



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 307 909**

51 Int. Cl.:

C07D 413/04 (2006.01)

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03711979 .9**

96 Fecha de presentación : **11.03.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1485378**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.12.2004**

54 Título: **Derivados de piperazinil, piperidinil y morfolinil como nuevos inhibidores de la histona deacetilasa.**

30 Prioridad: **13.03.2002 US 363799 P**
23.12.2002 WO PCT/EP02/14833

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.12.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.12.2008

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

72 Inventor/es: **Van Emelen, Kristof**

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

ES 2 307 909 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de piperazinil, piperidinil y morfolinil como nuevos inhibidores de la histona deacetilasa.

5 Esta invención se refiere a compuestos que tienen histona deacetilasa (HDAC) que inhiben la actividad enzimática. Se relaciona además con procesos para su preparación, con composiciones que las comprenden, así como su uso, tanto *in vitro* como *in vivo*, para inhibir la HDAC y como un medicamento, por ejemplo como un medicamento para inhibir las condiciones proliferativas, tal como el cáncer y la psoriasis.

10 En todas las células eucariotas, el ADN genómico en cromatina se asocia con las histonas para formar nucleosomas. Cada nucleosoma se compone de un octámero de proteína formado por dos copias de cada histona H2A, H2B, H3 y H4. El ADN se envuelve alrededor de este núcleo de proteína, con los aminoácidos básicos de las histonas que interactúan con los grupos fosfatos cargados negativamente del ADN. La modificación postraduccional más común de estas histonas del núcleo es la acetilación reversible de los grupos ϵ -amino de los residuos de lisina N-terminal, altamente básicos, conservados. El estado estable de la acetilación de histonas es establecido por el equilibrio dinámico
15 entre las histonas acetiltransferasa(s) e histonas deacetilasa(s) en lo sucesivo denominadas "HDAC". La acetilación y deacetilación de histonas ha sido durante mucho tiempo vinculada al control transcripcional. La reciente clonación de los genes que codifican diferentes histonas acetiltransferasas e histonas deacetilasas proporciona una posible explicación de la relación entre la acetilación de histonas y el control transcripcional. La acetilación reversible de las histonas puede dar lugar a la remodelación de cromatina y, como tal, actuar como un mecanismo de control para la transcripción de genes. En general, la hiperacetilación de las histonas facilita la expresión de genes, mientras que la deacetilación de las histonas es correlacionada con la represión transcripcional. Las histonas acetiltransferasas revelaron que actúan como coactivadores transcripcionales, mientras que las histonas deacetilasas revelaron pertenecer a las vías de represión transcripcional.

25 El equilibrio dinámico entre la acetilación y la deacetilación de las histonas es esencial para el crecimiento celular normal. La inhibición de la histona deacetilasa resulta en la detención del ciclo celular, la diferenciación celular, la apoptosis y la inversión del fenotipo transformado. Por lo tanto, los inhibidores HDAC pueden tener un gran potencial terapéutico en el tratamiento de enfermedades o condiciones proliferativas de las células (Marks y otros, Nature Reviews, Cancer 1: 194-202, 2001).

30 El estudio de los inhibidores de las histonas deacetilasas (HDAC) indica que, efectivamente, estas enzimas desempeñan un papel importante en la proliferación y la diferenciación celular. El inhibidor Tricostatina A (TSA) provoca la detención del ciclo celular, en las fases G1 y G2, invierte el fenotipo transformado de las diferentes líneas celulares, e induce la diferenciación de las células de leucemia Friend y otros. TSA (y el ácido hidroxámico suberoilánilida SAHA) se ha reportado que inhibe el crecimiento celular, induce la diferenciación terminal, y evita la formación de tumores en ratones (Finnin Y otros, Nature, 401: 188-193, 1999).

40 La tricostatina A también ha sido reportada como útil en el tratamiento de la fibrosis, por ejemplo fibrosis del hígado y cirrosis hepática. (Geerts y otros, Solicitud de Patente Europea EP 0 827 742, publicada el 11 Marzo, 1998).

La solicitud de patente WO01/38322 publicada en Mayo 31, 2001 revela, entre otros, los inhibidores de histona deacetilasa de fórmula general $Cy-L^1-Ar-Y^1-C(O)-NH-Z$, proporcionando composiciones y métodos para el tratamiento de enfermedades y condiciones de proliferación celular.

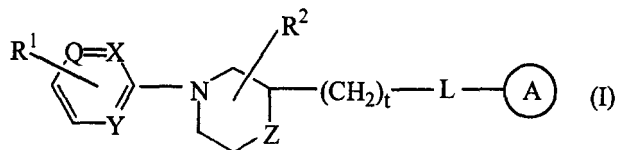
50 La solicitud de patente WO01/70675 publicada el 27 de Septiembre de 2001 revela los inhibidores de histona deacetilasa de fórmula $Cy^2-Cy^1-X-Y^1-W$ y $Cy-S(O)_2-NH-Y^3-W$ y proporciona, además, composiciones y métodos para el tratamiento de enfermedades y condiciones de proliferación celular.

El problema que debe resolverse es proporcionar inhibidores de histona deacetilasa con alta actividad enzimática y que muestren también propiedades ventajosas tal como la actividad celular y el aumento de la biodisponibilidad, de preferencia la biodisponibilidad oral, y que tengan pocos o ningún efecto secundario.

55 Los nuevos compuestos de la presente invención resuelven el problema antes descrito. Los compuestos difieren del arte anterior en su estructura.

Los compuestos de la presente invención muestran excelente actividad enzimática que inhibe *in vitro* la histona deacetilasa. Los presentes compuestos tienen propiedades ventajosas con respecto a la actividad celular y las propiedades específicas con respecto a la inhibición de la progresión del ciclo celular, en ambos puestos de control G1 y G2 (capacidad de inducción p21). Los compuestos de la presente invención muestran una buena estabilidad metabólica y alta biodisponibilidad y más en particular muestran biodisponibilidad oral.

Esta invención concierne a compuestos de fórmula (I)



las formas *N*-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables y las formas estereoquímicamente isoméricas del mismo, donde

t es 0, 1, 2, 3 ó 4 y cuando *t* es 0 entonces un enlace directo es propuesto;

cada Q es nitrógeno o $\text{—C}\equiv$;

cada X es nitrógeno o $\text{—C}\equiv$;

cada Y es nitrógeno o $\text{—C}\equiv$;

cada Z es NH-, -O- o -CH₂-;

R^1 es -C(O)NR³R⁴, -NHC(O)R⁷, -C(O)-C₁₋₆alcanodiilSR⁷, -NR⁸C(O)N(OH)R⁷, -NR⁸C(O)C₁₋₆alcanodiilSR⁷ o -NR⁸C(O)C=N(OH)R⁷;

donde R³ y R⁴ son cada uno independientemente seleccionado de hidrógeno, hidroxil, C₁₋₆alquil, hidroxilC₁₋₆alquil, aminoC₁₋₆alquil o aminoaril;

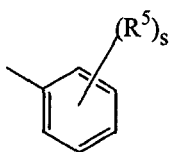
R⁷ es hidrógeno, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilcarbonil, arilC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilpirazinil, piridinona, pirrolidinona o metilimidazolil;

R⁸ es hidrógeno o C₁₋₆alquil;

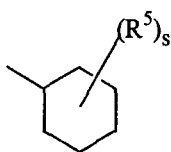
R^2 es hidrógeno, hidroxil, amino, hidroxilC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloil, arilC₁₋₆alquil, aminocarbonil, hidroxycarbonil, aminoC₁₋₆alquil, aminocarbonilC₁₋₆alquil, hidroxycarbonilC₁₋₆alquil, hidroxiaminocarbonil, C₁₋₆alquiloilcarbonil, C₁₋₆alquilaminoC₁₋₆alquil o di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil;

-L- es un radical bivalente seleccionado de -NR⁹C(O)-, -NR⁹SO₂- o -NR⁹CH₂- donde R⁹ es hidrógeno, C₁₋₆alquil, C₃₋₁₀cicloalquil, hidroxilC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloilC₁₋₆alquil o di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil;

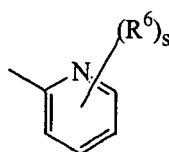
-A- es un radical seleccionado de



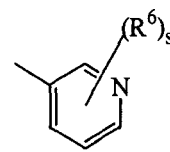
(a-1)



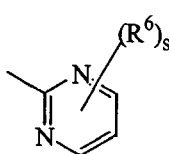
(a-2)



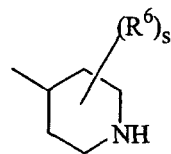
(a-3)



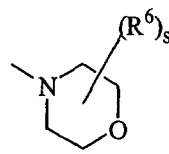
(a-4)



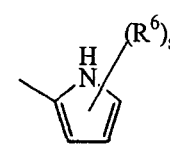
(a-5)



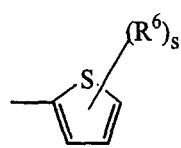
(a-6)



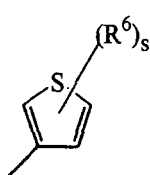
(a-7)



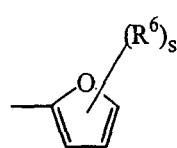
(a-8)



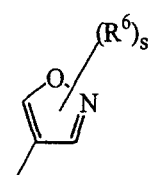
(a-9)



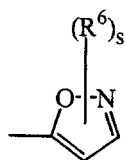
(a-10)



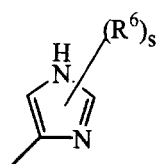
(a-11)



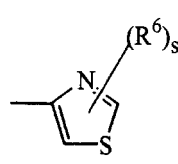
(a-12)



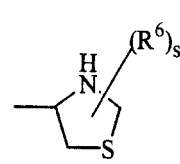
(a-13)



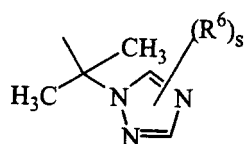
(a-14)



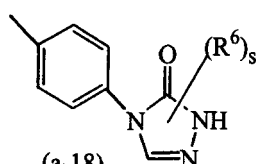
(a-15)



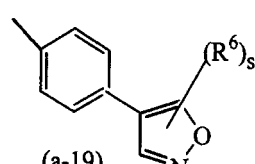
(a-16)



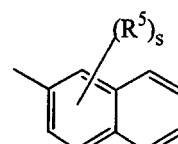
(a-17)



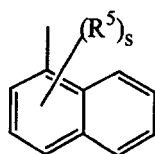
(a-18)



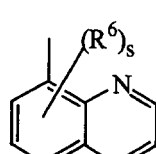
(a-19)



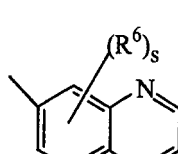
(a-20)



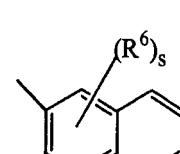
(a-21)



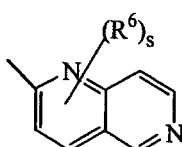
(a-22)



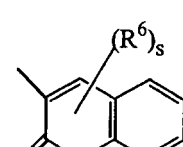
(a-23)



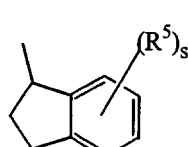
(a-24)



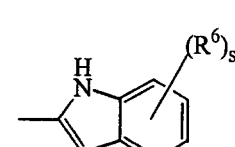
(a-25)



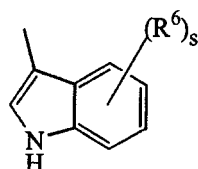
(a-26)



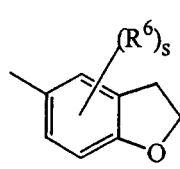
(a-27)



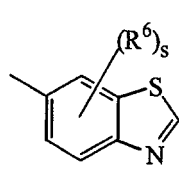
(a-28)



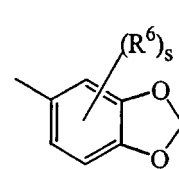
(a-29)



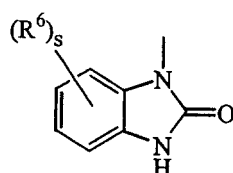
(a-30)



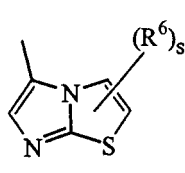
(a-31)



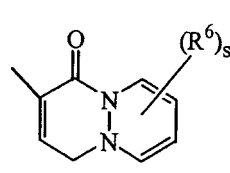
(a-32)



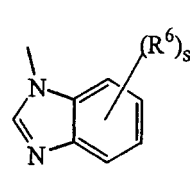
(a-33)



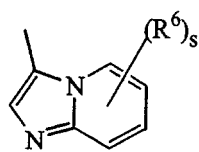
(a-34)



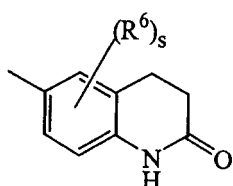
(a-35)



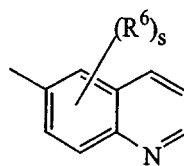
(a-36)



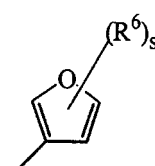
(a-37)



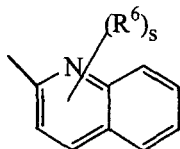
(a-38)



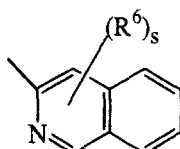
(a-39)



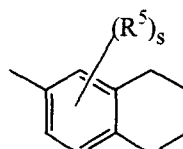
(a-40)



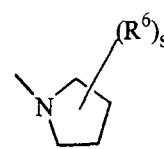
(a-41)



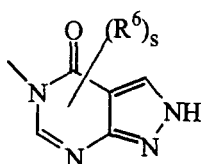
(a-42)



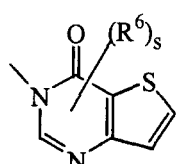
(a-43)



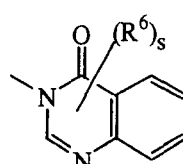
(a-44)



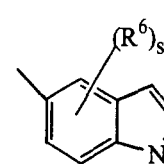
(a-45)



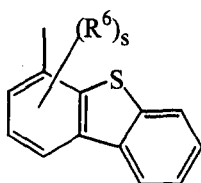
(a-46)



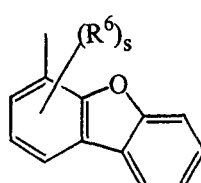
(a-47)



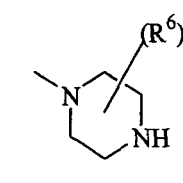
(a-48)



(a-49)



(a-50)



(a-51)

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

cada R^5 y R^6 son independientemente seleccionados de hidrógeno; halo; hidroxi; amino; nitro; trihalo C_{1-6} alquil; trihalo C_{1-6} alquiloxi; C_{1-6} alquil; C_{1-6} alquil sustituido con aril y C_{3-10} cicloalquil; C_{1-6} alquiloxi; C_{1-6} alquiloxi C_{1-6} alquiloxi; C_{1-6} alquilcarbonil; C_{1-6} alquiloxi carbonil; C_{1-6} alquilsulfonil; ciano C_{1-6} alquil; hidroxi C_{1-6} alquil; hidroxi C_{1-6} alquiloxi; hidroxi C_{1-6} alquilamino; amino C_{1-6} alquiloxi; di(C_{1-6} alquil)aminocarbonil; di(hidroxi C_{1-6} alquil)amino; (aril)(C_{1-6} alquil)amino; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquiloxi; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquilamino; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquilamino C_{1-6} alquil; arilsulfonil; arilsulfonilamino; ariloxi; ariloxi C_{1-6} alquil; aril C_{2-6} alquenodiil; di(C_{1-6} alquil)amino; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil; di(C_{1-6} alquil)amino(C_{1-6} alquil)amino; di(C_{1-6} alquil)amino(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil(C_{1-6} alquil)amino; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil(C_{1-6} alquil)amino; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil(C_{1-6} alquil)amino; di(C_{1-6} alquil)aminosulfonilamino(C_{1-6} alquil)amino; di(C_{1-6} alquil)aminosulfonilamino(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil; ciano; tiofenil; tiofenil sustituido con di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil, di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil, C_{1-6} alquilpiperazinil C_{1-6} alquil, hidroxi C_{1-6} alquilpiperazinil C_{1-6} alquil, hidroxi C_{1-6} alquiloxi C_{1-6} alquilpiperazinil C_{1-6} alquil, di(C_{1-6} alquil)aminosulfonilpiperazinil C_{1-6} alquil, C_{1-6} alquiloxipiperidinil, C_{1-6} alquiloxipiperidinil C_{1-6} alquil, morfolinil C_{1-6} alquil, hidroxi C_{1-6} alquil(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil, o di(hidroxi C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil; furanil; furanil sustituido con hidroxi C_{1-6} alquil; benzofuranil; imidazolil; oxazolil; oxazolil sustituido con aril y C_{1-6} alquil; C_{1-6} alquiltriazolil; tetrazolil; pirrolidinil; pirrolil; piperidinil C_{1-6} alquiloxi; morfolinil; C_{1-6} alquilmorfolinil; morfolinil C_{1-6} alquiloxi; morfolinil C_{1-6} alquil; morfolinil C_{1-6} alquilamino; morfolinil C_{1-6} alquilamino C_{1-6} alquil; piperazinil; C_{1-6} alquil piperazinil; C_{1-6} alquilpiperazinil C_{1-6} alquiloxi; piperazinil C_{1-6} alquil; naftalenilsulfonilpiperazinil; naftalenilsulfonilpiperidinil; naftalenilsulfonil; C_{1-6} alquilpiperazinil C_{1-6} alquil; C_{1-6} alquilpiperazinil C_{1-6} alquilamino; C_{1-6} alquilpiperazinilsulfonil; aminosulfonilpiperazinil C_{1-6} alquiloxi; aminosulfonil piperazinil; aminosulfonilpiperazinil C_{1-6} alquil; di(C_{1-6} alquil)aminosulfonilpiperazinil; di(C_{1-6} alquil)aminosulfonilpiperazinil C_{1-6} alquil; hidroxi C_{1-6} alquilpiperazinil; hidroxi C_{1-6} alquilpiperazinil C_{1-6} alquil;

C_{1-6} alquiloxiperidinil; C_{1-6} alquiloxiperidinil C_{1-6} alquil; piperidinilamino C_{1-6} alquilamino; piperidinilamino C_{1-6} alquilamino C_{1-6} alquil; (C_{1-6} alquilpiperidinil)(hidroxi C_{1-6} alquil) amino C_{1-6} alquilamino; (C_{1-6} alquilpiperidinil)(hidroxi C_{1-6} alquil) amino C_{1-6} alquilamino C_{1-6} alquil; hidroxi C_{1-6} alquiloxi C_{1-6} alquilpiperazinil; hidroxi C_{1-6} alquiloxi C_{1-6} alquilpiperazinil C_{1-6} alquil; (hidroxi C_{1-6} alquil)(C_{1-6} alquil) amino; (hidroxi C_{1-6} alquil)(C_{1-6} alquil) amino C_{1-6} alquil; hidroxi C_{1-6} alquilamino C_{1-6} alquil; di(hidroxi C_{1-6} alquil) amino C_{1-6} alquil; pirrolidinil C_{1-6} alquil; pirrolidinil C_{1-6} alquiloxi; pirazolil; tiopirazolil; pirazolil sustituido con dos sustituyentes seleccionados de C_{1-6} alquil o trihalo C_{1-6} alquil; piridinil; piridinil sustituido con C_{1-6} alquiloxi, ariloxi o aril; pirimidinil; tetrahidropirimidinilpiperazinil; tetrahidropirimidinilpiperazinil C_{1-6} alquil; quinolinil; indol; fenil; fenil sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de halo, amino, nitro, C_{1-6} alquil, C_{1-6} alquiloxi, hidroxi C_{1-4} alquil, trifluorometil, trifluorometiloxi, hidroxi C_{1-4} alquiloxi, C_{1-4} alquilsulfonil, C_{1-4} alquiloxi C_{1-4} alquiloxi, C_{1-4} alquiloxicarbonil, amino C_{1-4} alquiloxi, di(C_{1-4} alquil) amino C_{1-4} alquiloxi, di(C_{1-4} alquil)amino, di(C_{1-4} alquil) aminocarbonil, di(C_{1-4} alquil)amino C_{1-4} alquil, di(C_{1-4} alquil)amino C_{1-4} alquilamino C_{1-4} alquil, di(C_{1-4} alquil)amino (C_{1-4} alquil)amino, di(C_{1-4} alquil) amino(C_{1-4} alquil)amino C_{1-4} alquil, di(C_{1-4} alquil)amino C_{1-4} alquil(C_{1-4} alquil)amino, di(C_{1-4} alquil) amino C_{1-4} alquil(C_{1-4} alquil)amino C_{1-4} alquil, aminosulfonilamino(C_{1-4} alquil)amino, aminosulfonilamino(C_{1-4} alquil)amino C_{1-4} alquil, di(C_{1-4} alquil)aminosulfonilamino(C_{1-4} alquil)amino, di(C_{1-4} alquil)aminosulfonilamino(C_{1-4} alquil)amino C_{1-6} alquil, ciano, piperidinil C_{1-4} alquiloxi, pirrolidinil C_{1-4} alquiloxi, aminosulfonilpiperazinil, aminosulfonilpiperazinil C_{1-4} alquil, di(C_{1-4} alquil)amino sulfonilpiperazinil, di(C_{1-4} alquil)aminosulfonilpiperazinil C_{1-4} alquil, hidroxi C_{1-4} alquilpiperazinil, hidroxi C_{1-4} alquilpiperazinil C_{1-4} alquil, C_{1-4} alquiloxi piperidinil, C_{1-4} alquiloxipiperidinil C_{1-4} alquil, hidroxi C_{1-4} alquiloxi C_{1-4} alquilpiperazinil, hidroxi C_{1-4} alquiloxi C_{1-4} alquilpiperazinil C_{1-4} alquil, (hidroxi C_{1-4} alquil)(C_{1-4} alquil) amino, (hidroxi C_{1-4} alquil)(C_{1-4} alquil) amino C_{1-4} alquil, di(hidroxi C_{1-4} alquil)amino, di(hidroxi C_{1-4} alquil)amino C_{1-4} alquil, furanil, furanil sustituido con $-CH=CH-CH=CH-$, pirrolidinil C_{1-4} alquil, pirrolidinil C_{1-4} alquiloxi, morfolinil, morfolinil C_{1-4} alquiloxi, morfolinil C_{1-4} alquil, morfolinil C_{1-4} alquilamino, morfolinil C_{1-4} alquilamino C_{1-4} alquil, piperazinil, C_{1-4} alquilpiperazinil, C_{1-4} alquilpiperazinil C_{1-4} alquiloxi, piperazinil C_{1-4} alquil, C_{1-4} alquilpiperazinil C_{1-4} alquil, C_{1-4} alquilpiperazinil C_{1-4} alquilamino, C_{1-4} alquilpiperazinil C_{1-4} alquilamino C_{1-6} alquil, tetrahidropirimidinil piperazinil, tetrahidropirimidinilpiperazinil C_{1-4} alquil, piperidinilamino C_{1-4} alquilamino, piperidinilamino C_{1-4} alquilamino C_{1-4} alquil, (C_{1-4} alquilpiperidinil)(hidroxi C_{1-4} alquil)amino C_{1-4} alquilamino, (C_{1-4} alquilpiperidinil)(hidroxi C_{1-4} alquil) amino C_{1-4} alquilamino C_{1-4} alquil, piridinil C_{1-4} alquiloxi, hidroxi C_{1-4} alquilamino, hidroxi C_{1-4} alquilamino C_{1-4} alquil, di(C_{1-4} alquil) amino C_{1-4} alquilamino, aminotiadiazolil, aminosulfonilpiperazinil C_{1-4} alquiloxi, o tiofenil C_{1-4} alquilamino;

cada R^5 y R^6 puede ser colocado en el nitrógeno en reemplazo del hidrógeno;

aril en lo anterior es fenil, o fenil sustituido con uno o más sustituyentes cada uno independientemente seleccionado de halo, C_{1-6} alquil, C_{1-6} alquiloxi, trifluorometil, ciano o hidroxicarbonil.

El término “inhibidor histona deacetilasa” o “inhibidor de la histona deacetilasa” se utiliza para identificar un compuesto, que es capaz de interactuar con una histona deacetilasa e inhibir su actividad, más particularmente su actividad enzimática. La inhibición de la actividad enzimática de la histona deacetilasa significa la reducción de la capacidad de una histona deacetilasa para eliminar un grupo acetil de una histona. Preferiblemente, este tipo de inhibición es específica, es decir, el inhibidor de la histona deacetilasa reduce la capacidad de una histona deacetilasa para eliminar un grupo acetil de una histona a una concentración que es inferior a la concentración del inhibidor que es necesaria para producir algún otro, efecto biológico no relacionado.

Como es usado en las definiciones anteriores y en lo adelante, halo es genérico para fluoro, cloro, bromo y yodo; C_{1-4} alquil define radicales hidrocarburos saturados de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 4 átomos de carbono tal como, por ejemplo metil, etil, propil, butil, 1-metiletil, 2-metilpropil y similares; C_{1-6} alquil incluye C_{1-4} alquil y homólogos superiores de los mismos que tienen de 5 a 6 átomos de carbono tal como, por ejemplo, pentil, 2-metil-butil, hexil, 2-metilpentil y similares; C_{1-6} alcanodiil define radicales hidrocarburos saturados de cadena lineal o ramificada bivalentes que tienen de 1 a 6 átomos de carbono tal como, por ejemplo, metileno, 1,2-etanodiil, 1,3-propanodiil, 1,4-butanodiil, 1,5-pentanodiil, 1,6-hexanodiil y los isómeros ramificados de los mismos tal como, 2-metilpentanodiil, 3-metilpentanodiil, 2,2-dimetilbutanodiil, 2,3-dimetilbutanodiil y similares; trihalo C_{1-6} alquil define C_{1-6} alquil que contiene tres sustituyentes halo idénticos o diferentes por ejemplo trifluorometil; C_{2-6} alquenodiil define radicales hidrocarburos de cadena lineal o ramificada bivalentes que conteniendo un doble enlace y que tiene de 2 a 6 átomos de carbono tal como, por ejemplo, etenodiil, 2-propenodiil, 3-butenodiil, 2-pentenodiil, 3-pentenodiil, 3-metil-2-butenodiil, y similares; aminoaril define aril sustituido con amino; y C_{3-10} cicloalquil incluye grupos hidrocarburos cíclicos que tienen de 3 a 10 carbonos, tal como ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, ciclopentenil, ciclohexil, ciclohexenil, cicloheptil, ciclooctil y similares.

Salas de adición farmacéuticamente aceptables abarcan las sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables y las sales de adición básicas farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables como se mencionó aquí anteriormente significa que comprenden las formas de las sales de adición ácidas no tóxicas terapéuticamente activas cuyos compuestos de fórmula (I) son capaces de formar. Los compuestos de fórmula (I) que tienen propiedades básicas se pueden convertir en sus sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables

mediante el tratamiento de dicha forma básica con un ácido apropiado. Ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tal como ácidos hidrohálidos, por ejemplo ácido clorhídrico o bromhídrico; ácidos sulfúrico, nítrico; fosfórico y similares, o ácidos orgánicos como tal, por ejemplo, ácidos acético, trifluoroacético, propanoico, hidroxiaacético, láctico, pirúvico, oxálico, malónico, succínico (*es decir*, ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, *p*-amino-salicílico, pamoico y similares.

Los compuestos de fórmula (I), que tienen propiedades ácidas se puede convertir en sus sales de adición básicas farmacéuticamente aceptables mediante el tratamiento de dicha forma ácida con una base orgánica o inorgánica adecuada. Formas de sales básicas apropiadas comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalinos térreos, por ejemplo las sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, sales con bases orgánicas, por ejemplo la benzatina, *N*-Metil-D-glucamina, sales de hidrabamina, y sales con aminoácidos tal como, por ejemplo, arginina, lisina y similares.

El término “sales de adición ácidas o básicas” también comprende los hidratos y las formas de adición del disolvente, cuyos compuestos de fórmula (I) son capaces de formar. Ejemplos de estas formas son por ejemplo, los hidratos, alcoholatos y similares.

El término “formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de fórmula (I)”, como se utiliza aquí, define todos los posibles compuestos formados por los mismos átomos enlazados por la misma secuencia de enlaces, pero con diferentes estructuras tridimensionales que no son intercambiables, cuyos compuestos de fórmula (I) pueden poseer. Salvo que se mencione o se indique lo contrario, la designación química de un compuesto abarca la mezcla de todas las formas estereoquímicamente isoméricas posibles que dicho compuesto pudiera poseer. Dicha mezcla puede contener todos los diaestereómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Todas las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de fórmula (I), tanto en forma pura o en mezcla unos con otros están destinados a ser incluidos dentro del alcance de la presente invención.

Las formas *N*-óxido de los compuestos de fórmula (I) comprenden aquellos compuestos de fórmula (I) donde uno o varios átomos de nitrógeno se oxidan al denominado *N*-óxido, en particular aquellos *N*-óxidos donde uno o más de piperidina-, piperazina o piridazinil-nitrógenos son *N*-oxidados.

Algunos de los compuestos de fórmula (I) también pueden existir en sus formas tautoméricas. Esas formas aunque no se indica explícitamente en la fórmula anterior están destinadas a ser incluidas dentro del alcance de la presente invención.

Siempre que sea usado de aquí en lo adelante, el término “compuestos de fórmula (I)” incluye también las sales de adición farmacéuticamente aceptables y todas las formas estereoisoméricas.

Como es usado aquí, los términos “histona deacetilasa” y “HDAC” están destinados a referirse a cualquiera de una familia de enzimas que elimina los grupos acetil de los grupos ε -amino de residuos de lisina en el N-terminal de una histona. Salvo que se indique lo contrario, el término “histona” se refiere a cualquier proteína histona, incluyendo H1, H2A, H2B, H3, H4 y H5, de cualquier especie. Productos génicos o proteínas HDAC humanas, incluyen, pero no se limitan a, HDAC-1, HDAC-2, HDAC-3, HDAC-4, HDAC-5, HDAC-6, HDAC-7, HDAC-8, HDAC-9 y HDAC-10. La histona deacetilasa también puede derivarse de una fuente de protozoos o fúngica.

Un primer grupo de compuestos de interés consiste de aquellos compuestos de fórmula (I) donde una o más de las siguientes restricciones aplica:

a) t es 0 ó 1;

b) cada Q es $\text{—C}\begin{smallmatrix} \nearrow \\ \searrow \end{smallmatrix}$;

c) cada X es nitrógeno;

d) R^1 es —C(O)NH(OH) ;

e) R^2 es hidrógeno, hidroxilo, C_{1-6} alquil, o aril C_{1-6} alquil;

f) —L— es un radical bivalente seleccionado de —NHC(O)— o $\text{—HSO}_2\text{—}$;

g) $\text{—}\bigcirc\text{A}$ es un radical seleccionado de (a-1) o (a-20);

j) cada s es independientemente 0 ó 1;

k) cada R^5 es independientemente seleccionado de hidrógeno o fenil;

ES 2 307 909 T3

Un segundo grupo de compuestos de interés consiste de aquellos compuestos de fórmula (I) donde uno o más de las siguientes restricciones aplica:

a) t es 1;

b) cada Q es $\text{—C}\begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$;

c) cada X es nitrógeno;

d) cada Y es nitrógeno;

e) cada Z es -O- o -CH₂-;

f) R¹ es -C(O)NH(OH);

g) R² es hidrógeno;

h) -L- es un radical bivalente seleccionado de -NHC(O)- o -NHSO₂-;

i) $\text{—}\bigcirc\text{A}$ es un radical seleccionado de (a-1) o (a-20);

j) cada s es independientemente 0 ó 1;

k) cada R⁵ es independientemente seleccionado de hidrógeno o fenil

Un tercer grupo de compuestos de interés consiste de aquellos compuestos de fórmula (I) donde R¹ es -C(O)NH(OH).

Un cuarto grupo de compuestos de interés consiste de aquellos compuestos de fórmula (I) donde R¹ es -C(O)NH(OH) y R² es hidrógeno

Un quinto grupo de compuestos de interés consiste de aquellos compuestos de fórmula (I) donde una o más de las siguientes restricciones aplica;

a) t es 0;

b) R¹ es -C(O)NR³R⁴, -C(O)-C₁₋₆alcanodiolSR⁷, -NR⁸C(O)N(OH)R⁷, -NR⁸C(O)C₁₋₆alcanodiolSR⁷, o -NR⁸C(O)C=N(OH)R⁷ donde R³ y R⁴ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxi, hidroxiC₁₋₆alquil, o aminoC₁₋₆alquil;

c) R² es hidrógeno, hidroxi, amino, hidroxiC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi, arilC₁₋₆alquil, aminocarbonil, aminoC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilaminoC₁₋₆alquil o di(C₁₋₆alquil) aminoC₁₋₆alquil;

d) -L- es un radical bivalente seleccionado de -NHC(O)- o -NHSO₂

e) $\text{—}\bigcirc\text{A}$ 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);

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

h) R⁵ es hidrógeno; halo; hidroxi; amino; nitro; trihaloC₁₋₆alquil; trihaloC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquilcarbonil; C₁₋₆alquiloxycarbonil; C₁₋₆alquil sulfonil; hidroxiC₁₋₆alquil; ariloxi; di(C₁₋₆alquil) amino; ciano; tiofenil; furanil; furanil sustituido con hidroxiC₁₋₆alquil; benzofuranil; imidazolil; oxazolil; oxazolil sustituido con aril y C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiltriazolil; tetrazolil; pirrolidinil; pirrolil; morfolinil; C₁₋₆alquilmorfolinil; piperazinil; C₁₋₆alquilpiperazinil; hidroxiC₁₋₆alquilpiperazinil; C₁₋₆alquiloxipiperidinil; pirazol; pirazolil sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de C₁₋₆alquil o trihaloC₁₋₆alquil; piridinil; piridinil sustituido con C₁₋₆alquiloxi, ariloxi o aril; pirimidinil; quinolinil; indol; fenil; o fenil sustituido con uno o dos sustituyentes independientemente seleccionados de halo, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi, o trifluorometil;

- i) R⁶ es hidrógeno; halo; hidroxio; amino; nitro; trihaloC₁₋₆alquil; trihaloC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquilcarbonil; C₁₋₆alquiloxycarbonil; C₁₋₆alquil sulfonil; hidroxioC₁₋₆alquil; ariloxi; di (C₁₋₆alquil) amino; ciano; piridinil; fenil; o fenil sustituido con uno o dos sustituyentes independientemente seleccionados de halo, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi o trifluorometil

Un sexto grupo de compuestos de interés consiste de aquellos compuestos de fórmula (I) donde una o más de las siguientes restricciones aplica:

- a) R³ y R⁴ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxio, hidroxioC₁₋₆alquil, aminoC₁₋₆alquil o aminoaril;
- b)  es un radical seleccionado de (a-1), (a-2), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11), (a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-27), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42) (a-43) o (a-44);
- c) cada R⁵ y R⁶ son independientemente seleccionados de hidrógeno; halo; hidroxio; amino; nitro; trihaloC₁₋₆alquil; trihaloC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquiloxiC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquilcarbonil; C₁₋₆alquil sulfonil; cianoC₁₋₆alquil; hidroxioC₁₋₆alquil; hidroxioC₁₋₆alquiloxi; hidroxioC₁₋₆alquilamino; aminoC₁₋₆alquiloxi; di(C₁₋₆alquil)aminocarbonil; di(hidroxioC₁₋₆alquil)amino; aril(C₁₋₆alquil)amino; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquiloxi; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquilamino; arilsulfonil; arilsulfonilamino; ariloxi; arilC₂₋₆alquenodiil; di(C₁₋₆alquil)amino; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; ciano; tiofenil; tiofenil sustituido con di (C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil, di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil o di (hidroxioC₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; furanil; imidazolil; C₁₋₆alquiltriazolil; tetrazolil; pirrolidinil; piperidinilC₁₋₆alquiloxi; morfolinil; C₁₋₆alquil morfolinil; morfolinilC₁₋₆alquiloxi; morfolinilC₁₋₆alquil; C₁₋₆alquilpiperazinil; C₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil; C₁₋₆alquilpiperazinilsulfonil; aminosulfonilpiperazinilC₁₋₆alquiloxi; aminosulfonilpiperazinil; aminosulfonilpiperazinilC₁₋₆alquil; di (C₁₋₆alquil) aminosulfonilpiperazinil; di (C₁₋₆alquil) aminosulfonil piperazinilC₁₋₆alquil; hidroxioC₁₋₆alquilpiperazinil; hidroxioC₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxi piperidinil; C₁₋₆alquiloxipiperidinilC₁₋₆alquil; hidroxioC₁₋₆alquiloxiC₁₋₆alquilpiperazinil; hidroxioC₁₋₆alquiloxiC₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil; (hidroxioC₁₋₆alquil)(C₁₋₆alquil) amino; (hidroxioC₁₋₆alquil)(C₁₋₆alquil) aminoC₁₋₆alquil; pirrolidinilC₁₋₆alquiloxi; pirazolil; tiopirazolil; pirazolil sustituido con dos sustituyentes seleccionados de C₁₋₆alquil o trihaloC₁₋₆alquil; piridinil; piridinil sustituido con C₁₋₆alquiloxi o aril; pirimidinil; quinolinil; indol; fenil; fenil sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de halo, amino, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi, hidroxioC₁₋₄alquil, trifluorometil, trifluorometiloxi, hidroxioC₁₋₄alquiloxi, C₁₋₄alquiloxiC₁₋₄alquiloxi, aminoC₁₋₄alquiloxi, di(C₁₋₄alquil)amino, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, piperidinilC₁₋₄alquiloxi, pirrolidinilC₁₋₄alquiloxi, aminosulfonilpiperazinil, aminosulfonilpiperazinilC₁₋₄alquil, di(C₁₋₄alquil)amino sulfonilpiperazinil, di(C₁₋₄alquil)aminosulfonilpiperazinilC₁₋₄alquil, hidroxioC₁₋₄alquilpiperazinil, hidroxioC₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄alquil, C₁₋₄alquiloxi piperidinil, C₁₋₄alcoxipiperidinilC₁₋₄alquil, hidroxioC₁₋₄alquiloxiC₁₋₄alquilpiperazinil, hidroxioC₁₋₄alcoxioC₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄alquil, (hidroxioC₁₋₄alquil)(C₁₋₄alquil)amino, (hidroxioC₁₋₄alquil)(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, pirrolidinilC₁₋₄alquiloxi, morfolinilC₁₋₄alquiloxi, morfolinilC₁₋₄alquil, C₁₋₄alquilpiperazinil, C₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄alquiloxi, C₁₋₄alquil piperazinilC₁₋₄alquil, hidroxioC₁₋₄alquilamino, di (hidroxioC₁₋₄alquil)amino, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquilamino, aminotiadiazolil, aminosulfonilpiperazinil C₁₋₄alquiloxi, o tiofenilC₁₋₄alquilamino.

Un grupo de compuestos preferidos consiste de aquellos compuestos de fórmula (I) donde R³ y R⁴ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxio, hidroxioC₁₋₆alquil, aminoC₁₋₆alquil o aminoaril;

-  es un radical seleccionado de (a-1), (a-2), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11), (a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-27), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42) (a-43) o (a-44);

cada R⁵ y R⁶ son independientemente seleccionados de hidrógeno; halo; hidroxio; amino; nitro; trihaloC₁₋₆alquil; trihaloC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquiloxiC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquilcarbonil; C₁₋₆alquilsulfonil; cianoC₁₋₆alquil; hidroxioC₁₋₆alquil; hidroxioC₁₋₆alquiloxi; hidroxioC₁₋₆alquilamino; aminoC₁₋₆alquiloxi; di(C₁₋₆alquil)aminocarbonil; di(hidroxioC₁₋₆alquil)amino; arilC₁₋₆alquil)amino; di (C₁₋₆alquil) aminoC₁₋₆alquiloxi; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquilamino; arilsulfonil; arilsulfonilamino; ariloxi; arilC₂₋₆alquenodiil; di(C₁₋₆alquil)amino; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil (C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; ciano; tiofenil; tiofenil sustituido con di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil

ES 2 307 909 T3

(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil, di(C₁₋₆ alquil)aminoC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil o di(hidroxiC₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; furanil; imidazolil; C₁₋₆alquiltriazolil; tetrazolil; piperidinilC₁₋₆alquiloxi; morfolinil; C₁₋₆alquil morfolinil; morfolinilC₁₋₆alquiloxi; morfolinilC₁₋₆alquil; C₁₋₆alquilpiperazinil; C₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆ alquiloxi; C₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil; C₁₋₆ alquilpiperazinilsulfonil; aminosulfonilpiperazinilC₁₋₆alquiloxi; aminosulfonilpiperazinil; aminosulfonilpiperazinilC₁₋₆alquil; di(C₁₋₆alquil) aminosulfonilpiperazinil; di(C₁₋₆alquil) aminosulfonilpiperazinilC₁₋₆alquil; hidroxiC₁₋₆alquil piperazinil; hidroxiC₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil; C₁₋₆ alcoxipiperidinil; C₁₋₆alquiloxipiperidinilC₁₋₆alquil; hidroxiC₁₋₆alquiloxiC₁₋₆alquilpiperazinil; hidroxiC₁₋₆ alquiloxiC₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil; (hidroxiC₁₋₆ alquil)(C₁₋₆alquil) amino; (hidroxiC₁₋₆alquil)(C₁₋₆ alquil)aminoC₁₋₆alquil; pirrolidinilC₁₋₆alcoxi; pirazolil; tiopirazolil; pirazolil sustituido con dos sustituyentes seleccionados de C₁₋₆alquil o trihaloC₁₋₆alquil; piridinil; piridinil sustituido con C₁₋₆ alquiloxi o aril; pirimidinil; quinolinil; indol; fenil; fenil sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de halo, amino, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi, hidroxiC₁₋₄alquil, trifluorometil, trifluorometiloxi, hidroxiC₁₋₄ alquiloxiC₁₋₄alquiloxi, aminoC₁₋₄alquiloxi, di(C₁₋₄ alquil)aminoC₁₋₄alquiloxi, di(C₁₋₄alquil)amino, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, di(C₁₋₄ alquil) aminoC₁₋₄alquil(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, piperidinilC₁₋₄alquiloxi, pirrolidinilC₁₋₄alquiloxi, aminosulfonilpiperazinil, aminosulfonilpiperazinilC₁₋₄alquil, di(C₁₋₄alquil)aminosulfonilpiperazinil, di(C₁₋₄alquil)aminosulfonilpiperazinilC₁₋₄alquil, hidroxiC₁₋₄alquil piperazinil, hidroxiC₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄alquil, C₁₋₄ alquiloxipiperidinil, C₁₋₄alquiloxipiperidinilC₁₋₄alquil, hidroxiC₁₋₄alquiloxiC₁₋₄alquilpiperazinil, hidroxiC₁₋₄ alquiloxiC₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄alquil, (hidroxiC₁₋₄ alquil)(C₁₋₄alquil) amino, (hidroxiC₁₋₄alquil)(C₁₋₄alquil) aminoC₁₋₄alquil, pirrolidinilC₁₋₄alquiloxi, morfolinilC₁₋₄ alquiloxi, morfolinilC₁₋₄alquil, C₁₋₄alquilpiperazinil, C₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄alquiloxi, C₁₋₄alquil piperazinilC₁₋₄alquil, hidroxiC₁₋₄alquilamino, di(hidroxiC₁₋₄alquil)amino, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄ alquilamino, aminotiadiazolil, aminosulfonilpiperazinilC₁₋₄alquiloxi, o tiofenilC₁₋₄ alquilamino.

Otro grupo de compuestos preferidos consiste de aquellos compuestos de fórmula (I) donde t es 0;

^{R¹} es -C(O)NR³R⁴, -C(O)-C₁₋₆alcanodiilSR⁷, -NR⁸C(O)N(OH)R⁷, -NR⁸C(O)C₁₋₆alcanodiilSR⁷ o -NR⁸C(O)C=N(OH)R⁷ donde R³ y R⁴ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxi, hidroxiC₁₋₆alquil, o aminoC₁₋₆alquil; R² es hidrógeno, halo, hidroxi, amino, hidroxiC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi, arilC₁₋₆alquil, aminocarbonil, amino C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilaminoC₁₋₆alquil o di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆ alquil;

-L- es un radical bivalente seleccionado de -NHC(O)- o -NHSO₂-;

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

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

^{R⁵} es hidrógeno; halo; hidroxi; amino; nitro; trihaloC₁₋₆alquil; trihaloC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquilcarbonil; C₁₋₆alquiloxycarbonil; C₁₋₆ alquilsulfonil; hidroxiC₁₋₆alquil; ariloxi; di(C₁₋₆ alquil)amino; ciano; tiofenil; furanil; furanil sustituido con hidroxiC₁₋₆alquil; benzofuranil; imidazolil; oxazolil; oxazolil sustituido con aril y C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiltriazolil; tetrazolil; pirrolidinil; pirrolil; morfolinil; C₁₋₆alquilmorfolinil; piperazinil; C₁₋₆alquilpiperazinil; hidroxiC₁₋₆alquilpiperazinil; C₁₋₆ alquiloxipiperidinil; pirazolil; pirazolil sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionado de C₁₋₆alquil o trihaloC₁₋₆alquil; piridinil; piridinil sustituido con C₁₋₆alquiloxi o aril; pirimidinil; quinolinil; indol; fenil; o fenil sustituido con uno o dos sustituyentes independientemente seleccionados de halo, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi o trifluorometil; y

^{R⁶} es hidrógeno; halo; hidroxi; amino; nitro; trihaloC₁₋₆alquil; trihaloC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquilcarbonil; C₁₋₆alquiloxycarbonil; C₁₋₆alquilsulfonil; hidroxiC₁₋₆alquil; ariloxi; di(C₁₋₆ alquil)amino; ciano; piridinil; fenil; o fenil sustituido con uno o dos sustituyentes independientemente seleccionados de halo, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi o trifluorometil;

Otro grupo de compuestos preferidos consiste de aquellos compuestos de fórmula (I)

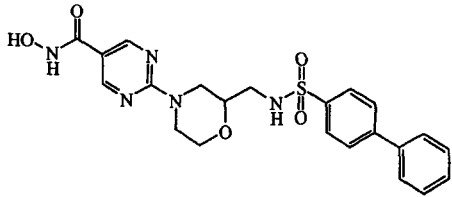
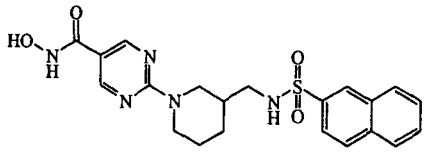
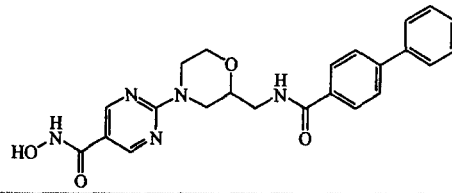
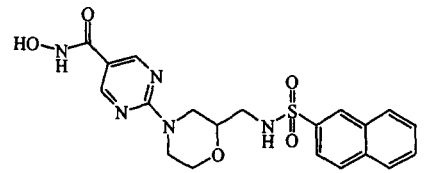
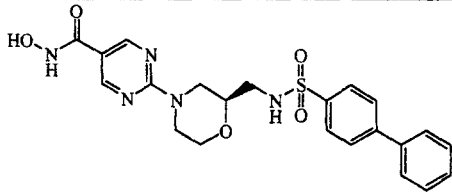
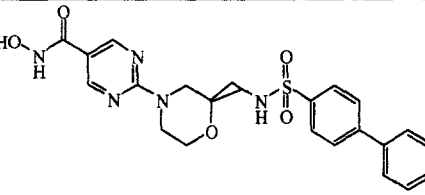
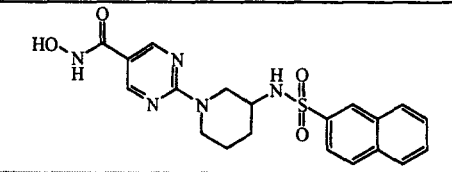
donde t es 0 ó 1; cada Q es $\text{—C}\begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$; cada X es nitrógeno; R¹ es -C(O)NH(OH); R² es hidrógeno, hidroxi,

C₁₋₆alquil o arilC₁₋₆alquil; -L- es un radical bivalente seleccionado de -NHC(O)- o -NHSO₂-; —^(A) es un radical seleccionado de (a-1) o (a-20); cada s es independientemente 0 ó 1; y cada R⁵ es independientemente seleccionado de hidrógeno o fenil;

Un grupo de compuestos más preferidos consiste de aquellos compuestos de fórmula (I)

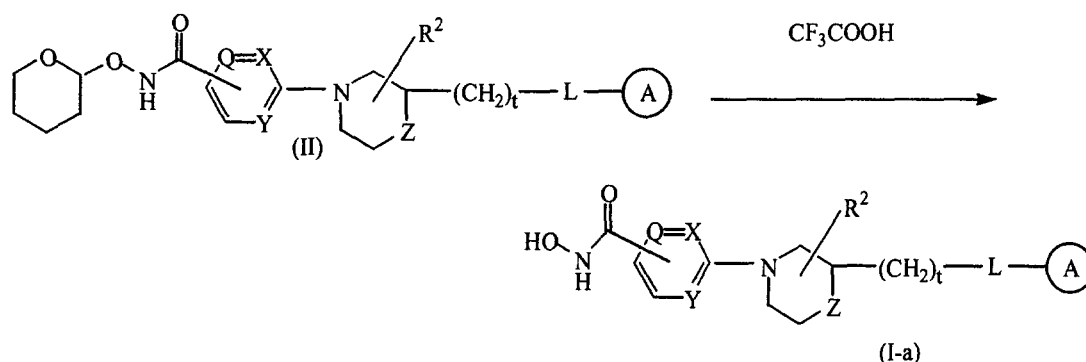
donde t es 1; cada Q es $\text{—C}\equiv$; cada X es nitrógeno; cada Y es nitrógeno; cada Z es —O— o $\text{—CH}_2\text{—}$; R^1 es —C(O)NH(OH) ; R^2 es hidrógeno; —L— es un radical bivalente seleccionado de —NHC(O)— o $\text{—NHSO}_2\text{—}$; —(A)— es un radical seleccionado de (a-1) o (a-20); cada s es independientemente 0 ó 1; y cada R^5 es independientemente seleccionado de hidrógeno o fenil.

Compuestos más preferidos son los compuestos No 4, No 10, No 8, No 6, No 1, No 12 y No 14.

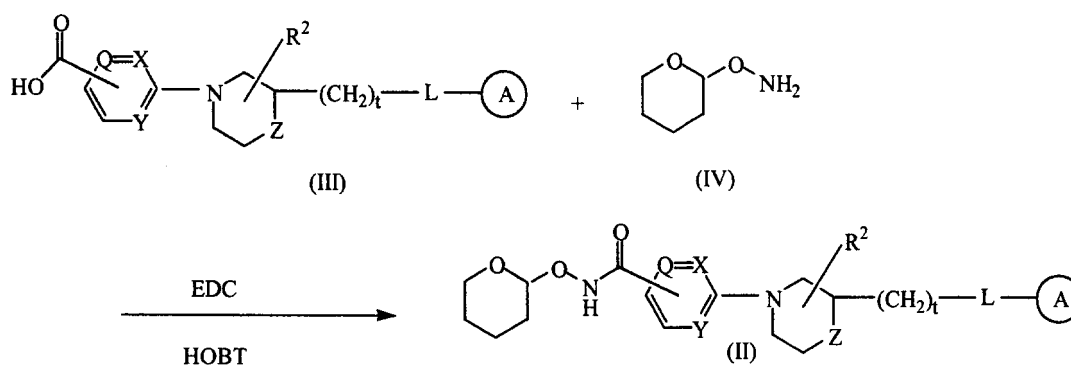
 Co. No. 4	 Co. No. 10
 Co. No. 8	 Co. No. 6
 (B); Co. No. 1	 (A); Co. No. 12
 Co. No. 14	

Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables y N-óxidos y las formas estereoquímicamente isoméricas del mismo pueden ser preparados de manera convencional. Una ruta de síntesis general es abarcada como ejemplo:

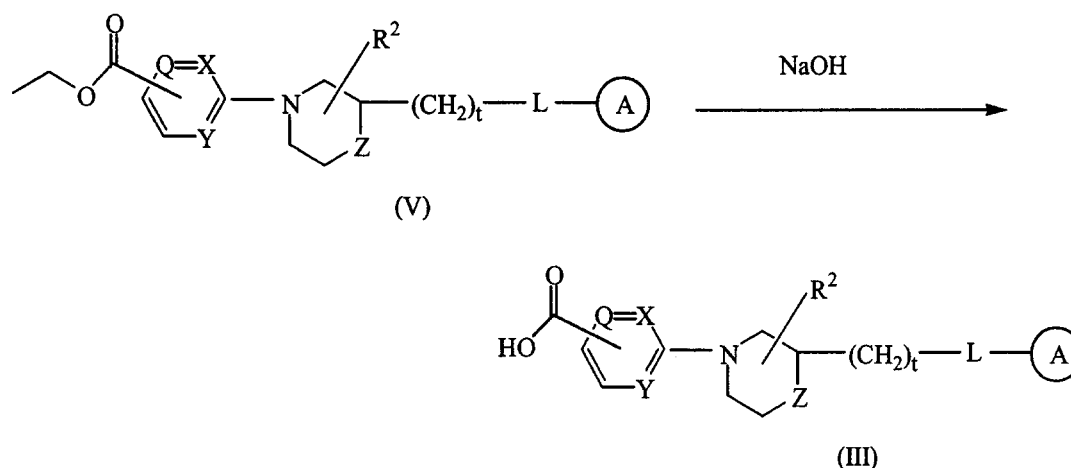
a) Los ácidos hidroxámicos de fórmula (I) donde R^1 es —C(O)NH(OH) , dichos compuestos siendo referidos como compuestos de fórmula (I-a), pueden ser preparados reaccionando un producto intermedio de fórmula (II) con un ácido apropiado, tal como por ejemplo, ácido trifluoro acético. Dicha reacción es realizada en un disolvente apropiado, tal como, por ejemplo, metanol.



15 b) los productos intermedios de fórmula (II) pueden ser preparados reaccionando un producto intermedio de fórmula (III) con un producto intermedio de fórmula (IV) en presencia de los reactivos apropiados tal como *N*'-(etilcarbonimidoil)-*N,N*-dimetil-1,3-propanodiamina, monohidrócloro (EDC) y 1-hidróxi-1*H*-benzotriazol (HOBT). La reacción puede ser realizada en un disolvente adecuado tal como una mezcla de DCM y THF.



35 c) los productos intermedios de fórmula (III) pueden ser preparados reaccionando un producto intermedio de fórmula (V) con una base apropiada tal como NaOH en presencia de un disolvente adecuado tal como etanol.



55 Los compuestos de fórmula (I) también pueden ser convenientemente preparados usando técnicas de síntesis en fase sólida. En general, la síntesis en fase sólida consiste en reaccionar un producto intermedio en una síntesis con un soporte de polímero. Este producto intermedio soportado por polímeros puede entonces ser llevado a cabo a través de un número de pasos de síntesis. Después de cada paso, filtrar la resina y lavarla numerosas veces con distintos disolventes elimina las impurezas. En cada paso la resina se puede dividir para reaccionar con diversos productos intermedios en el próximo paso permitiendo así la síntesis de un gran número de compuestos. Después del último paso en el procedimiento la resina es tratada con un reactivo o un proceso para separar la resina de la muestra. Una explicación más detallada de las técnicas utilizadas en química en fase sólida se describe por ejemplo en "The Combinatorial Index" (B. Bunin, Academic Press) y en el Manual de Síntesis de Péptidos y Catálogo de Novabiochem 1999 (Novabiochem AG, Suiza), ambos incorporados aquí como referencia.

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

Los compuestos de fórmula (I) preparados en los procesos descritos anteriormente son en general mezclas racémicas de enantiómeros, que pueden ser separados uno de otro siguiendo los procedimientos de resolución conocidos en el arte. Los compuestos racémicos de fórmula (I) pueden ser convertidos en las formas de sal diaestereoméricas correspondientes mediante la reacción con un ácido quirál adecuado. Dichas formas de sal diaestereoméricas son posteriormente separadas, por ejemplo, por cristalización fraccional o selectiva y los enantiómeros son liberados de ahí por álcalis. Una manera alternativa de separar las formas enantioméricas de los compuestos de fórmula (I) incluye la cromatografía líquida utilizando una fase estacionaria quirál. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también pueden ser derivadas de las formas estereoquímicamente isoméricas puras correspondientes de los materiales de partida apropiados, siempre que la reacción se produzca estereoespecíficamente. Preferiblemente si un estereoisómero específico es deseado, dicho compuesto sería sintetizado por métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

Los compuestos de fórmula (I), las sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables y las formas estereoisoméricas del mismo tienen valiosas propiedades farmacológicas ya que tienen un efecto inhibidor de la histona deacetilasa (HDAC).

Esta invención proporciona un método para inhibir el crecimiento anormal de células, incluyendo las células transformadas, mediante la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la invención. El crecimiento anormal de células se refiere al crecimiento de una célula independiente de los mecanismos normales de regulación (por ejemplo la pérdida de la inhibición por contacto). Esto incluye la inhibición del crecimiento tumoral tanto directamente al provocar la detención del crecimiento, diferenciación terminal y/o apoptosis de las células cancerosas, e indirectamente, mediante la inhibición de la neovascularización de los tumores.

Esta invención también proporciona un método para inhibir el crecimiento del tumor mediante la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención, a un sujeto, por ejemplo, un mamífero (y más particularmente un humano) que necesita ese tratamiento. En particular, esta invención proporciona un método para inhibir el crecimiento de tumores mediante la administración de una cantidad efectiva de los compuestos de la presente invención. Ejemplos de tumores que pueden ser inhibidos, pero no limitados a, el cáncer de pulmón (por ejemplo adenocarcinoma e incluyendo el cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer pancreático (por ejemplo carcinoma pancreático tal como, por ejemplo carcinoma de páncreas exocrino), cánceres de colon (por ejemplo los carcinomas colorrectales, tal como, por ejemplo, adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), cáncer de próstata incluyendo la enfermedad en estado avanzado, tumores hematopoyéticos de linaje linfoide (por ejemplo leucemia linfocítica aguda, linfoma de células B, linfoma de Burkitt), leucemias mieloides (por ejemplo, leucemia mieloide aguda (AML)), cáncer folicular de tiroides, síndrome mielodisplásico (MDS), tumores de origen mesenquimales (por ejemplo fibrosarcomas y rhabdomyosarcomas), melanomas, teratocarcinomas, neuroblastomas, gliomas, tumores benignos de la piel (por ejemplo keratoacantomas), carcinoma de mama (por ejemplo cáncer de mama avanzado), carcinoma renal, carcinoma de ovario, carcinoma de vejiga y carcinoma epidérmico.

El compuesto de acuerdo con la invención puede ser usado para otros fines terapéuticos, por ejemplo:

- a) la sensibilización de los tumores a la radioterapia mediante la administración del compuesto de acuerdo con la invención antes, durante o después de la irradiación del tumor para el tratamiento del cáncer;
- b) el tratamiento de las artropatías y condiciones osteopatológicas tal como la artritis reumatoide, osteoartritis, artritis juvenil, gota, poliartritis, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante y lupus eritematoso sistémico;
- c) la inhibición de la proliferación de las células del músculo liso incluyendo los trastornos proliferativos vasculares, arteriosclerosis y reestenosis;
- d) el tratamiento de condiciones inflamatorias y condiciones dérmicas tal como la colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, la rinitis alérgica, enfermedad del injerto vs el huésped, conjuntivitis, asma, ARDA, enfermedad de Behcets, rechazo al trasplante, urticaria, dermatitis alérgica, alopecia areata, esclerodermia, exantema, eczema, dermatomiositis, acné, diabetes, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Kawasaki, esclerosis múltiple, enfisema, fibrosis quística y bronquitis crónica;
- e) el tratamiento de la endometriosis, fibromas uterinos, sangrado uterino disfuncional e hiperplasia endometrial;
- f) el tratamiento de la vascularización ocular incluyendo la vasculopatía que afecta a la retina y vasos coroidales;
- g) el tratamiento una disfunción cardíaca;
- h) la inhibición de condiciones inmunosupresoras tal como el tratamiento de las infecciones por el VIH;

- i) el tratamiento de la disfunción renal;
- j) la supresión de trastornos endocrinos;
- 5 k) la inhibición de la disfunción de la gluconeogénesis;
- l) el tratamiento de una neuropatología por ejemplo la enfermedad de Parkinson o una neuropatología que resulta en un trastorno cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer o las enfermedades neuronales relacionadas con la poliglutamina;
- 10 m) la inhibición de una patología neuromuscular, por ejemplo, la esclerosis lateral amiotrófica;
- n) el tratamiento de la atrofia muscular espinal;
- 15 o) el tratamiento de otras condiciones patológicas susceptibles de tratamiento mediante la potenciación de la expresión de un gen;
- p) la mejora de la terapia génica.

20 Por lo tanto, la presente invención divulga los compuestos de fórmula (I) para su uso como un medicamento, así como el uso de estos compuestos de fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una o más de las condiciones anteriormente mencionadas.

25 Los compuestos de fórmula (I), las sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables y las formas estereoisoméricas pueden tener valiosas propiedades de diagnóstico ya que pueden ser usados para la detección o identificación de un HDAC en una muestra biológica que comprende detectar o medir la formación de un complejo entre un compuesto etiquetado y un HDAC.

30 Los métodos de detección o identificación pueden usar compuestos que son etiquetados con agentes de etiquetado tal como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas, etc. Ejemplos de los radioisótopos incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^3H y ^{14}C . Las enzimas son generalmente detectables por la conjugación de un sustrato apropiado que, a su vez cataliza una reacción detectable. Ejemplos de las mismas comprenden, por ejemplo, beta-galactosidasa, beta-glucosidasa, fosfatasa alcalina, peroxidasa y malato dehidrogenasa, preferentemente peroxidasa de rábano. Las sustancias luminosas incluyen, por ejemplo, luminol, derivados de luminol, luciferin, aequorin y luciferasa.

35 Las muestras biológicas pueden definirse como tejidos corporales o fluidos corporales. Ejemplos de fluidos corporales son el líquido cefalorraquídeo, sangre, plasma, suero, orina, esputo, saliva y similares.

40 En vistas de sus propiedades farmacológicas útiles, los compuestos objetos pueden formularse en diferentes formas farmacéuticas para los propósitos de administración.

Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, una cantidad efectiva de un compuesto particular, en forma de sal de adición ácida o básica, como el ingrediente activo es combinada en mezcla íntima con un portador farmacéuticamente aceptable, el portador puede adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de 45 preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas están deseablemente en forma de dosis unitaria adecuada, de preferencia, para la administración por vía oral, rectal, percutánea, o por inyección parenteral. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, cualquiera de los medios farmacéuticos habituales podrán ser empleados, tal como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de los preparaciones líquidas orales tal como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o portadores sólidos tal como 50 almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes de desintegración y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y tabletas.

Debido a su facilidad en la administración, las tabletas y las cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso los portadores farmacéuticos sólidos son obviamente empleados. Para las compo- 55 siciones parenterales, el portador por lo general comprenderá agua estéril, por lo menos en gran parte, aunque otros ingredientes, para ayudar a la solubilidad por ejemplo, pueden incluirse. Las soluciones inyectables, por ejemplo, pueden ser preparadas en las que el portador comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y solución de glucosa. Las suspensiones inyectables también pueden ser preparadas en cuyo caso portadores líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares pueden ser empleados. En las composiciones adecuadas para la 60 administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente de mejora de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones menores, estos aditivos no provocan un efecto perjudicial significativo para la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para la preparación de composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de varias maneras, por ejemplo, como un parche transdérmico, como una mancha o como un 65 ungüento.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas antes mencionadas en forma unitaria de dosificación a fin de facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma unitaria de dosificación, tal como se utiliza en la descripción y las reivindicaciones aquí se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como unidades de dosificación unitaria, cada unidad conteniendo una cantidad predeterminada de ingrediente activo, calculado para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el portador farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas unitarias de dosificación son tabletas (incluyendo las tabletas recubiertas o con incisiones), cápsulas, píldoras, polvo, paquetes, obleas, soluciones inyectables o suspensiones, cucharaditas, cucharadas y similares, y múltiples segregados de los mismos.

Aquellos especializados en el arte podrían determinar fácilmente la cantidad efectiva a partir de los resultados de las pruebas presentadas aquí en lo adelante. En general, se contempla que una cantidad terapéuticamente efectiva sería de 0.005 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal y, en particular de 0.005 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Puede ser apropiado administrar la dosis requerida como dos, tres, cuatro o más sub-dosis a intervalos apropiados a través del día. Dichas sub-dosis se pueden formular como formas de dosificación unitarias, por ejemplo, conteniendo 0.5 a 500 mg y, en particular 10 mg a 500 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

Como otro aspecto de la presente invención una combinación de un inhibidor de HDAC con otro agente anti-cáncer es considerada, especialmente para su uso como un medicamento, más específicamente en el tratamiento del cáncer o las enfermedades relacionadas.

Para el tratamiento de las condiciones anteriores, los compuestos de la invención pueden ser ventajosamente empleados en combinación con uno o más de otros agentes medicinales, más particularmente, con otros agentes anti-cáncer. Ejemplos de agentes anti-cáncer son:

- compuestos de coordinación de platino por ejemplo cisplatino, carboplatino o oxaliplatino;
- compuestos de taxanos por ejemplo docetaxel o paclitaxel;
- inhibidores de la topoisomerasa I tal como compuestos de camptotecina por ejemplo topotecan o irinotecan;
- inhibidores de la topoisomerasa II tal como derivados de la podofilotoxina antitumoral por ejemplo etopósido o tenipósido;
- alcaloides vinca antitumorales por ejemplo vinblastina, vincristina o vinorelbina;
- derivados de nucleósidos antitumorales por ejemplo 5-fluorouracilo, gemcitabina o capecitabina;
- agentes de alquilación tal como mostaza nitrogenada o nitrosourea por ejemplo ciclofosfamida, clorambucil, carmustina o lomustina;
- derivados de antraciclina antitumorales por ejemplo daunorubicina, doxorubicina, idarubicina o mitoxantrona;
- anticuerpos HER2 por ejemplo trastuzumab;
- antagonistas del receptor de estrógeno o moduladores del receptor de estrógeno selectivos por ejemplo tamoxifeno, toremifeno, droloxifeno, faslodex o raloxifeno;
- inhibidores de la aromatasas tal como exemestano, anastrozol, letrozol y vorozol;
- agentes de diferenciación tal como retinoides, vitamina D, agentes bloqueadores del metabolismo del ácido retinoico (RAMBA) por ejemplo acutano;
- inhibidores de ADN metil transferasa por ejemplo azacitidina;
- inhibidores de quinasa por ejemplo flavopiridol, mesilato de imatinib o gefitinib;
- inhibidores de farnesiltransferasa; o
- otros inhibidores HDAC.

El término “compuesto de coordinación de platino” es usado aquí para denotar cualquier compuesto de coordinación de platino que inhibe el crecimiento de la célula tumoral el cual proporciona platino en forma de un ion.

El término “compuestos de taxanos” indica una clase de compuestos que tienen el sistema de anillo de taxanos y relacionados con o derivados de extractos de determinadas especies de tejo (Taxus).

El término “inhibidores de topoisomerasa” es usado para indicar las enzimas que son capaces de alterar la topología del ADN en células eucariotas. Estos son críticos para importantes funciones celulares y la proliferación celular. Hay dos clases de topoisomerasas en las células eucariotas, es decir, tipo I y tipo II. La topoisomerasa I es una enzima monomérica de aproximadamente peso molecular 100,000. La enzima se une al ADN y se introduce una ruptura de la hebra simple transitoria, desenvuelve la doble hélice (o le permite distenderse) y posteriormente vuelve a cerrar la ruptura antes de disociarse del filamento de DNA. La topoisomerasa II tiene un mecanismo de acción similar que implica la inducción de la ruptura de la hebra de ADN o la formación de radicales libres.

El término “compuestos de camptotecina” es usado para indicar compuestos que están relacionados con o derivados del compuesto de camptotecina padre que es un alcaloide insoluble en agua derivado del árbol Chino *Camptothecin acuminata* y el árbol Indio *Nothapodytes foetida*.

El término “compuestos de podofilotoxina” es usado para indicar compuestos que están relacionados con o derivados de podofilotoxina padre, que es extraído de la planta de mandrágora.

El término “alcaloides vinca antitumorales” es usado para indicar compuestos que están relacionados con o derivados de extractos de la planta bígaro (*Vinca rosea*).

El término “agentes alquilantes” abarca un grupo diverso de productos químicos que tienen la característica común de tener la capacidad de contribuir, bajo condiciones fisiológicas, con grupos alquilo a las macromoléculas biológicamente vitales tal como ADN. Con la mayoría de los agentes más importantes tal como las mostazas nitrogenadas y las nitrosoureas, las fracciones alquilantes activas son generadas *in vivo* después de reacciones degradativas complejas, algunas de las cuales son enzimáticas. Las acciones farmacológicas más importantes de los agentes alquilantes son las que perturban los mecanismos fundamentales concernidos en la proliferación celular en particular la síntesis de ADN y la división celular. La capacidad de los agentes alquilantes de interferir con la función del ADN y la integridad en la rápida proliferación de los tejidos proporciona la base para sus aplicaciones terapéuticas y para muchas de sus propiedades tóxicas.

El término “derivados de antraciclina antitumorales” comprende los antibióticos obtenidos a partir del hongo *Streptomyces peuceticus* var. *caesius* y sus derivados, que se caracterizan por tener una estructura de anillo de tetraciclina con un azúcar inusual, daunosamina, unido por un enlace glucosídico.

La amplificación de la proteína del receptor 2 (HER 2) del factor de crecimiento epidérmico humano en carcinomas primarios de mama se ha demostrado que se correlaciona con un mal pronóstico clínico para determinados pacientes. Trastuzumab es un anticuerpo kappa IgG1 monoclonal humanizado derivado de ADN recombinante altamente purificado que se une con alta especificidad y afinidad al dominio extracelular del receptor HER2.

Muchos cánceres de mama tienen receptores de estrógeno y el crecimiento de estos tumores puede ser estimulado por los estrógenos. El término “antagonistas del receptor de estrógeno” y “moduladores selectivos del receptor de estrógeno” son usados para indicar inhibidores competitivos de estradiol que se unen al receptor de estrógeno (ER). Los moduladores selectivos del receptor de estrógeno, cuando se unen al ER, inducen a un cambio en la forma tridimensional del receptor, inhibiendo su unión al elemento sensible al estrógeno (ERE) en el ADN.

En las mujeres posmenopáusicas, la principal fuente de circulación de estrógenos es a partir de la conversión de los andrógenos suprarrenales y de ovario (androstenediona y testosterona) a estrógenos (estrone y estradiol) mediante la enzima aromatasa en los tejidos periféricos. La privación de estrógeno a través de la inhibición o inactivación de la aromatasa es un tratamiento selectivo y efectivo para algunas pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama dependiente de hormonas.

El término “agente antiestrógeno” es usado aquí para incluir no sólo los antagonistas del receptor de estrógeno y los moduladores selectivos del receptor de estrógeno, sino también los inhibidores de la aromatasa como se discutió anteriormente.

El término “agentes de diferenciación” abarca los compuestos que pueden, de diversas maneras, inhibir la proliferación celular e inducir la diferenciación. La vitamina D y los retinoides se sabe que desempeñan un papel importante en la regulación del crecimiento y la diferenciación de una amplia variedad de tipos de células normales y malignas. Agentes bloqueadores del metabolismo del ácido retinoico (RAMBA) aumentan los niveles de ácidos retinoicos endógenos mediante la inhibición del catabolismo mediado por el citocromo P450 de ácidos retinoicos.

Los cambios de metilación del ADN se encuentran entre las anomalías más comunes en la neoplasia humana. La hipermetilación dentro de los promotores de genes seleccionados suele estar asociada con la inactivación de los genes implicados. El término “inhibidores de metil transferasa del ADN” es usado para indicar compuestos que actúan a través de la inhibición farmacológica de la metil transferasa del ADN y la reactivación de la expresión del gen supresor tumoral.

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

ES 2 307 909 T3

El término “inhibidores de farnesiltransferasa” es usado para indicar compuestos que fueron diseñados para evitar la farnesilación de Ras y de otras proteínas intracelulares. Estos han demostrado tener efecto sobre la proliferación de células malignas y la supervivencia.

5 El término “otros inhibidores HDAC” comprende pero no está limitado a:

- ácidos grasos de cadena corta por ejemplo butirato, 4-fenilbutirato o ácido valproico;
- ácidos hidroxámicos por ejemplo ácido hidroxámico suberoilánilida (SAHA), biaril hidroxamato A-161906, aril-*N*-hidroxicarboxamidas bicíclicas, piroxamida, CG-1521, PXD-101, ácido hidroxámico sulfonamida, LAQ-824, tricostatina A (TSA), oxamflatin, scriptaid, m-carboxi ácido cinámico ácido bishidroxámico, o análogos del ácido trapoxin-hidroxámico;
- tetrapéptidos cíclicos por ejemplo trapoxin, apidicin o depsipéptido,
- benzamidas por ejemplo MS-275 o IC-994, o
- depudecin.

20 Para el tratamiento del cáncer los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden ser administrados a un paciente como se describió más arriba, en conjunto con la irradiación. Irradiación significa la radiación ionizante y, en particular, la radiación gamma, especialmente la emitida por aceleradores lineales o por radionuclidos que se encuentran en uso común hoy en día. La irradiación del tumor por radionuclidos pueden ser externa o interna.

25 La presente invención también se relaciona con una combinación de acuerdo con la invención de un agente anti-cáncer y un inhibidor de HDAC de acuerdo con la invención.

La presente invención también se relaciona con una combinación de acuerdo con la invención para su uso en terapia médica por ejemplo para inhibir el crecimiento de células tumorales.

30 La presente invención también se relaciona con una combinación de acuerdo con la invención para inhibir el crecimiento de células tumorales.

35 La presente invención también se relaciona con un método de inhibición del crecimiento de células tumorales en un sujeto humano que comprende la administración a los sujetos de una cantidad efectiva de una combinación de acuerdo con la invención.

Esta invención proporciona además un método para inhibir el crecimiento anormal de células, incluyendo las células transformadas, mediante la administración de una cantidad efectiva de una combinación de acuerdo con la invención.

40 El otro agente medicinal y el inhibidor de HDAC se pueden administrar simultáneamente (por ejemplo en composiciones unitarias o separadas) o en forma secuencial en cualquier orden. En este último caso, los dos compuestos serán administrados dentro de un período y en una cantidad y forma que es suficiente para garantizar que un efecto sinérgico o ventajoso sea alcanzado. Se apreciará que el método preferido y el orden de administración y las cantidades de dosificación respectivas y regímenes para cada componente de la combinación dependerá del otro agente medicinal particular y el inhibidor de HDAC que está siendo administrado, su vía de administración, el tumor particular que está siendo tratado y el huésped particular que está siendo tratado. El método óptimo y el orden de administración y las cantidades de dosificación y el régimen pueden ser fácilmente determinados por aquellos especializados en el arte usando los métodos convencionales y en vista de la información que figura en este documento.

50 El compuesto de coordinación de platino es ventajosamente administrado en una dosificación de 1 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo de 50 a 400 mg/m^2 , en particular para cisplatino en una dosificación de alrededor de 75 mg/m^2 y para carboplatino en alrededor de 300 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

55 El compuesto de taxano es ventajosamente administrado en una dosificación de 50 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo 75 a 250 mg/m^2 , en particular para paclitaxel en una dosificación de aproximadamente 175 a 250 mg/m^2 y para docetaxel en alrededor de 75 a 150 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

60 El compuesto de camptotecina es ventajosamente administrado en una dosis de 0.1 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo 1 a 300 mg/m^2 , en particular para irinotecan en una dosificación de alrededor de 100 a 350 mg/m^2 y para topotecan en alrededor de 1 a 2 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

65 El derivado de podofilotoxina antitumoral es ventajosamente administrado en una dosificación de 30 a 300 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo 50 a 250 mg/m^2 , particularmente para etoposida en una dosificación de alrededor 35 a 100 mg/m^2 y para teniposida en alrededor de 50 a 250 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

El alcaloide vinca antitumoral es ventajosamente administrado en una dosis de 2 a 30 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, particularmente para vinblastina en una dosificación de alrededor 3 a 12 mg/m^2 , para vincristina en una dosificación de alrededor 1 a 2 mg/m^2 , y para vinorelbina en una dosificación de alrededor 10 a 30 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

El derivado nucleosido antitumoral es ventajosamente administrado en una dosificación de 200 a 2500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo 700 a 1500 mg/m^2 , particularmente para 5-FU en una dosificación de 200 a 500 mg/m^2 , para gemcitabina en una dosis de alrededor 800 a 1200 mg/m^2 y para capecitabina en alrededor de 1000 a 2500 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

Los agentes alquilantes tal como la mostaza nitrogenada o nitrosourea es ventajosamente administrado en una dosificación de 100 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo 120 a 200 mg/m^2 , particularmente para ciclofosfamida en una dosificación de alrededor 100 a 500 mg/m^2 , para clorambucil en una dosificación de alrededor 0.1 hasta 0.2 mg/kg , para carmustina en una dosificación de alrededor 150 a 200 mg/m^2 , y para lomustina en una dosificación de alrededor 100 a 150 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

El derivado de antraciclina antitumoral es ventajosamente administrado en una dosis de 10 a 75 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo 15 a 60 mg/m^2 , particularmente para doxorubicin en una dosificación de alrededor 40 a 75 mg/m^2 , para daunorubicin en una dosificación de alrededor 25 a 45 mg/m^2 , y para idarubicin en una dosis de alrededor 10 a 15 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

Trastuzumab es ventajosamente administrado en una dosis de 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, particularmente 2 a 4 mg/m^2 por ciclo de tratamiento.

El agente antiestrógeno es ventajosamente administrado en una dosificación de alrededor de 1 a 100 mg al día dependiendo del agente particular y la condición que está siendo tratada. Tamoxifeno es ventajosamente administrado por vía oral en una dosificación de 5 a 50 mg, preferiblemente 10 a 20 mg dos veces a día, continuando la terapia por tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. Toremifeno es ventajosamente administrado por vía oral en una dosificación de alrededor de 60 mg una vez al día, continuando la terapia por tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. Anastrozol es ventajosamente administrado por vía oral en una dosificación de alrededor de 1 mg una vez al día. Droloxifeno es ventajosamente administrado por vía oral en una dosificación de alrededor de 20-100 mg una vez al día. Raloxifeno es ventajosamente administrado por vía oral en una dosificación de alrededor de 60 mg una vez al día. Exemestano es ventajosamente administrado por vía oral en una dosificación de alrededor de 25 mg una vez al día.

Estas dosificaciones se pueden administrar por ejemplo una vez, dos veces o más por ciclo de tratamiento, que puede repetirse por ejemplo cada 7, 14, 21 ó 28 días.

En vistas de sus propiedades farmacológicas útiles, los componentes de las combinaciones de acuerdo a la invención, es decir, los otros agentes medicinales y el inhibidor de HDAC pueden ser formulados en diferentes formas farmacéuticas para los propósitos de administración. Los componentes pueden ser formulados por separado en composiciones farmacéuticas individuales en una composición farmacéutica unitaria que contiene ambos componentes.

La presente invención, por lo tanto, también se relaciona con una composición farmacéutica que comprende el otro agente medicinal y el inhibidor de HDAC junto con uno o más portadores farmacéuticos.

La presente invención también se relaciona con una combinación de acuerdo con la invención en la forma de una composición farmacéutica que comprende un agente anti-cáncer y un inhibidor de HDAC de acuerdo con la invención junto con uno o más portadores farmacéuticos.

La presente invención además se relaciona con el uso de una combinación de acuerdo con la invención en la fabricación de una composición farmacéutica para inhibir el crecimiento de células tumorales.

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

Parte experimental

Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines de ilustración.

De aquí en adelante "DCM" significa diclorometano, "DMF" significa dimetilformamida, "EtOAc" significa etil acetato, "iPrOH" significa isopropil, "MeOH" significa metanol, "EtOH" significa etanol, "TEA" significa trietilamina, "TFA" significa ácido trifluoroacético, "THF" significa tetrahidrofurano, "BSA" significa albúmina de suero bovino, "DMSO" significa dimetilsulfóxido, y "Hepes" significa ácido 4-(-2-hidroxietil)-1-piperazina-etanosulfónico.

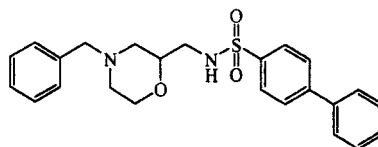
ES 2 307 909 T3

$[\alpha]_D^{20}$ indica la rotación óptica medida con luz a la longitud de onda de la línea-D de sodio a una temperatura de 20°C. Detrás del valor actual la concentración y el disolvente de la solución que fue usada para medir la rotación óptica son mencionados.

5 A. Preparación de los productos intermedios

Ejemplo A1

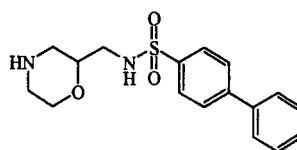
a) Preparación del



compuesto intermedio 1

Una solución de [1,1'-bifenil]-4-sulfonyl cloruro (0.016 mol) en DCM (50 ml) fue añadido gota a gota a 0°C a una solución de 4-(fenilmetil)-2-morfolinometanamina (0.0145 mol) y TEA (0.023 mol) en DCM (50 ml). La mezcla se llevó a temperatura ambiente, y luego se agitó toda la noche, fue vertida en agua helada y extraída con DCM. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO_4), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (6 g) fue cristalizado a partir de dietil éter. El precipitado fue filtrado y secado, produciendo 3.1 g (62%) del producto intermedio 1, punto de fusión 128°C.

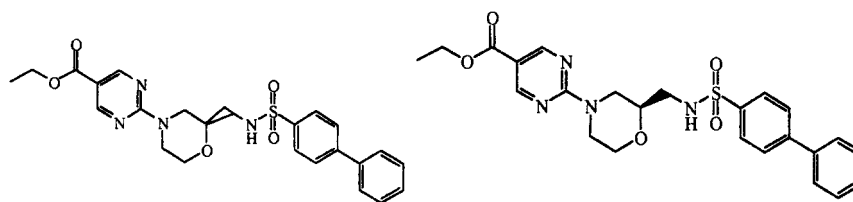
b) Preparación del



producto intermedio 2

Una mezcla del producto intermedio 1 (0.0071 mol) y Pd/C (0.5 g) en MeOH (50 ml) y ácido acético (5 ml) fue hidrogenada a temperatura ambiente durante 5 días bajo una presión de 3 bars, y luego filtrada sobre celita. La celita fue lavada con DCM/MeOH. El filtrado fue evaporado. El residuo (3 g) fue tomado en dietil éter. El precipitado fue filtrado, lavado con dietil éter y secado, produciendo 2.6 g (100%) del producto intermedio 2, punto de fusión 151°C.

c) Preparación del



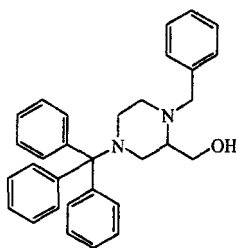
(A)
producto intermedio 3

(B)
producto intermedio 4

Hidruro de sodio 60% (0.014 mol) fue añadido en porciones a 0°C a una mezcla del producto intermedio 2 (0.0069 mol) en THF (30 ml) bajo flujo de N_2 . La mezcla fue agitada a 0°C durante 1 hora. Una solución de ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidinacarboxílico, etil éster (0.009 mol) en THF (20 ml) fue añadido gota a gota. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 4 horas, vertida en agua helada y extraída con EtOAc. La capa orgánica fue lavada con agua, secada (MgSO_4), filtrada y el disolvente fue evaporado. El residuo (3 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH 99/5). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado. El residuo (0.6 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (chiralpak) (eluyente: CH_3CN 100). Dos fracciones fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 0.255 g (8%) del producto intermedio 3 (A), $[\alpha]_D^{20} = -32.6$ (c = 0.00485 DMF) y 0.25 g (8%) del producto intermedio 4 (B), $[\alpha]_D^{20} = +33.8$ (c = 0.005, DMF).

Ejemplo A2

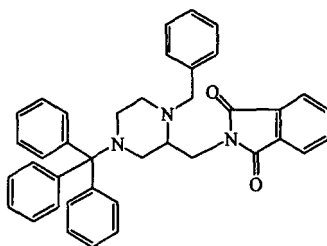
a) Preparación del



producto intermedio 5

Tetrahidro-aluminato(1-), litio (0.04 mol) fue añadido en porciones a 5°C a THF (40 ml) bajo flujo de N₂. Una solución de etil éster de ácido 1-bencil-4-trifenilmetilpiperazina-2-carboxílico, (0.01 mol) en THF (40 ml) fue añadido gota a gota. La mezcla fue agitada durante 2 horas, vertida en EtOAc/agua y filtrada sobre celita. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄), filtrada y el disolvente fue evaporado, produciendo 4.05 g del producto intermedio 5. Este producto fue utilizado directamente en el próximo paso de la reacción.

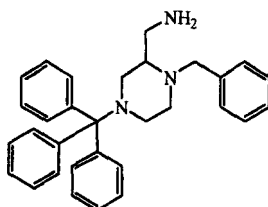
b) Preparación del



producto intermedio 6

Una solución de ácido diazenodicarboxílico, bis(1-metiletil) éster (0.0097 mol) en THF (10 ml) fue añadido gota a gota a 5°C a una solución del producto intermedio 5 (0.0064 mol), 1H-isoindol-1,3(2H)-diona (0.0097 mol) y trifenilfosfina (0.0097 mol) en THF (50 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 6 horas, vertida en agua helada y extraída con EtOAc. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (11 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/EtOAc 99/1). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo: 2.8 g (75%) del producto intermedio 6, punto de fusión 100°C.

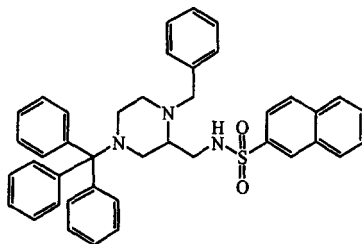
c) Preparación del



producto intermedio 7

Monohidrobromuro de hidrazina (0.005 mol) fue añadido a una solución del producto intermedio 6 (0.0025 mol) en EtOH (25 ml). La mezcla fue agitada y sometida a reflujo durante 4 horas, y luego enfriada a temperatura ambiente. El disolvente fue evaporado. El residuo fue tomado en NaCl y extraído con EtOAc/DCM. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado, produciendo de 3.55 g del producto intermedio 7. Este producto fue utilizado directamente en el próximo paso de la reacción.

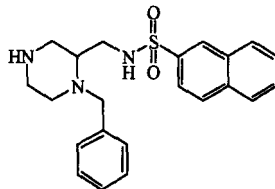
d) Preparación del



producto intermedio 8

Una mezcla del producto intermedio 7 (0.0025 mol), 2-naftalenosulfonil cloruro (0.0027 mol) y TEA (0.004 mol) en DCM (20 ml) fue agitada a temperatura ambiente toda la noche, vertida en agua helada y extraída con DCM. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO_4), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (3.8 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/EtOAc 98/2). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado. El residuo (0.8 g) fue cristalizado a partir de dietil éter. El precipitado fue filtrado y secado, produciendo 0.693 g (41%), del producto intermedio 8, punto de fusión 219°C.

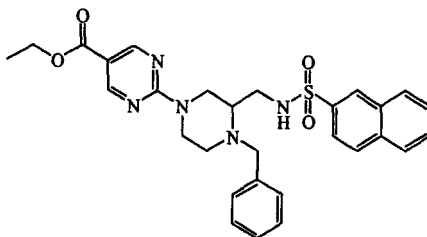
e) Preparación del



producto intermedio 9

Una mezcla del producto intermedio 8 (0.0009 mol) en HCl 12N (0.6 ml) y 2-propanona (18 ml) fue agitada a temperatura ambiente durante 4 horas. El disolvente fue evaporado. El residuo fue tomado en agua. La capa acuosa fue lavada con dietil éter, basificada con carbonato de potasio y extraída con EtOAc. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO_4), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (0.5 g) fue cristalizado de dietil éter. El precipitado fue filtrado y secado. El residuo (0.38 g) fue tomado en agua/EtOAc. La capa orgánica fue evaporada. El residuo fue tomado en dietil éter. El precipitado fue filtrado y secado, produciendo 0.044 g (48%) del producto intermedio 9, punto de fusión 210°C.

f) Preparación del



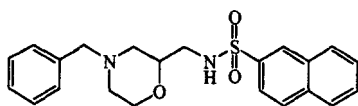
producto intermedio 10

Éster etil del ácido 2-(metilsulfonil)-5-pirimidinacarboxílico, (0.0029 mol) fue añadido a temperatura ambiente a una solución del producto intermedio 9 (0.002 mol) y carbonato de potasio (0.007 mol) en acetonitrilo (50 ml). La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 3 horas, y luego agitada a 80°C toda la noche, enfriada a temperatura ambiente, vertida en agua helada y extraída con EtOAc. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO_4), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (2 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH 99/1). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 0.76 g (48%) del producto intermedio 10.

ES 2 307 909 T3

Ejemplo A3

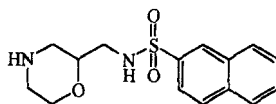
a) Preparación del



producto intermedio 11

Una solución de 2-naftalenosulfonil cloruro (0.016 mol) en DCM (50 ml) fue añadido gota a gota a 0°C a una solución de 4-(fenilmetil)-2-morfolinometanamina (0.015 mol) y TEA (0.024 mol) en DCM (50 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente toda la noche, vertida en agua helada y extraída con DCM. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado, produciendo 6 g (100%) del producto intermedio 11. Este producto fue utilizado directamente en el próximo paso de la reacción.

b) Preparación de

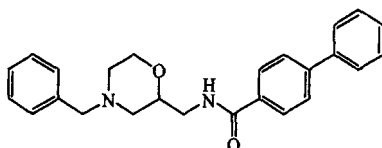


producto intermedio 12

Una solución de ácido carbonoclorídico, 1-cloroetil éster (0.016 mol) en 1,2-dicloroetano (2 ml) fue añadida a temperatura ambiente a una mezcla del producto intermedio 11 (0.414 mol) en 1,2-dicloroetano (48 ml). La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 45 minutos, luego a 80°C durante 3 horas. MeOH (100 ml) fue añadido. La mezcla fue agitada a 80°C durante 4 días, vertida en agua y extraída con EtOAc. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (3.5 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 92/8/0.5). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado. El residuo (0.38 g, 9%) fue cristalizado de dietil éter. El precipitado fue filtrado y secado, produciendo 0.21 g del producto intermedio 12, punto de fusión 140°C.

Ejemplo A4

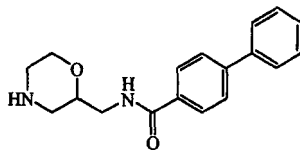
a) Preparación del



producto intermedio 13

Una solución de [1,1'-bifenil]-4-carbonil cloruro (0.016 mol) en DCM (50 ml) fue añadida gota a gota a 0°C a una solución de 4-(fenilmetil)-2-morfolinometanamina (0.0145 mol) y TEA (0.023 mol) en DCM (50 ml). La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 12 horas, vertida en agua helada y extraída con DCM. La capa orgánica fue lavada con carbonato de potasio al 10%, separada, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (6.2 g) fue cristalizado a partir de CH₃CN/dietil éter. El precipitado fue filtrado y secado. La capa madre fue evaporada. El residuo (3.3 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 98/2/0.1). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 1.5 g (27%). Una fracción (0.39 g) fue cristalizada a partir de CH₃CN/dietil éter. El precipitado fue filtrado y secado, produciendo 0.12 g del producto intermedio 13, punto de fusión 133°C.

b) Preparación del

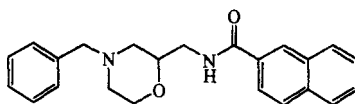


producto intermedio 14

Ácido carbonoclorídico, 1-cloroetil éster (0.0066 mol) fue añadido a temperatura ambiente a una mezcla del producto intermedio 13 (0.006 mol) en 1,2-dicloroetano (35 ml). La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 45 minutos, luego agita a 80°C durante 3 horas. MeOH (60 ml) fue añadido. La mezcla fue agitada a 80°C durante 8 días, y luego enfriada a temperatura ambiente. El disolvente fue evaporado. EtOAc fue añadido. El precipitado fue filtrado, lavada con dietil éter y secado, produciendo 1.8 g (100%) del producto intermedio 14, punto de fusión 284°C.

Ejemplo A5

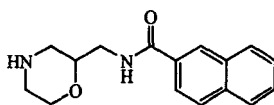
a) Preparación del



producto intermedio 15

Una solución de 2-naftalenocarbonil cloruro (0.017 mol) en DCM (60 ml) fue añadida gota a gota a 0°C a una mezcla de 4-(fenilmetil)-2-morfolinometanamina (0.015 mol) y TEA (0.026 mol) en DCM (60 ml). La mezcla fue llevada a temperatura ambiente durante la noche y vertida en agua helada. La capa orgánica fue separada, lavada con carbonato de potasio al 10%, secada (MgSO₄), filtrada y el disolvente fue evaporado. El residuo fue cristalizado a partir de dietil éter/DIPE. El precipitado fue filtrado y secado, produciendo 4.6 g (85%) del producto intermedio 15, punto de fusión 104°C.

b) Preparación del

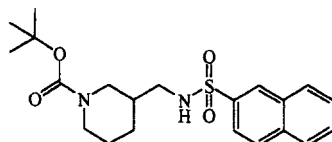


producto intermedio 16

Una mezcla del producto intermedio 15 (0.0109 mol) y Pd/C (2 g) en MeOH (80 ml) y ácido acético (8 ml) fue hidrogenada a temperatura ambiente durante 4 días bajo una presión de 3 bars, y luego filtrada sobre celita. La celita fue lavada con MeOH/DCM. El filtrado fue evaporado. El residuo (7.2 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 97/3/0.1). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 0.8 g del producto intermedio 16.

Ejemplo A6

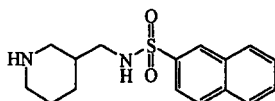
a) Preparación del



producto intermedio 17

Una solución de 2-naftalenosulfonyl cloruro (0.011 mol) en DCM (5 ml) fue añadida a 5°C a una mezcla de ácido 3-(aminometil)-1-piperidinacarboxílico, 1,1-dimetiletil éster (0.01 mol) y TEA (0.014 mol) en DCM (15 ml). La mezcla fue agitada a 20°C durante 18 horas. Carbonato de potasio al 10% fue añadido. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO_4), filtrada, y el disolvente fue evaporado hasta la sequedad, produciendo 4.6 g (>100%) del producto intermedio 17.

b) Preparación del

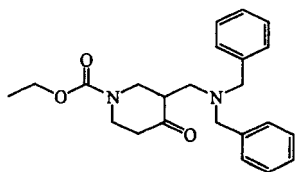


producto intermedio 18

Una mezcla del producto intermedio 17 (0.0089 mol) en HCl/iPrOH 5N (40 ml) fue agitada a 50°C durante 15 minutos, basificada con NH_4OH . El disolvente fue evaporado hasta la sequedad. El residuo fue tomado en DCM y filtrado. El filtrado fue secado (MgSO_4), filtrado y el disolvente fue evaporado hasta la sequedad, produciendo 2.9 g (>100%) del producto intermedio 18.

Ejemplo A7

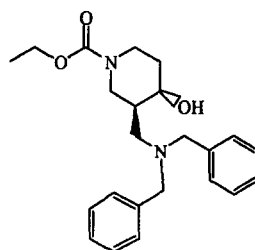
a) Preparación del



producto intermedio 19

N-(fenilmetil)-bencenometanamina (1 mol) fue disuelto en dietil éter y convertido en la sal de ácido clorhídrico (1:1) con HCl/2-propanol 6 N. El precipitado fue filtrado y secado para dar 234 g que fue añadido con ácido 4-oxo-1-piperidinacarboxílico, etil éster y $(\text{CH}_2\text{O})_n$ (30 g) en ácido acético (1600 ml). La mezcla fue agitada durante 110 minutos a 60-65°C, y luego enfriada a temperatura ambiente y vertida en hielo/agua/ NH_4OH . El precipitado blanco aceitoso resultante fue extraído con dietil éter. La capa orgánica separada fue lavada con agua, secada (MgSO_4), filtra y el disolvente evaporado a temperatura ambiente, produciendo 436 g del producto intermedio 19.

b) Preparación del

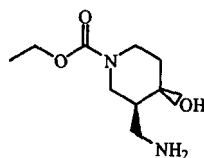


(TRANS)

producto intermedio 20

Producto Intermedio 19 (max. 0.55 mol de residuo de crudo) fue agitado en EtOH (1500 ml). Parte del hidrobórato de sodio fue añadido en forma de porciones resultando en una elevación de la temperatura exotérmica a 30°C. Por lo tanto, la mezcla de reacción fue enfriada en un baño de agua helada y más hidrobórato de sodio (en total, 1.5 mol) fue añadido mientras que la temperatura de reacción se mantuvo a $\pm 16^\circ\text{C}$. La mezcla de reacción fue agitada durante una hora a $\pm 16^\circ\text{C}$. La mezcla de reacción fue concentrada a la mitad del volumen inicial mediante evaporación. El concentrado fue enfriado. Agua fue añadida. La mezcla fue concentrada adicionalmente (espuma pesada) hasta que todo el etanol fue evaporado. El concentrado acuoso fue enfriado, y luego extraído con dietil éter. La capa orgánica fue separada, lavada con agua, secada (MgSO_4), filtrada y el disolvente fue evaporado. El residuo aceitoso fue disuelto en DIPE, y tratado con HCl/2-propanol. Una precipitación pegajosa resultó. El disolvente fue evaporado. El residuo se suspendió en acetonitrilo caliente, y luego enfriado y el precipitado se eliminó por filtración. El filtrado fue evaporado. El residuo fue disuelto en agua, alcalinizado con NH_4OH , y luego extraído con dietil éter. La capa orgánica separada fue secada (MgSO_4), filtrada y el disolvente fue evaporado. El residuo (267 g) fue separado por HPLC (eluyente: tolueno/etanol 98.5/1.5). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado. Una de las fracciones fue cristalizada a partir de acetonitrilo, filtrada y secada, produciendo 107 g (TRANS) del producto intermedio 20.

c) Preparación del

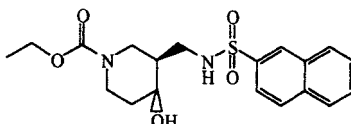


(TRANS)

producto intermedio 21

Una mezcla del producto intermedio 20 (0.01 mol) y Pd/C (1.5 g) en EtOH (200 ml) fue hidrogenada a 50°C toda la noche bajo una presión de 3 bars, y luego filtrada sobre celita. El filtrado fue evaporado hasta la sequedad, produciendo 2.1 g (>100%) del producto intermedio 21.

d) Preparación del

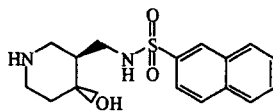


(TRANS)

producto intermedio 22

Una solución de 2-naftalenosulfonil cloruro (0.0054 mol) en DCM (2 ml) fue añadido a 5°C a una mezcla del producto intermedio 21 (0.0049 mol) y TEA (0.0069 mol) en DCM (10 ml) bajo flujo de N_2 . La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 18 horas. Carbonato de potasio al 10% fue añadido. La mezcla fue extraída con DCM. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO_4), filtrada, y el disolvente fue evaporado hasta la sequedad, produciendo 2 g (100%) del producto intermedio 22 (TRANS).

e) Preparación del



(TRANS)

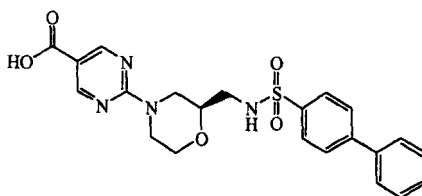
producto intermedio 23

Una mezcla del producto intermedio 22 (0.0043 mol) en HCL 6N (20 ml) fue agitada y sometida a reflujo durante 24 horas. El disolvente fue evaporado hasta la sequedad. El residuo fue basicado con NaOH 3N. EtOAc fue añadido. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente toda la noche. El precipitado fue filtrado, lavado con dietil éter y secado, produciendo 1.37 g (97%) del producto intermedio 23 (TRANS).

B. Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B1

a) Preparación del



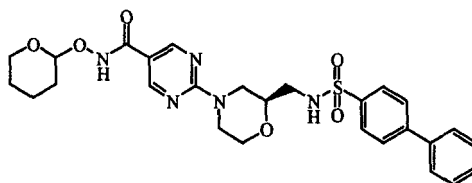
.Na

(B)

producto intermedio 24

Una mezcla del producto intermedio 4 (0.0004 mol) y NaOH (0.0008 mol) en EtOH (10 ml) fue agitada a 80°C durante 48 horas, y luego enfriada a temperatura ambiente. El precipitado fue filtrado, lavado con dietil éter y secado, produciendo 0.188 g (90%) del producto intermedio 24 (B) Na.

b) Preparación del

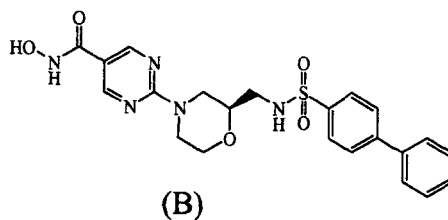


(B)

producto intermedio 25

Una solución de *N*'-(etilcarbonimidoil)-*N,N*-dimetil-1,3-propanodiamina, monohidrocloruro (0.0005 mol) en DCM (5 ml) y luego una solución de 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol (0.0005 mol) en THF (5 ml) fueron añadidos a temperatura ambiente a una mezcla del producto intermedio 24 (0.0003 mol) y *O*-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-hidroxilamina (0.0005 mol) en DCM (10 ml). La mezcla fue agitada a temperatura ambiente toda la noche, vertida en agua y extraída con DCM. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (0.29 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (10 μm) (eluyente: DCM/MeOH 99/1). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 0.142 g (66%) del producto intermedio 25 (B).

c) Preparación del

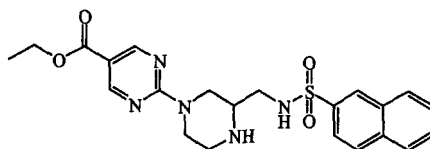


compuesto 1

Una mezcla del producto intermedio 25 (B) (0.0002 mol) en TFA (1 ml) y MeOH (15 ml) fue agitada a temperatura ambiente durante 4 días. El precipitado fue filtrado y secado. El residuo (0.08 g) fue tomado en MeOH/CH₃CN. El precipitado fue filtrado, lavado con MeOH, y después con dietil éter y secado, produciendo 0.046 g del compuesto 1 (B), $[\alpha]_D^{20} = +32.85$ (c = 0.0047, DMF), punto de fusión 164°C.

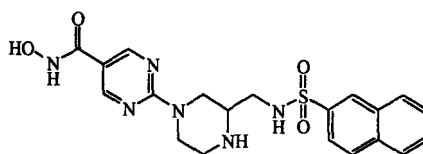
Ejemplo B2

Preparación del



producto intermedio 26

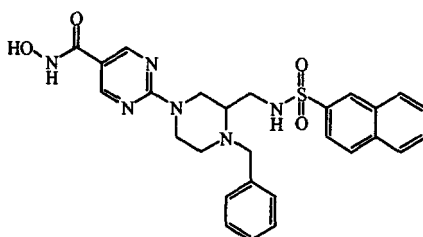
Una mezcla del producto intermedio 10 (0.0088 mol) y Pd/C 10% (1.3 g) en ácido acético (2 ml) y EtOH (200 ml) fue agitada a temperatura ambiente durante 9 días bajo una presión de 3 bars, y luego filtrada sobre celita. El filtrado fue evaporado hasta la sequedad. La mezcla fue filtrada sobre celita. El filtrado fue evaporado hasta la sequedad. El residuo fue tomado en DCM. La capa orgánica fue lavada con carbonato de potasio al 10%, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (2.7 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μ m) (eluyente: tolueno/iPrOH/NH₄OH 90/10/0.2). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 0.29 g (8%) del producto intermedio 26. El producto intermedio 26 fue manipulado de manera análoga, tal como se describió en el ejemplo [B1] para dar 0.065 g (51%) del compuesto 2, punto de fusión 243°C.



compuesto 2

Ejemplo B3

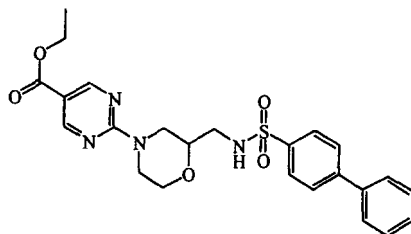
El producto intermedio 10 fue manipulado de manera análoga, tal como se describió en el ejemplo [B1] para dar 0.26 g (100%) del compuesto de 3, punto de fusión de 135°C.



compuesto 3

Ejemplo B4

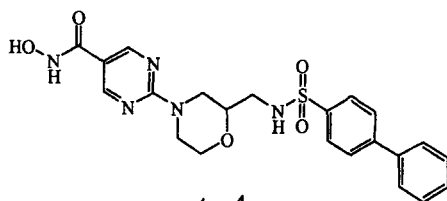
Preparación del



producto intermedio 27

Hidruro de sodio 60% (0.0059 mol) fue añadido a 0°C a una mezcla del producto intermedio 2 (0.0039 mol) en THF (15 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla fue agitada a 0°C durante 1 hora. Una solución de ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidinacarboxílico, etil éster (0.0051 mol) en THF (10 ml) fue añadido gota a gota. La mezcla fue agitada a 0°C durante 2 horas, luego se lleva a temperatura ambiente durante 2 horas, vertida en agua helada y extraída con EtOAc. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄) filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (2 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 97/3/0.1). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado. El residuo fue cristalizado de dietil éter. El precipitado fue filtrado y secado, produciendo 0.075 g del producto intermedio 27, punto de fusión 170°C.

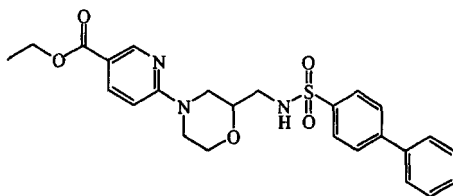
El producto intermedio 27 fue manipulado de manera análoga, tal como se describió en el ejemplo [B1] para dar 0.236 g (64%) del compuesto 4, punto de fusión 163°C.



compuesto 4

Ejemplo B5

Preparación del

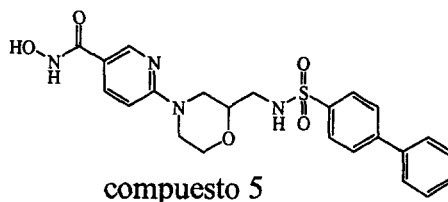


producto intermedio 28

Hidruro de sodio 60% (0.0043 mol) fue añadido en porciones a 0°C a una mezcla del producto intermedio 2 (0.0036 mol) y ácido 6-cloro-3-piridinacarboxílico, etil éster (0.0047 mol) en DMF (20 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla fue agitada a 90°C durante 12 horas, y luego enfriada a temperatura ambiente y vertida en agua helada. EtOAc fue añadido. La mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica fue lavada con agua, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (1.7 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/EtOAc 85/15 luego DCM/MeOH/NH₄OH 97/3/0.1). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado. El residuo (0.42 g) fue cristalizado a partir de dietil éter. El precipitado fue filtrado y secado, produciendo 0.36 g (22%) del producto intermedio 28, punto de fusión 186°C.

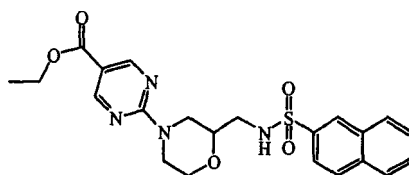
ES 2 307 909 T3

El producto intermedio 28 fue manipulado de manera análoga, tal como se describe en el ejemplo [B1] para dar 0.155 g (62%) del compuesto 5, punto de fusión 210°C.



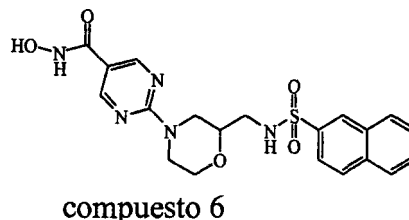
Ejemplo B6

Preparación del



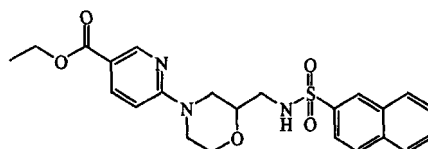
Hidruro de sodio (0.0032 mol) fue añadido a 0°C a una mezcla del producto intermedio 12 (0.0016 mol) en THF (10 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 1 hora. Una solución de ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidinacarboxílico, etil éster (0.0019 mol) en THF (10 ml) fue añadido gota a gota a 0°C. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 2 horas. Hielo y EtOAc se añadieron. La mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado. El residuo (0.75 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH 99/1). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 0.22 g (73%) del producto intermedio 29.

El producto intermedio 29 fue manipulado de manera análoga, tal como se describió en el ejemplo [B1] para dar 0.055 g (50%) del compuesto 6, punto de fusión 179°C.



Ejemplo B7

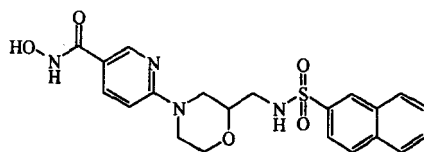
Preparación del



Hidruro de sodio 60% (0.0052 mol) fue añadido a 0°C a una mezcla del producto intermedio 12 (0.0026 mol) en DMF (20 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla fue agitada a 0°C durante 1 hora. Una solución de ácido 6-cloro-3-piridinacarboxílico, etil éster (0.0034 mol) en DMF (10 ml) fue añadida gota a gota a 0°C. La mezcla se llevó a temperatura ambiente, y luego agitada a 90°C durante 12 horas, vertida en agua helada y extraída con DCM. La capa orgánica fue lavada con agua, secada (MgSO₄), filtrada y el disolvente fue evaporado. El residuo (1.4 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: ciclohexano/EtOAc 60/40). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 0.5 g (42%) del intermedio 30.

ES 2 307 909 T3

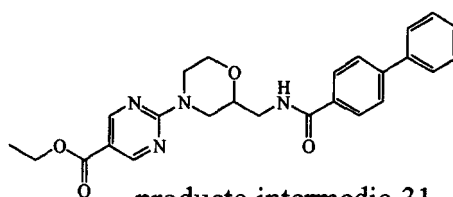
El producto intermedio 30 fue manipulado de manera análoga, tal como se describió en el ejemplo [B1] para dar 0.23 g (66%) del compuesto 7, punto de fusión 157°C.



compuesto 7

Ejemplo B8

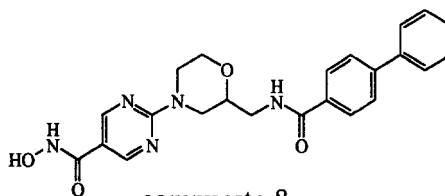
Preparación del



producto intermedio 31

Una mezcla del producto intermedio 14 (0.003 mol), ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidinacarboxílico, etil éster (0.004 mol) y carbonato de potasio (0.0061 mol) en acetonitrilo (30 ml) fue agitada a temperatura ambiente durante 12 horas, vertida en agua y extraída con EtOAc. La capa orgánica fue separada, lavada con agua, secada (MgSO_4), filtrada y el disolvente fue evaporado. El residuo (1.4 g) fue cristalizado a partir de CH_3CN /dietil éter. El precipitado fue filtrado y secado, produciendo: 1.1 g (79%) del producto intermedio 31, punto de fusión 184°C.

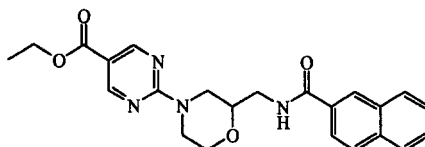
El producto intermedio 31 fue manipulado de manera análoga, tal como se describió en el ejemplo [B1] para dar 0.156 g (47%) del compuesto 8, punto de fusión 290°C.



compuesto 8

Ejemplo B9

Preparación del

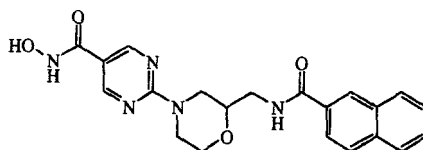


producto intermedio 32

Hidruro de sodio (0.0044 mol) fue añadido a 0°C a una mezcla del producto intermedio 16 (0.0022 mol) en THF (15 ml) bajo flujo de N_2 . La mezcla fue agitada a 0°C durante 1 hora. Una solución de ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidinacarboxílico, etil éster (0.0029 mol) en THF (5 ml) fue añadido gota a gota. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 4 horas, vertida en agua helada y extraída con EtOAc. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO_4), filtrada y el disolvente fue evaporado. El residuo (1 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: $\text{DCM}/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 97/3/0.1). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 0.58 g (90%) del producto intermedio 32.

ES 2 307 909 T3

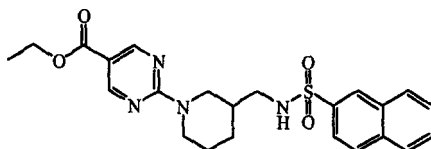
El producto intermedio 32 fue manipulado de manera análoga, tal como se describió en el ejemplo [B1] para dar 0.091 g (50%) del compuesto 9, punto de fusión 246°C.



compuesto 9

Ejemplo B10

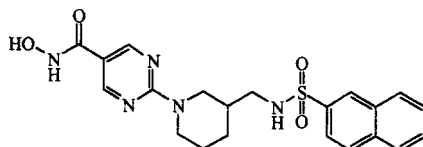
Preparación del



producto intermedio 33

Hidruro de sodio 60% en aceite (0.0042 mol) fue añadido en porciones a 5°C para una mezcla del producto intermedio 18 (0.0032 mol) en THF (10 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla fue agitada durante 30 minutos. Una solución de ácido 2-(metilsulfonil)-5-pirimidinacarboxílico, etil éster (0.0039 mol) en THF (2 ml) fue añadido. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 18 horas. Carbonato de potasio al 10% fue añadido. La mezcla fue extraída con DCM. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado hasta la sequedad. El residuo (1.6 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM 100 a DCM/MeOH 98/2). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 0.9 g (60%) del producto intermedio 33.

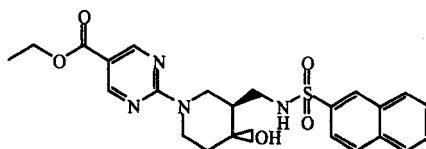
El producto intermedio 33 fue manipulado de manera análoga, tal como se describió en el ejemplo [B1] para dar 0.19 g (50%) del compuesto 10, punto de fusión 210°C.



compuesto 10

Ejemplo B11

Preparación del

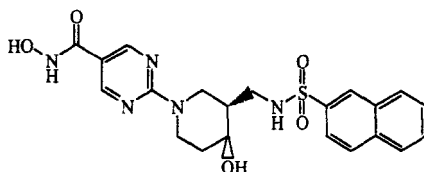


TRANS
producto intermedio 34

Hidruro de sodio (0.0102 mol) fue añadido en porciones a 5°C a una mezcla del producto intermedio 23 (0.004 mol) en THF (10 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla fue agitada durante 1 hora. Una solución de ácido 5-pirimidinacarboxílico, 2-(metilsulfonil)-, etil éster (0.0053 mol) en THF (5 ml) fue añadido. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 24 horas. Carbonato de potasio al 10% fue añadido. La mezcla fue extraída con DCM. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄), filtrada, y el disolvente fue evaporado hasta la sequedad. El residuo (1.1 g) fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 95/5/0.1). Las fracciones puras fueron recogidas y el disolvente fue evaporado, produciendo 0.17 g (9%) del producto intermedio 34, punto de fusión 189°C.

ES 2 307 909 T3

El producto intermedio 34 fue manipulado de manera análoga, tal como se describió en el ejemplo [B1] para dar 0.194 g (68%) del compuesto 11 (TRANS), punto de fusión 176°C.

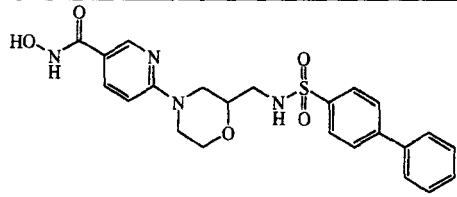
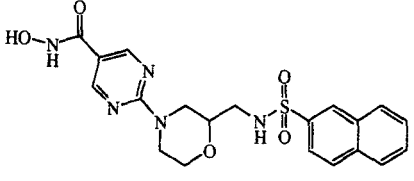
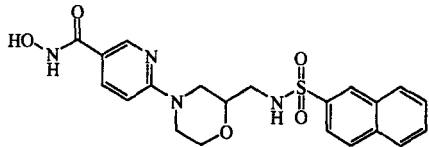
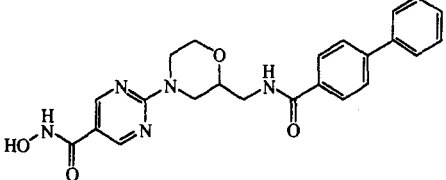
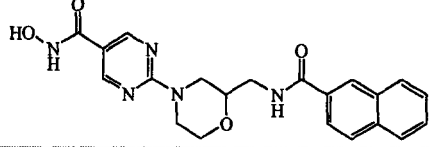
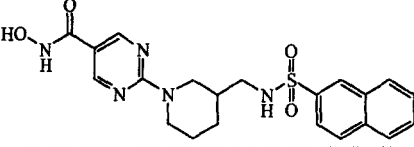
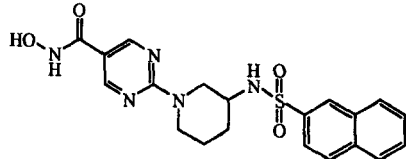
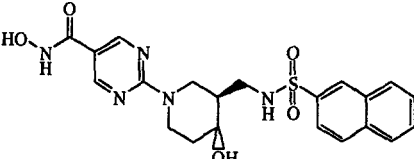


TRANS
compuesto 11

La Tabla F-1 lista los compuestos que fueron preparados de acuerdo con uno de los Ejemplos anteriores. Las siguientes abreviaturas fueron usadas en las tablas: C₂HF₃O₂ significa la sal de trifluoroacetato y Co.No. significa el Número del Compuesto, Ex.[Bn°] se refiere al mismo método que se describió en los ejemplos Bn°. Algunos compuestos han sido caracterizados por medio del punto de fusión (mp.).

TABLA F-1

(B); Co. No. 1; Ex. [B1]; mp. 164°C	(A); Co. No. 12; Ex. [B1]; mp. 175°C
Co. No. 2; Ex. [B2]; mp. 243°C	Co. No. 3; Ex. [B3]; mp. 135°C
.H ₂ O (1:1) .C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. No. 13; Ex. [B3]	Co. No. 4; Ex. [B4]; mp. 163°C

5		
10	Co. No. 5; Ex. [B5]; mp. 210°C	Co. No. 6; Ex. [B6]; mp 179°C
15		
20	Co. No. 7; Ex. [B7]; mp. 157°C	Co. No. 8; Ex. [B8]; mp. 290°C
25		
30	Co. No. 9; Ex. [B9]; mp. 246°C	Co. No. 10; Ex. [B10]; mp. 210°C
35		
	Co. No. 14; Ex. [B10], mp. 150°C	TRANS; Co. No. 11; Ex. [B11]; mp. 176°C

C. Ejemplo farmacológico

El ensayo *in vitro* para la inhibición de la histona deacetilasa (véase el 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) fue determinada en las células tumorales A2780 mediante un ensayo colorimétrico para la toxicidad o supervivencia de las células (Mosmann Tim, Journal of Immunological Methods 65: 55-63, 1983) (véase el ejemplo C.2).

La solubilidad cinética en medio acuoso mide la capacidad de un compuesto para permanecer en solución acuosa después de la dilución (véase el ejemplo C.3).

Las soluciones madre de DMSO son diluidas con un buffer solvente acuoso simple en 3 pasos consecutivos. Para cada dilución se mide la turbidez con un nefelómetro.

Metabolismo de los fármacos significa que un compuesto endobiótico o xenobióticos soluble en lípidos es enzimáticamente transformado en (a) metabolito(s) excretable(s), polar y soluble en agua. El principal órgano para el metabolismo del fármaco es el hígado. Los productos metabólicos son a menudo menos activos que el medicamento padre o inactivos. Sin embargo, algunos metabolitos pueden tener una actividad mejorada o efectos tóxicos. Por lo tanto el metabolismo del fármaco puede incluir tanto los procesos de "desintoxicación" y de "intoxicación". Uno de los principales sistemas enzimáticos que determina la capacidad del organismo de tratar con fármacos y productos químicos es representado por las citocromo P450 monooxigenasas, que son enzimas dependientes de NADPH. La estabilidad metabólica de los compuestos puede ser determinada *in vitro* con el uso de tejido humano subcelular (véase el ejemplo C.4). Aquí la estabilidad metabólica de los compuestos se expresa como % del fármaco metabolizado después de la incubación en 15 minutos de estos compuestos con microsomas.

La cuantificación de los compuestos fue determinada por análisis LC-MS.

El supresor tumoral p53 transcripcionalmente activa un número de genes incluyendo el gen WAF1/CIP1 en respuesta al daño en el DNA. El producto de 21 kDa del gen WAF1 se encuentra en un complejo que involucra ciclinas,

quinasas dependientes de ciclina (CDKs), y antígeno nuclear de células proliferativas (PCNA) en células normales pero no en células transformadas y parece ser un inhibidor universal de la actividad de la CDK. Una de las consecuencias de la unión p21WAF1 a y la inhibición de las CDKs es evitar la fosforilación dependiente de la CDK y la posterior inactivación 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, por lo tanto, es un indicador potente y específico de la inhibición de la progresión del ciclo celular en los puntos de control G1 y G2.

La capacidad de los compuestos para inducir p21WAF1 fue medida con el ensayo inmunoabsorbente vinculado a la enzima p21WAF1 (WAF1 ELISA de Oncogene). El ensayo P21WAF1 es un inmunoensayo enzimático “sandwich” que emplea tanto anticuerpos monoclonales de ratón y anticuerpos policlonales de conejo. Un anticuerpo policlonal de conejo, específico para la proteína humana WAF1, ha sido inmovilizado en la superficie de los pocillos plásticos proporcionados en el kit. Cualquier p21WAF presente en la muestra a ser analizada se unirá al anticuerpo de captura. El anticuerpo monoclonal detector biotinilado reconoce también la proteína p21WAF1 humana, y se unirá a cualquier p21WAF1, que ha sido retenido por el anticuerpo de captura. El anticuerpo detector, a su vez, está unido por estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano. La peroxidasa de rábano cataliza la conversión del sustrato cromogénico tetra-metilbencidina de una solución incolora a una solución azul (o amarilla después de la adición de reactivos de parada), la intensidad de la cual es proporcional a la cantidad de la proteína p21WAF1 unida a la placa. El producto de reacción coloreado es cuantificado usando un espectrofotómetro. La cuantificación es alcanzada por la construcción de una curva estándar utilizando concentraciones conocidas de p21WAF1 (proporcionada liofilizada) (véase el ejemplo C.5).

Ejemplo C.1

Ensayo in vitro para la inhibición de la histona deacetilasa

Extractos nucleares HeLa (suministrador: Biomol) fueron incubados a 60 µg/ml con 2×10^{-8} M de sustrato peptídico radiomarcado. Como un sustrato para medir la actividad de HDAC un péptido sintético, es decir los aminoácidos 14-21 de la histona H4, fue utilizado. El sustrato es biotinilado en la parte NH₂-terminal con un ácido 6-aminohexanoico espaciador, y está protegido en la parte COOH-terminal por un grupo amida y específicamente [³H]acetilado en la lisina 16. El sustrato, biotina-(6-aminohexanoico)Gly-Ala-([³H]-acetil-Lys-Arg-Arg-His-Arg-Lys-Val-NH₂), fue añadido en un buffer que contiene 25 mM Hepes, 1 M sacarosa, 0.1 mg/ml BSA y 0.01% Triton X-100 a pH 7.4. Después de 30 min la reacción de deacetilación fue terminada por la adición de HCl y ácido acético. (concentración final 0.035 mM y 3.8 mM respectivamente). Después de parar la reacción, el ³H-acetato libre fue extraído con etilacetato. Después del mezclado y la centrifugación, la radioactividad en una alícuota de la fase superior (orgánica) fue contada en un β-contador.

Para cada experimento, los controles (conteniendo el extracto nuclear HeLa y DMSO sin compuesto), una incubación en blanco (conteniendo DMSO pero no extracto nuclear HeLa o compuesto) y muestras (conteniendo el compuesto disuelto en DMSO y extracto nuclear HeLa) fueron corridas en paralelo. En primera instancia, los compuestos fueron probados a una concentración de 10^{-5} M. Cuando los compuestos mostraron actividad a 10^{-5} M, una curva respuesta-concentración fue realizada donde los compuestos fueron probados a concentraciones entre 10^{-5} M y 10^{-12} M. En cada prueba el valor del blanco fue restado de los valores del control y de la muestra. La muestra de control representó el 100% de la deacetilación del sustrato. Para cada muestra de la radioactividad fue expresada como un porcentaje del valor promedio de los controles. Cuando fue apropiado los valores IC₅₀ (concentración del fármaco, necesaria para reducir la cantidad de metabolitos a 50% del control) fueron computados utilizando el análisis probit para los datos clasificados. Aquí los efectos de los compuestos de prueba se expresan como pIC₅₀ (el valor del log negativo del valor IC₅₀). Todos los compuestos probados tuvieron un pIC₅₀ ≥ 7 (véase la tabla F-2).

Ejemplo C.2

Determinación de la actividad antiproliferativa en células A2780

Todos los compuestos probados fueron disueltos en DMSO y otras diluciones fueron hechas en el medio de cultivo. Las concentraciones de DMSO finales nunca excedieron 0.1% (v/v) en ensayos de proliferación celular. Los controles contenían células A2780 y DMSO sin compuesto y los blancos contenían DMSO pero no células. MTT fue disuelto el 5 mg/ml en PBS. Un buffer de glicina compuesto de glicina 0.1 M y NaCl 0.1 M tamponada a pH 10.5 con NaOH (1 N) fue preparado (todos los reactivos fueron de Merck).

Las células de carcinoma de ovario humano A2780 (una especie de regalo del Dr. T.C. Hamilton [Fox Chase Cancer Centre, Pensilvania, EE.UU.]) fueron cultivadas en medio RPMI 1640 suplementado con 2 mM de L-glutamina, 50 µg/ml de gentamicina y 10% de suero fetal de ternera. Las células fueron sistemáticamente mantenidas como cultivos monocapas a 37°C en una atmósfera de CO₂ humidificada al 5%. Las células fueron pasadas una vez por semana utilizando una solución de tripsina/EDTA en una relación de separación de 1:40. Todos los medios y suplementos fueron obtenidos de Life Technologies. Las células estaban libres de contaminación por micoplasma tal como se determinó utilizando el kit de Cultivo de Tejidos Gen-Probe Mycoplasma (suministrador: BioMérieux).

ES 2 307 909 T3

Las células fueron sembradas en placas de cultivo de 96 pocillos NUNC™ (Suministrador: Life Technologies) y se les permitió adherirse al plástico durante la noche. Las densidades utilizadas por placas fueron 1500 células por pocillo en un volumen total del medio de 200 μ l. Después de la adhesión celular a las placas, el medio fue cambiado y los fármacos y/o los solventes fueron añadidos a un volumen final de 200 μ l. Después de cuatro días de incubación, el medio fue reemplazado por 200 μ l de medio fresco y la densidad celular y la viabilidad fue evaluada utilizando un ensayo basado en MTT. A cada pocillo, 25 μ l de solución MTT fueron añadidos y las células fueron incubadas adicionalmente durante 2 horas a 37°C. El medio fue luego cuidadosamente aspirado y el producto formazan-MTT azul fue solubilizado por adición de 25 μ l de buffer de glicina seguido por 100 μ l de DMSO. Las placas de microprueba fueron agitadas durante 10 min en un agitador de microplacas y la absorbancia a 540 nm fue medida usando un espectrofotómetro de 96-pocillos Emax (Suministrador: Sopachem).

Dentro de un experimento, los resultados para cada condición experimental son el promedio de 3 réplicas de pocillos. Para los propósitos del cribado inicial, los compuestos fueron probados a una concentración única fija de 10^{-6} M. Para los compuestos activos, los experimentos fueron repetidos para establecer curvas de respuesta-concentración completas. Para cada experimento, los controles (no conteniendo ningún fármaco) y una incubación en blanco (no conteniendo células o fármacos) fueron corridas en paralelo. El valor del blanco fue restado de los valores del control y de la muestra. Para cada muestra, el valor promedio para el crecimiento celular (en unidades de absorbancia) fue expresado como un porcentaje del valor promedio para el crecimiento celular del control. Cuando sea apropiado, los valores IC₅₀ (concentración del fármaco, necesaria para reducir el crecimiento celular al 50% del control) fueron computados utilizando probit para el análisis de datos clasificados (Finney, D.J., Probit Analyses, 2^{da} Ed. Capítulo 10, Graded Responses, Cambridge University Press, Cambridge 1962). Aquí los efectos de los compuestos de prueba son expresados como pIC₅₀ (el valor del log negativo del valor IC₅₀). La mayor parte de los compuestos probados mostró actividad celular a una concentración de prueba de 10^{-6} M y 12 compuestos tuvieron un pIC₅₀ $\geq$ 5 (véase la Tabla F-2).

Ejemplo C.3

Solubilidad cinética en medio acuoso

En el primer paso de dilución, 10 μ l de una solución madre concentrada del compuesto activo, solubilizada en DMSO (5 mM), fue añadida a 100 μ l de buffer de fosfato citrato pH 7.4 y mezclada. En el segundo paso de dilución, una alícuota (20 μ L) del primer paso de dilución fue además dispensada en 100 μ l de buffer de fosfato citrato pH 7.4 y mezclada. Finalmente, en el tercer paso de dilución, una muestra (20 μ l) del segundo paso de dilución fue diluida adicionalmente en 100 μ l de buffer de fosfato citrato pH 7.4 y mezclada. Todas las diluciones fueron realizadas en placas de 96 pocillos. Inmediatamente después del último paso de dilución la turbidez de los tres pasos de dilución consecutivos fueron medidas con un nefelómetro. La dilución fue realizada por triplicado para cada compuesto para excluir los errores ocasionales. Sobre la base de las mediciones de turbidez una clasificación es realizada en 3 clases. Los compuestos con alta solubilidad obtuvieron una puntuación de 3 y para estos compuestos la primera dilución es clara. Los compuestos con solubilidad media obtuvieron una puntuación de 2. Para estos compuestos la primera dilución no es clara y la segunda dilución es clara. Los compuestos con baja solubilidad obtuvieron una puntuación de 1 y estos compuestos tanto la primera y la segunda dilución no son claras.

La solubilidad de 11 compuestos fue medida. Seis compuestos obtuvieron una puntuación de 3, dos compuestos mostraron una puntuación de 2 y tres compuestos demostraron una puntuación de 1 (véase la Tabla F-2).

Ejemplo C.4

Estabilidad metabólica

Preparaciones de tejido sub-celular fueron realizadas de acuerdo a Gorrod y otros. (Xenobiotica 5: 453-462, 1975) por separación centrífuga después de la homogenización mecánica de los tejidos.

El tejido hepático fue enjuagado en buffer helado 0.1 M Tris-HCl (pH 7.4) para lavar el exceso de sangre. El tejido fue entonces secado sobre papel en seco, pesado y picado toscamente utilizando tijeras quirúrgicas. Las piezas de tejido fueron homogenizadas en 3 volúmenes de buffer de fosfato helado 0.1 M (pH 7.4) utilizando ya sea un Potter-S (Braun, Italia) equipado con un mazo de moler de Teflón o un homogenizador Sorvall Omni-Mix, durante 7 x 10 seg. En ambos casos, el recipiente fue mantenido en/sobre hielo durante el proceso de homogenización.

Homogenizados de tejidos fueron centrifugados a 9000 x g durante 20 minutos a 4°C utilizando una centrífuga Sorvall o Ultracentrífuga Beckman. El sobrenadante resultante fue almacenado a -80°C y se designó "S9".

La fracción de S9 puede ser centrifugada adicionalmente a 100.000 x g durante 60 minutos (4°C) usando una ultracentrífuga Beckman. El sobrenadante resultante fue cuidadosamente aspirado, formado en alícuotas y designado "citosol". La pelotica fue resuspendida en 0.1 M buffer de fosfato (pH 7.4) en un volumen final de 1 ml por 0.5 g de peso del tejido original y designado "microsomas".

ES 2 307 909 T3

Todas las fracciones subcelulares fueron formadas en alícuotas, inmediatamente congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a -80°C hasta su uso.

Para las muestras a ser probadas, la mezcla de incubación contenía PBS (0.1M), compuesto (5 μ M), microsomas (1 mg/ml) y un sistema de generación NADPH (0.8 mM de glucosa-6-fosfato, 0.8 mM de cloruro de magnesio y 0.8 Unidades de glucosa-6-fosfato dehidrogenasa). Las muestras de control contenían el mismo material pero los microsomas fueron remplazados por microsomas inactivados por calor (10 min a 95 grados Celsius). La recuperación de los compuestos en las muestras de control fue siempre del 100%.

La mezclas fueron preincubadas durante 5 min a 37 grados Celsius. La reacción fue iniciada en punto de tiempo cero ($t = 0$) mediante la adición de 0.8 mM de NADP y las muestras fueron incubadas durante 15 minutos ($t = 15$). La reacción fue terminada por la adición de 2 volúmenes de DMSO. Luego las muestras fueron centrifugadas durante 10 min a 900 x g y los sobrenadantes fueron almacenados a temperatura ambiente por no más de 24 horas antes del análisis. Todas las incubaciones fueron realizadas por duplicado. El análisis de los sobrenadantes fue realizado con análisis LC-MS. La elución de las muestras fue realizada sobre una Xterra MS C18 (50 x 4.6 mm, 5 μ m, de Waters, EE.UU.). Un sistema HPLC Alliance 2790 (Suministrador: Waters, EE.UU.) fue utilizado. La elución fue con buffer A (25 mM amonioacetato (pH 5.2) en H₂O/acetonitrilo (95/5)), el disolvente B siendo acetonitrilo y el disolvente metanol C con una tasa de flujo de 2.4 ml/min. El gradiente empleado fue aumentando la concentración de la fase orgánica de 0% por encima de 50% de B y 50% de C en 5 min hasta 100% de B en 1 min en forma lineal y la concentración de la fase orgánica fue mantenida estacionaria por un período adicional de 1.5 min. El volumen de inyección total de las muestras fue 25 μ l.

Un espectrómetro de masas triple cuadrupolo Quattro (suministrador: Micromass, Manchester, Reino Unido) equipado con una fuente ESI fue utilizado como detector. La fuente y la temperatura de desolvatación fueron establecidos a 120 y 350°C respectivamente y nitrógeno fue utilizado como nebulizador y gas de secado. Los datos fueron adquiridos en modo de exploración positiva (una sola reacción de iones). El voltaje del cono fue fijado a 10 V y el tiempo de permanencia fue 1 seg.

La estabilidad metabólica fue expresada como % del metabolismo del compuesto después de 15 min de incubación en presencia de microsomas activos (E(act)) (% metabolismo = 100% -

$$\left(\frac{(\text{Corriente del Ion Total (TIC) de E(act) a } t = 15)}{\text{TIC de E(act) a } t = 0} \times 100 \right)$$

Los compuestos que tenían un metabolismo en porcentaje inferior a 20% fueron definidos como estables altamente metabólicos.

Los compuestos que tenía un metabolismo entre 20 y 70% fueron definidos como medianamente estables y los compuestos que mostraron un metabolismo en porcentaje más alto que 70 fueron definidos como estables metabólicos bajos. Tres compuestos de referencia fueron siempre incluidos cada vez que un cribado de estabilidad metabólica fue realizado. El verapamilo fue incluido como un compuesto con baja estabilidad metabólica (% metabolismo = 73%). La cisaprida fue incluida como un compuesto con estabilidad metabólica media (% metabolismo al 45%) y el propanol fue incluido como un compuesto con una estabilidad metabólica de intermedia a alta (25% del metabolismo). Estos compuestos de referencia fueron utilizados para validar el ensayo de estabilidad metabólica.

Diez compuestos fueron probados. Seis compuestos tuvieron un metabolismo en porcentaje inferior al 20% y cuatro compuestos tuvieron un metabolismo en porcentaje entre 20 y 70%.

Ejemplo C.5

Capacidad de inducción de p21

El siguiente protocolo se aplicó para determinar el nivel de expresión de la proteína p21 en células de carcinoma de ovario A2780 humanas. Las células A2780 (20000 células/180 μ l) fueron sembradas en placas de 96 micro-pocillos en medio RPMI 1640 suplementado con 2 mM de L-glutamina, 50 μ g/ml de gentamicina y 10% de suero fetal de ternera. 24 horas antes de la lisis de las células, los compuestos fueron añadidos a concentraciones finales de 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} M.

Todos los compuestos probados fueron disueltos en DMSO y diluciones adicionales fueron hechas en el medio de cultivo. 24 horas después de la adición del compuesto, los sobrenadantes fueron eliminados de las células. Las células fueron lavadas con 200 μ l de PBS helado. Los pocillos fueron aspirados y 30 μ l de buffer de lisis (50 mM Tris. HCl (pH 7.6), 150 mM NaCl, 1% Nonidet p40 y 10% de glicerol) fue añadido. Las placas fueron incubadas toda la noche a -70°C.

El número adecuado de pocillos de microtitulación fueron eliminados del envoltorio de papel de aluminio y colocados en un recipiente vacío. Una solución de trabajo (1x) del Buffer de Lavado (20x concentrado de lavado de la

ES 2 307 909 T3

placa: 100 ml solución de PBS y de surfactante concentrada 20 veces. Contiene 2% cloroacetamida) fue preparada. El p21WAF1 liofilizado estándar fue reconstituido con H₂O destilada y diluido adicionalmente con diluyente de muestra (proporcionado en el kit).

5 Las muestras fueron preparadas mediante la dilución de las mismas 1:4 en diluyente de la muestra. Las muestras (100 μ l) y el p21WAF1 estándares (100 μ l) fueron pipeteadas en los pocillos apropiados e incubadas a temperatura ambiente durante 2 horas. Los pocillos fueron lavados 3 veces con buffer de lavado 1x y luego 100 μ l de reactivo del anticuerpo detector (una solución del anticuerpo p21WAF1 monoclonal biotinilado) fue pipeteada en cada pocillo. Los pocillos fueron incubados a temperatura ambiente durante 1 hora y luego lavados tres veces con buffer de lavado 1x. El conjugado 400x (conjugado estreptavidina-peroxidasa: solución concentrada 400 veces) fue diluido y 100 μ l de la solución 1x fueron añadidos a los pocillos. Los pocillos fueron incubados a temperatura ambiente durante 30 min y luego lavados 3 veces con buffer de lavado 1x y 1 vez con H₂O destilada. La solución del sustrato (sustrato cromogénico) (100 μ l) fue añadida a los pocillos y los pocillos fueron incubados durante 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. La solución de parada fue añadida a cada pocillo en el mismo orden que la solución del sustrato previamente añadida. La absorbancia en cada pocillo fue medida usando un lector de placas espectrofotométricas a longitudes de onda duales de 450/595 nm.

Para cada experimento, los controles (no conteniendo fármaco) y una incubación en blanco (no conteniendo células o fármacos) fueron corridos en paralelo. El valor en blanco fue restado de los valores del control y de la muestra. Para cada muestra, el valor para la inducción de p21WAF1 (en unidades de absorbancia) fue expresado como el porcentaje del valor de p21WAF1 presente en el control. La inducción en porcentaje superior a 130% fue definida como inducción significativa.

Once compuestos fueron probados en este ensayo. Todos mostraron inducción significativa.

TABLA F-2

La Tabla F-2 lista los resultados de los compuestos que fueron probados de acuerdo al ejemplo C.1, C.2, y C.3

Co. No.	Actividad de la enzima pIC50	Actividad celular pIC50	Puntuación de solubilidad
1	7.723	6.232	2
2	8.059	5.691	1
3	7.647	5.62	1
4	8.097	6.248	1
5	7.549	5.689	
6	7.421	6.384	3
7	7.323	5.69	3
8	7.487	7.438	3
9	7.609	<5	3
10	7.65	5.966	3
11	7.553	<5	3
12	7.528	6.01	2
13	7.361	5.773	
14		6.614	

D. Ejemplo de composición: Tabletas recubiertas con película

Preparación del núcleo de la tableta

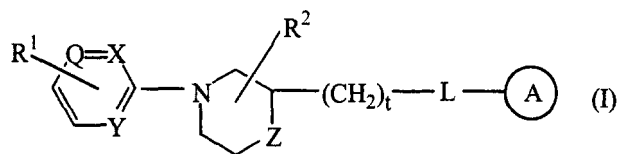
Una mezcla de 100 g de un compuesto de fórmula (I), 570 g de lactosa y 200 g de almidón se mezclan bien y después se humidifican con una solución de 5 g de sodio dodecil sulfato y 10 g de polivinil-pirrolidona en alrededor de 200 ml de agua. La mezcla de polvo húmeda es tamizada, secada y nuevamente tamizada. Luego se añaden 100 g de celulosa microcristalina y 15 g de aceite vegetal hidrogenado. Todo se mezcla bien y se comprime en tabletas, dando 10.000 tabletas, cada una comprendiendo 10 mg de un compuesto de fórmula (I).

Recubrimiento

A una solución de 10 g de metil celulosa en 75 ml de etanol desnaturalizado se añade una solución de 5 g de etil celulosa en 150 ml de diclorometano. Luego se añaden 75 ml de diclorometano y 2.5 ml de 1,2,3-propanotriol 10 g de polietileno glicol es fundido y disuelto en 75 ml de diclorometano. Esta última solución es añadida a la primera y luego se añadieron 2.5 g de magnesio octadecanoato, 5 g de polivinil-pirrolidona y 30 ml de suspensión concentrada de color y todo es homogenizado. Los núcleos de las tabletas son recubiertos con la mezcla así obtenida en un aparato de recubrimiento.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I),



las formas *N*-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables y las formas estereoquímicamente isoméricas del mismo, donde

t es 0, 1, 2, 3 ó 4 y cuando t es 0 entonces un enlace directo es propuesto;

cada Q es nitrógeno o $\text{—C}\equiv$;

cada X es nitrógeno o $\text{—C}\equiv$;

cada Y es nitrógeno o $\text{—C}\equiv$;

cada Z es -NH-, -O- o -CH₂-;

R¹ es -C(O)NR³R⁴, -N(H)C(O)R⁷, -C(O)-C₁₋₆alcanodiilSR⁷, -NR⁸C(O)N(OH)R⁷, -NR⁸C(O)C₁₋₆alcanodiilSR⁷ o -NR⁸C(O)C=N(OH)R⁷;

donde R³ y R⁴ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxil, C₁₋₆alquil, hidroxilC₁₋₆alquil, aminoC₁₋₆alquil o aminoaril;

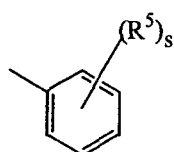
R⁷ es hidrógeno, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilcarbonil, arilC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilpirazinil, piridinona, pirrolidinona o metilimidazolil;

R⁸ es hidrógeno o C₁₋₆alquil;

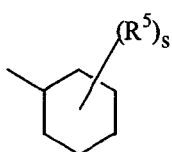
R² es hidrógeno, hidroxil, amino, hidroxilC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi, arilC₁₋₆alquil, aminocarbonil, hidroxycarbonil, aminoC₁₋₆alquil, aminocarbonilC₁₋₆alquil, hidroxycarbonilC₁₋₆alquil, hidroxiaminocarbonil, C₁₋₆alquiloxicarbonil, C₁₋₆alquilaminoC₁₋₆alquil o di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil;

-L- es a radical bivalente seleccionado de -NR⁹C(O)-, -NR⁹SO₂- o -NR⁹CH₂- donde R⁹ es hidrógeno, C₁₋₆alquil, C₃₋₁₀cicloalquil, hidroxilC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxiC₁₋₆alquil o di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil;

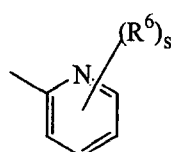
-(A) es un radical seleccionado de



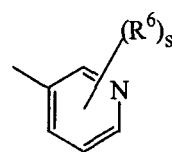
(a-1)



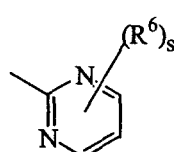
(a-2)



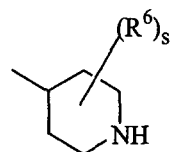
(a-3)



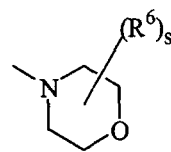
(a-4)



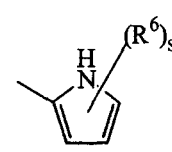
(a-5)



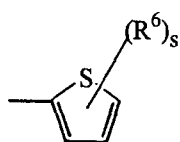
(a-6)



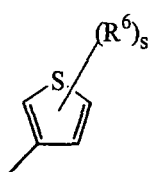
(a-7)



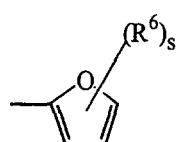
(a-8)



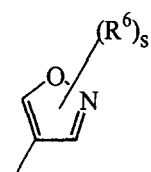
(a-9)



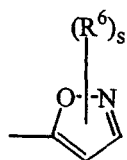
(a-10)



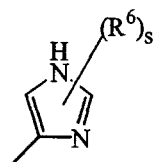
(a-11)



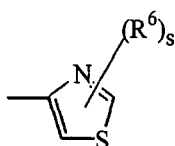
(a-12)



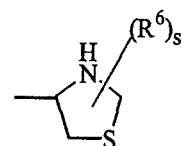
(a-13)



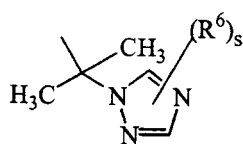
(a-14)



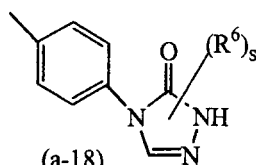
(a-15)



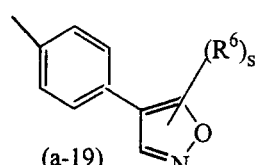
(a-16)



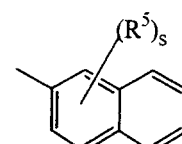
(a-17)



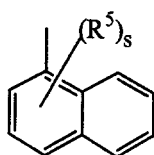
(a-18)



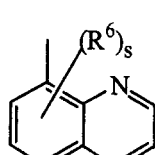
(a-19)



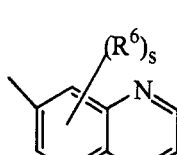
(a-20)



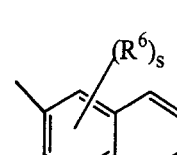
(a-21)



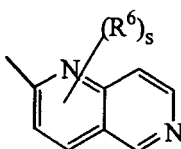
(a-22)



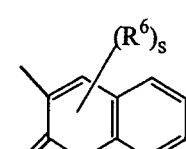
(a-23)



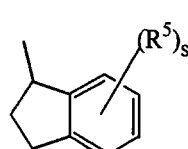
(a-24)



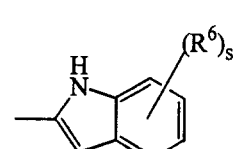
(a-25)



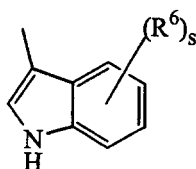
(a-26)



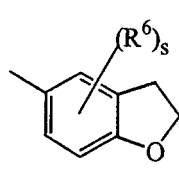
(a-27)



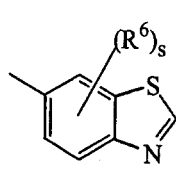
(a-28)



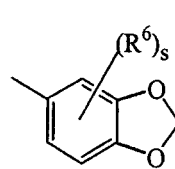
(a-29)



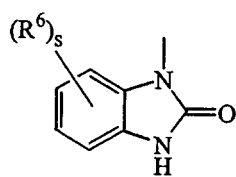
(a-30)



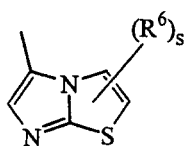
(a-31)



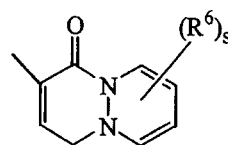
(a-32)



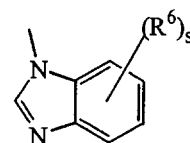
(a-33)



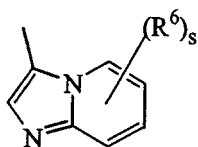
(a-34)



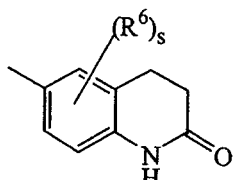
(a-35)



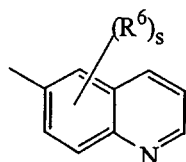
(a-36)



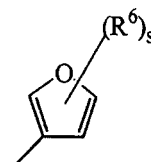
(a-37)



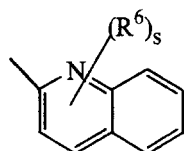
(a-38)



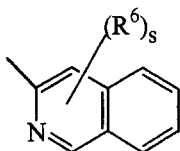
(a-39)



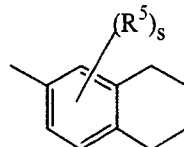
(a-40)



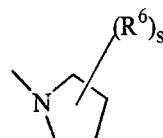
(a-41)



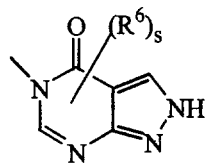
(a-42)



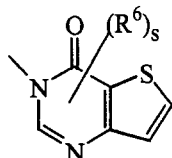
(a-43)



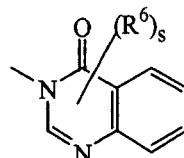
(a-44)



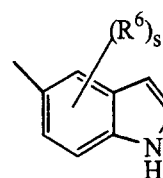
(a-45)



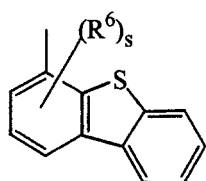
(a-46)



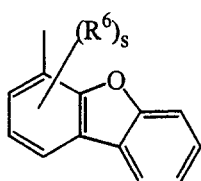
(a-47)



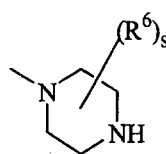
(a-48)



(a-49)



(a-50)



(a-51)

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

cada R^5 y R^6 son independientemente seleccionados de hidrógeno; halo; hidroxilo; amino; nitro; trihalo C_{1-6} alquil; trihalo C_{1-6} alquilo; C_{1-6} alquil; C_{1-6} alquil sustituido con aril y C_{3-10} cicloalquil; C_{1-6} alquilo; C_{1-6} alquilo C_{1-6} alquilo; C_{1-6} alquilcarbonil; C_{1-6} alquilo C_{1-6} alquilcarbonil; C_{1-6} alquilsulfonil; ciano C_{1-6} alquil; hidroxilo C_{1-6} alquil; hidroxilo C_{1-6} alquilo; hidroxilo C_{1-6} alquilamino; amino C_{1-6} alquilo; di(C_{1-6} alquil)amino carbonil; di(hidroxilo C_{1-6} alquil)amino; (aril)(C_{1-6} alquil) amino; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquilo; di(C_{1-6} alquil) amino C_{1-6} alquilamino; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquilamino C_{1-6} alquil; arilsulfonil; arilsulfonilamino; arilo; arilo C_{1-6} alquil; aril C_{2-6} alqueno; di(C_{1-6} alquil) amino; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil; di(C_{1-6} alquil)amino (C_{1-6} alquil)amino; di(C_{1-6} alquil)amino(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil; di(C_{1-6} alquil) amino C_{1-6} alquil(C_{1-6} alquil)amino; di(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil; amino-sulfonilamino(C_{1-6} alquil)amino; aminosulfonilamino(C_{1-6} alquil)amino C_{1-6} alquil; di(C_{1-6} alquil)amino-

sulfonilamino(C₁₋₆alquil)amino; di(C₁₋₆ alquil)aminosulfonilamino(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; ciano; tiofenil; tiofenil sustituido con di(C₁₋₆ alquil)aminoC₁₋₆alquil(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil, di(C₁₋₆ alquil)aminoC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil, hidroxilC₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil, hidroxilC₁₋₆alquiloxilC₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil, di(C₁₋₆alquil)aminosulfonilpiperazinilC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxilpiperidinil, C₁₋₆alquiloxipiperidinilC₁₋₆alquil, morfolinilC₁₋₆alquil, hidroxilC₁₋₆alquil(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil, o di(hidroxilC₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; furanil; furanil sustituido con hidroxilC₁₋₆alquil; benzofuranil; imidazolil; oxazolil; oxazolil sustituido con aril y C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiltriazolil; tetrazolil; pirrolidinil; pirrolil; piperidinilC₁₋₆alquiloxil; morfolinil; C₁₋₆ alquilmorfolinil; morfolinilC₁₋₆alquiloxil; morfolinilC₁₋₆ alquil; morfolinilC₁₋₆alquilamino; morfolinilC₁₋₆ alquilaminoC₁₋₆alquil; piperazinil; C₁₋₆alquil piperazinil; C₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquiloxil; piperazinilC₁₋₆alquil; naftalenilsulfonilpiperazinil; naftalenilsulfonilpiperidinil; naftalenilsulfonil: C₁₋₆ alquilpiperazinilC₁₋₆alquil; C₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆ alquilamino; C₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquilaminoC₁₋₆ alquil; C₁₋₆alquilpiperazinilsulfonil; aminosulfonilpiperazinilC₁₋₆alquiloxil; aminosulfonil piperazinil; aminosulfonilpiperazinilC₁₋₆alquil; di(C₁₋₆ alquil)aminosulfonilpiperazinil; di(C₁₋₆alquil)amino sulfonilpiperazinilC₁₋₆alquil; hidroxilC₁₋₆alquil piperazinil; hidroxilC₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil; C₁₋₆ alquiloxiperidinil; C₁₋₆alquiloxipiperidinilC₁₋₆alquil; piperidinilaminoC₁₋₆alquilamino; piperidinilaminoC₁₋₆alquilaminoC₁₋₆alquil; (C₁₋₆alquilpiperidinil)(hidroxilC₁₋₆ alquil)aminoC₁₋₆alquilamino; (C₁₋₆alquilpiperidinil) (hidroxilC₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquilaminoC₁₋₆alquil; hidroxilC₁₋₆alquiloxilC₁₋₆alquilpiperazinil; hidroxilC₁₋₆ alquiloxilC₁₋₆alquilpiperazinilC₁₋₆alquil; (hidroxilC₁₋₆ alquil)(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; (hidroxilC₁₋₆ alquil)(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; hidroxilC₁₋₆alquilaminoC₁₋₆alquil; di(hidroxilC₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; pirrolidinilC₁₋₆alquil; pirrolidinilC₁₋₆alquiloxil; pirazolil; tiopirazolil; pirazolil sustituido con dos sustituyentes seleccionados de C₁₋₆alquil o trihaloC₁₋₆alquil; piridinil; piridinil sustituido con C₁₋₆alquiloxil, ariloxil o aril; pirimidinil; tetrahidropirimidinilpiperazinil; tetrahidropirimidinilpiperazinilC₁₋₆alquil; quinolinil; indol; fenil; fenil sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de halo, amino, nitro, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxil, hidroxilC₁₋₄ alquil, trifluorometil, trifluorometiloxil, hidroxilC₁₋₄ alquiloxil, C₁₋₄alquilsulfonil, C₁₋₄alquiloxilC₁₋₄alquiloxil, C₁₋₄alquiloxicarbonil, aminoC₁₋₄alquiloxil, di(C₁₋₄alquil) aminoC₁₋₄alquiloxil, di(C₁₋₄alquil)amino, di(C₁₋₄alquil) aminocarbonil, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, di(C₁₋₄ alquil)aminoC₁₋₄alquilaminoC₁₋₄alquil, di(C₁₋₄alquil)amino (C₁₋₄alquil)amino, di(C₁₋₄alquil)amino(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄ alquil, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil(C₁₋₄alquil)amino, di (C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, aminosulfonilamino(C₁₋₄alquil)amino, aminosulfonilamino(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, di(C₁₋₄ alquil)aminosulfonilamino(C₁₋₄alquil)amino, di(C₁₋₄ alquil)aminosulfonilamino(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, ciano, piperidinilC₁₋₄alquiloxil, pirrolidinilC₁₋₄ alquiloxil, aminosulfonilpiperazinil, aminosulfonilpiperazinilC₁₋₄alquil, di(C₁₋₄alquil)aminosulfonilpiperazinil, di(C₁₋₄alquil) aminosulfonilpiperazinilC₁₋₄alquil, hidroxilC₁₋₄ alquilpiperazinil, hidroxilC₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄ alquil, C₁₋₄alquiloxipiperidinil, C₁₋₄alquiloxil piperidinilC₁₋₄alquil, hidroxilC₁₋₄alquiloxilC₁₋₄ alquilpiperazinil, hidroxilC₁₋₄alquiloxilC₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄alquil, (hidroxilC₁₋₄alquil)(C₁₋₄alquil)amino, (hidroxilC₁₋₄alquil)(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄ alquil, di(hidroxilC₁₋₄alquil)amino, di(hidroxilC₁₋₄alquil) aminoC₁₋₄alquil, furanil, furanil sustituido con -CH=CH-CH=CH-, pirrolidinilC₁₋₄alquil, pirrolidinilC₁₋₄ alquiloxil, morfolinil, morfolinilC₁₋₄alquiloxil, morfolinilC₁₋₄alquil, morfolinilC₁₋₄alquilamino, morfolinilC₁₋₄alquilaminoC₁₋₄alquil, piperazinil, C₁₋₄ alquilpiperazinil, C₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄alquiloxil, piperazinilC₁₋₄alquil, C₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄alquil, C₁₋₄alquilpiperazinilC₁₋₄alquilamino, C₁₋₄alquilpiperazinil C₁₋₄alquilaminoC₁₋₆alquil, pirimidinilpiperazinil, pirimidinilpiperazinilC₁₋₄alquil, piperidinilaminoC₁₋₄alquilamino, piperidinilaminoC₁₋₄alquilaminoC₁₋₄alquil, (C₁₋₄alquilpiperidinil)(hidroxilC₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄ alquilamino, (C₁₋₄alquilpiperidinil)(hidroxilC₁₋₄ alquil) aminoC₁₋₄alquilaminoC₁₋₄alquil, piridinilC₁₋₄alquiloxil, hidroxilC₁₋₄alquilamino, di(hidroxilC₁₋₄alquil)amino, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquilamino, aminotiadiazolil, aminosulfonilpiperazinilC₁₋₄alquiloxil, o tiofenilC₁₋₄alquilamino;

cada R⁵ y R⁶ puede ser colocado en el nitrógeno en reemplazo del hidrógeno;

aril en lo anterior es fenil, o fenil sustituido con uno o más sustituyentes cada uno independientemente seleccionado de halo, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxil, trifluorometil, ciano o hidroxicarbonil.

2. Un compuesto como el reivindicado en la reivindicación 1 donde

R³ y R⁴ son cada uno independientemente seleccionado de hidrógeno, hidroxil, hidroxilC₁₋₆alquil, aminoC₁₋₆alquil o aminoaril;

—**(A)** es un radical seleccionado de (a-1), (a-2), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11), (a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-27), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42) (a-43) o (a-44);

cada R⁵ y R⁶ son independientemente seleccionados de hidrógeno; halo; hidroxil; amino; nitro; trihaloC₁₋₆alquil; trihaloC₁₋₆alquiloxil; C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxil; C₁₋₆ alquiloxilC₁₋₆alquiloxil; C₁₋₆alquilcarbonil; C₁₋₆alquil sulfonil; cianoC₁₋₆alquil; hidroxilC₁₋₆alquil; hidroxilC₁₋₆ alquiloxil; hidroxilC₁₋₆alquilamino;

aminoC₁₋₆alquiloxi; di (C₁₋₆alquil)aminocarbonil; di(hidroxiC₁₋₆alquil)amino; aril(C₁₋₆alquil)amino; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquiloxi; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquilamino; arilsulfonil; arilsulfonilamino; ariloxi; arilC₂₋₆alquenodiil; di(C₁₋₆alquil)amino; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; ciano; tiofenil; tiofenil sustituido con di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil, di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilpiperazirilC₁₋₆alquil o di (hidroxiC₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; furanil; imidazolil; C₁₋₆alquiltriazolil; tetrazolil; pirrolidinil; piperidinilC₁₋₆alquiloxi; morfolinil; C₁₋₆alquilpiperaziril; morfolinilC₁₋₆alquiloxi; morfolinilC₁₋₆alquil; C₁₋₆alquilpiperaziril; C₁₋₆alquilpiperazirilC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquilpiperazirilC₁₋₆alquil; C₁₋₆alquilpiperaziril sulfonil; aminosulfonilpiperazirilC₁₋₆alquiloxi; aminosulfonilpiperaziril; aminosulfonilpiperazirilC₁₋₆alquil; di(C₁₋₆alquil)aminosulfonilpiperaziril; di(C₁₋₆alquil)aminosulfonilpiperazirilC₁₋₆alquil; hidroxiC₁₋₆alquilpiperaziril; hidroxiC₁₋₆alquilpiperazirilC₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxipiperidinil; C₁₋₆alquiloxipiperidinilC₁₋₆alquil; hidroxiC₁₋₆alquiloxiC₁₋₆alquilpiperaziril; hidroxiC₁₋₆alquiloxiC₁₋₆alquilpiperazirilC₁₋₆alquil; (hidroxiC₁₋₆alquil)(C₁₋₆alquil)amino; (hidroxiC₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil; pirazolil; tiopirazolil; pirazolil sustituido con dos sustituyentes seleccionados de C₁₋₆alquil o trihaloC₁₋₆alquil; piridinil; piridinil sustituido con C₁₋₆alquiloxi o aril; pirimidinil; quinolinil; indol; fenil; fenil sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de halo, amino, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi, hidroxiC₁₋₆alquil, trifluorometil, trifluorometiloxi, hidroxiC₁₋₄alquiloxi, C₁₋₄alquiloxiC₁₋₄alquiloxi, aminoC₁₋₄alquiloxi, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquiloxi, di(C₁₋₄alquil)amino, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, piperidinilC₁₋₄alquiloxi, pirrolidinilC₁₋₄alquiloxi, aminosulfonilpiperaziril, aminosulfonilpiperazirilC₁₋₄alquil, di(C₁₋₄alquil)amino sulfonilpiperaziril, di(C₁₋₄alquil)aminosulfonil piperazirilC₁₋₄alquil, hidroxiC₁₋₄alquilpiperaziril, hidroxiC₁₋₄alquilpiperazirilC₁₋₄alquil, C₁₋₄alquiloxi piperidinil, C₁₋₄alquiloxipiperidinilC₁₋₄alquil, hidroxiC₁₋₄alquiloxiC₁₋₄alquilpiperaziril, hidroxiC₁₋₄alquiloxiC₁₋₄alquilpiperazirilC₁₋₄alquil, (hidroxiC₁₋₄alquil)(C₁₋₄alquil)amino, (hidroxiC₁₋₄alquil)(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquil, pirrolidinilC₁₋₄alquiloxi, morfolinilC₁₋₄alquiloxi, morfolinilC₁₋₄alquil, C₁₋₄alquilpiperazirilC₁₋₄alquiloxi, C₁₋₄alquilpiperazirilC₁₋₄alquil, hidroxiC₁₋₄alquilamino, di(hidroxiC₁₋₄alquil)amino, di(C₁₋₄alquil)aminoC₁₋₄alquilamino, aminotiadiazolil, aminosulfonilpiperazirilC₁₋₄alquiloxi, o tiofenilC₁₋₄alquilamino.

3. Un compuesto como el reivindicado en la reivindicación 1 donde t es 0;

R¹ es -C(O)NR³R⁴, -C(O)-C₁₋₆alcanodiilSR⁷, -NR⁸C(O)N(OH)R⁷, -NR⁸C(O)C₁₋₆alcanodiilSR⁷, o -NR⁸C(O)C=N(OH)R⁷; donde R³ y R⁴ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxi, hidroxiC₁₋₆alquil, o aminoC₁₋₆alquil; R² es hidrógeno, halo, hidroxi, amino, hidroxiC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi, arilC₁₋₆alquil, aminocarbonil, aminoC₁₋₆alquil, C₁₋₆alquilaminoC₁₋₆alquil o di(C₁₋₆alquil)aminoC₁₋₆alquil;

-L- es un radical bivalente seleccionado de -NRC(O)- o NHSO₂-;

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

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

R⁵ es hidrógeno; halo; hidroxi; amino; nitro; trihaloC₁₋₆alquil; trihaloC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquilcarbonil; C₁₋₆alquiloxycarbonil; C₁₋₆alquil sulfonil; hidroxiC₁₋₆alquil; ariloxi; di(C₁₋₆alquil)amino; ciano; tiofenil; furanil; furanil sustituido con hidroxiC₁₋₆alquil; benzofuranil; imidazolil; oxazolil; oxazolil sustituido con aril y C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquil triazolil; tetrazolil; pirrolidinil; pirrolil; morfolinil; C₁₋₆alquilpiperaziril; piperaziril; C₁₋₆alquil piperaziril; hidroxiC₁₋₆alquilpiperaziril; C₁₋₆alquiloxi piperidinil; pirazol; pirazolil sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de C₁₋₆alquil o trihaloC₁₋₆alquil; piridinil; piridinil sustituido con C₁₋₆alquiloxi, ariloxi o aril; pirimidinil; quinolinil; indol; fenil; o fenil sustituido con uno o dos sustituyentes independientemente seleccionados de halo, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi, o trifluorometil; y

R⁶ es hidrógeno; halo; hidroxi; amino; nitro; trihaloC₁₋₆alquil; trihaloC₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquil; C₁₋₆alquiloxi; C₁₋₆alquilcarbonil; C₁₋₆alquiloxycarbonil; C₁₋₆alquil sulfonil; hidroxiC₁₋₆alquil; ariloxi; di(C₁₋₆alquil)amino; ciano; piridinil; fenil; o fenil sustituido con uno o dos sustituyentes independientemente seleccionados de halo, C₁₋₆alquil, C₁₋₆alquiloxi o trifluorometil.

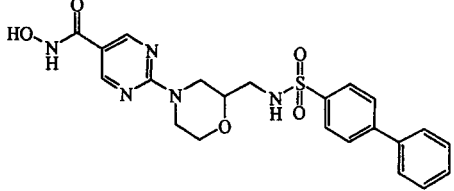
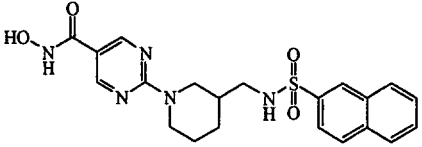
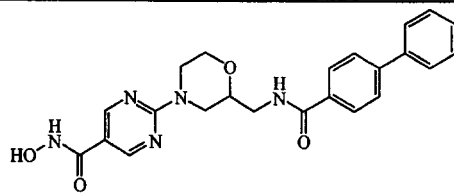
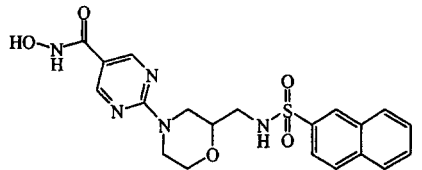
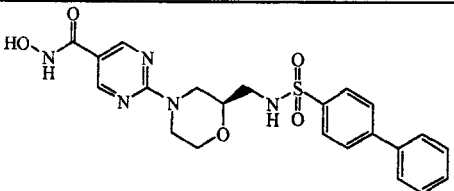
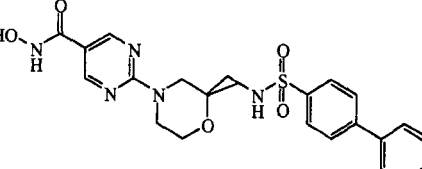
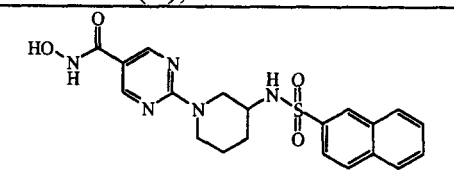
4. Un compuesto como el reivindicado en la reivindicación 1 y 2 donde t es 0 ó 1; cada Q es $\text{—C}\begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$; cada X es nitrógeno; R¹ es -C(O)NH(OH); R² es hidrógeno, hidroxi, C₁₋₆alquil, o arilC₁₋₆alquil; -L- es un radical bivalente seleccionado de -NHC(O)- o -NHSO₂-;

—**(A)** es un radical seleccionado de (a-1) o (a-20); cada s es independientemente 0 ó 1; y cada R⁵ es independientemente seleccionado de hidrógeno o fenil.

5. Un compuesto como el reivindicado en la reivindicación 1, 2 y 4 donde t es 1; cada Q es $\text{—C}\equiv$; cada X es nitrógeno; cada Y es nitrógeno; cada Z es -O- o -CH₂-; R¹ es -C(O)NH(OH); R² es hidrógeno; -L- es un radical bivalente seleccionado de -NHC(O)- o -NHSO₂-;

—**(A)** es un radical seleccionado de (a-1) o (a-20); cada s es independientemente 0 ó 1; y cada R⁵ es independientemente seleccionado de hidrógeno o fenil.

6. Un compuesto de acuerdo a la reivindicación 1, 2, 4 y 5 seleccionado de los compuestos No 4, No 10, No 8, No 6, No 1, No 12 y No 14.

	
Co. No. 4	Co. No. 10
	
Co. No. 8	Co. No. 6
	
(B); Co. No. 1	(A); Co. No. 12
	
Co. No. 14	

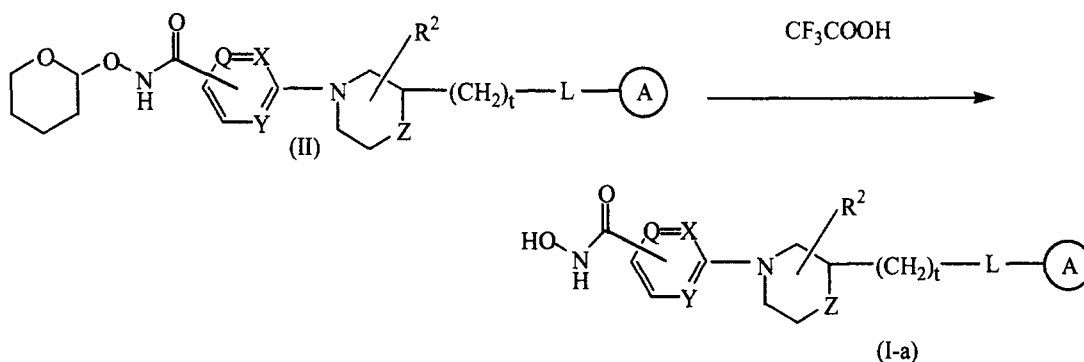
7. Una composición farmacéutica que comprende portadores farmacéuticamente aceptables y como un ingrediente activo una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto como el reivindicado en la reivindicación 1 a 6.

8. Un proceso para preparar una composición farmacéutica como la reivindicada en la reivindicación 7 donde los portadores farmacéuticamente aceptables y un compuesto como el reivindicado en la reivindicación 1 a 6 están íntimamente mezclados.

9. Un compuesto como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso as un medicamento.

10. Uso de un compuesto como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades proliferativas.

11. Un proceso para preparar un compuesto como el reivindicado en la reivindicación 1, **caracterizado** por reaccionar un producto intermedio de fórmula (II) con un ácido apropiado, tal como por ejemplo, ácido trifluoro acético, produciendo un ácido hidroxámico de fórmula (I-a), donde R^1 es $-C(O)NH(OH)$



12. Un método de detector o identificar un HDAC en una muestra biológica que comprende detectar o medir la formación de un complejo entre un compuesto marcado como el definido en la reivindicación (I) y un HDAC.

13. Una combinación de un agente anti-cáncer y un inhibidor de HDAC como el reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.