



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 366 132**

51 Int. Cl.:  
**C07D 239/42** (2006.01)  
**C07D 401/12** (2006.01)  
**C07D 403/12** (2006.01)  
**A61K 31/505** (2006.01)  
**A61K 31/506** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06807466 .5**  
96 Fecha de presentación : **23.10.2006**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1943232**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.07.2008**

54 Título: **Derivados del ácido escuárico como inhibidores de la histona desacetilasa.**

30 Prioridad: **27.10.2005 EP 05110080**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**17.10.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**17.10.2011**

73 Titular/es: **JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.**  
**Turnhoutseweg 30**  
**2340 Beerse, BE**

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

74 Agente: **Justo Bailey, Mario de**

ES 2 366 132 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 del ácido escuárico como inhibidores de la histona desacetilasa

Esta invención se refiere a compuestos que tienen actividad enzimática de inhibición de la histona desacetilasa (HDAC). También se refiere a procesos para su preparación, a composiciones que los comprenden, así como a su uso, tanto in vitro como in vivo, para inhibir la HDAC y como un medicamento, por ejemplo como un medicamento para inhibir enfermedades proliferativas, como el cáncer y la psoriasis.

Se sabe que las histonas nucleares son componentes integrales y dinámicos de la maquinaria responsable de la regulación de la transcripción genética y otros procesos que utilizan el ADN molde, como la replicación, la reparación, la recombinación, y la segregación de cromosomas. Están sujetas a modificaciones post traduccionales que incluyen acetilación, fosforilación, metilación, ubiquitinación y ADP-ribosilación.

Las histona desacetilasas, a las que se alude en este documento como "HDAC", son enzimas que catalizan la eliminación de la modificación acetilo en los residuos lisina de las proteínas, incluidas las histonas del núcleo del nucleosoma H2A, H2B, H3 y H4. Junto con las histona acetiltransferasas, a las que se alude en este documento como "HAT", las HDAC regulan el nivel de acetilación de las histonas. El equilibrio de acetilación de las histonas nucleosómicas juega un papel importante en la transcripción de muchos genes. La hipoacetilación de las histonas se asocia con una estructura de cromatina condensada que produce la represión de la transcripción genética, en tanto las histonas acetiladas se asocian con una estructura de cromatina más abierta y la activación de la transcripción.

Se han descrito varias HDAC relacionadas estructuralmente y están comprendidas en dos clases. La clase I de HDAC consiste en HDAC 1, 2, 3 y 8 en tanto la clase II de HDAC consiste en HDAC 4, 5, 6, 7, 9 y 10. Las integrantes de la tercer clase de HDAC no están relacionadas estructuralmente con la clase I ni con la clase II de HDAC. Las HDAC de las clases I/II actúan mediante mecanismos dependientes del zinc, en tanto las HDAC de la clase III son dependientes de NAD.

Además de las histonas, otras proteínas también han sido el sustrato de la acetilación, en particular factores de transcripción como p53, GATA-1 y E2F; receptores nucleares como el receptor de glucocorticoides, los receptores de hormonas tiroideas, los receptores de estrógeno; y proteínas que regulan el ciclo celular como pRb. La acetilación de proteínas se ha vinculado a la estabilización de las proteínas, como la estabilización de p53, el reclutamiento de cofactores y mayor unión al ADN. p53 es un supresor tumoral que puede inducir detención del ciclo celular o apoptosis en respuesta a una serie de señales de estrés, como el daño del ADN. El principal blanco para la detención del ciclo celular inducida por p53 parece ser el gen p21. A continuación de su activación por p53, p21 ha sido identificado en virtud de su asociación con complejos ciclina/cinasa dependiente de ciclina que producen la detención del ciclo celular tanto en la fase G1 como en la G2, su aumento regulado durante la senescencia y su interacción con el antígeno nuclear de proliferación celular.

El estudio de los inhibidores de las HDAC indica que éstas desempeñan un papel importante en la detención del ciclo celular, la diferenciación celular, la apoptosis y la reversión de los fenotipos transformados.

El inhibidor Tricostatina A (TSA), por ejemplo, causa detención del ciclo celular tanto en la fase G1 como en la G2, revierte el fenotipo transformado de diferentes líneas celulares e induce la diferenciación de las células en la leucemia de Friend y otras. Se ha informado que TSA (y el ácido hidroxámico suberoilánilida SAHA) inhiben la proliferación celular, inducen la diferenciación terminal y evitan la formación de tumores en ratones (Finnin et al., Nature, 401: 188-193, 1999).

Se ha informado que la tricostatina A también es útil en el tratamiento de la fibrosis, por ejemplo fibrosis hepática y cirrosis hepática. (Geerts et al., Solicitud de patente europea EP 0 827 742, publicada el 11 de marzo de 1998).

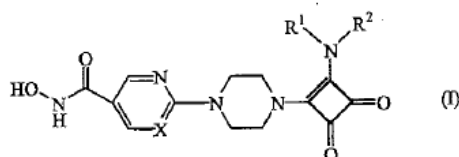
El farmacóforo para los inhibidores de la HDAC consta de un dominio de unión a metal, que interactúa con el sitio activo que contiene zinc de las HDAC, un dominio enlazador y un dominio de reconocimiento de superficie o región capping, el cual interactúa con los residuos que están en el borde del sitio activo.

Se ha informado que los inhibidores de las HDAC también inducen la expresión del gen p21. La activación transcripcional del gen p21 por esos inhibidores es promovida por la remodelación de la cromatina, después de la acetilación de las histonas H3 y H4 en la región promotora de p21. Esta activación de p21 se produce de manera independiente de p53 y por consiguiente los inhibidores de las HDAC son funcionales en células con genes p53 mutados, una marca distintiva de numerosos tumores.

Además los inhibidores de las HDAC pueden tener actividades indirectas como un aumento de la respuesta inmunitaria del huésped y la inhibición de la angiogénesis tumoral y por lo tanto pueden suprimir el crecimiento de los tumores primarios e impedir metástasis (Mai et al., Medicinal Research Reviews, 25: 261-309).

En vista de lo anterior, los inhibidores de las HDAC pueden tener un gran potencial en el tratamiento de enfermedades o procesos celulares proliferativos, incluidos los tumores con genes p53 mutados.

- La solicitud de patente EP1472216 publicada el 14 de agosto de 2003 da a conocer hidroxamatos bicíclicos como inhibidores de la histona desacetilasa.
- Las solicitudes de patentes EP1485099, EP1485348, EP1485353, EP1485354, EP1485364, EP1485365, EP1485370 y EP1485378 publicadas el 18 de septiembre de 2003, entre otras, dan a conocer ácidos piperazinilpirimidinilhidroxámicos sustituidos como inhibidores de la histona desacetilasa además EP1485365 da a conocer a R306465.
- La solicitud de patente EP1492534 publicada el 9 de octubre de 2003, da a conocer compuestos de ácido carbámico que comprenden una unión piperazina, como inhibidores de la HDAC.
- La solicitud de patente EP 1495002 publicada el 23 de octubre de 2003, da a conocer compuestos piperazinil fenil benzamida sustituidos, como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente EP 1523470 publicada el 29 de enero de 2004, da a conocer derivados que contienen un enlazador alquilo entre el grupo arilo y el hidroxamato, como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente EP1525199 publicada el 12 de febrero de 2004, da a conocer hidroxamatos bicíclicos sustituidos con (hetero)arilalquenilo, como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente EP1581484 publicada el 29 de julio de 2004, da a conocer derivados de N-hidroxibenzamida con actividad antiinflamatoria y antitumoral.
- La solicitud de patente EP 1585735 publicada el 29 de julio de 2004, da a conocer derivados de arilhidroxamato sustituidos, como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente EP1583736 publicada el 12 de octubre de 2005, da a conocer compuestos de ácido carbámico que comprenden un enlazador éster o cetona, como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente WO04/072047 publicada el 26 agosto de 2004, da a conocer indoles, bencimidazoles y naftimidazoles, como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente EP 1608628 publicada el 30 de septiembre de 2004, da a conocer hidroxamatos unidos a sistemas heterocíclicos no aromáticos, como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente EP 1611088 publicada el 28 octubre de 2004, da a conocer derivados de hidroxamato como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente EP 1673349 publicada el 31 de marzo de 2005, da a conocer bencimidazoles como inhibidores de la histona desacetilasa.
- Las solicitudes de patentes WO05/030704 y EP1663953 publicadas el 7 de abril de 2005, dan a conocer benzamidas como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente EP1685094 publicada el 6 mayo de 2005, da a conocer hidroxamatos conectados a acilurea y conectados a sulfonilurea, como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente EP 1682538 publicada el 6 de mayo de 2005, da a conocer hidroxamatos unidos a biarilo como inhibidores de la histona desacetilasa.
- La solicitud de patente WO05/086898 publicada el 22 de septiembre de 2005, da a conocer hidroxamatos unidos a sistemas pentaheterocíclicos como inhibidores de la histona desacetilasa.
- Los compuestos de la presente invención difieren del estado anterior de la técnica en la estructura, en su actividad farmacológica y/o en su potencia farmacológica.
- El problema a solucionar es proporcionar inhibidores de la histona desacetilasa con elevada actividad enzimática.
- Los nuevos compuestos de la presente invención solucionan el problema descrito antes. Los compuestos de la presente invención tienen una excelente actividad enzimática de inhibición de la histona desacetilasa. Pueden tener un perfil farmacocinético deseable y una buena solubilidad.
- Esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I)



sus formas *N*-óxido, sus sales de adición farmacéuticamente aceptables y sus formas estereoquímicamente isoméricas, donde

cada X es independientemente N o CH;

5 R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, C<sub>1-6</sub>alquilo, mono o di(C<sub>1-6</sub>alquil)amino, C<sub>1-6</sub>alquiloxiC<sub>1-6</sub>alquilo, fenilo, fenilC<sub>1-6</sub>alquilo, fenil(ciclopropil)C<sub>1-6</sub>alquilo, heterocicliC<sub>1-6</sub>alquilo, feniloxiC<sub>1-6</sub>alquilo, tetrahidronaftalenilo o fenilaminoC<sub>1-6</sub>alquilo;

cada fenilo o heterocicli está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente entre halo, polihaloC<sub>1-6</sub>alquilo, C<sub>1-6</sub>alquilo, C<sub>1-6</sub>alquiloxi, fenilo o fenilalquilo;

10 heterocicli en lo anterior es furanilo, tienilo, pirrolilo, pirrolinilo, pirrolidinilo, oxopirrolidinilo, dioxolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, pirazolilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, triazolilo, tiadiazolilo, piranilo, piridinilo, piperidinilo, dioxanilo, morfolinilo, ditianilo, tiomorfolinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, piperazinilo, triazinilo, tritiano, indolizínilo, indolilo, indolinilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, indazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, purinilo, quinolizínilo, quinolinilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo o naftiridinilo.

15 La expresión "inhibidor de la histona desacetilasa" se usa para identificar a un compuesto que es capaz de interactuar con una histona desacetilasa e inhibir su actividad, más particularmente su actividad enzimática. Inhibir la actividad enzimática de la histona desacetilasa significa reducir la capacidad de la histona desacetilasa para eliminar un grupo acetilo de una histona. Preferentemente, dicha inhibición es específica, es decir el inhibidor de la histona desacetilasa reduce la capacidad de una histona desacetilasa para eliminar un grupo acetilo de una histona a una  
20 concentración que es inferior a la concentración del inhibidor necesaria para producir algún otro efecto biológico que no esté relacionado.

Según se usa en las definiciones anteriores y de aquí en adelante, halo es genérico para flúor, cloro, bromo y yodo; C<sub>1-6</sub>alquilo define radicales hidrocarburo saturados de cadena lineal y ramificada que tienen de 1 a 6 átomos de carbono como, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, 1-metiletilo, 2-metilpropilo, 2-metilbutilo, 2-metilpentilo y análogos; polihaloC<sub>1-6</sub>alquilo define un C<sub>1-6</sub>alquilo que contiene tres sustituyentes halo idénticos o  
25 diferentes, por ejemplo trifluorometilo.

Las sales de adición farmacéuticamente aceptables abarcan las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables según se menciona antes tienen la intención de incluir las sales de adición de ácido  
30 atóxicas terapéuticamente activas, que los compuestos de fórmula (I) sean capaces de formar. Los compuestos de fórmula (I) que tienen propiedades básicas se pueden convertir en sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables tratando dicha forma básica con un ácido adecuado. Los ácidos adecuados comprenden, ácidos inorgánicos como los hidrácidos, por ejemplo ácido clorhídrico o bromhídrico; sulfúrico; nítrico; fosfórico y ácidos similares; o ácidos orgánicos como acético, trifluoroacético, propanoico, hidroxiacético, 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 ácidos  
35 similares.

Los compuestos de fórmula (I) que tienen propiedades ácidas se pueden convertir en sus sales de adición de base farmacéuticamente aceptables tratando dicha forma ácida con una base orgánica o inorgánica adecuada. Las sales básicas adecuadas comprenden, por ejemplo, la sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, por ejemplo las sales de litio, sodio, potasio, magnesio y calcio, las sales con bases orgánicas, por ejemplo las sales de benzatrina, *N*-metil-D-glutamina e hidrabamina, y las sales con aminoácidos como, por ejemplo, arginina y lisina.

La expresión "sales de adición de ácido o base" también comprende los hidratos y las formas de adición de solvente que los compuestos de fórmula (I) sean capaces de formar. Los ejemplos de dichas formas son p. ej. Hidratos y  
45 alcoholatos.

La expresión "formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de fórmula (I)", como se usa en este documento, define todos los posibles compuestos que contienen los mismos átomos unidos por la misma secuencia de enlaces pero con diferentes estructuras tridimensionales, que no son intercambiables, que los compuestos de fórmula (I) puedan poseer. A menos que se mencione o se indique algo diferente, la designación química de un  
50 compuesto abarca la mezcla de todas las posibles formas estereoquímicamente isoméricas, que dichos compuestos puedan poseer. Dicha mezcla puede contener todos los diastereoisómeros y/ enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Se tiene la intención de incluir todas las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de fórmula (I), tanto en forma pura como mezcladas entre sí, en el alcance de la presente invención.

55 Se pretende que las formas *N*-óxido de los compuestos de fórmula (I) comprenda aquellos compuestos de fórmula (I) en los que uno o varios átomos de nitrógeno se oxidan para dar el denominado *N*-óxido, particularmente aquellos *N*-óxidos en los cuales uno o más de los nitrógenos de la piperidina, piperazina o piridazinilo están *N*-oxidados.

Algunos de los compuestos de fórmula (I) también pueden existir en sus formas tautoméricas. Se tiene la intención de que dichas formas aunque no estén explícitamente indicadas en la fórmula anterior estén incluidas en el alcance de la presente invención.

5 Cada vez que se use de aquí en adelante la expresión "compuestos de fórmula (I)" se pretende incluir también las sales de adición farmacéuticamente aceptables y todas las formas estereoisoméricas.

Según se usa en este documento, las expresiones "histona desacetilasa" y "HDAC" tiene la intención de referirse a cualquier integrante de una familia de enzimas que elimina grupos acetilo de los grupos  $\epsilon$ -amino de los residuos de lisina en el extremo N-terminal de una histona. A menos que el contexto indique algo diferente, el término "histona" se refiere a cualquier proteína histona, incluidas H1, H2A, H2B, H3, H4, y H5, de cualquier especie. Las proteínas HDAC o productos genéticos humanos, incluyen, pero no exclusivamente, HDAC-1, HDAC-2, HDAC-3, HDAC-4, HDAC-5, HDAC-6, HDAC-7, HDAC-8, HDAC-9, HDAC-10 y HDAC-11. La histona desacetilasa también puede provenir de un protozooario o un hongo.

Un primer grupo de compuestos interesantes consiste en aquellos compuestos de fórmula (I) en los que se aplica una o más de las restricciones siguientes:

- 15 a) cada X es N;
- b) cada fenilo o heterociclilo está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre halo, polihaloC<sub>1-6</sub>alquilo, C<sub>1-6</sub>alquiloxi, fenilo o fenilalquilo;
- c) heterociclilo es furanilo, pirrolidinilo, oxopirrolidinilo o piridinilo.

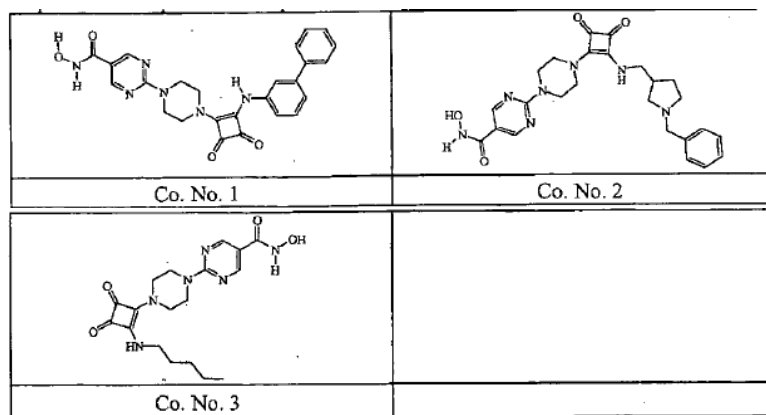
Un segundo grupo de compuestos interesantes consiste en aquellos compuestos de fórmula (I) en los que se aplica una o más de las restricciones siguientes:

- 20 a) cada X es N;
- b) R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, C<sub>1-6</sub>alquilo o fenilo;
- c) cada fenilo o heterociclilo está opcionalmente sustituido con fenilo o fenilalquilo;
- d) heterociclilo es pirrolidinilo.

25 Un grupo de compuestos preferidos consiste en aquellos compuestos de fórmula (I) en los que cada X es N; cada fenilo o heterociclilo está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halo, polihaloC<sub>1-6</sub>alquilo, C<sub>1-6</sub>alquiloxi, fenilo o fenilalquilo; y heterociclilo es furanilo, pirrolidinilo, oxopirrolidinilo o piridinilo.

30 Un grupo de compuestos más preferidos consiste en aquellos compuestos de fórmula (I) en los que cada X es N; R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, C<sub>1-6</sub>alquilo o fenilo; cada fenilo o heterociclilo está opcionalmente sustituido con fenilo o fenilalquilo; y heterociclilo es pirrolidinilo.

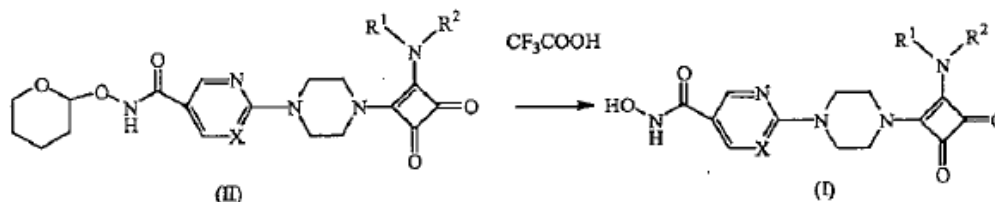
Los compuestos más preferidos son el compuesto N° 1, el compuesto N° 2 y el compuesto N° 3.



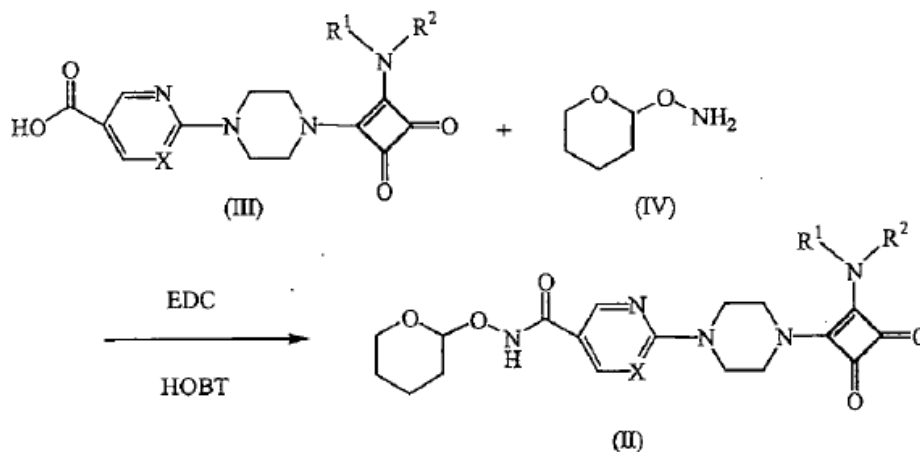
35 Los compuestos de fórmula (I), sus sales farmacéuticamente aceptables, sus N-óxidos y sus formas estereoquímicamente isoméricas se pueden preparar de manera convencional. Los materiales de partida y algunos de los productos intermedios son compuestos conocidos y se pueden obtener en el comercio o se pueden preparar de acuerdo con procedimientos de reacción convencionales generalmente conocidos en el área.

Algunos métodos de preparación se describirán más detalladamente de aquí en adelante. Otros métodos para obtener los compuestos finales de fórmula (I) se describen en los ejemplos.

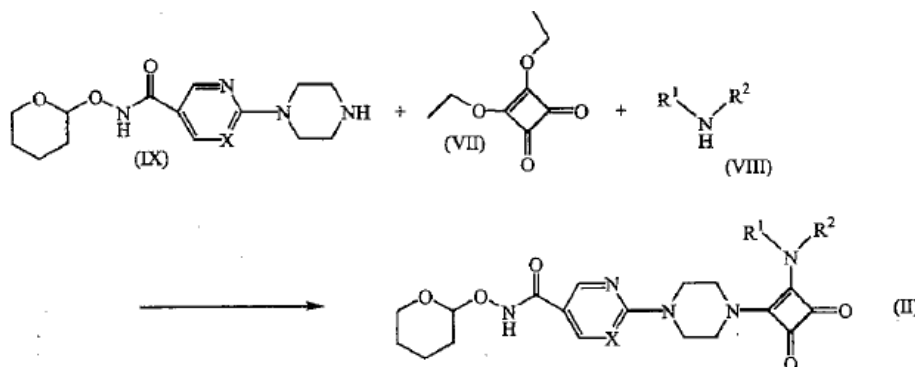
- 5 a) Los ácidos hidroxámicos de fórmula (I) se pueden preparar haciendo reaccionar un producto intermedio de fórmula (II) con un ácido adecuado, como por ejemplo, ácido trifluoroacético. Dicha reacción se lleva a cabo en un solvente adecuado como, por ejemplo, metanol o diclorometano.



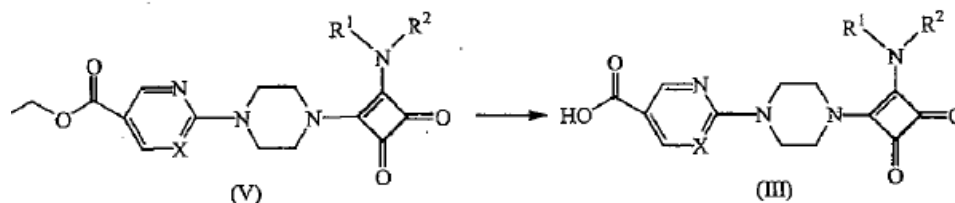
- 10 b) Los productos intermedios de fórmula (II) se pueden preparar haciendo reaccionar un producto intermedio de fórmula (III) con un producto intermedio de fórmula (IV) en presencia de reactivos adecuados como monoclóhidrato de *N*'-(etilcarbonimidóil)-*N,N*-dimetil-1,3-propanodiamina (EDC) y 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol (HOBT). La reacción se puede llevar a cabo en presencia de una base como trietilamina, en un solvente adecuado como una mezcla de diclorometano y tetrahidrofurano.



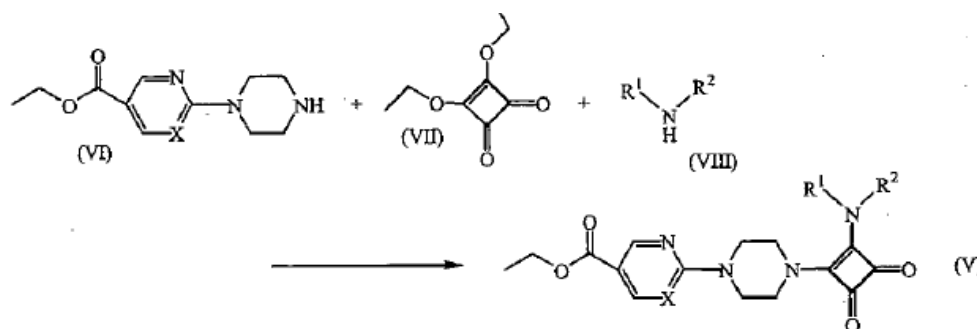
- c) Alternativamente, los productos intermedios de fórmula (II) se pueden preparar haciendo reaccionar un producto intermedio de fórmula (IX) con un producto intermedio de fórmula (VII) y un producto intermedio de fórmula (VIII) en presencia de un solvente adecuado como etanol.



- 15 d) Los productos intermedios de fórmula (III) se pueden preparar haciendo reaccionar un producto intermedio de fórmula (V) con una solución ácida adecuada, por ejemplo ácido clorhídrico, o una solución básica, por ejemplo bromuro de hidrógeno o hidróxido de sodio, en un solvente adecuado como un alcohol, por ejemplo etanol o propanol.



e) Los productos intermedios de fórmula (V) se pueden preparar haciendo reaccionar un producto intermedio de fórmula (VI) con el producto intermedio de fórmula (VII) y un producto intermedio de fórmula (VIII) en presencia de un solvente adecuado como etanol.



5 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 S.

Los compuestos de fórmula (I) preparados según los procesos descritos antes son generalmente mezclas racémica de enantiómeros, los cuales se pueden separar uno de otro siguiendo procedimientos de resolución conocidos en el área. Los compuestos racémicos de fórmula (I) se pueden convertir en las sales diastereoisoméricas correspondientes mediante reacción con un ácido quiral adecuado. Dichas sales diastereoisoméricas se separan a  
10 continuación, por ejemplo, mediante cristalización selectiva o fraccionaria y los enantiómeros se liberan de allí mediante un álcali. Una manera alternativa de separar los enantiómeros de los compuestos de fórmula (I) implica cromatografía líquida usando una fase estacionaria quiral. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también se pueden derivar de las correspondientes formas estereoquímicamente isoméricas puras de los materiales  
15 de partida adecuados, siempre que la reacción ocurra estereoespecíficamente. Preferentemente si se desea un estereoisómero específico, dicho compuesto se sintetizaría mediante métodos de preparación estereoespecíficos. Esos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

Los compuestos de fórmula (I), sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y sus formas estereoisoméricas tienen propiedades farmacológicas valiosas en cuanto a que tienen un efecto inhibitorio de la  
20 histona desacetilasa (HDAC).

Esta divulgación proporciona un método para inhibir la proliferación anormal de células, incluso células transformadas, mediante administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención. La proliferación anormal de células se refiere a la proliferación celular independiente de los mecanismos reguladores normales (por ejemplo pérdida de la inhibición por contacto). Esto incluye la inhibición del crecimiento del tumor tanto directamente  
25 por causar la detención del crecimiento, la diferenciación terminal y/o la apoptosis de células cancerosas, como indirectamente por inhibir la neovascularización de los tumores.

Esta divulgación también proporciona un método para inhibir el crecimiento de un tumor mediante administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención a un sujeto, por ejemplo un mamífero (y más particularmente un humano), que necesita dicho tratamiento. En particular, esta divulgación proporciona un método  
30 para inhibir el crecimiento de tumores mediante administración de una cantidad eficaz de los compuestos de la presente invención. Los ejemplos de tumores que pueden ser inhibidos son cáncer de pulmón (p. ej. adenocarcinoma e inclusive carcinoma pulmonar no microcítico), cánceres pancreáticos (p. ej. carcinoma pancreático como, por ejemplo, carcinoma pancreático exocrino), cánceres de colon (p. ej. carcinomas colorrectales, como, por ejemplo, adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), cáncer de próstata inclusive la enfermedad  
35 avanzada, tumores hematopoyéticos de linaje linfóide (p. ej. leucemia linfocítica aguda, linfoma de linfocitos B, linfoma de Burkitt), leucemias mieloides (por ejemplo, leucemia mielógena aguda (AML)), cáncer folicular de tiroides, síndrome mielodisplásico (MDS), tumores de origen mesenquimatoso (p. ej. fibrosarcomas y rhabdiosarcomas), melanomas, teratocarcinomas, neuroblastomas, gliomas, tumores benignos de piel (p. ej. queratoacantomas),

carcinoma de mama (p. ej. cáncer de mama avanzado), carcinoma de riñón, carcinoma de ovario, carcinoma de vejiga y carcinoma epidérmico.

Los compuestos de acuerdo con la invención se pueden usar para otros fines terapéuticos, por ejemplo:

- 5 a) la sensibilización de tumores a la radioterapia mediante administración del compuesto de acuerdo con la invención antes, durante o después de la irradiación del tumor para tratar el cáncer;
- b) tratar artropatías y afecciones osteopatológicas como artritis reumatoide, osteoartritis, artritis juvenil, gota, poliartritis, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante y lupus eritematoso sistémico;
- c) inhibir la proliferación de células del músculo liso inclusive trastornos vasculares proliferativos, aterosclerosis y restenosis;
- 10 d) tratar afecciones inflamatorias y dérmicas como colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, rinitis alérgica, enfermedad de injerto contra huésped, conjuntivitis, asma, ARDS, enfermedad de Behcet, rechazo de trasplante, urticaria, dermatitis alérgica, alopecia areata, esclerodermia, exantema, eccema, dermatomiositis, acné, diabetes, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Kawasaki, esclerosis múltiple, enfisema, fibrosis quística y bronquitis crónica;
- 15 e) tratar la endometriosis, los fibromas uterinos, la hemorragia uterina disfuncional y la hiperplasia del endometrio;
- f) tratar la vascularización ocular inclusive la vasculopatía que afecta los vasos de la retina y la coroides;
- g) tratar la disfunción cardíaca;
- h) inhibir las afecciones inmunosupresoras como el tratamiento de las infecciones por VIH;
- 20 i) tratar la disfunción renal;
- j) suprimir los trastornos endocrinos;
- k) inhibir la disfunción de la gluconeogénesis;
- l) tratar una neuropatología por ejemplo la enfermedad de Parkinson o una neuropatología que produzca un trastorno cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer o enfermedades neuronales relacionadas con la poliglutamina;
- 25 m) tratar trastornos psiquiátricos por ejemplo esquizofrenia, trastorno bipolar, depresión, ansiedad y psicosis;
- n) inhibir una patología neuromuscular, por ejemplo, esclerosis lateral amiotrófica;
- o) tratar la atrofia muscular espinal;
- p) tratar otras afecciones patológicas tratables mediante potenciación de la expresión de un gen;
- 30 q) potenciar la genoterapia;
- r) inhibir la adipogénesis;
- s) tratar parasitosis como la malaria.

35 Por consiguiente, la presente invención da a conocer los compuestos de fórmula (I) para usar como un medicamento así como el uso de esos compuestos de fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para tratar una o más de las enfermedades mencionadas antes.

Los compuestos de fórmula (I), sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y sus formas estereoisoméricas pueden tener valiosas propiedades diagnósticas en cuanto a que se pueden usar para detectar o identificar una HDAC en una muestra biológica que comprende detectar o medir la formación de un complejo entre un compuesto marcado y una HDAC.

40 Los métodos de detección o identificación pueden usar compuestos que estén marcados con marcadores como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas, etc. Los ejemplos de radioisótopos incluyen  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$ . Las enzimas se tornan generalmente detectables mediante conjugación de un sustrato adecuado el cual a su vez cataliza una reacción detectable. Los ejemplos de estas incluyen, por ejemplo, beta-galactosidasa, beta-glucosidasa, fosfatasa alcalina, peroxidasa y malato deshidrogenasa, preferentemente peroxidasa de rábano.

45 Las sustancias luminosas incluyen, por ejemplo, luminol, derivados de luminol, luciferina, aecuorina y luciferasa.



Las muestras biológicas pueden ser definidas como tejidos corporales o líquidos corporales. Los ejemplos de líquidos corporales son líquido cefalorraquídeo, sangre, plasma, suero, orina, esputo, saliva y análogos.

A la vista de sus útiles propiedades farmacológicas, los compuestos del título se pueden formular en diversas formas farmacéuticas a los efectos de su administración.

5 Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, una cantidad eficaz de un compuesto particular, en forma de sal de adición de base o de ácido, como principio activo, se combina en mezcla íntima con un excipiente farmacéuticamente aceptable, el cual puede adoptar una amplia gama de formas dependiendo del modo de preparación deseado para la administración. Es aconsejable que estas composiciones farmacéuticas estén en una forma farmacéutica adecuada, preferentemente, para administración oral, rectal, percutánea o por inyección parenteral. Por ejemplo, al preparar las composiciones en formas farmacéuticas orales, se pueden emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, como por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o excipientes sólidos como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, desintegrantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos.

15 Debido a la facilidad de su administración, los comprimidos y las cápsulas representan las formas de dosificación oral más ventajosas, en cuyo caso se emplean obviamente excipientes farmacéuticos sólidos. Para las composiciones parenterales, el excipiente incluirá generalmente agua estéril, al menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo, para facilitar la solubilidad. Se pueden preparar, por ejemplo, soluciones inyectables cuyo excipiente incluya solución salina, solución de glucosa o una mezcla de soluciones salina y de glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables en cuyo caso se pueden emplear excipientes líquidos, suspendentes y análogos, adecuados. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el excipiente comprende opcionalmente un agente para mejorar la penetración y/o un humectante adecuado, combinados opcionalmente con menores proporciones de aditivos adecuados de cualquier naturaleza, que no causen un efecto perjudicial importante en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración cutánea y/o ser de ayuda en la elaboración de las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de diversas maneras, p. ej., como un parche transdérmico, como un tratamiento cutáneo localizado o como un unguento.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas antes en formas farmacéuticas que faciliten la administración y la uniformidad de dosis. La expresión formas farmacéuticas como se usa en esta especificación y las reivindicaciones, se refiere a las unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosis únicas, cada unidad de las cuales contiene una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el excipiente farmacéutico necesario. Son ejemplos de dichas formas farmacéuticas los comprimidos (incluidos los comprimidos ranurados o recubiertos), las cápsulas, las píldoras, las bolsitas de polvo, las obleas, las soluciones o suspensiones inyectables, las cucharaditas, las cucharadas y análogos, y los múltiples separados de éstos.

35 Los expertos podrán determinar fácilmente la cantidad eficaz a partir de los resultados de las pruebas que se presentan más adelante. En general se considera que una cantidad terapéuticamente eficaz 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 adecuado administrar la dosis necesaria como dos, tres, cuatro o más subdosis, a intervalos adecuados a lo largo del día. Dichas subdosis se pueden formular como formas farmacéuticas, por ejemplo, que contengan de 0.5 a 500 mg, y en particular, de 10 mg a 500 mg de principio activo por unidad de forma farmacéutica.

Como otro aspecto de la presente invención, se concibe una combinación de un inhibidor de HDAC con otro antineoplásico, especialmente para usar como un medicamento, más específicamente en el tratamiento del cáncer o enfermedades relacionadas.

45 Para el tratamiento de las enfermedades anteriores, los compuestos de la invención se pueden emplear ventajosamente en combinación con uno o más de otros medicamentos, más particularmente, con otros antineoplásicos. Los ejemplos de antineoplásicos son:

- compuestos de coordinación de platino por ejemplo cisplatino, carboplatino u oxaliplatino;
- compuestos de taxano por ejemplo paclitaxel o docetaxel;
- inhibidores de la topoisomerasa I como compuestos de camptotecina por ejemplo irinotecán o topotecán;
- 50 - inhibidores de la topoisomerasa II como derivados de podofilotoxina antitumorales por ejemplo etopósido o tenipósido;
- alcaloides de la vinca antitumorales por ejemplo vinblastina, vincristina o vinorelbina;
- derivados de nucleósidos antitumorales por ejemplo 5-fluorouracilo, gemcitabina o capecitabina;

- agentes alquilantes como mostaza de nitrógeno o nitrosourea por ejemplo ciclofosfamida, clorambucilo, carmustina o lomustina;
  - derivados de antraciclina antitumorales por ejemplo daunorubicina, doxorubicina, idarubicina o mitoxantrona;
  - anticuerpos HER2 por ejemplo trastuzumab;
- 5
- antagonistas del receptor de estrógeno o moduladores selectivos del receptor de estrógeno por ejemplo tamoxifeno, toremifeno, droloxifeno, faslodex o raloxifeno;
  - inhibidores de la aromatasas como exemestano, anastrozol, letrozol y vorozol;
  - agentes diferenciadores como retinoides, vitamina D y agentes bloqueadores del metabolismo del ácido retinoico (RAMBA) por ejemplo acutano;
- 10
- inhibidores de la ADN metiltransferasa por ejemplo azacitidina y decitabina;
  - inhibidores de la cinasa por ejemplo flavoperidol, mesilato de imatinib o gefitinib;
  - inhibidores de la farnesiltransferasa;
  - otros inhibidores de la HDAC
  - inhibidores de la ruta ubiquitina-proteasoma por ejemplo Velcade; o
- 15
- Yondelis.

La expresión "compuesto de coordinación de platino" se usa en este documento para indicar cualquier compuesto de coordinación de platino que inhibe la proliferación de células tumorales, que proporciona platino en forma de ión.

La expresión "compuestos de taxano" indica una clase de compuestos que tienen el sistema cíclico taxano y que están relacionados con o derivan de extractos de ciertas especies de árboles coníferos (Taxus).

- 20
- La expresión "inhibidores de la topoisomerasa" se usa para indicar enzimas que son capaces de alterar la topología de ADN en células eucariotas. Son fundamentales para importantes funciones celulares y para la proliferación celular. Existen dos clases de topoisomerasas en las células eucariotas, denominadas tipo I y tipo II. La topoisomerasa I es una enzima monomérica de aproximadamente 100 000 de peso molecular. La enzima se une al ADN e introduce un corte transitorio en una sola hebra, desenrolla la doble hélice (o permite que se desenrolle) y luego vuelve a cerrar el corte antes de disociarse de la hebra de ADN. La topoisomerasa II tiene un mecanismo de acción similar que implica la inducción de cortes de la hebra de ADN o la formación de radicales libres.
- 25

La expresión "compuestos de camptotecina" se usa para indicar compuestos que están relacionados con o derivan del compuesto de camptotecina original que es un alcaloide insoluble en agua procedente del árbol chino Camptothecin acuminata y del árbol indio Nothapodytes foetida.

- 30
- La expresión "compuestos de podofilotoxina" se usa para indicar compuestos que están relacionados con o derivan de la podofilotoxina original, que se extrae de la planta mandrake.

La expresión "alcaloides de la vinca antitumorales" se usa para indicar compuestos que están relacionados con o derivan de extractos de la planta vincapervinca o hierba doncella (Vinca rosea).

- 35
- La expresión "agentes alquilantes" abarca un grupo diverso de productos químicos que tienen la característica común de tener la capacidad de aportar, en condiciones fisiológicas, grupos alquilo a macromoléculas biológicamente vitales como el ADN. En la mayoría de los agentes más importantes como las mostazas de nitrógeno y las nitrosoureas, las porciones alquilantes activas se generan in vivo después de reacciones de degradación complejas, algunas de las cuales son enzimáticas. Las acciones farmacológicas más importantes de los agentes alquilantes son las que desestabilizan los mecanismos fundamentales relacionados con la proliferación celular en particular la síntesis de ADN y la división celular. La capacidad de los agentes alquilantes para interferir con la función y la integridad del ADN en tejidos que están proliferando rápidamente, proporciona la base para sus aplicaciones terapéuticas y para muchas de sus propiedades tóxicas.
- 40

La expresión "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 cíclica de tetraciclina con un azúcar inusual, daunosamina, unida mediante un enlace glucosídico.

45

La amplificación de la proteína (HER 2) receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano en los carcinomas de mama primarios ha demostrado correlacionarse con una mala prognosis clínica en ciertos pacientes. Trastuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado del tipo IgG1 kappa, muy purificado, derivado de ADN recombinante, que se une con elevada afinidad y especificidad al dominio extracelular del receptor HER2.

Muchos cánceres de mama tienen receptores de estrógeno y el crecimiento de esos tumores puede ser estimulado por estrógeno. Las expresiones "antagonistas del receptor de estrógeno" y "moduladores selectivos del receptor de estrógeno" se usan para indicar inhibidores competitivos de la unión del estradiol al receptor de estrógeno (ER). Los moduladores selectivos del receptor de estrógeno, cuando se unen al ER, inducen un cambio en la forma tridimensional del receptor, modulando su unión al elemento de respuesta a estrógeno (ERE) en el ADN.

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

La expresión "agente antiestrógeno" se usa en este documento para incluir no sólo a los antagonistas del receptor de estrógeno y a los moduladores selectivos del receptor de estrógeno sino también a los inhibidores de la aromatasa según se trato antes.

La expresión "agentes diferenciadores" abarca compuestos que pueden, de diversas maneras, inhibir la proliferación celular e inducir la diferenciación. Se sabe que la vitamina D y los retinoides desempeñan un papel fundamental en la regulación de la proliferación y la diferenciación de una gran variedad de tipos de células normales y malignas. Los bloqueadores del metabolismo del ácido retinoico (RAMBA) aumentan los niveles de ácidos retinoicos endógenos inhibiendo el catabolismo, mediado por el citocromo P450, de los ácidos retinoicos.

Los cambios en la metilación del ADN se encuentran entre las anomalías más comunes en neoplasias humanas. La hipermetilación en los promotores de genes elegidos se asocia habitualmente con la inactivación de los genes involucrados. La expresión "inhibidores de la ADN metiltransferasa" se usa para indicar compuestos que actúan a través de la inhibición farmacológica de la ADN metiltransferasa y la reactivación de la expresión del gen supresor tumoral.

La expresión "inhibidores de la cinasa" comprende potentes inhibidores de la cinasa que participan en el avance del ciclo celular y en la muerte celular programada (apoptosis).

La expresión "inhibidores de la farnesiltransferasa" se usa para indicar compuestos que fueron diseñados para evitar la farnesilación de Ras y otras proteínas intracelulares. Han demostrado tener efectos sobre la proliferación y la supervivencia de células malignas.

La expresión "otros inhibidores de la HDAC" comprende:

- carboxilatos por ejemplo butirato, ácido cinámico, 4-fenilbutirato o ácido valproico;
- ácidos hidroxámicos, por ejemplo ácido hidroxámico suberoilánilida (SAHA), análogos de SAHA que contienen piperazina, biaril hidroxamato A-161906 y sus análogos carbozolléter-, tetrahidropiridina- y tetralona-, aril-N-hidroxicarboxamidas bicíclicas, piroxamida, CG-1521, PXD-101, ácido sulfonamidahidroxámico, LAQ-824, LBH-589, tricoestatina A (TSA), oxamflatina, scriptaid, moléculas tricíclicas relacionadas con scriptaid, ácido m-carboxicinámico, ácido bishidroxámico (CBHA), ácidos hidroxámicos semejantes a CBHA, trapoxina-análogo del ácido hidroxámico, CRA-024781, R306465 y ácidos benzoilo- y heteroarilo- hidroxámicos relacionados, aminosuberatos y malonildiamidas;
- tetrapéptidos cíclicos por ejemplo trapoxina, apidicina, depsipéptido, compuestos relacionados a espirucostatina-, RedFK-228, tetrapéptidos cíclicos que contienen sulfihidrido (SCOP), tetrapéptidos cíclicos que contienen ácido hidroxámico (CHAP), TAN-174s y azumamidas;
- benzamidas por ejemplo MS-275 o CI-994, o
- depudecina.

La expresión "inhibidores de la ruta ubiquitina-proteasoma" se usa para identificar compuestos que inhiben la destrucción dirigida de proteínas celulares en el proteasoma, inclusive proteínas reguladoras del ciclo celular.

Para el tratamiento del cáncer los compuestos de acuerdo con la presente invención se pueden administrar un paciente como se describe antes, conjuntamente con irradiación. La irradiación significa radiación ionizante y en particular radiación gamma, especialmente la emitida por aceleradores lineales o por radionúclidos que son de uso común hoy en día. La irradiación del tumor por radionúclidos puede ser externa o interna.

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

La presente invención también se refiere a una combinación de acuerdo con la invención para usar terapia médica por ejemplo para inhibir la proliferación de células tumorales.

La presente invención también se refiere a una combinación de acuerdo con la invención para inhibir la proliferación de células tumorales.

La presente divulgación también se refiere a un método para inhibir la proliferación de células tumorales en un sujeto humano, que comprende administrar el sujeto una cantidad eficaz de una combinación de acuerdo con la invención.

- 5 La divulgación proporciona además un método para inhibir la proliferación anormal de células, incluso células transformadas, mediante administración de una cantidad eficaz de una combinación de acuerdo con la invención.

El otro medicamento y el inhibidor de la HDAC se pueden administrar simultáneamente (por ejemplo en una única composición o en composiciones separadas) o consecutivamente en cualquier orden. En el último caso, los dos compuestos se administrarán dentro de un período y en una cantidad y de una manera que permitan asegurar que se logra un efecto ventajoso o sinérgico. Se entenderá que el método preferido, el orden de administración y las cantidades y regímenes de dosificación respectivos para cada componente de la combinación dependerán del otro medicamento particular y del inhibidor de la HDAC que están siendo administrados, de su vía de administración, del tumor particular que está siendo tratado y del huésped particular que está siendo tratado. El método, el orden de administración, y las cantidades y regímenes de dosificación óptimos, pueden ser determinados fácilmente por los expertos usando métodos convencionales y a la vista de la información proporcionada en este documento.

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

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

El compuesto de camptotecina se administra ventajosamente en una dosis de 0.1 a 400 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de superficie corporal, por ejemplo de 1 a 300  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para irinotecán en una dosis de aproximadamente 100 a 350  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para topotecán en aproximadamente 1 a 2  $\text{mg}/\text{m}^2$  por tanda de tratamiento.

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

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

35 El derivado de nucleósido antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 200 a 2500 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de superficie corporal, por ejemplo de 700 a 1500  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para 5-FU en una dosis de 200 a 500  $\text{mg}/\text{m}^2$ , para gemcitabina en una dosis de aproximadamente 800 a 1200  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para capecitabina en aproximadamente 1000 a 2.500  $\text{mg}/\text{m}^2$  por tanda de tratamiento.

40 Los agentes alquilantes como mostaza de nitrógeno o nitrosourea se administran ventajosamente en una dosis de 100 a 500 mg por metro cuadrado ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ) de superficie corporal, por ejemplo de 120 a 200  $\text{mg}/\text{m}^2$ , particularmente para ciclofosfamida en una dosis de aproximadamente 100 a 500  $\text{mg}/\text{m}^2$ , para clorambucilo en una dosis de aproximadamente 0.1 a 0.2 mg/kg, para carmustina en una dosis de aproximadamente 150 a 200  $\text{mg}/\text{m}^2$  y para lomustina en una dosis de aproximadamente 100 a 150  $\text{mg}/\text{m}^2$  por tanda de tratamiento.

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

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

50 El antiestrógeno se administra ventajosamente en una dosis de aproximadamente 1 a 100 mg por día dependiendo del antiestrógeno particular y de la afección que está siendo tratada. El tamoxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 5 a 50 mg, preferentemente de 10 a 20 mg dos veces al día, continuando el tratamiento durante un tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El toremifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez al día, continuando el tratamiento durante un tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El anastrozol se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 1 mg una vez al día. El droloxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 20 - 100 mg una vez al día. El raloxifeno se

administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez al día. El exemestano se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 25 mg una vez al día.

Esas dosis se pueden administrar por ejemplo una vez, dos veces o más veces por tanda de tratamiento, las cuales se pueden repetir por ejemplo cada 7, 14, 21 o 28 días.

- 5 En vista de sus útiles propiedades farmacológicas, los componentes de las combinaciones de acuerdo con la invención, es decir el otro medicamento y el inhibidor de la HDAC se pueden formular en diversas formas farmacéuticas a efectos de la administración. Los componentes se pueden formular por separado en composiciones farmacéuticas individuales o en una única composición farmacéutica que contenga ambos componentes.

- 10 Por consiguiente, la presente invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende el otro medicamento y el inhibidor de la HDAC junto con uno o más excipientes farmacéuticos.

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

- 15 La presente invención se refiere además al uso de una combinación de acuerdo con la invención en la fabricación de una composición farmacéutica para inhibir la proliferación de células tumorales.

La presente invención se refiere además a un producto, que contiene como primer principio activo un inhibidor de la HDAC de acuerdo con la invención y como segundo principio un antineoplásico, como una preparación combinada para el uso simultáneo, por separado o consecutivo en el tratamiento de pacientes que sufren de cáncer.

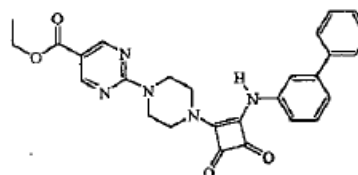
#### Parte experimental

- 20 Los ejemplos siguientes se proporcionan con fines ilustrativos. De aquí en adelante, "EDC" se define como monohidrócloruro de *N'*-(etilcarbonimidiloil)-*N,N*-dimetil-1,3-propanodiamina, "DCM" se define como diclorometano, "DMF" se define como *N,N*-dimetilformamida, "EtOH" se define como etanol, "HOBT" se define como 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol, "MeOH" se define como metanol, "TFA" se define como ácido trifluoroacético y "THF" se define como tetrahidrofurano.

- 25 A. Preparación de los compuestos intermedios

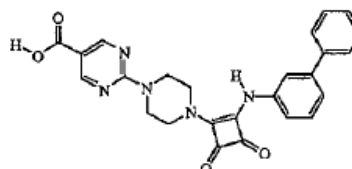
#### Ejemplo A1

##### a) Preparación del producto intermedio 1



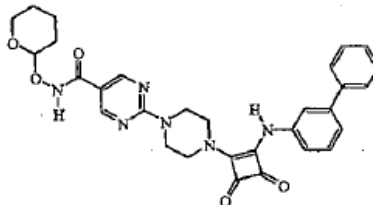
- 30 Una mezcla de 3,4-dietoxi-3-ciclobuteno-1,2-diona (0.00035 mol) y [1,1'-bifenil]-3-amina (0.00035 mol) en EtOH (5 ml) se agitó durante 3 días a 80 °C y después se le agregó éster etílico del ácido 2-(1-piperazinil)-5-pirimidincarboxílico (0.0030 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 días a 80 °C y después se enfrió. El precipitado resultante se separó por filtración, se lavó con una pequeña cantidad de EtOH y se secó, produciéndose 0.085 g (50%) del producto intermedio 1.

##### b) Preparación del producto intermedio 2



Una mezcla de producto intermedio 1 (0.000096 mol) en hidróxido de sodio 1 N (4 ml), THF (15 ml) y MeOH (5 ml) se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente y después la mezcla de reacción se neutralizó con HCl 1 N (4 ml). La mezcla se diluyó con DCM (5 ml) se filtró a través de Extrelut® y después el filtrado se evaporó, produciéndose 0.033 g (75%) del producto intermedio 2.

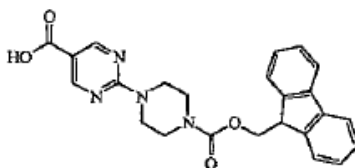
5 c) Preparación del producto intermedio 3



10 Una mezcla de producto intermedio 2 (0.000072 mol), O-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-hidroxilamina (0.00026 mol), EDC (0.00023 mol) y HOBT (0.00022 mol) en trietilamina (0.2 ml) y THF/DCM (10 ml) se agitó durante 2 días a temperatura ambiente, después la mezcla de reacción se diluyó con agua (2 ml) y se filtró a través de Extrelut®. El filtrado se evaporó y el residuo resultante se purificó por cromatografía líquida de alto rendimiento en fase reversa (Hypercil C 18) (gradiente estándar). Se recogieron las fracciones del producto y se evaporó el solvente, produciéndose 0.011 g del producto intermedio 3.

Ejemplo A2

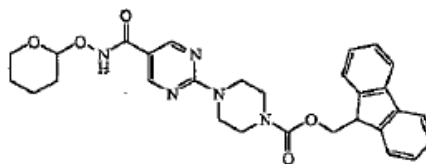
a) Preparación del producto intermedio 4



15 Una mezcla de éster etílico del ácido 2-(1-piperazinil)-5-pirimidincarboxílico (0.059 mol) en THF (0 ml) e hidróxido de sodio 1 N (300 ml) se dejó en reposo durante toda la noche a temperatura ambiente y después se agitó. Se agregó ácido clorhídrico 1 N (300 ml) y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Se agregó carbonato de sodio (0.178 mol) y la mezcla resultante se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente, después se le agregó 1-[[9H-fluoren-9-ilmetoxi]carbonil]oxi]-2,5-pirrolidindiona (0.059 mol) en pequeñas porciones y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla se acidificó con ácido clorhídrico concentrado y el precipitado resultante se separó por filtración y se secó (vacío), produciéndose 22.5 g (94%) del producto intermedio 4, punto de fusión 218.5-221.2 °C.

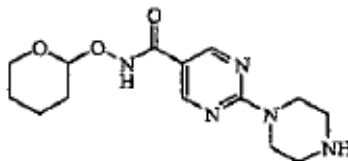
20

b) Preparación del producto intermedio 5



25 Se agregaron trietilamina (0.069 mol), después EDC (0.0303 mol) y HOBT (0.0303 mol) seguidos de O-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-hidroxilamina (0.0303 mol) a una mezcla de producto intermedio 4 (0.0233 mol) en DCM/THF (500 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con agua. La capa orgánica se separó y se lavó con una solución de carbonato de sodio al 10%. La capa orgánica separada se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó el solvente. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyente: DCM/MeOH 100/0 a 97.5/2.5). Se recogieron las fracciones del producto y se evaporó el solvente, produciéndose 8.4 g (68%) del producto intermedio 5.

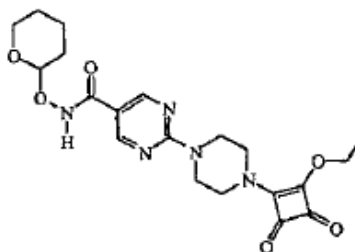
## c) Preparación del producto intermedio 6



5 Se agitó una mezcla de producto intermedio 5 (0.016 mol) en piperidina (0.040 mol) y DCM (200 ml) durante toda la noche a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se extrajo con agua, después la capa acuosa se concentró y se evaporó conjuntamente con acetonitrilo. El residuo (3.5) se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyente:

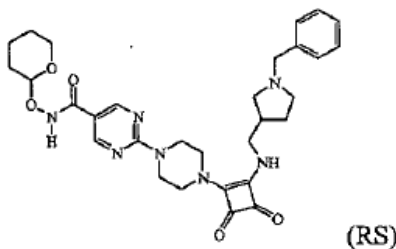
DCM/(MeOH/NH<sub>3</sub>) 95/5). Se recogieron las fracciones del producto y se evaporó el solvente, produciéndose 2.5 g (50%) del producto intermedio 6, punto de fusión 70.8-93.9 °C.

## d) Preparación del producto intermedio 7



10 Se agitó una mezcla de producto intermedio 6 (0.0032 mol), 3,4-dietoxi-3-ciclobuteno-1,2-diona (0.00294 mol) y trietilamina (0.0032 mol) en EtOH (20 ml) durante 30 min a temperatura ambiente y después la mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se separó por filtración y se evaporó el solvente. El residuo se suspendió en acetonitrilo, después el precipitado resultante se separó por filtración, se lavó con una pequeña cantidad de acetonitrilo y se secó (vacío), produciéndose 0.516 g (40.9%) del producto intermedio 7.

## 15 e) Preparación del producto intermedio 8

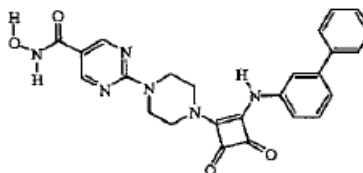


20 Se agitó una mezcla de producto intermedio 7 (0.000058 mol), 1-(fenilmetil)-3-pirrolidinmetanamina (0.000115 mol) y trietilamina (0.00035 mol) en EtOH (10 ml), se calentó a reflujo durante 3 días y se evaporó el solvente. El residuo se disolvió en DCM/DMF (4/1) (10 ml) y después se le agregaron Tris-(2-aminometil)-amina poliestireno HL (200-400 mesh), 1% de DVB (Novabiochem 01-64-0170) (0.100 g) y metilisocianato poliestireno HL (200-400 mesh), 2% de DVB (Novabiochem 01-64-0169) (0.100 g). La mezcla resultante se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente y las resinas se separaron por filtración. El filtrado se evaporó y el residuo obtenido se usó como tal en el paso de reacción siguiente, produciéndose 0.050 g del producto intermedio 8.

## B. Preparación de los compuestos finales

## Ejemplo B1

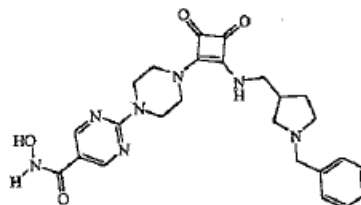
## 25 Preparación del compuesto 1



Se agitó una mezcla de producto intermedio 3 (0.0000198 mol) en TFA (0.2 ml) y DCM/MeOH (4 ml) durante 2 días a temperatura ambiente y después el producto deseado se secó con secador de mano en atmósfera de N<sub>2</sub>, produciéndose 0.010 g (100%) del compuesto 1.

Ejemplo B2

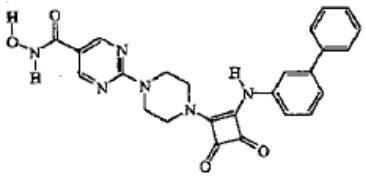
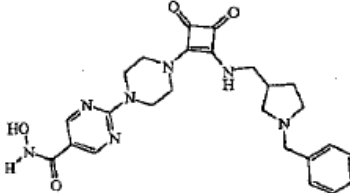
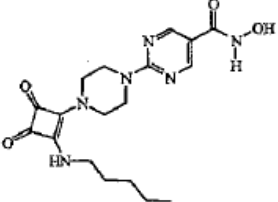
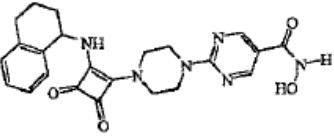
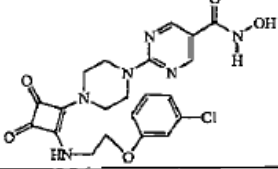
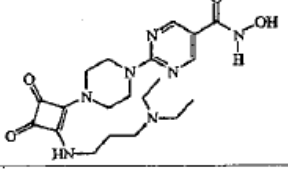
5 Preparación del compuesto 2



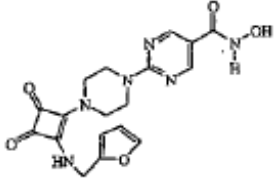
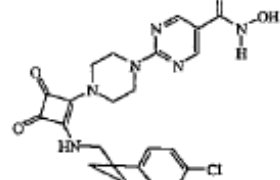
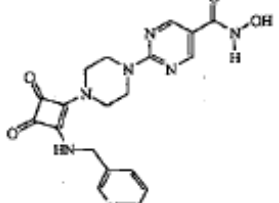
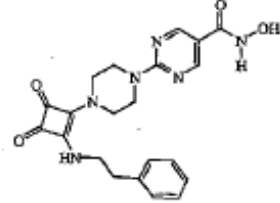
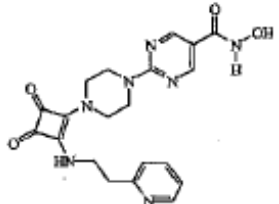
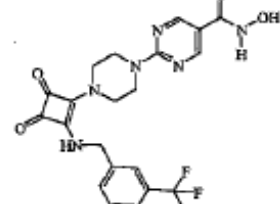
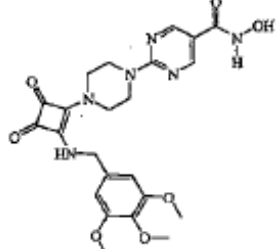
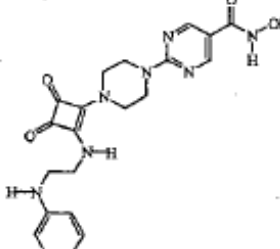
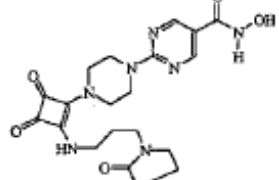
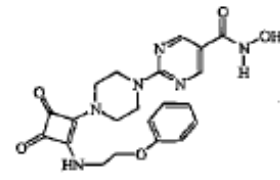
Se agitó una mezcla de producto intermedio 8 (0.000018 mol) en TFA (0.5 ml) y DCM/MeOH (50/50) (10 ml) durante 3 días a temperatura ambiente y después la mezcla de reacción se secó con secador de mano en atmósfera de N<sub>2</sub>, produciéndose 0.010 g del compuesto 2.

La tabla F-1 lista los compuestos que se prepararon de acuerdo con uno de los ejemplos anteriores.

Tabla F-1 (compuestos finales)

	
Co. No. 1; Ex. [B1]	Co. No. 2; Ex. [B2]
	
Co. No. 3; Ex. [B2]	Co. No. 4; Ex. [B2]
	
Co. No. 5; Ex. [B2]	Co. No. 6; Ex. [B2]



	
Co. No. 7; Ex. [B2]	Co. No. 8; Ex. [B2]
	
Co. No. 9; Ex. [B2]	Co. No. 10; Ex. [B2]
	
Co. No. 11; Ex. [B2]	Co. No. 12; Ex. [B2]
	
Co. No. 13; Ex. [B2]	Co. No. 14; Ex. [B2]
	
Co. No. 15; Ex. [B2]	Co. No. 16; Ex. [B2]

### C. Ejemplo farmacológico:

El ensayo in vitro de inhibición de la histona desacetilasa (véase el ejemplo C.1) mide la inhibición de la actividad enzimática de la HDAC obtenida con los compuestos de fórmula (I).

5 La solubilidad de un compuesto mide la capacidad de un compuesto para permanecer en solución. Las soluciones madre en DMSO se diluyen con un único solvente tamponado acuoso en 3 pasos consecutivos. Para cada dilución se mide la turbidez con un nefelómetro (véase el ejemplo C.2).

Ejemplo C.1: Ensayo in vitro de inhibición de la histona desacetilasa:

Se usó el Ensayo de actividad fluorescente de HDAC con el Drug Kiscovery Kit de Biomol (N° de catálogo: AK-500-0001). El ensayo de actividad fluorescente de HDAC se basa en la combinación de sustrato y desarrollador Fluor de Lys (Fluorogenic Histone deacetilase Lysyl). El sustrato Fluor de Lys comprende una cadena lateral de lisina acetilada. La desacetilación del sustrato sensibiliza al sustrato de modo que, en el segundo paso, el tratamiento con el desarrollador Fluor de Lys produce un fluoróforo.

Se incubaron extractos nucleares HeLa (proveedor: Biomol) a una concentración de 60 µg/ml con 75 µM de sustrato. El sustrato Fluor de Lys se agregó a un tampón que contenía Tris 25 mM, NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM y MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1 mM a pH 7.4. Después de 30 min, se agregó 1 volumen del desarrollador. El fluoróforo se excitó con luz de 355 nm y se detectó la luz emitida (450 nm) en un lector de placas fluorométrico. Para cada experimento, se corrieron en paralelo controles (que contenían extracto nuclear HeLa y tampón), un blanco de incubación (que contenía tampón pero no extracto nuclear HeLa) y muestras (que contenían el compuesto disuelto en DMSO y además diluido en tampón y extracto nuclear HeLa). En una primera instancia, los compuestos se ensayaron a una concentración de 10<sup>-5</sup> M. Cuando los compuestos mostraron actividad a 10<sup>-5</sup> M, se hizo una curva de concentración-respuesta donde los compuestos se ensayaron a concentraciones entre 10<sup>-5</sup> M y 10<sup>-9</sup> M. Todas las muestra se ensayaron 4 veces. En cada ensayo se sustrajo el valor del blanco tanto del valor del control como del de la muestra. La muestra de control representaba 100% de desacetilación del sustrato. Para cada muestra la fluorescencia se expresó como porcentaje del valor medio de los controles. Cuando correspondió se calcularon los valores de CI<sub>50</sub> (concentración del fármaco, necesaria para reducir la cantidad de metabolitos a 50% del control) usando análisis de datos por el método probit. En este documento los efectos de los compuestos de prueba se expresan como pCI<sub>50</sub> (valor del logaritmo negativo del valor de CI<sub>50</sub>) (véase la Tabla F-2).

Ejemplo C.2. Cinética de la solubilidad en medio acuoso

En el primer paso de dilución, se agregaron 10 µl de una solución madre concentrada del compuesto activo, solubilizado en DMSO (5 mM), a 100 µl de tampón de fosfato citrato de pH 7.4 y se mezcló. En el segundo paso de dilución, se dispensó una alícuota (20 µl) del primer paso de dilución en 100 µl de tampón de citrato-fosfato de pH 7.4 y se mezcló. Finalmente, en el tercer paso de dilución, se diluyó aún más una muestra (20 µl) del segundo paso de dilución en 100 µl de tampón de citrato-fosfato de pH 7.4 y se mezcló. Todas las diluciones se realizaron en placas de 96 pocillos. Inmediatamente después del último paso de dilución se midió la turbidez de los tres pasos de dilución consecutivos con un nefelómetro. Se hizo la dilución por triplicado para cada compuesto para excluir errores ocasionales. Basándose en las mediciones de turbidez se realizó una clasificación en 3 clases. Los compuestos con alta solubilidad obtuvieron un puntaje de 3 y para esos compuestos la primera dilución es transparente. Los compuestos con solubilidad media obtuvieron un puntaje de 2 y para esos compuestos la primera dilución no es transparente y la segunda dilución es transparente. Los compuestos con baja solubilidad obtuvieron un puntaje de 1 y para esos compuestos ni la primera ni la segunda dilución son transparentes (véase la Tabla F-2).

La Tabla F-2: lista los resultados de los compuestos que fueron ensayados de acuerdo con los ejemplos C.1 y C.2.

Número de compuesto	Actividad enzimática pCI <sub>50</sub> C.1.	Solubilidad C.2. puntaje
1	7.7	
2	6.9	
3	7.6	
4	7.2	
5	7.4	
6	7.2	
7	7.2	3
8	7.2	
9	7.0	
10	7.1	
11	7.0	
12	7.2	3
13	7.4	
14	6.9	
15	6.8	
16	7.3	

D. Ejemplo de composición: comprimidos recubiertos con película

Preparación del núcleo del comprimido

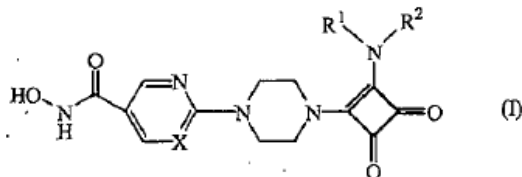
5 Se mezcló bien una mezcla de 100 g de un compuesto de fórmula (I), 570 g de lactosa y 200 g de almidón y después de eso se humedeció con una solución de 5 g de dodecilsulfato de sodio y 10 g de polivinilpirrolidona en aproximadamente 200 ml de agua. La mezcla en polvo húmeda se tamizó, se secó y se volvió a tamizar. Después se le agregaron 100 g de celulosa microcristalina y 15 g de aceite vegetal hidrogenado. Se mezcló bien todo y se comprimió, obteniéndose 10 000 comprimidos que cada uno contenía 10 mg de compuesto de fórmula (I).

Recubrimiento

10 Se agregó a una solución de 10 g de metilcelulosa en 75 ml de etanol desnaturalizado una solución de 5 g de etilcelulosa en 150 ml de diclorometano. Después se le agregaron 75 ml de diclorometano y 2.5 ml de 1,2,3-propanotriol. Se fundieron 10 gramos de polietilenglicol y se disolvieron en 75 ml de diclorometano. La última solución se agregó a la anterior y después se le agregaron 2.5 g de octadecanoato de magnesio, 5 g de polivinilpirrolidona y 30 ml de suspensión de color concentrada y se homogeneizó todo. Los núcleos de los comprimidos se recubrieron con la mezcla obtenida de este modo en un equipo para recubrimiento.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I),



sus formas *N*-óxido, sus sales de adición farmacéuticamente aceptables y sus formas estereoquímicamente isoméricas, donde

5 cada X es independientemente N o CH;

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, C<sub>1-6</sub>alquilo, mono o di(C<sub>1-6</sub>alquil)amino, C<sub>1-6</sub>alquiloxiC<sub>1-6</sub>alquilo, fenilo, fenilC<sub>1-6</sub>alquilo, fenil(ciclopropil)C<sub>1-6</sub>alquilo, heterociclilC<sub>1-6</sub>alquilo, feniloxiC<sub>1-6</sub>alquilo, tetrahidronaftalenilo o fenilaminoC<sub>1-6</sub>alquilo;

10 cada fenilo o heterociclilo está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente entre halo, polihaloC<sub>1-6</sub>alquilo, C<sub>1-6</sub>alquilo, C<sub>1-6</sub>alquiloxi, fenilo o fenilalquilo;

15 heterociclilo en lo anterior es furanilo, tienilo, pirrolilo, pirrolinilo, pirrolidinilo, oxopirrolidinilo, dioxolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, imidazolínilo, imidazolidinilo, pirazolilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, triazolilo, tiadiazolilo, piranilo, piridinilo, piperidinilo, dioxanilo, morfolinilo, ditanilo, tiomorfolinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, piperazinilo, triazinilo, tritianoilo, indolizínilo, indolilo, indolinilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, indazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, purínilo, quinolizínilo, quinolinilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo o naftiridinilo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 donde cada X es N; cada fenilo o heterociclilo está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halo, polihaloC<sub>1-6</sub>alquilo, C<sub>1-6</sub>alquiloxi, fenilo o fenilalquilo; y heterociclilo es furanilo, pirrolidinilo, oxopirrolidinilo o piridinilo.

20 3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y 2 donde cada X es N; R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, C<sub>1-6</sub>alquilo o fenilo; cada fenilo o heterociclilo está opcionalmente sustituido con fenilo o fenilalquilo; y heterociclilo es pirrolidinilo.

4. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1, 2 y 3 donde dicho compuesto es el compuesto N° 1, el compuesto N° 2 y el compuesto N° 3.

<p>Co. No. 1</p>	<p>Co. No. 2</p>
<p>Co. No. 3</p>	

25 5. Una composición farmacéutica que contiene excipientes farmacéuticamente aceptables y como principio activo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como el que se reivindica en las reivindicaciones 1 a 4.

6. Un proceso para preparar una composición farmacéutica como la reivindicada en la reivindicación 5 donde los excipientes farmacéuticamente aceptables y un compuesto como el que se reivindica en las reivindicaciones 1 a 4, se mezclan íntimamente.
7. Un compuesto como el que se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para ser utilizado como un medicamento.
8. El uso de un compuesto como el que se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades proliferativas.
9. Una combinación de un antineoplásico y un inhibidor de la HDAC como el que se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
10. Un proceso para preparar un compuesto como el que se reivindica en la reivindicación 1, caracterizado por hacer reaccionar un producto intermedio de fórmula (II) con un ácido adecuado, produciéndose un ácido hidroxámico de fórmula (I).

