 96 pocillos NUNC<sup>TM</sup> (suministrador: Life Technologies) y se dejó que se adhirieran al plástico durante una noche. Las densidades utilizadas para la extensión en placa fueron  
55 1500 células por pocillo en un volumen total de 200  $\mu\text{l}$  de medio. Después de la adhesión de las células a las placas, se cambió el medio y se añadieron fármacos y/o disolventes a un volumen final de 200  $\mu\text{l}$ . Después de 4 días de incubación, se reemplazó el medio por 200  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$  de solución de MTT y se incubaron luego 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  $\mu\text{l}$  de tampón de glicina seguido por 100  $\mu\text{l}$  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 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  
65 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

## ES 2 322 252 T3

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 14 compuestos tenían un valor  $pCI_{50} \geq 5$  (véase la Tabla F-2).

### Ejemplo C.3

#### *Solubilidad Cinética en Medios Acuosa*

En el primer paso de dilución, se añadieron 10  $\mu l$  de una solución stock concentrada del compuesto activo, solubilizado en DMSO (5 mM), a 100  $\mu l$  de tampón fosfato-citrato de pH 7,4 y se mezclaron. En el segundo paso de dilución, se dosificó adicionalmente una parte alícuota (20  $\mu l$ ) del primer paso de dilución en 100  $\mu l$  de tampón fosfato-citrato de pH 7,4 y se mezcló. Finalmente, en el tercer paso de dilución, se diluyó ulteriormente una muestra (20  $\mu l$ ) del segundo paso de dilución en 100  $\mu l$  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 14 compuestos. De estos compuestos, 6 exhibían un registro de 3, 2 tenían un registro de 2 y 6 demostraron un registro de 1 (véase la Tabla F-2).

### Ejemplo C.4

#### *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. El tejido hepático se lavó 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 introducido 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 del peso de tejido original y se designó "microsomos".

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  $\mu M$ ), 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 se guardaron los sobrenadantes 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 X Terra MSC<sub>8</sub> (50 x 4,6 mm, 5  $\mu m$ , 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/acetonitrilo (95/5)), siendo el disolvente B acetonitrilo y el disolvente C metanol a un caudal de 2,4 ml/min. El gradiente empleado iba aumentando en la concentración de la fase orgánica 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  $\mu l$ .

## ES 2 322 252 T3

Se utilizó como detector un espectrómetro de masas cuadrupolo triple Quattro (suministrador: Micromass, Manchester, Reino Unido) 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 gas nebulizador y desecante. Se adquirieron los datos en modalidad de barrido positiva (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 =

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

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-alta se incluyó propanol (25% de metabolismo). Estos compuestos de referencia se utilizaron para validar el ensayo de estabilidad metabólica.

Se testaron tres compuestos. Un compuesto tenía un porcentaje de metabolismo menor que 20%, y dos compuestos tenían un porcentaje de metabolismo entre 20% y 70%.

### Ejemplo C.5

#### Capacidad de Inducción de p21

Se ha aplicado el protocolo siguiente para determinar el nivel de expresión de la proteína p21 en células de carcinoma de ovario humano A2780. Las células A2780 (20.000 células/180  $\mu$ l) se sembraron en placas de 96 pocillos en medio RPMI 1640 suplementado con L-glutamina 2 mM, 50  $\mu$ g/ml de gentamicina y 10% de suero de ternero fetal. 24 horas antes de la lisis de las células, se añadieron los compuestos a concentraciones finales de  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  y  $10^{-8}$  M. Todos los compuestos testados se disolvieron en DMSO y se realizaron diluciones posteriores en medio de cultivo. 24 horas después de la adición del compuesto, se separaron los sobrenadantes de las células. Las células se lavaron con 200  $\mu$ l de PBS enfriado en hielo. Se aspiraron las células y se añadieron 30  $\mu$ l de tampón de lisis (Tris.HCl 50 mM (pH 7,6), NaCl 150 mM, 1% de Nonidet p40 y 10% de glicerol). Se incubaron las placas durante una noche a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Se retiraron de la bolsa de papel metalizado el número apropiado de pocillos de microtitulación y se pusieron en un recipiente de pocillos vacío. Se preparó una solución de trabajo (1x) del Tampón de Lavado (concentrado de lavado de placas 20x: 100 ml de solución concentrada 20 veces de PBS y agente tensioactivo. Contiene 2% de cloroacetamida). El estándar liofilizado de p21WAF1 se reconstituyó con agua destilada y se diluyó ulteriormente con diluyente de muestras (proporcionado en el kit).

Las muestras se prepararon por dilución de las mismas en relación 1:4 en diluyente de muestras. Las muestras (100  $\mu$ l) y los estándares de p21WAF1 (100  $\mu$ l) se pipetearon en los pocillos apropiados y se incubaron a la temperatura ambiente durante 2 horas. Se lavaron 3 veces los pocillos con 1x tampón de lavado y se pipetearon luego en cada pocillo 100  $\mu$ l de reactivo de anticuerpo detector (una solución de anticuerpo biotinilado monoclonal p21WAF1). Los pocillos se incubaron a la temperatura ambiente durante 1 hora y se lavaron luego 3 veces con 1 x tampón de lavado. El conjugado 400 x (conjugado estreptavidina-peroxidasa: solución concentrada 400 veces) se diluyó y se añadieron a los pocillos 100  $\mu$ l de la solución 1x. Los pocillos se incubaron a la temperatura ambiente durante 30 min y se lavaron luego 3 veces con tampón de lavado 1x y una vez con agua destilada. Se añadió a los pocillos la solución sustrato (sustrato cromógeno) (100  $\mu$ l) y se incubaron los pocillos durante 30 minutos en la oscuridad a la temperatura ambiente. Se añadió a cada pocillo solución de parada en el mismo orden que la solución sustrato añadida previamente. Se midió la absorbancia en cada pocillo utilizando un lector de placas espectrofotométrico para longitudes de onda duales de 450/595 nm.

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 los controles y las muestras. Para cada muestra, se expresó el valor para la inducción de p21WAF1 (en unidades de absorbancia) como el porcentaje del valor para p21WAF1 presente en el control. Un porcentaje de inducción mayor que 130% se definió como inducción significativa. Se testaron tres compuestos en este ensayo y exhibían inducciones significativas.

## ES 2 322 252 T3

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.

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

Co. No.	Actividad enzimática pCI50	Actividad celular pCI50	Registro de solubilidad
15	<5	<5	3
10	6,81	5,396	3
1	7,676	5,61	3
3	7,306	5,506	2
11	6,594	5,6	1
5	7,525	5,473	3
4	7,314	5,838	1
14	7,077	5,201	1
6	6,853	5,345	2
12	7,592	5,718	3
2	6,871	5,804	1
13	6,934	5,452	
7	7,408	5,109	1
8	7,23	5,721	1
9	7,161	5,667	3

### D. Ejemplo de composición: Tabletas recubiertas de película

#### *Preparación del núcleo de la tableta*

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).

#### *Revestimiento*

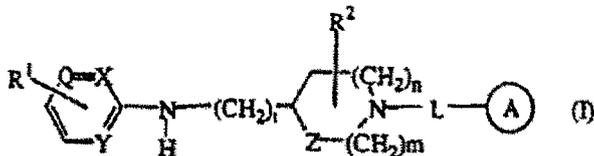
A una solución de 10 g de metil-celulosa en 75 mg de etanol desnaturalizado se añade una solución de 5 g de etil-celulosa en 150 ml de diclorometano. Se añaden luego 75 ml de diclorometano y 2,5 ml de 1,2,3-propanotriol; se funden 10 g de polietilenglicol y se disuelven en 75 ml de diclorometano. Se 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 revisten con la mezcla así obtenida en un aparato de revestimiento.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I),

5

10



15 las formas de *N*-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables y las formas estereoquímicamente isómeras de la misma, en donde

n es 0, 1, 2 ó 3 y cuando n es 0 entonces debe entenderse un enlace directo;

20 m es 0, 1, 2 ó 3, y cuando m es 0 entonces debe entenderse un enlace directo;

t es 0 ó 1, y cuando t es 0 entonces debe entenderse un enlace directo;

25 cada Q es nitrógeno o ;

30 cada X es nitrógeno o ;

35 cada Y es nitrógeno o ;

40 cada Z es -CH<sub>2</sub>- o -O-;

R<sup>1</sup> es -C(O)NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -N(H)C(O)R<sup>7</sup>, -C(O)-alcanodifilC<sub>1-6</sub>-SR<sup>7</sup>, -NR<sup>8</sup>C(O)N(OH)R<sup>7</sup>, -NR<sup>8</sup>C(O)alcanodifilC<sub>1-6</sub>-SR<sup>7</sup> o -NR<sup>8</sup>C(O)C=N(OH)R<sup>7</sup> en donde R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxilo, alquiloC<sub>1-6</sub>, hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>, aminoalquiloC<sub>1-6</sub> o amino-arilo;

R<sup>7</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquilC<sub>1-6</sub>-carbonilo, aril-alquiloC<sub>1-6</sub>, alquilC<sub>1-6</sub>-pirazinilo, piridinona, pirrolidinona o metilimidazolilo;

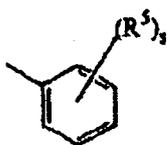
R<sup>8</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno o alquiloC<sub>1-6</sub>;

45 R<sup>2</sup> es hidrógeno, hidroxilo, amino, hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub>, aril-alquiloC<sub>1-6</sub>, aminocarbonilo, hidroxicarbonilo, aminoalquiloC<sub>1-6</sub>, amino-carbonil-alquiloC<sub>1-6</sub>, hidroxicarbonil-alquiloC<sub>1-6</sub>, hidroxiaminocarbonilo, alquiloxiC<sub>1-6</sub>carbonilo, alquilaminoC<sub>1-6</sub>-alquiloC<sub>1-6</sub>, o di(alquiloC<sub>1-6</sub>)amino-alquiloC<sub>1-6</sub>;

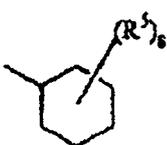
50 -L- es un radical bivalente seleccionado de alcanodifiloC<sub>1-6</sub>, carbonilo, sulfonilo, o alcanodifiloC<sub>1-6</sub> sustituido con fenilo;

55 es un radical seleccionado de

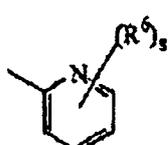
60



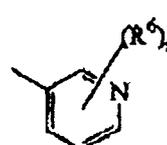
(a-1)



(a-2)

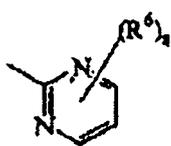


(a-3)

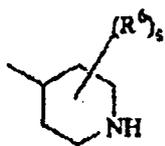


(a-4)

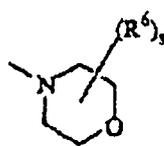
65



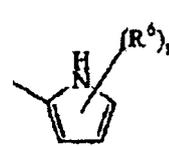
(a-5)



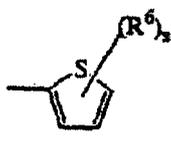
(a-6)



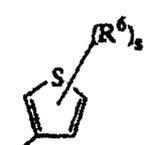
(a-7)



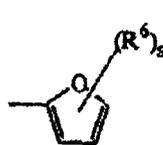
(a-8)



(a-9)



(a-10)



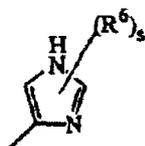
(a-11)



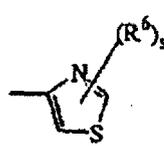
(a-12)



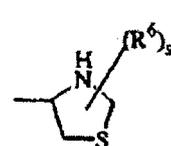
(a-13)



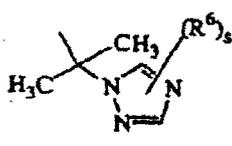
(a-14)



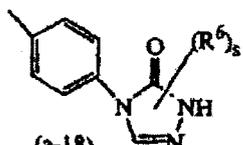
(a-15)



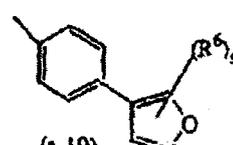
(a-16)



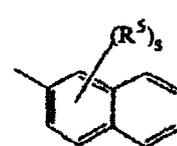
(a-17)



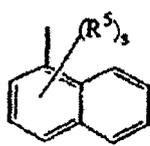
(a-18)



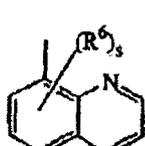
(a-19)



(a-20)



(a-21)



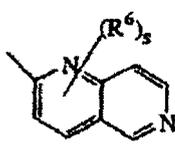
(a-22)



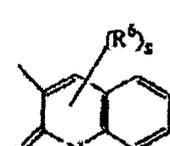
(a-23)



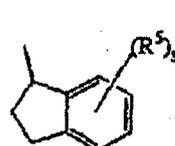
(a-24)



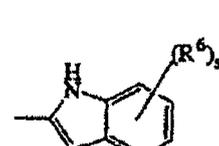
(a-25)



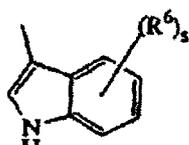
(a-26)



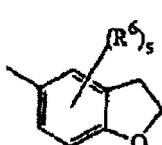
(a-27)



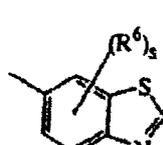
(a-28)



(a-29)



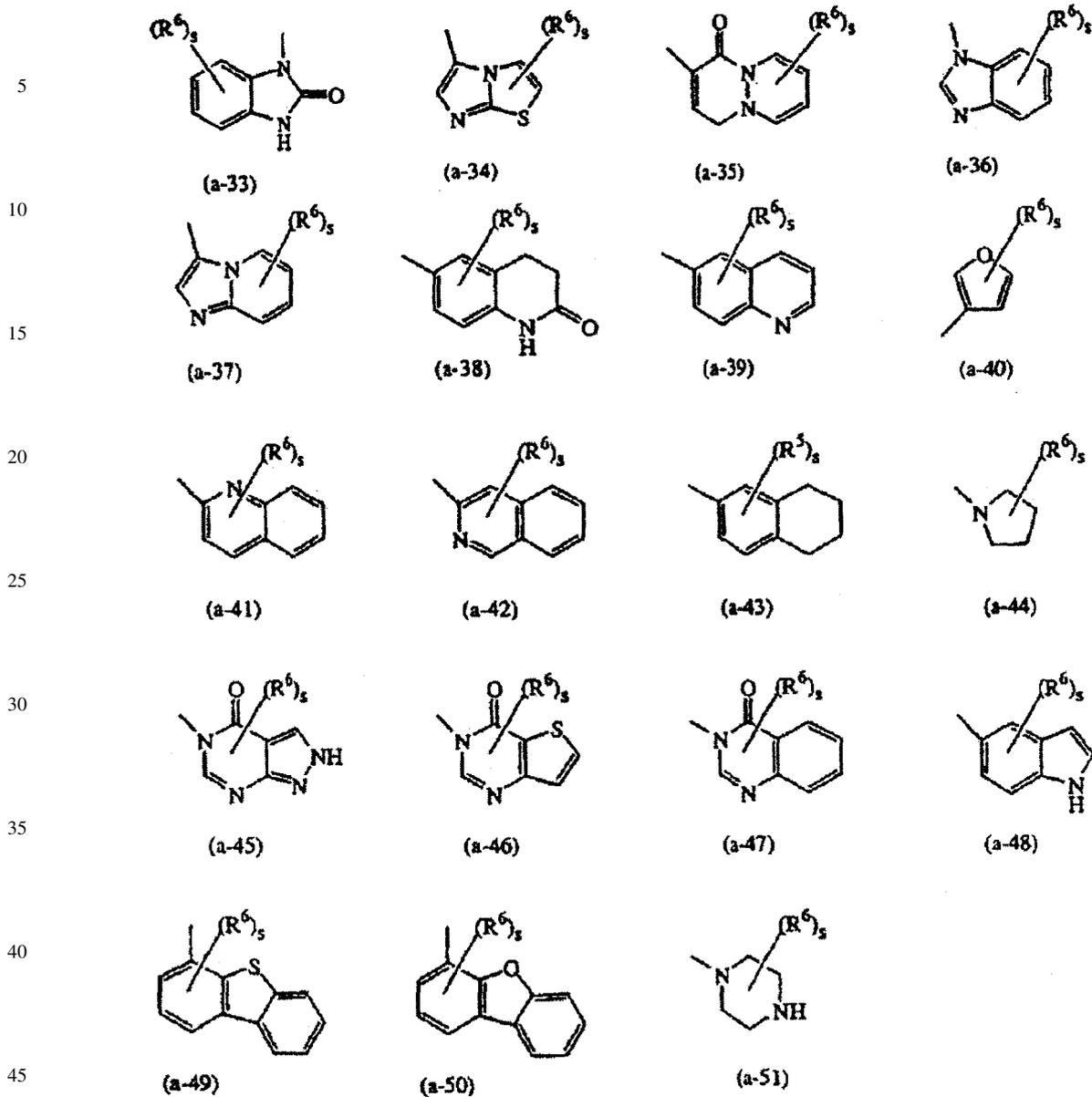
(a-30)



(a-31)



(a-32)



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 $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$  sustituido con arilo y cicloalquilo $C_{3-10}$ ; alquilo $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$ alquilo $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$ carbonilo; alquilo $C_{1-6}$ carbonilo; alquilsulfonilo $C_{1-6}$ ; cianoalquilo $C_{1-6}$ ; hidroxialquilo $C_{1-6}$ ; hidroxialquilo $C_{1-6}$ ; hidroxialquilamino $C_{1-6}$ ; amino-alquilo $C_{1-6}$ ; di(alquilo $C_{1-6}$ )aminocarbonilo; di(hidroxialquilo $C_{1-6}$ )amino; (arilo) (alquilo $C_{1-6}$ )amino; di(alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$ ; di(alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilamino $C_{1-6}$ ; di(alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$ alquilo $C_{1-6}$ ; arilsulfonilo; arilsulfonilamino; ariloxi; ariloxialquilo $C_{1-6}$ ; aril $C_{2-6}$ -alqueno $C_{1-6}$ ; 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; aminosulfonil-amino-(alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$ ; di(alquilo $C_{1-6}$ )aminosulfonil-amino (alquilo $C_{1-6}$ )amino; di(alquilo $C_{1-6}$ )amino-sulfonil-amino (alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$ ; ciano; tiofenilo; tiofenilo sustituido con di(alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$  (alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$ , di(alquilo $C_{1-6}$ )aminoalquilo $C_{1-6}$ , alquilo $C_{1-6}$ -piperaziril-alquilo $C_{1-6}$ , hidroxialquilo $C_{1-6}$ -piperaziril-alquilo $C_{1-6}$ , alquilo $C_{1-6}$ -piperaziril-alquilo $C_{1-6}$ , di(alquilo $C_{1-6}$ )aminosulfonilpiperaziril-alquilo $C_{1-6}$ , alquilo $C_{1-6}$ -piperidino, alquilo $C_{1-6}$ -piperidino-alquilo $C_{1-6}$ , morfolinil-alquilo $C_{1-6}$ , 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; pirrolidino; pirrolilo; piperidino-alquilo $C_{1-6}$ ; morfolinilo; alquilo $C_{1-6}$ morfolinilo; morfolinil-alquilo $C_{1-6}$ ; morfolinil-

## ES 2 322 252 T3

alquilaminoC<sub>1-6</sub>; morfolinil-alquilaminoC<sub>1-6</sub>alquiloC<sub>1-6</sub>; piperazinilo; alquilC<sub>1-6</sub>-piperazinilo; alquilC<sub>1-6</sub>piperazinil-  
 alquiloxiC<sub>1-6</sub>; piperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; naftalenilsulfonilpiperazinilo; naftalenilsulfonilpiperidinilo; naftalenilsulfo-  
 nilo; alquilC<sub>1-6</sub>-piperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; al-quilC<sub>1-6</sub>piperazinil-alquilaminoC<sub>1-6</sub>; alquilC<sub>1-6</sub>-piper-azinil-alquilamino-  
 C<sub>1-6</sub>alquiloC<sub>1-6</sub>; alquil C<sub>1-6</sub>piper-azinilsulfonilo; aminosulfonilpiperazinil-alquiloxi-C<sub>1-6</sub>; aminosulfonilpiperazinilo;  
 5 aminosulfonilpiperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; di(alquiloC<sub>1-6</sub>)-aminosulfonil-piperazinilo; di(alquiloC<sub>1-6</sub>)amino-sulfonilpiper-  
 azinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; hidroxialquil C<sub>1-6</sub>piperazinilo; hidroxialquilC<sub>1-6</sub>piperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; alquiloxi-C<sub>1-6</sub>piperidinilo;  
 alquiloxiC<sub>1-6</sub>piperidinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; piperidinilaminoalquilaminoC<sub>1-6</sub>; piperidinilaminoalquil C<sub>1-6</sub>-aminoalquiloC<sub>1-6</sub>;  
 (alquilC<sub>1-6</sub>piperidinil)-(hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>)aminoalquilaminoC<sub>1-6</sub>; (alquilC<sub>1-6</sub>piperidinil) (hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>)ami-  
 noalquilo-C<sub>1-6</sub>aminoalquiloC<sub>1-6</sub>; hidroxialquiloxiC<sub>1-6</sub>-alquilC<sub>1-6</sub>-piperazinilo; hidroxialquiloxiC<sub>1-6</sub>-alquilC<sub>1-6</sub>piper-  
 10 azinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; (hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>) (alquilo-C<sub>1-6</sub>)amino; (hidroxialquil C<sub>1-6</sub>) (alquiloC<sub>1-6</sub>)amino-alquiloC<sub>1-6</sub>;  
 hidroxialquilaminoC<sub>1-6</sub>alquiloC<sub>1-6</sub>; di(hidroxialquil C<sub>1-6</sub>)aminoalquiloC<sub>1-6</sub>; pirrolidinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; pirroli-  
 dinil-alquiloxiC<sub>1-6</sub>; pirazolilo; tiopirazolilo; pirazolilo sustituido con dos sustituyentes seleccionados de  
 alquiloC<sub>1-6</sub> o trihaloalquiloC<sub>1-6</sub>; piridinilo; piridinilo sustituido con alquiloxiC<sub>1-6</sub>, ariloxi o arilo; pirimidi-  
 nilo; tetrahidropirimidinilpiperazinilo; tetrahidropirimidinilpiperazinil-alquiloC<sub>1-6</sub>; quinolinilo; indolilo; fenilo;  
 15 fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente de halo, amino,  
 nitro, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub>, hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>, trifluorometilo, trifluorometiloxi, hidroxialquiloxiC<sub>1-4</sub>,  
 alquilsulfoniloC<sub>1-4</sub>, alquiloxiC<sub>1-4</sub>alquil-oxiC<sub>1-4</sub>, alquiloxiC<sub>1-4</sub>carbonilo, aminoalquiloxiC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)  
 aminoalquiloxiC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminocarbonilo, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, di  
 (alquiloC<sub>1-4</sub>)-amino-alquilC<sub>1-4</sub>aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)-amino (alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)amino  
 20 (alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquilC<sub>1-4</sub> (alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquilC<sub>1-4</sub>  
 (alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, aminosulfonilamino (alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, aminosulfonilamino (alquiloC<sub>1-4</sub>)-  
 aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, di(C<sub>1-4</sub>alquil)-aminosulfonilamino (alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, di(alquil C<sub>1-4</sub>)aminosulfonilamino  
 (alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-6</sub>, ciano, piperidinil-alquiloxiC<sub>1-4</sub>, pirrolidinil-alquiloxiC<sub>1-4</sub>, aminosulfonilpi-  
 perazinilo, aminosulfonilpiperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)-amino-sulfonilpiperazinilo, di(alquiloC<sub>1-4</sub>)-  
 25 amino-sulfonilpiperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, hidroxialquilC<sub>1-4</sub>-piperazinilo, hidroxialquilC<sub>1-4</sub>piperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>,  
 alquiloxiC<sub>1-4</sub>piperidinilo, alquiloxiC<sub>1-4</sub>piperidinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, hidroxialquiloxiC<sub>1-4</sub>-alquilC<sub>1-4</sub>piper-azinilo,  
 hidroxialquiloxiC<sub>1-4</sub>alquilC<sub>1-4</sub>piperazinil-alquilC<sub>1-4</sub>, (hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)-(alquiloC<sub>1-4</sub>)amino, (hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)  
 (alquil C<sub>1-4</sub>)aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, di(hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)-amino, di(hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)-aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, furanilo, fu-  
 ranilo sustituido con -CH=CH-CH=CH-, pirrolidinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, pirrolidinil-alquiloxiC<sub>1-4</sub>, morfolinilo, morfolinil-  
 30 alquiloxiC<sub>1-4</sub>, morfolinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, morfolinil-alquilaminoC<sub>1-4</sub>, morfolinilalquilC<sub>1-4</sub>aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, piper-  
 azinilo, alquilC<sub>1-4</sub>piperazinilo, alquilC<sub>1-4</sub>-piperazinil-alquiloxiC<sub>1-4</sub>, piperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, alquil C<sub>1-4</sub>piperazinil-  
 alquiloC<sub>1-4</sub>, alquilC<sub>1-4</sub>piper-azinil-alquilaminoC<sub>1-4</sub>, alquilC<sub>1-4</sub>piperazinilalquil-aminoC<sub>1-4</sub>-alquiloC<sub>1-6</sub>, tetrahi-  
 dropirimidinilpiperazinilo, tetrahidropirimidinilpiperazinil-alquiloC<sub>1-4</sub>, piperidinilaminoalquilaminoC<sub>1-4</sub>, pi-  
 peridinilamino-alquilaminoC<sub>1-4</sub>alquiloC<sub>1-4</sub>, (alquilC<sub>1-4</sub>piperidinil) (hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquil-aminoC<sub>1-4</sub>,  
 35 (alquilC<sub>1-4</sub>-piperidinil) (hidroxialquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquil -C<sub>1-4</sub>aminoalquiloC<sub>1-4</sub>, piridinil - alquiloxiC<sub>1-4</sub>,  
 hidroxialquilaminoC<sub>1-4</sub>, hidroxi-alquilaminoC<sub>1-4</sub>-alquiloC<sub>1-4</sub>, di (alquiloC<sub>1-4</sub>)aminoalquilaminoC<sub>1-4</sub>, aminotia-  
 diazolilo, aminosulfonilpiperazinil-alquiloxiC<sub>1-4</sub>, o tiofenil-alquilaminoC<sub>1-4</sub>;

40 cada R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> 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 independien-  
 temente de halo, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub>, trifluorometilo, ciano o hidroxicarbonilo.

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

t es 0;

50 R<sup>1</sup> es -C(O)NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -C(O)-alcanodifilC<sub>1-6</sub>-SR<sup>7</sup>, -NR<sup>8</sup>C(O)N(OH)R<sup>7</sup>; -NR<sup>8</sup>C(O)alcanodifilC<sub>1-6</sub>-SR<sup>7</sup> o -NR<sup>8</sup>C  
 (O)C=N(OH)R<sup>7</sup>,

en donde R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, hidroxilo, hidroxialquiloC<sub>1-6</sub> o  
 aminoalquiloC<sub>1-6</sub>;

55 R<sup>2</sup> es hidrógeno, hidroxilo, amino, hidroxialquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloC<sub>1-6</sub>, alquiloxiC<sub>1-6</sub>, aril-alquiloC<sub>1-6</sub>, aminocarbo-  
 nilo, aminoalquiloC<sub>1-6</sub>, alquilaminoC<sub>1-6</sub>alquiloC<sub>1-6</sub> o di (alquiloC<sub>1-6</sub>)aminoalquiloC<sub>1-6</sub>;

-L- es un radical bivalente seleccionado de alcanodifilC<sub>1-6</sub>, carbonilo o sulfonilo;



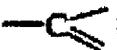
es un radical seleccionado de (a-1), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11), (a-12), (a-13),  
 (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-28), (a-  
 65 (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (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 2 322 252 T3

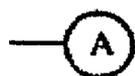
s es 0, 1, 2, 3 ó 4;

$R^5$  es hidrógeno; halo; hidroxilo; amino; nitro; trihaloalquilo $C_{1-6}$ ; trihaloalquilo $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$ ; alquilo $C_{1-6}$ -carbonilo; alquilo $C_{1-6}$ -oxicarbonilo; alquilsulfonilo $C_{1-6}$ ; hidroxialquilo $C_{1-6}$ ; arilo; arilo; 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; alquilo $C_{1-6}$ -piperidinilo; pirazolilo; pirazolilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de alquilo $C_{1-6}$  o trihaloalquilo $C_{1-6}$ ; piridinilo; piridinilo sustituido con alquilo $C_{1-6}$ , arilo o arilo; pirimidinilo; quinolinilo; indol; fenilo; o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquilo $C_{1-6}$ , alquilo $C_{1-6}$  o trifluorometilo; y

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

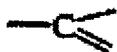
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde n es 0, 1 ó 2; m es 0, 1 ó 2; cada Q es  ;

cada X es nitrógeno;  $R^1$  es  $-C(O)NH(OH)$ ;  $R^2$  es hidrógeno; -L- es un radical bivalente seleccionado de carbonilo, sulfonilo o alcanodifilo $C_{1-6}$  sustituido con fenilo;



es un radical seleccionado de (a-1), (a-20) o (a-43); s es 0 ó 1; y cada  $R^5$  se selecciona independientemente de hidrógeno o fenilo.

4. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 3, en donde n es 0, 1 ó 2; m es 1 ó 2; cada Q es



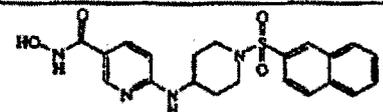
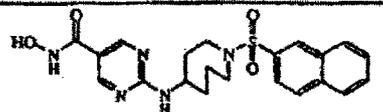
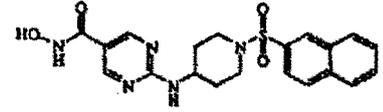
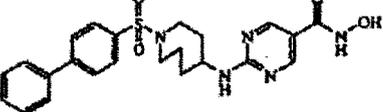
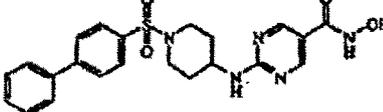
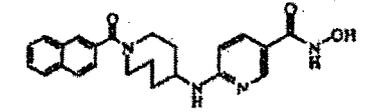
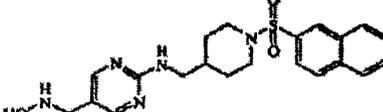
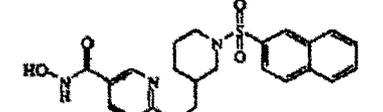
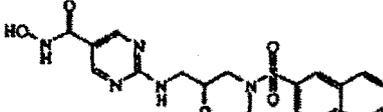
; cada X es nitrógeno;  $R^1$  es  $-C(O)NH(OH)$ ;  $R^2$  es hidrógeno; -L- es un radical bivalente seleccionado de carbonilo o sulfonilo;  es un radical seleccionado de (a-1) o (a-20); cada s es independientemente 0

ó 1; y cada  $R^5$  se selecciona independientemente de hidrógeno o arilo.

(Tabla pasa a página siguiente)

5. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1, 3 y 4, seleccionado de los compuestos No. 1, No. 3, No. 5, No. 4, No. 14, No. 12, No. 7, No. 8 y No. 9.

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40

	
.0.79 C <sub>2</sub> HF <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ; Co. No. 1	.0.22 C <sub>2</sub> HF <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ; Co. No. 3
	
.0.17 C <sub>2</sub> HF <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ; Co. No. 5	C <sub>2</sub> HF <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ; Co. No. 4
	
Co. No. 14	.2 H <sub>2</sub> O .0.53 C <sub>2</sub> HF <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ; Co. No. 12
	
Co. No. 7	Co. No. 8
	
Co. No. 9	

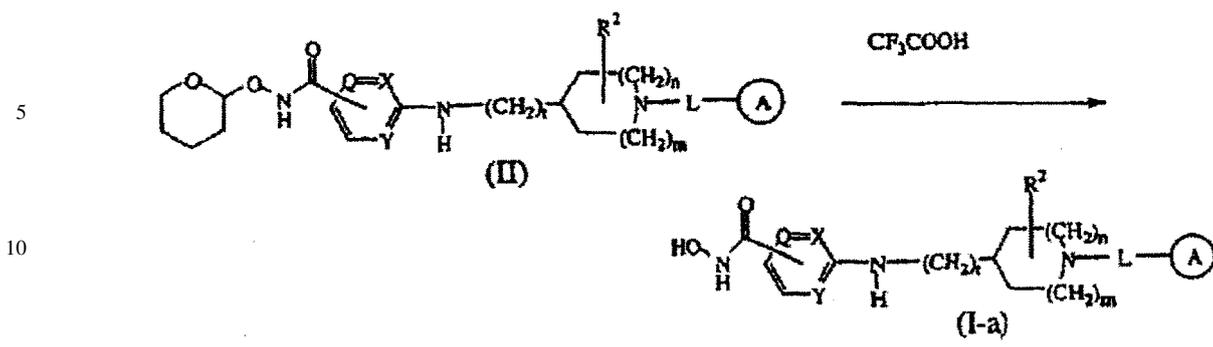
6. Una composición farmacéutica que comprende vehículos farmacéuticamente aceptables y, como ingrediente activo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5.

7. Un proceso de preparación de una composición farmacéutica de acuerdo con las 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 la preparación de un medicamento 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, obteniéndose un ácido hidroxámico de fórmula (I-a), en donde R<sup>1</sup> es -C(O)NH(OH).



11. Un método de detección o identificación de un 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 1 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.