

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 381 117**

51 Int. Cl.:
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 409/14 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05767934 .2**
96 Fecha de presentación: **25.07.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1781639**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.05.2007**

54 Título: **Derivados indolilalquilamínicos sustituidos como inhibidores novedosos de la histona-desacetilasa**

30 Prioridad:
28.07.2004 EP 04077172
29.07.2004 US 592182 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.05.2012

73 Titular/es:
JANSSEN PHARMACEUTICA NV
TURNHOUTSEWEG 30
2340 BEERSE, BE

72 Inventor/es:
VERDONCK, Marc Gustaaf C;
ANGIBAUD, Patrick René;
ROUX, Bruno;
PILATTE, Isabelle Noëlle Constance;
TEN HOLTE, Peter;
ARTS, Janine y
VAN EMELLEN, Kristof

74 Agente/Representante:
Linage González, Rafael

ES 2 381 117 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 indolilalquilamínicos sustituidos como inhibidores novedosos de la histona-desacetilasa

5 Esta invención se refiere a compuestos que poseen actividad enzimática inhibidora de la histona-desacetilasa (HDAC). Además, 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 HDAC y como un medicamento, por ejemplo, como un medicamento para inhibir afecciones proliferativas tales como el cáncer o la psoriasis.

10 Existe constancia de que las histonas nucleares son componentes dinámicos e integrales de la maquinaria responsable de la regulación de la transcripción genética y otros procesos moldeados por el ADN tales como la replicación, reparación, recombinación y segregación cromosómica. Están sometidas a modificaciones postraslacionales, que incluyen la acetilación, fosforilación, metilación, ubiquitinación y ADP-ribosilación.

15 La(s) histona-desacetilasa(s), denominada(s) en la presente "HDAC", son enzimas que catalizan la eliminación de la modificación acetilo en los residuos de lisina de las proteínas, incluidas las histonas nucleosomales internas H2A, H2B, H3 y H4. Junto con la(s) histona-acetiltransferasa(s), denominada(s) en la presente "HAT", las HDAC regulan el nivel de acetilación de las histonas. El equilibrio de la acetilación de las histonas nucleosomales desempeña un papel importante en la transcripción de muchos genes. La hipoacetilación de las histonas se asocia con la estructura condensada de la cromatina, que provoca la represión de la transcripción genética, mientras que las histonas acetiladas se asocian con una estructura más abierta de la cromatina y la activación de la transcripción.

20 Se han descrito once HDAC relacionadas estructuralmente y se agrupan en dos clases. Las HDAC de clase I están constituidas por HDAC 1, 2, 3, 8 y 11, mientras que las HDAC de clase II están constituidas por HDAC 4, 5, 6, 7, 9 y 10. Los miembros de una tercera clase de HDAC no están relacionados estructuralmente con las HDAC de clase I y de clase II. Las HDAC de clase I/II operan mediante mecanismos que dependen del zinc, mientras que las HDAC de clase III dependen de NAD.

30 Además de las histonas, también han actuado otras proteínas como sustratos para la acetilación, en particular, los factores de transcripción tales como p53, GATA-1 y E2F; receptores nucleares tales como el receptor de glucocorticoides, receptores de tiroides, receptores de estrógenos; y proteínas reguladoras del ciclo celular tales como pRb. La acetilación de las proteínas se ha relacionado con la estabilización de las proteínas tal como la estabilización de p53, el reclutamiento de cofactores y la mayor unión del ADN. El p53 es un supresor de tumores que puede inducir la detención del ciclo celular o apoptosis como respuesta a una seire de señales de estrés tales como las lesiones en el ADN. La diana principal para la detención del ciclo celular inducida por p53 parece ser el gen p21. Tras su activación por p53, p21 ha sido identificado debido a su asociación con complejos de ciclinas y complejos de cinasas dependientes de ciclinas, que provocan la detención del ciclo celular en las fases G1 y G2, su aumento durante la senescencia y su interacción con el antígeno nuclear celular proliferante.

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

45 El inhibidor tricostatina A (TSA), por ejemplo, provoca la detención del ciclo celular en las fases G1 y G2, invierte el fenotipo transformado de diferentes líneas celulares e induce la diferenciación de las células con leucemia de Friend, entre otras. Se ha descrito que la TSA (y el ácido hidroxámico de la suberoilánilida SAHA) inhiben el crecimiento celular, inducen la diferenciación terminal y evitan la formación de tumores en ratones (Finnin *et al.*, Nature, 401: 188-193, 1999).

50 También se ha descrito que la tricostatina A es útil en el tratamiento de la fibrosis, p. ej., la fibrosis hepática y la cirrosis hepática (Geerts *et al.*, solicitud de patente europea EP 0 827 742, publicada el 11 de marzo de 1998).

55 El farmacóforo para inhibidores de HDAC está constituido por un dominio que se une a metales, que interacciona con el centro activo que contiene zinc de las HDAC, un dominio conector y un dominio de reconocimiento superficial o región de restricción, que interacciona con los residuos en el borde del centro activo.

60 También se ha descrito que los inhibidores de HDAC inducen la expresión del gen p21. La activación transcripcional del gen p21 por parte de estos inhibidores se ve favorecida por la remodelación de la cromatina, tras la acetilación de las histonas H3 y H4 en la región del promotor de p21. Esta activación de p21 tiene lugar de forma independiente a p53 y, por lo tanto, los inhibidores de HDAC son operativos en células con genes p53 mutados, que representan una característica distintiva de numerosos tumores.

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

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, los inhibidores de HDAC pueden presentar un gran potencial en el tratamiento de enfermedades o afecciones proliferativas celulares, incluidos los tumores con genes p53 mutados.

5 La solicitud de patente EP1472216, publicada el 14 de agosto de 2003, describe hidroxamatos bicíclicos como inhibidores de la histona-desacetilasa.

10 Las solicitudes de patente EP1485099, EP1485348, EP1485353, EP1485354, EP1485364, EP1485365, EP1485370 y EP1485378, publicadas el 18 de septiembre de 2003, entre otras, describen ácidos piperazinilpirimidinilhidroxámicos sustituidos como inhibidores de la histona-desacetilasa; además, EP1485365 describe R306465.

La solicitud de patente EP1492534, publicada el 9 de octubre de 2003, describe ácidos carbámicos que comprenden un conector de piperazina como inhibidores de HDAC.

15 La solicitud de patente EP1495002, publicada el 23 de octubre de 2003, describe compuestos piperazinilfenilbenzamídicos sustituidos como inhibidores de la histona-desacetilasa.

20 La solicitud de patente WO04/009536, publicada el 29 de enero de 2004, describe derivados que contienen un conector alquílico 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, describe hidroxamatos bicíclicos sustituidos con (hetero)arilalquenilo como inhibidores de la histona-desacetilasa.

25 La solicitud de patente WO04/063146, publicada el 29 de julio de 2004, describe derivados *N*-hidroxibenzamídicos con actividad antiinflamatoria y antitumoral.

La solicitud de patente WO04/063169, publicada el 29 de julio de 2004, describe hidroxamatos de arilo sustituidos como inhibidores de la histona-desacetilasa.

30 La solicitud de patente WO04/072047, publicada el 26 de agosto de 2004, describe indoles, benzimidazoles y naphh-imidazoles como inhibidores de la histona-desacetilasa.

35 La solicitud de patente WO04/082638, publicada el 30 de septiembre de 2004, describe hidroxamatos unidos a sistemas anulares heterocíclicos no aromáticos como inhibidores de la histona-desacetilasa.

La solicitud de patente WO04/092115, publicada el 28 de octubre de 2004, describe hidroxamatos como inhibidores de la histona-desacetilasa.

40 La solicitud de patente WO05/028447, publicada el 31 de marzo de 2005, describe benzimidazoles como inhibidores de la histona-desacetilasa.

Las solicitudes de patente WO05/030704 y WO05/030705, publicadas el 7 de abril de 2005, describen benzamidas como inhibidores de la histona-desacetilasa.

45 La solicitud de patente WO05/040101, publicada el 6 de mayo de 2005, describe hidroxamatos conectados a acilurea y conectados a sulfonilurea como inhibidores de la histona-desacetilasa.

50 La solicitud de patente WO05/040161, también publicada el 6 de mayo de 2005, describe hidroxamatos unidos a biarilo como inhibidores de histona-desacetilasa.

Los compuestos de la presente invención difieren de la técnica anterior en su estructura, en su actividad farmacológica y/o potencia farmacológica.

55 El problema que se debe resolver consiste en la obtención de inhibidores de la histona-desacetilasa con una actividad celular y enzimática elevada que tengan una mayor biodisponibilidad y/o potencia *in vivo*.

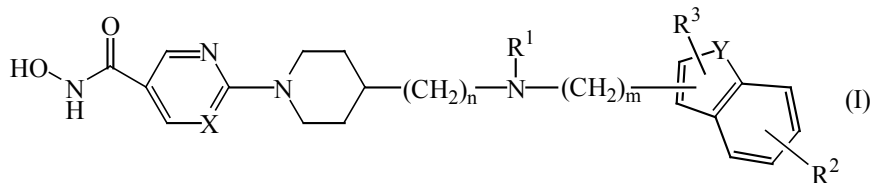
Los compuestos novedosos de la presente invención resuelven el problema descrito anteriormente.

60 Los compuestos de la presente invención presentan una excelente actividad celular y enzimática inhibidora de la histona-desacetilasa. Poseen una gran capacidad de activación del gen p21, tanto a nivel celular como a nivel *in vivo*. Presentan un perfil farmacocinético deseable y una afinidad baja por las enzimas P450, lo que reduce el riesgo de sufrir interacciones fármaco-fármaco adversas y también permite disponer de un margen de seguridad más amplio.

65 Algunas características ventajosas de los compuestos de la presente son la estabilidad metabólica, la solubilidad y/o la capacidad para inducir la producción de p21. Más concretamente, los compuestos de la presente invención

presentan semividas más elevadas en hepatocitos de ratas, presentan una mayor solubilidad/estabilidad en soluciones acuosas y/o presentan una mayor capacidad para inducir la producción del promotor de p21 *in vivo*.

Esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I)



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

10 cada *n* es un número entero con un valor de 0, 1 o 2 y, cuando *n* es 0, entonces se refiere a un enlace directo;

cada *m* es un número entero con un valor de 1 o 2;

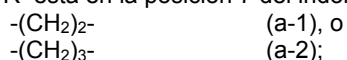
15 cada *X* es independientemente N o CH;

cada *Y* es independientemente O, S o NR⁴; donde

20 cada R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, (alquiloxi C₁₋₆)(alquilo C₁₋₆), cicloalquilo C₃₋₆, (cicloalquil C₃₋₆)metilo, fenil(alquilo C₁₋₆), -C(=O)-CHR⁵R⁶ o -S(=O)₂-N(CH₃)₂; donde

cada R⁵ y R⁶ es independientemente hidrógeno, amino, alquilo C₁₋₆ o aminoalquilo C₁₋₆; y

25 cuando *Y* es NR⁴ y R² está en la posición 7 del indolilo, entonces R² y R⁴ juntos pueden formar el radical bivalente



30 R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alquilsulfonilo C₁₋₆, (alquil C₁₋₆)carbonilo o mono- o di(alquil C₁₋₆)aminosulfonilo;

R² es hidrógeno, hidroxilo, amino, halo, alquilo C₁₋₆, ciano, alquenilo C₂₋₆, polihaloalquilo C₁₋₆, nitro, fenilo, (alquil C₁₋₆)carbonilo, hidroxycarbonilo, (alquil C₁₋₆)carbonilamino, alquiloxi C₁₋₆, o mono- o di(alquil C₁₋₆)amino;

35 R³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ o alquiloxiC₁₋₆; y

cuando R² y R³ están en átomos de carbono adyacentes, pueden formar el radical bivalente -O-CH₂-O-.

40 Las líneas trazadas dentro de los sistemas anulares bicíclicos relativas a los sustituyentes indican que los enlaces se pueden unir a cualquiera de los átomos del anillo que sean adecuados dentro del sistema anular bicíclico.

45 La expresión "inhibidor de histona-desacetilasas" o "inhibidor de la histona-desacetilasa" se emplea para identificar un compuesto capaz de interactuar con una histona-desacetilasa e inhibir su actividad, más concretamente su actividad enzimática. La inhibición de la actividad enzimática de la histona-desacetilasa se refiere a la reducción de la capacidad de la histona-desacetilasa para eliminar un grupo acetilo de una histona. Preferentemente, esta inhibición es específica, es decir, el inhibidor de histona-desacetilasas reduce la capacidad de una histona-desacetilasa para eliminar un grupo acetilo de una histona con una concentración inferior a la concentración del inhibidor necesaria para producir algún otro efecto biológico no relacionado.

50 Según se emplea en las definiciones anteriores y en lo sucesivo en la presente, "halo" es el término genérico para fluoro, cloro, bromo y yodo; alquilo C_{1,2} define radicales hidrocarbonados saturados de cadena lineal que contienen 1 o 2 átomos de carbono tales como, p. ej., metilo o etilo; alquilo C₁₋₆ define alquilo C_{1,2} y radicales hidrocarbonados saturados de cadena lineal y ramificada que contienen de 3 a 6 átomos de carbono tales como, p. ej., propilo, butilo, 1-metiletilo, 2-metilpropilo, pentilo, 2-metilbutilo, hexilo, 2-metilpentilo y análogos; y polihaloalquilo C₁₋₆ define alquilo C₁₋₆ que contiene tres sustituyentes halo idénticos o diferentes, por ejemplo, trifluorometilo; alquenilo C₂₋₆ define radicales hidrocarbonados de cadena lineal y ramificada que contienen un doble enlace y que tienen de 2 a 6 átomos de carbono tales como, por ejemplo, etenilo, 2-propenilo, 3-butenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 3-metil-2-butenilo y análogos; cicloalquilo C₃₋₆ incluye grupos hidrocarbonados cíclicos que contienen de 3 a 6 carbonos tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo y análogos.

Las sales de adición farmacéuticamente aceptables engloban sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y sales de adición de base farmacéuticamente aceptables. Se pretende que las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, según se han mencionado previamente en la presente, comprendan las formas salinas de adición de ácido atóxicas terapéuticamente activas que los compuestos de fórmula (I) sean capaces de formar. Los compuestos de fórmula (I) que poseen propiedades básicas se pueden convertir en sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables tratando dicho forma básica con un ácido adecuado. Los ácidos adecuados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácidos halohídricos, p. ej., ácido clorhídrico o bromhídrico; ácido sulfúrico; ácido nítrico; ácido fosfórico y ácidos análogos; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido 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*-aminosalicílico, pamoico y ácidos análogos.

Los compuestos de fórmula (I) que poseen 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 formas salinas básicas adecuadas comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, p. ej., las sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y análogos, sales con bases orgánicas, p. ej., las sales de benzatina, *N*-metil-D-glucamina, hidrabamina, y sales con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y análogos.

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

La expresión "formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de fórmula (I)", según se emplea en la presente, define todos los compuestos posibles constituidos por los mismos átomos enlazados mediante la misma secuencia de enlaces pero que presentan diferentes estructuras tridimensionales, las cuales no son intercambiables, que los compuestos de fórmula (I) puedan poseer. A menos que se mencione o indique lo contrario, la denominación química de un compuesto engloba la mezcla de todas las formas estereoquímicamente isoméricas posibles que dicho compuesto pueda poseer. Dicha mezcla puede contener todos los diastereómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Se pretende que todas las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de fórmula (I), tanto en forma pura como en una mezcla de unas con otras, queden englobadas en el alcance de la presente invención.

Se pretende que las formas de tipo *N*-óxido de los compuestos de fórmula (I) comprendan los compuestos de fórmula (I) en los que uno o varios átomos de nitrógeno están oxidados hasta el denominado *N*-óxido, particularmente los *N*-óxidos en los que 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 pretende que dichas formas queden incluidas en el alcance de la presente invención, aunque no estén explícitamente indicadas en la fórmula anterior.

Siempre que se utilice en lo sucesivo en la presente, la expresión "compuestos de fórmula (I)" pretende incluir también las sales de adición farmacéuticamente aceptables y todas las formas estereoisoméricas.

Según se emplean en la presente, los términos "histona-desacetilasa" y "HDAC" pretenden referirse a cualquiera de las familias de enzimas que eliminan grupos acetilo de los grupos ϵ -amino de los residuos de lisina en el extremo N de una histona. A menos que el contexto indique lo contrario, se pretende que el término "histona" se refiera a cualquier proteína de tipo histona, incluidas H1, H2A, H2B, H3, H4 y H5, de cualquier especie. Los productos genéticos o las proteínas HDAC humanas incluyen, sin carácter limitante, 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 proceder de una fuente fúngica o protozoica.

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

- a) cada R^4 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-6} , (cicloalquil C_{3-6})metilo, $-C(=O)-CHR^5R^6$ o $-S(=O)_2-N(CH_3)_2$;
- b) R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} , alquilsulfonilo C_{1-6} , o mono- o di(alquil C_{1-6})aminosulfonilo; o
- c) R^3 es hidrógeno.

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

- a) cada n es un número entero con un valor de 0 o 1;
- b) cada X es independientemente N;
- c) cada R^4 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;
- d) R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} o hidroxialquilo C_{1-6} ; o
- e) R^2 es hidrógeno, halo, alquilo C_{1-6} o alquilo C_{1-6} .

Un tercer grupo de compuestos interesantes está constituido por los compuestos de fórmula (I) donde se aplican una o más de las siguientes restricciones:

- 5 a) cada n es un número entero con un valor de 0 o 1;
 b) cada R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, (alquiloxi C₁₋₆)(alquilo C₁₋₆), cicloalquilo C₃₋₆ o fenil(alquilo C₁₋₆);
 c) R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, (alquil C₁₋₆)carbonilo o (alquil C₁₋₆)sulfonilo; o
 d) R² es hidrógeno, halo, alquilo C₁₋₆, ciano, nitro o alquiloxi C₁₋₆.

10 Un cuarto grupo de compuestos interesantes está constituido por los compuestos de fórmula (I) donde se aplican una o más de las siguientes restricciones:

- a) cada n es un número entero con un valor de 0 o 1;
 b) cada m es un número entero con un valor de 1;
 15 c) cada R⁴ es hidrógeno, (alquiloxi C₁₋₆)(alquilo C₁₋₆), cicloalquilo C₃₋₆ o fenil(alquilo C₁₋₆);
 d) R¹ es hidrógeno, hidroxialquilo C₁₋₆, (alquil C₁₋₆)carbonilo o (alquil C₁₋₆)sulfonilo;
 e) R² es hidrógeno, halo, ciano, nitro o alquiloxi C₁₋₆;
 f) R³ es alquiloxi C₁₋₆; o
 g) cuando R² y R³ están en átomos de carbono adyacentes, pueden formar el radical bivalente -O-CH₂-O-.

20 Un quinto grupo de compuestos interesantes está constituido por los compuestos de fórmula (I) donde se aplican una o más de las siguientes restricciones:

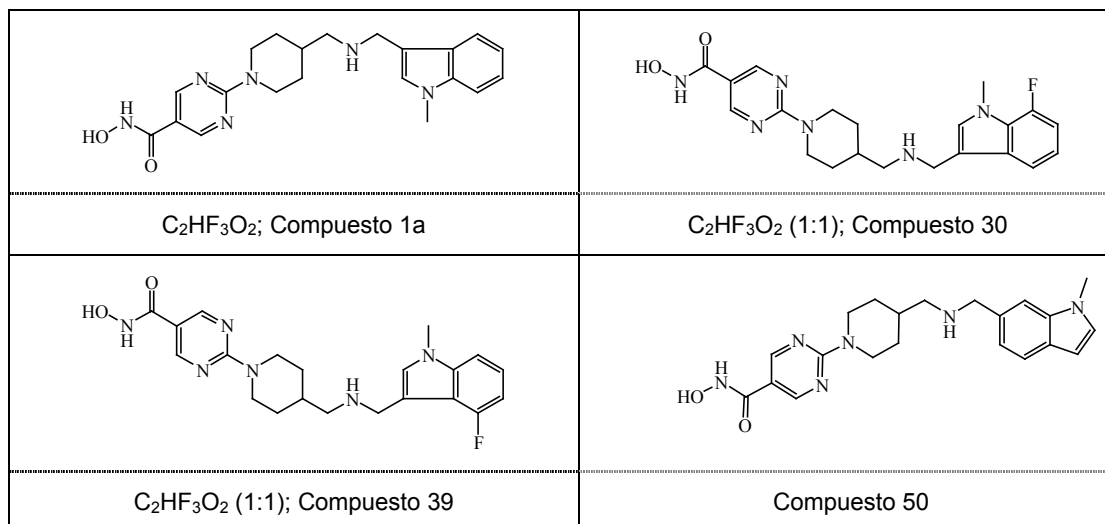
- a) cada n es un número entero con un valor de 1;
 25 b) cada m es un número entero con un valor de 1;
 c) cada X es independientemente N;
 d) cada Y es independientemente NR⁴;
 e) cada R⁴ es alquilo C₁₋₆;
 f) R¹ es hidrógeno;
 30 g) R² es hidrógeno o halo; o
 h) R³ es hidrógeno.

Un grupo de compuestos preferidos está constituido por los compuestos de fórmula (I) donde n es un número entero con un valor de 0 o 1; cada R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, (alquiloxi C₁₋₆)(alquilo C₁₋₆), cicloalquilo C₃₋₆ o fenil(alquilo C₁₋₆); R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, (alquil C₁₋₆)carbonilo o (alquil C₁₋₆)sulfonilo; y R² es hidrógeno, halo, alquilo C₁₋₆, ciano, nitro, polihaloalquilo C₁₋₆ o alquiloxi C₁₋₆.

Un grupo de compuestos más preferidos está constituido por los compuestos de fórmula (I) donde cada n es un número entero con un valor de 1; cada m es un número entero con un valor de 1; cada X es independientemente N; cada Y es independientemente NR⁴; cada R⁴ es alquilo C₁₋₆; R¹ es hidrógeno; R² es hidrógeno o halo; y R³ es hidrógeno.

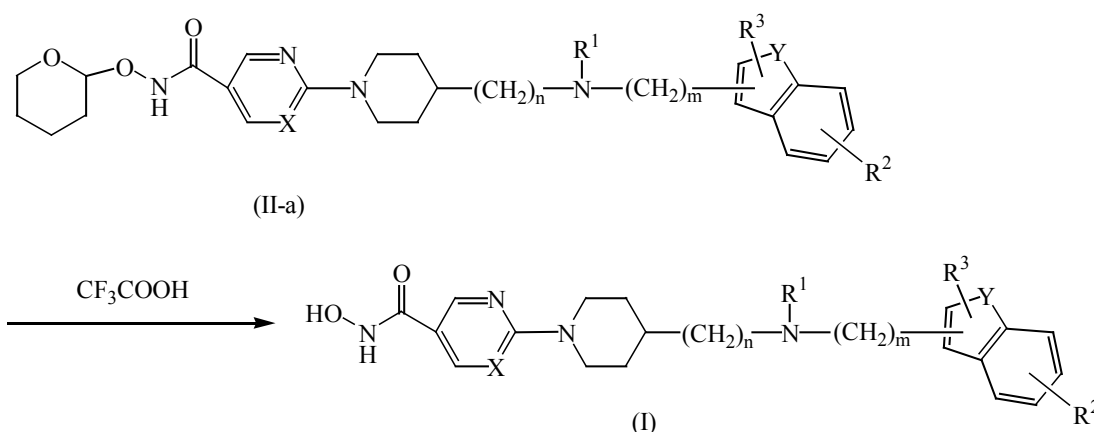
Los compuestos más preferidos son el compuesto N.º 1a, compuesto N.º 30, compuesto N.º 39 y compuesto N.º 50.

45

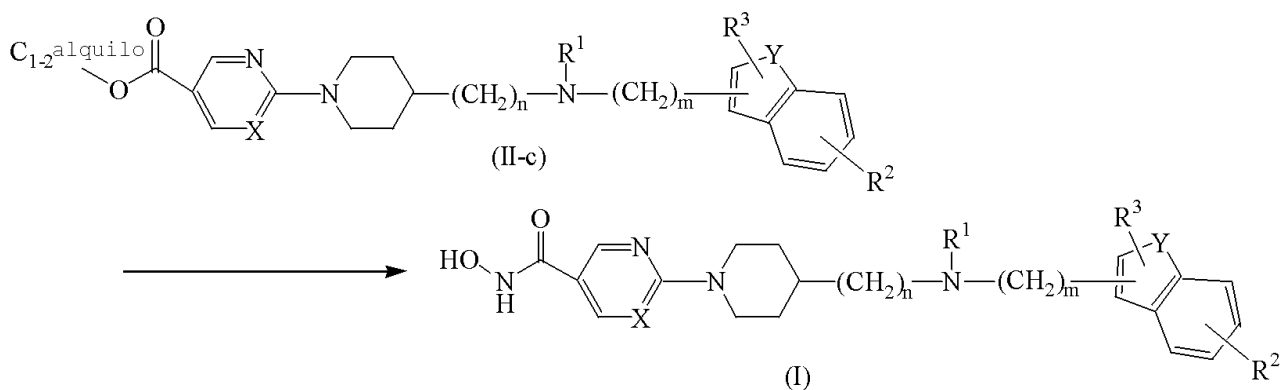


Los compuestos de fórmula (I) y (II), sus sales farmacéuticamente aceptables y N-óxidos y las formas estereoquímicamente isoméricas de estos se pueden preparar de manera convencional. Los materiales de partida y algunos de los intermedios son compuestos conocidos y se pueden adquirir a partir de proveedores comerciales o se pueden preparar de acuerdo con procedimientos de reacción convencionales, que son de uso común en la materia o que se describen en las solicitudes de patente EP1485099, EP1485348, EP1485353, EP1485354, EP1485364, EP1485365, EP1485370 y EP1485378. Algunos métodos de preparación se describirán en la presente posteriormente con más detalle. En los ejemplos se describen otros métodos de obtención de los compuestos finales de fórmula (I).

- 5 a) Los ácidos hidroxámicos de fórmula (I) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (II), donde Q es tetrahidropiraniioxiaminocarbonilo, denominado en la presente intermedio de fórmula (II-a), con un ácido adecuado tal como, por ejemplo, ácido trifluoroacético. Dicha reacción se lleva a cabo en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, metanol o diclorometano.

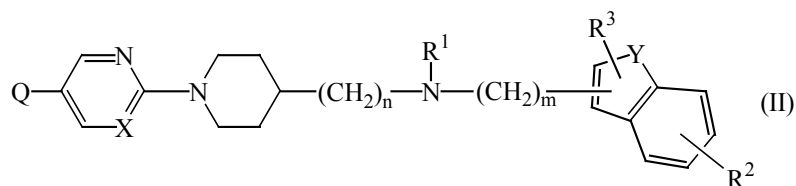


- 15 b) Como alternativa, los ácidos hidroxámicos de fórmula (I) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (II), donde Q es (alquiloxi C₁₋₂)carbonilo, denominado en la presente intermedio de fórmula (II-c), con hidroxilamina, en presencia de una base tal como, por ejemplo, hidróxido de sodio. Dicha reacción se lleva a cabo en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, metanol.



- 25 Los compuestos de fórmula (I) también se pueden convertir unos en otros mediante reacciones o transformaciones de grupos funcionales de uso común en la materia. Previamente en la presente ya se han descrito una serie de estas transformaciones. Otros ejemplos consisten en la hidrólisis de ésteres carboxílicos para obtener el ácido o el alcohol correspondientes; hidrólisis de amidas para obtener los ácidos o aminas correspondientes; hidrólisis de nitrilos para obtener las amidas correspondientes; los grupos amino del imidazol o el fenilo se pueden reemplazar por un hidrógeno mediante reacciones de formación de sales de diazonio de uso común en la materia y posterior sustitución del grupo diazo por hidrógeno; los alcoholes se pueden convertir en ésteres y éteres; las aminas primarias se pueden convertir en aminas secundarias y terciarias; los dobles enlaces se pueden hidrogenar para obtener el enlace sencillo correspondiente; un radical yodo en un grupo fenilo se puede convertir en un grupo éster mediante la inserción de monóxido de carbono en presencia de un catalizador de paladio adecuado.

- 35 La presente invención también se refiere a intermedios de fórmula (II)



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

5 cada *n* es un número entero con un valor de 0, 1 o 2 y, cuando *n* es 0, entonces se refiere a un enlace directo;

cada *m* es un número entero con un valor de 1 o 2;

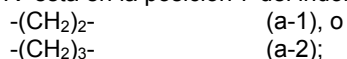
10 cada *X* es independientemente N o CH;

cada *Y* es independientemente O, S o NR⁴; donde

15 cada R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, (alquiloxi C₁₋₆)(alquilo C₁₋₆), cicloalquilo C₃₋₆, (cicloalquil C₃₋₆)metilo, fenil(alquilo C₁₋₆), -C(=O)-CHR⁵R⁶ o -S(=O)₂-N(CH₃)₂; donde

cada R⁵ y R⁶ es independientemente hidrógeno, amino, alquilo C₁₋₆ o aminoalquilo C₁₋₆; y

20 cuando *Y* es NR⁴ y R² está en la posición 7 del indolilo, entonces R² y R⁴ juntos pueden formar el radical bivalente



25 R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alquilsulfonilo C₁₋₆, (alquil C₁₋₆)carbonilo o mono- o di(alquil C₁₋₆)aminosulfonilo;

R² es hidrógeno, hidroxilo, amino, halo, alquilo C₁₋₆, ciano, alqueno C₂₋₆, polihaloalquilo C₁₋₆, nitro, fenilo, (alquil C₁₋₆)carbonilo, hidroxycarbonilo, (alquil C₁₋₆)carbonilamino, alquiloxi C₁₋₆, o mono- o di(alquil C₁₋₆)amino;

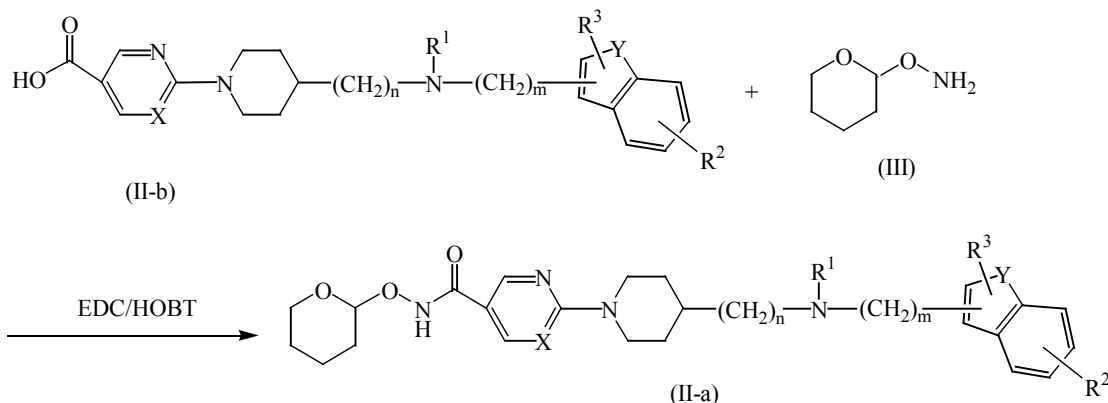
30 R³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ o alquiloxiC₁₋₆; y

cuando R² y R³ están en átomos de carbono adyacentes, pueden formar el radical bivalente -O-CH₂-O-; y

Q es (alquiloxi C₁₋₂)carbonilo, hidroxycarbonilo o tetrahidropiraniioxiaminocarbonilo.

35 Los grupos de compuestos interesantes, preferidos, más preferidos y los más preferidos se pueden definir para los compuestos de fórmula (II) de acuerdo con los grupos definidos para los compuestos de fórmula (I).

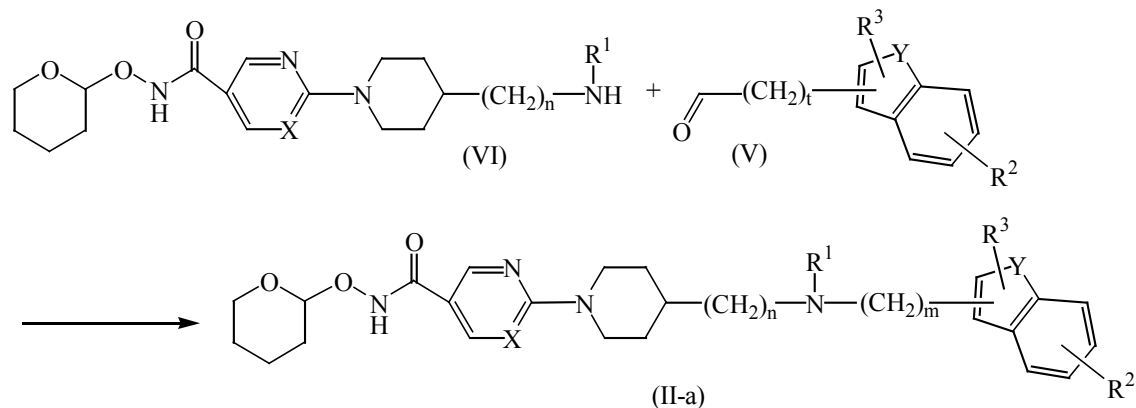
40 a) Los intermedios de fórmula (II-a) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (III) con un intermedio de fórmula (II-b), donde Q es hidroxycarbonilo, denominado en la presente intermedio de fórmula (II-b), en presencia de reactivos adecuados tales como el monoclóhidrato de *N*-(etilcarbonimidilo)-*N,N*-dimetil-1,3-propanodiamina (EDC) y 1-hidroxil-1*H*-benzotriazol (HOBT). La reacción se puede llevar a cabo en presencia de una base tal como trietilamina, en un disolvente adecuado tal como una mezcla de diclorometano y tetrahidrofurano.



45

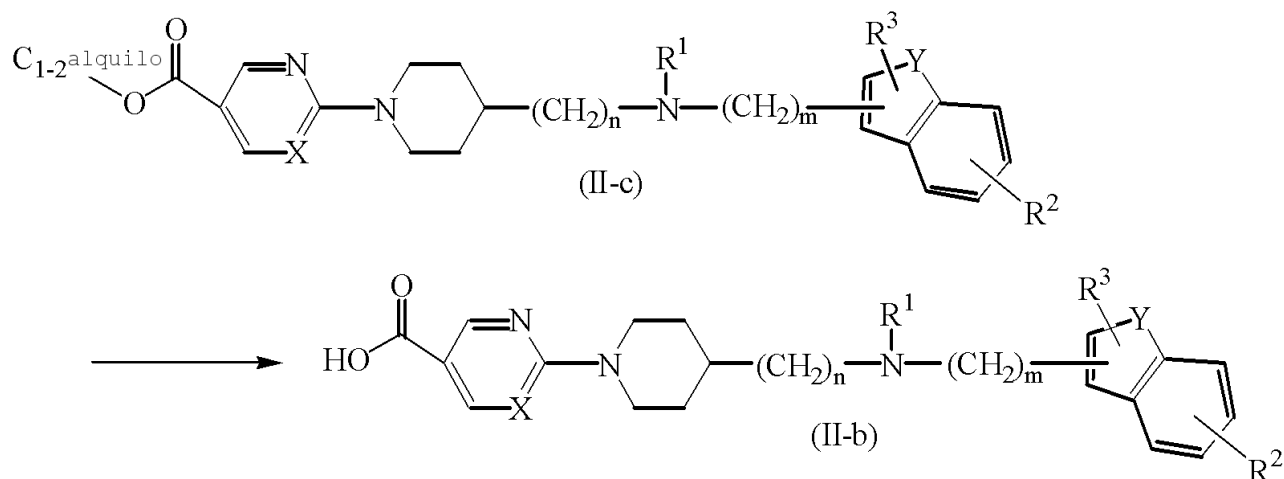
b) Los intermedios de fórmula (II-a) también se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (VI) con el carboxaldehído de fórmula (V) adecuado, donde t es un número entero con un valor de 0 o 1 y, cuando t es 0, entonces se refiere a un enlace directo, en presencia de un reactivo adecuado tal como borohidruro de sodio, en un disolvente adecuado tal como diclorometano o metanol.

5



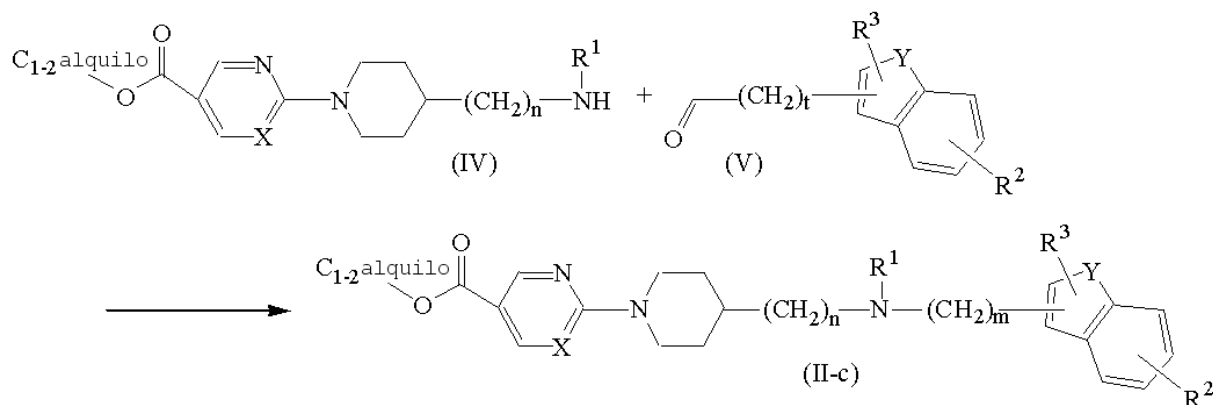
10

c) Los intermedios de fórmula (II-b) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (II-c), donde Q es metil- o etiloxycarbonil(alquilo C₁₋₂), denominado en la presente intermedio de fórmula (II-c), con una solución ácida adecuada, p. ej., ácido clorhídrico, o una solución básica, p. ej., bromuro de hidrógeno o hidróxido de sodio, en un disolvente adecuado, p. ej., un alcohol tal como etanol o propanol.



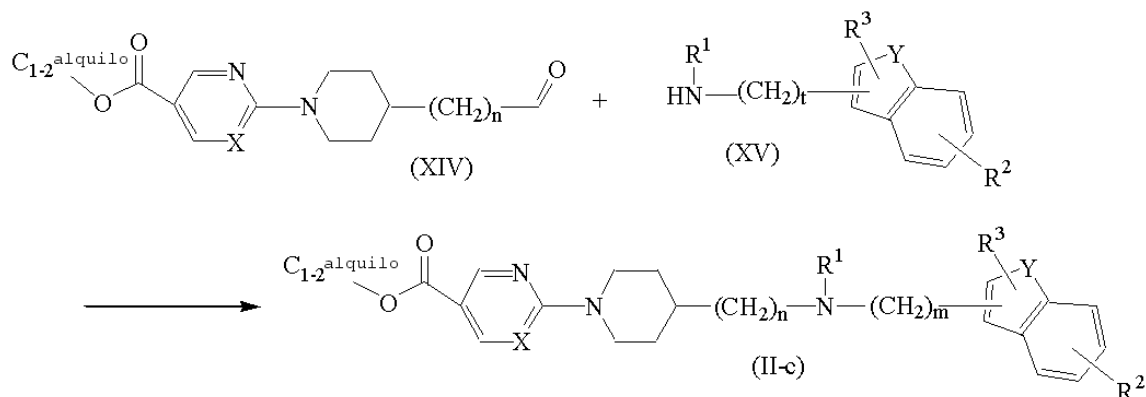
15

d) Los intermedios de fórmula (II-c) se pueden preparar haciendo reaccionar el éster etílico del ácido carboxílico de fórmula (IV) con el carboxaldehído de fórmula (V) adecuado, en presencia de un reactivo adecuado tal como un borohidruro de sodio, p. ej., tetrahidrobato de sodio, en un disolvente adecuado tal como un alcohol, p. ej., metanol.



20

e) Del mismo modo, los intermedios de fórmula (II-c) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (XIV) con el intermedio de fórmula (XV) adecuado, en presencia de un reactivo adecuado tal como un borohidruro de sodio, p. ej., tetrahidroborato de sodio, en un disolvente adecuado tal como un alcohol, p. ej., metanol

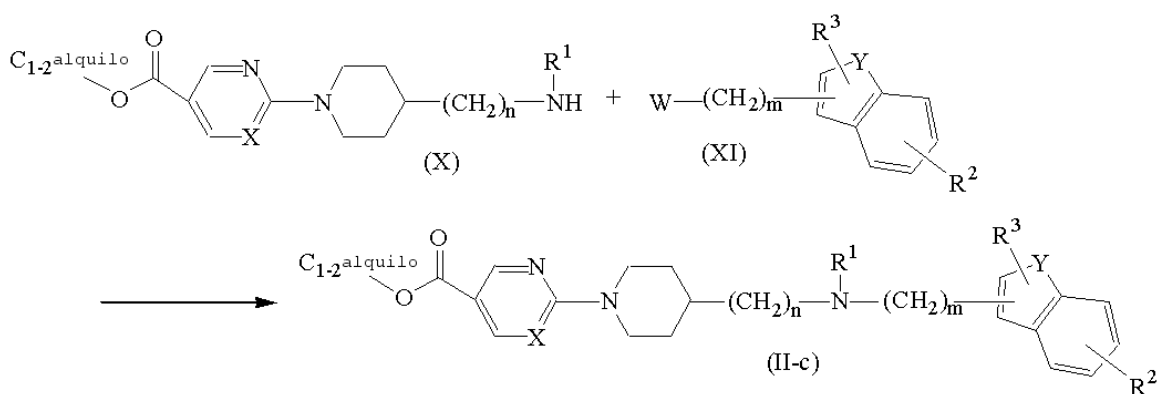


5

f) Los intermedios de fórmula (IIc) también se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (X) con un intermedio de fórmula (XI), donde W es un grupo saliente adecuado tal como, por ejemplo, halo, p. ej., fluoro, cloro, bromo o yodo, o un radical sulfonilo tal como metilsulfonilo, 4-metilfenilsulfonilo y análogos. La reacción se puede llevar a cabo en un disolvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, un alcohol, p. ej., metanol, etanol, 2-metoxietanol, propanol, butanol y análogos; un éter, p. ej., 4,4-dioxano, 1,1'-oxibispropano y análogos; una cetona, p. ej., 4-metil-2-pentanona; o *N,N*-dimetilformamida, nitrobenzeno, acetonitrilo y análogos. Se puede adicionar una base adecuada tal como, por ejemplo, un carbonato o hidrogenocarbonato de un metal alcalino o alcalinotérreo, p. ej., trietilamina o carbonato de sodio, para neutralizar el ácido que se libera durante el transcurso de la reacción. Se puede añadir una pequeña cantidad de un yoduro metálico adecuado, p. ej., yoduro de sodio o potasio para favorecer la reacción. La agitación puede aumentar la velocidad de la reacción. La reacción se puede llevar a cabo adecuadamente a una temperatura comprendida entre la temperatura ambiente y la temperatura de reflujo de la mezcla de reacción y, si se desea, la reacción se puede llevar a cabo bajo presión.

10

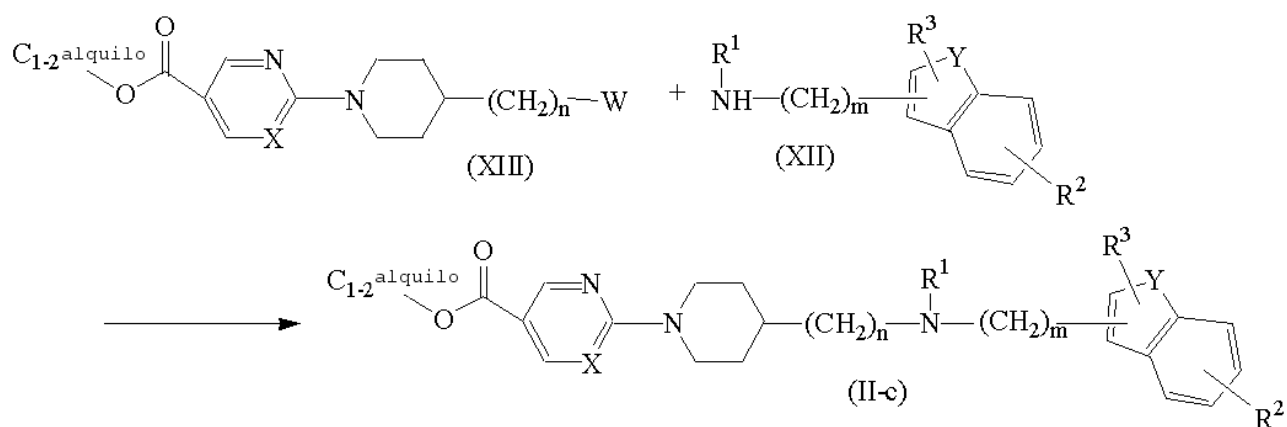
15



20

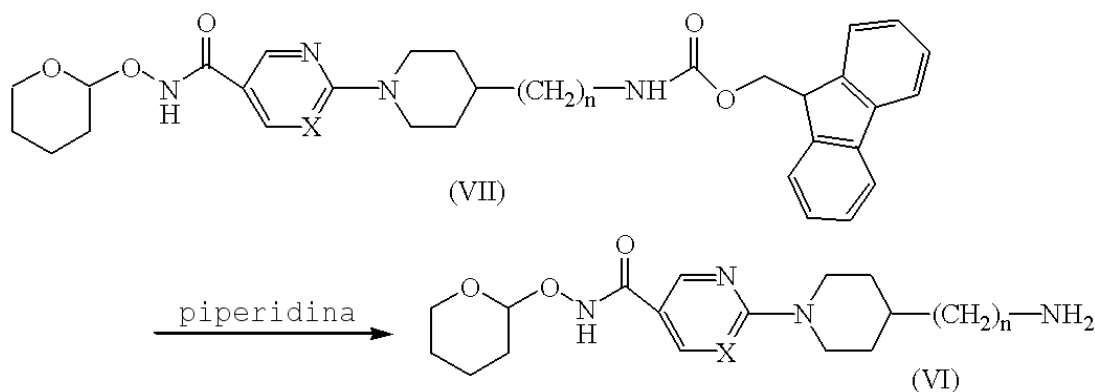
g) Del mismo modo, los intermedios de fórmula (II-c) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (XII) con un intermedio de fórmula (XIII), donde W es un grupo saliente adecuado como se ha descrito previamente.

25



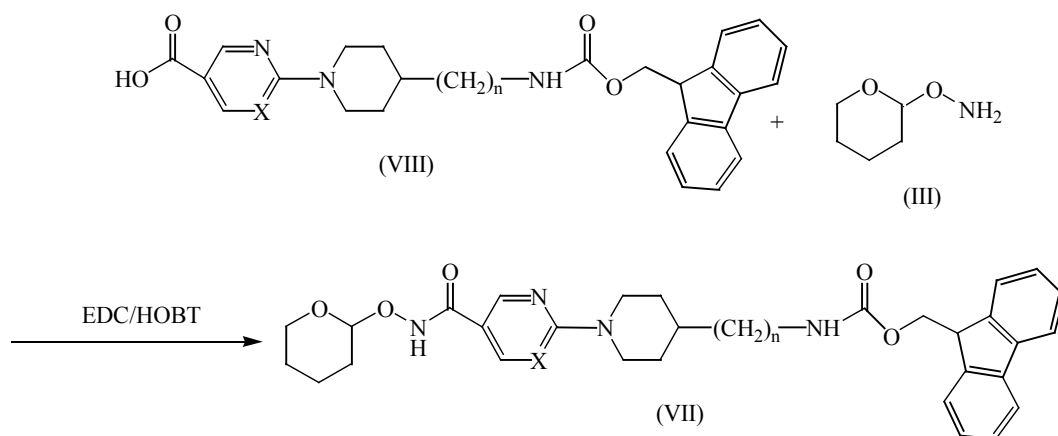
Los intermedios de fórmula (VI) se pueden preparar haciendo reaccionar el intermedio de fórmula (VII) con piperidina en un disolvente adecuado, p. ej., diclorometano.

5



Los intermedios de fórmula (VII) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (VIII) con un intermedio de fórmula (III), en presencia de reactivos adecuados tales como el monohidrógeno de *N*-(etilcarbonimidiloil)-*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 tal como trietilamina, en un disolvente adecuado tal como una mezcla de diclorometano y tetrahidrofurano.

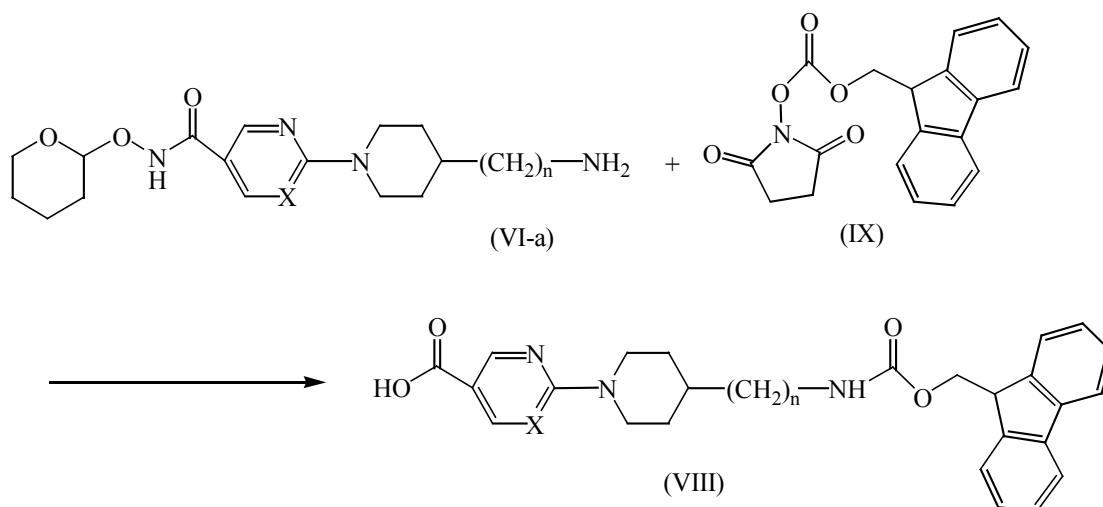
10



15

Los intermedios de fórmula (VIII) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (IX) con un intermedio de fórmula (IV), donde R^1 es hidrógeno, denominado en la presente intermedio de fórmula (IV-a), en presencia de hidróxido de sodio, en un disolvente adecuado tal como tetrahidrofurano, y a continuación neutralizando con ácido clorhídrico y añadiendo carbonato de sodio.

20



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

5 Los compuestos de fórmula (I) preparados según los procesos descritos previamente en la presente son generalmente mezclas racémicas de enantiómeros, los cuales se pueden separar el uno del otro siguiendo procedimientos de resolución de uso común en la materia. Los compuestos racémicos de fórmula (I) se pueden convertir en las formas salinas diastereoméricas correspondientes mediante la reacción con un ácido quiral adecuado. Posteriormente, dichas formas salinas diastereoméricas se separan, por ejemplo, mediante cristalización fraccional o selectiva y los enantiómeros se liberan de estas con base. Una manera alternativa de separar las formas enantioméricas de los compuestos de fórmula (I) implica el uso de cromatografía líquida empleando una fase estacionaria quiral. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también pueden proceder de las formas estereoquímicamente isoméricas puras de los materiales de partida adecuados, siempre que la reacción tenga lugar de forma estereoespecífica. Preferentemente, si se desea un estereoisómero específico, dicho compuesto se sintetizará mediante métodos estereoespecíficos de preparación. Estos métodos emplearán convenientemente materiales de partida enantioméricamente puros.

20 Los compuestos de fórmula (I), las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y las formas estereoisoméricas de estos poseen valiosas propiedades farmacológicas, ya que poseen un efecto inhibitorio de la histona-desacetilasa (HDAC).

25 Esta invención proporciona un método para inhibir el crecimiento anormal de las células, incluidas las células transformadas, mediante la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención. El crecimiento anormal de las células se refiere al crecimiento celular independiente de los mecanismos de regulación normales (p. ej., pérdida de inhibición de contacto). Esto incluye la inhibición del crecimiento tumoral tanto de forma directa, provocando la detención del crecimiento, diferenciación terminal y/o apoptosis de las células cancerígenas, como de forma indirecta, inhibiendo la neovascularización de los tumores.

30 Esta invención también proporciona un método para inhibir el crecimiento tumoral mediante la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención a un sujeto, p. ej., un mamífero (y más particularmente un humano) que necesite dicho tratamiento. En particular, esta invención proporciona un método para inhibir el crecimiento de tumores mediante la administración de una cantidad eficaz de los compuestos de la presente invención. Los ejemplos de tumores que se pueden inhibir incluyen, sin carácter limitante, el cáncer pulmonar (p. ej., adenocarcinoma, incluido el cáncer pulmonar no microcítico), cánceres pancreáticos (p. ej., carcinoma pancreático tal como, por ejemplo, carcinoma pancreático exocrino), cánceres de colon (p. ej., carcinomas colorrectales tales como, por ejemplo, adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), cáncer de próstata, incluida la enfermedad avanzada, tumores hematopoyéticos del linaje linfóide (p. ej., leucemia linfocítica aguda, linfoma de células B, linfoma de Burkitt), leucemias mieloides (por ejemplo, leucemia mieloide aguda (LMA)), cáncer folicular de tiroides, síndrome mielodisplásico (SMD), tumores de origen mesenquimal (p. ej., fibrosarcomas y rhabdomyosarcomas), melanomas, teratocarcinomas, neuroblastomas, gliomas, tumores benignos de la 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.

45 El compuesto de acuerdo con la invención se puede emplear con 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 tratar el cáncer;
- b) el tratamiento de artropatías y afecciones osteopatológicas tales como la artritis reumatoide, osteoartritis, artritis juvenil, gota, poliartritis, artritis psoriática, espondilitis anquilosante y lupus eritematoso sistémico;
- 5 c) la inhibición de la proliferación de las células del músculo liso, incluidos los trastornos proliferativos vasculares, aterosclerosis y restenosis;
- d) el tratamiento de afecciones inflamatorias y afecciones dérmicas tales como la colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, rinitis alérgica, enfermedad de injerto contra huésped, conjuntivitis, asma, SDRA, enfermedad de Behçet, rechazo al trasplante, urticaria, dermatitis alérgica, alopecia areata, escleroderma, exantema, eczema,
- 10 dermatomiositis, acné, diabetes, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Kawasaki, esclerosis múltiple, enfisema, fibrosis quística y bronquitis crónica;
- e) el tratamiento de endometriosis, miomas uterinos, sangrado uterino disfuncional e hiperplasia endometrial;
- f) el tratamiento de la vascularización ocular, incluida la vasculopatía que afecta a los vasos coroidales y retinales;
- g) el tratamiento de una disfunción cardíaca;
- 15 h) la inhibición de afecciones inmunosupresoras, como el tratamiento de infecciones por VIH;
- i) el tratamiento de una disfunción renal;
- j) la supresión de trastornos endocrinos;
- k) la inhibición de la disfunción de gluconeogénesis;
- l) el tratamiento de una neuropatología, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson o una neuropatología que provoca un trastorno cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer o enfermedades neuronales relacionadas con la poliglutamina;
- 20 m) el tratamiento de trastornos psiquiátricos, por ejemplo, esquizofrenia, trastorno bipolar, depresión, ansiedad y psicosis;
- n) la inhibición de una patología neuromuscular, por ejemplo, esclerosis lateral amiotrófica;
- 25 o) el tratamiento de una atrofia muscular espinal;
- p) el tratamiento de otras afecciones patológicas que se pueden tratar potenciando la expresión de un gen;
- q) la mejora de la terapia genética;
- r) la inhibición de adipogénesis;
- s) el tratamiento de parasitosis tales como la malaria.

30 Por lo tanto, la presente invención describe los compuestos de fórmula (I) para su uso como una medicina, así como el uso de estos compuestos de fórmula (I) para la producción de un medicamento para tratar una o más de las afecciones mencionadas anteriormente.

35 Los compuestos de fórmula (I), las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y las formas estereoisoméricas de estos pueden presentar valiosas propiedades de diagnóstico, ya que se pueden emplear para detectar o identificar una HDAC en una muestra biológica, lo que comprende detectar o evaluar la formación de un complejo entre un compuesto marcado y una HDAC.

40 Los métodos de detección o identificación pueden emplear compuestos marcados con agentes marcadores tales como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas, etc. Los ejemplos de radioisótopos incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^3H y ^{14}C . Normalmente, las enzimas se hacen detectables por conjugación con un sustrato adecuado, el cual cataliza a su vez una reacción detectable. Los ejemplos de estas incluyen, por ejemplo, beta-galactosidasa, beta-glucosidasa, fosfatasa alcalina, peroxidasa y malato-deshidrogenasa, preferentemente la peroxidasa del rábano picante. Las sustancias luminosas incluyen, por ejemplo, luminol, derivados del luminol, luciferina, aequorina y luciferasa.

45

Las muestras biológicas se pueden definir como tejido corporal o fluidos corporales. Los ejemplos de fluidos corporales son el fluido cerebroespinal, sangre, plasma, suero, orina, esputo, saliva y análogos.

50

En vistas de sus propiedades farmacológicas útiles, los compuestos de la presente se pueden formular en varias formas farmacéuticas a efectos de administración.

Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, una cantidad eficaz de un compuesto particular, en forma de base o en forma de sal de adición de ácido, que actúa como el principio activo se combina en una mezcla íntima con un portador farmacéuticamente aceptable; dicho portador puede presentar una variedad de formas, dependiendo de la forma del preparado deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas se presentan, de forma deseable, en una forma farmacéutica unitaria adecuada, preferentemente, para la administración oral, rectal, percutánea o por inyección parenteral. Por ejemplo, al preparar las composiciones en una

55 forma farmacéutica oral, se pueden emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y análogos, en el caso de preparados líquidos orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y análogos, en el caso de polvos, pastillas, cápsulas y comprimidos.

60

65

Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan la forma farmacéutica unitaria oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean obviamente portadores farmacéuticos sólidos. Para las composiciones parenterales, el portador comprenderá normalmente agua esterilizada, al menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes para aumentar la solubilidad, por ejemplo. Se pueden preparar, por ejemplo, soluciones inyectables, en las que el portador comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y de glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear portadores líquidos, agentes de suspensión y análogos. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente que potencia la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones minoritarias, donde dichos aditivos no provocan ningún efecto perjudicial significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración en la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de varias maneras, p. ej., como un parche transdermal, como una aplicación localizada o como un ungüento.

Resulta especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en formas farmacéuticas unitarias para facilitar su administración y la uniformidad de la dosis. La expresión "forma farmacéutica unitaria", según se utiliza en la memoria descriptiva y las reivindicaciones de la presente, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, cada unidad de las cuales contiene una cantidad predeterminada de principio activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, asociada con el portador farmacéutico requerido. Algunos ejemplos de dichas formas farmacéuticas unitarias son comprimidos (incluidos los comprimidos marcados o recubiertos), cápsulas, pastillas, paquetes de polvos, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharadas pequeñas, cucharadas soperas y análogos, y múltiples formas farmacéuticas segregadas de estas.

Los expertos en la materia podrán determinar fácilmente la cantidad eficaz a partir de los resultados de los ensayos que se muestran más adelante en la presente. En general, se considera que una cantidad terapéuticamente eficaz estaría entre 0.005 mg/kg y 100 mg/kg de peso corporal, y en particular entre 0.005 mg/kg y 10 mg/kg de peso corporal. Podría resultar adecuado administrar la dosis necesaria en forma de dos, tres, cuatro o más subdosis en intervalos adecuados a lo largo del día. Dichas subdosis se pueden formular como formas farmacéuticas unitarias, por ejemplo, que contengan de 0.5 a 500 mg, y en particular de 10 mg a 500 mg de principio activo por forma farmacéutica unitaria.

Como otro aspecto de la presente invención, se considera una combinación de un inhibidor de HDAC con otro agente contra el cáncer, especialmente para su uso como una medicina, más concretamente en el tratamiento del cáncer o enfermedades relacionadas.

Para el tratamiento de las afecciones anteriores, los compuestos de la invención se pueden emplear de forma ventajosa combinados con uno o más agentes medicinales diferentes, más particularmente, con otros agentes contra el cáncer. Algunos ejemplos de agentes contra el cáncer son:

- compuestos de coordinación de platino, por ejemplo, cisplatino, carboplatino u oxaliplatino;
- taxanos, por ejemplo, paclitaxel o docetaxel;
- inhibidores de la topoisomerasa I tales como las camptotecinas, por ejemplo, irinotecán o topotecán;
- inhibidores de la topoisomerasa II tales como los derivados antitumorales de la podofilotoxina, por ejemplo, etopósido o tenipósido;
- alcaloides de la vinca antitumorales, por ejemplo, vinblastina, vincristina o vinorelbina;
- derivados nucleósidos antitumorales, por ejemplo, 5-fluorouracil, gemcitabina o capecitabina;
- agentes alquilantes tales como la 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 de receptores de estrógenos o moduladores de receptores de estrógenos selectivos, por ejemplo, tamoxifeno, toremifeno, droloxifeno, faslodex o raloxifeno;
- inhibidores de aromatasas tales como exemestano, anastrozol, letrozol y vorozol;
- agentes de diferenciación tales como retinoides, vitamina D y agentes bloqueantes del metabolismo del ácido retinoico (RAMBA), por ejemplo, acutano;
- inhibidores de la ADN-metiltransferasa, por ejemplo, azacitidina;
- inhibidores de cinasas, por ejemplo, flavoperidol, mesilato de imatinib o gefitinib;
- inhibidores de famesiltransferasas;
- otros inhibidores de HDAC;
- inhibidores de la ruta ubiquitina-proteasoma, por ejemplo, velcade; o
- Yondelis

La expresión "compuesto de coordinación de platino" se utiliza en la presente para indicar cualquier compuesto de coordinación de platino que inhibe el crecimiento de células tumorales que proporcione platino en forma de ion.

El término “taxanos” indica una clase de compuestos que contienen el sistema anular de taxano y que están relacionados con los extractos de ciertas especies de árboles tejos (*Taxus*) o bien provienen de estos.

5 La expresión “inhibidores de topoisomerasas” se utiliza para indicar enzimas capaces de alterar la topología del ADN en células eucariotas. Son cruciales para el desarrollo de funciones celulares importantes y para la proliferación celular. Existen dos clases de topoisomerasas en las células eucariotas, que se denominan tipo I y tipo II. La topoisomerasa I es una enzima monomérica con un peso molecular de aproximadamente 100 000. La enzima se une al ADN e introduce una rotura de cadena sencilla transitoria, deshace la doble hélice (o permite que se deshaga) y posteriormente vuelve a sellar la rotura antes de disociarse de la cadena de ADN. La topoisomerasa II tiene un mecanismo de acción similar, que implica la inducción de roturas de la cadena de ADN o la formación de radicales libres.

15 El término “camptotecinas” se utiliza para indicar compuestos relacionados con la camptotecina original o que provienen de esta, la cual es un alcaloide insoluble en agua que proviene del árbol chino *Camptothecin acuminata* y del árbol indio *Nothapodytes foetida*.

El término “podofilotoxinas” se utiliza para indicar compuestos relacionados con la podofilotoxina original o que provienen de esta, la cual se extrae de la planta de mandrágora.

20 La expresión “alcaloides de la vinca antitumorales” se utiliza para indicar compuestos relacionados con los extractos de la planta *vinca* (*Vinca rosea*) o que provienen de estos.

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

35 La expresión “derivados de antraciclina antitumorales” comprende los antibióticos obtenidos del hongo *Strep. peuticus var. caesi* y sus derivados, que se caracterizan por tener una estructura anular de tetraciclina con un azúcar inusual, la daunosamina, unido mediante un enlace glicosídico.

40 Se ha demostrado que la amplificación de la proteína consistente en el receptor 2 del factor del crecimiento epidérmico humano (HER 2) en carcinomas de mama primarios se correlaciona con un pronóstico clínico desfavorable en ciertos pacientes. El trastuzumab es un anticuerpo IgG1 kappa monoclonal humanizado derivado de ADN recombinante altamente purificado que se une con una elevada afinidad y especificidad al dominio extracelular del receptor HER 2.

45 Muchos cánceres de mama poseen receptores de estrógenos y el crecimiento de estos tumores se puede estimular mediante estrógenos. Las expresiones “antagonistas de receptores de estrógenos” y “moduladores de receptores de estrógenos selectivos” se utilizan para indicar inhibidores competitivos del estradiol que se unen al receptor de estrógenos (RE). Cuando los moduladores de los receptores de estrógenos selectivos se unen al RE, inducen un cambio en la forma tridimensional del receptor, lo que modula su unión al elemento que responde a los estrógenos (ERE) en el ADN.

50 En las mujeres posmenopáusicas, la fuente principal de circulación de estrógenos consiste en la conversión de andrógenos adrenales y ováricos (androstenediona y testosterona) en estrógenos (estrona y estradiol) mediante la enzima aromatasa en tejidos periféricos. La privación de estrógenos mediante la inhibición o desactivación de la aromatasa supone un tratamiento eficaz y selectivo para algunas pacientes posmenopáusicas que padecen un cáncer de mama dependiente de las hormonas.

55 La expresión “agente antiestrógeno” se emplea en la presente para incluir no solo los antagonistas de receptores de estrógenos y los moduladores de receptores de estrógenos selectivos, sino también los inhibidores de la aromatasa, según se ha mencionado previamente.

60 La expresión “agentes de diferenciación” engloba los compuestos que pueden inhibir la proliferación celular e inducir diferenciación de varias maneras. Existe constancia de que la vitamina D y los retinoides desempeñan un papel primordial en la regulación del crecimiento y la diferenciación de una gran variedad de tipos de células malignas y normales. Los 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 los ácidos retinoicos.

65

Los cambios debidos a la metilación del ADN se encuentran entre las anomalías más comunes en las neoplasias humanas. La hipermetilación en los promotores de genes seleccionados está asociada normalmente con la desactivación de los genes implicados. La expresión “inhibidores de ADN-metiltransferasas” se utiliza para indicar compuestos que actúan mediante la inhibición farmacológica de la ADN-metiltransferasa y la reactivación de la expresión del gen supresor del tumor.

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

La expresión “inhibidores de farnesiltransferasas” se utiliza para indicar compuestos que se diseñaron para prevenir la farnesilación de Ras y otras proteínas intracelulares. Existe constancia de que ejercen cierto efecto sobre la proliferación y la supervivencia de las células malignas.

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

- carboxilatos, por ejemplo, butirato, ácido cinámico, 4-fenilbutirato o ácido valproico;
- ácidos hidroxámicos, por ejemplo, ácido hidroxámico de la suberoilánilida (SAHA), análogos de SAHA que contienen piperazina, hidroxamato de biarilo A-161906 y sus análogos de éter carbozólico, tetrahidropiridina y tetralona, aril-*N*-hidroxicarboxamidas bicíclicas, piroxamida, CG-1521, PXD-101, ácido hidroxámico de sulfonamida, LAQ-824, LBH-589, tricostatina A (TSA), oxamflatina, scriptaid, moléculas tricíclicas relacionadas con scriptaid, ácido bishidroxámico del ácido *m*-carboxicinámico (CBHA), ácidos hidroxámicos de tipo CBHA, análogo de ácido hidroxámico-trapoxina, R306465 y ácidos hidroxámicos heteroarílicos y benzoílicos relacionados, aminosuberatos y malonildiamidas;
- tetrapéptidos cíclicos, por ejemplo, trapoxina, apidicina, depsipéptido, compuestos relacionados con espiruchostatina, RedFK-228, tetrapéptidos cíclicos que contienen sulfidrilo (SCOP), tetrapéptidos cíclicos que contienen ácido hidroxámico (CHAP), TAN-174 y azumamidas;
- benzamidas, por ejemplo, MS-275 o CI-994; o
- depudecina.

La expresión “inhibidores de la ruta ubiquitina-proteasoma” se utiliza para identificar compuestos que inhiben la destrucción estratégica de proteínas celulares en el proteasoma, incluidas las proteínas reguladoras del ciclo celular.

Para el tratamiento del cáncer, los compuestos de acuerdo con la presente invención se pueden administrar a un paciente como se ha descrito anteriormente, junto con irradiación. La irradiación se refiere a radiación ionizante y, en particular, radiación gamma, especialmente la emitida por aceleradores lineales o por radionucleidos de uso común hoy en día. La irradiación del tumor con los radionucleidos puede ser externa o interna.

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

La presente invención también se refiere a una combinación de acuerdo con la invención para utilizar en terapia médica, por ejemplo, para inhibir el crecimiento de las células tumorales.

La presente invención también se refiere a combinaciones de acuerdo con la invención para inhibir el crecimiento de las células tumorales.

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

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

El otro agente medicinal y el inhibidor de HDAC se pueden administrar simultáneamente (p. ej., en composiciones unitarias o separadas) o secuencialmente en cualquier orden. En el último caso, los dos compuestos se administrarán en un periodo de tiempo y en una cantidad y modo que sean suficientes para garantizar que se alcance un efecto sinérgico o ventajoso. Se sobreentenderá que el método y el orden de administración preferidos, así como las cantidades y regímenes de las dosis respectivos para cada componente de la combinación dependerán del otro agente medicinal y del inhibidor de HDAC particulares que se administran, de su vía de administración, del tumor particular que se va a tratar y del huésped particular que se va a tratar. Los expertos en la materia podrán determinar fácilmente el método y el orden de administración óptimos, así como las cantidades y el régimen de las dosis, utilizando métodos convencionales y teniendo en cuenta la información detallada en la presente.

El compuesto de coordinación de platino se administra convenientemente en una dosis de 1 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por ejemplo, de 50 a 400 mg/m², particularmente para el cisplatino se

administra una dosis de aproximadamente 75 mg/m² y para el carboplatino una dosis de aproximadamente 300 mg/m² en cada tratamiento.

5 El taxano se administra convenientemente en una dosis de 50 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por ejemplo, de 75 a 250 mg/m², particularmente para el paclitaxel se administra una dosis de aproximadamente 175 a 250 mg/m² y para el docetaxel una dosis de aproximadamente 75 a 150 mg/m² en cada tratamiento.

10 La camptotecina se administra convenientemente en una dosis de 0.1 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por ejemplo, de 1 a 300 mg/m², particularmente para el irinotecán se administra una dosis de aproximadamente 100 a 350 mg/m² y para el topotecán una dosis de aproximadamente 1 a 2 mg/m² en cada tratamiento.

15 El derivado antitumoral de la podofilotoxina se administra convenientemente en una dosis de 30 a 300 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por ejemplo, de 50 a 250 mg/m², particularmente para la etoposida se administra una dosis de aproximadamente 35 a 100 mg/m² y para la teniposida una dosis de aproximadamente 50 a 250 mg/m² en cada tratamiento.

20 El alcaloide de la vinca antitumoral se administra convenientemente en una dosis de 2 a 30 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área superficial corporal, particularmente para la vinblastina se administra una dosis de aproximadamente 3 a 12 mg/m², para la vincristina una dosis de aproximadamente 1 a 2 mg/m² y para la vinorelbina una dosis de aproximadamente 10 a 30 mg/m² en cada tratamiento.

25 El derivado nucleósido antitumoral se administra convenientemente en una dosis de 200 a 2500 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por ejemplo, de 700 a 1500 mg/m², particularmente para 5-FU se administra una dosis de 200 a 500 mg/m², para la gemcitabina una dosis de aproximadamente 800 a 1200 mg/m² y para la capecitabina una dosis de aproximadamente 1000 a 2500 mg/m² en cada tratamiento.

30 Los agentes alquilantes, tales como la mostaza nitrogenada o nitrosourea, se administran convenientemente en una dosis de 100 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por ejemplo, de 120 a 200 mg/m², particularmente para la ciclofosfamida se administra una dosis de 100 a 500 mg/m², para el clorambucil una dosis de aproximadamente 0.1 a 0.2 mg/kg, para la carmustina una dosis de aproximadamente 150 a 200 mg/m² y para la lomustina una dosis de aproximadamente 100 a 150 mg/m² en cada tratamiento.

35 El derivado de antraciclina antitumoral se administra convenientemente en una dosis de 10 a 75 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área superficial corporal, por ejemplo, de 15 a 60 mg/m², particularmente para la doxorubicina se administra una dosis de aproximadamente 40 a 75 mg/m², para la daunorubicina una dosis de aproximadamente 25 a 45 mg/m² y para la idarubicina una dosis de aproximadamente 10 a 15 mg/m² en cada tratamiento.

40 El trastuzumab se administra convenientemente en una dosis de 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área superficial corporal, particularmente de 2 a 4 mg/m² en cada tratamiento.

45 El agente antiestrógeno se administra convenientemente en una dosis de aproximadamente 1 a 100 mg por día, dependiendo del agente particular y de la afección que se desea tratar. El tamoxifeno se administra convenientemente por vía oral en una dosis de 5 a 50 mg, preferentemente de 10 a 20 mg dos veces al día, siguiendo la terapia durante un periodo de tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El toremifeno se administra convenientemente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez al día, siguiendo la terapia durante un periodo de tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El anastrozol se administra convenientemente por vía oral en una dosis de aproximadamente 1 mg una vez al día. El droloxifeno se administra convenientemente por vía oral en una dosis de aproximadamente 20-100 mg una vez al día. El raloxifeno se administra convenientemente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez al día. El exemestano se administra convenientemente por vía oral en una dosis de aproximadamente 25 mg una vez al día.

55 Estas dosis se pueden administrar, por ejemplo, una, dos o más veces en cada tratamiento, el cual se puede repetir, por ejemplo, cada 7, 14, 21 o 28 días.

60 En vistas de sus propiedades farmacológicas útiles, los compuestos de las combinaciones de acuerdo con la invención, es decir, el otro agente medicinal y el inhibidor de HDAC, se pueden formular en varias formas farmacéuticas a efectos de administración. Los componentes se pueden formular separadamente en composiciones farmacéuticas individuales o en una composición farmacéutica unitaria que contenga ambos componentes.

65 Por consiguiente, la presente invención también se refiere a 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 refiere a una combinación de acuerdo con la invención en forma de una composición farmacéutica que comprende un agente contra el cáncer y un inhibidor de HDAC de acuerdo con la invención, junto con uno o más portadores farmacéuticos.

- 5 La presente invención se refiere además al uso de una combinación de acuerdo con la invención en la producción de una composición farmacéutica para inhibir el crecimiento de las células tumorales.

La presente invención se refiere además a un producto que contiene, como primer principio activo, un inhibidor de HDAC de acuerdo con la invención y, como segundo principio activo, un agente contra el cáncer, como un preparado combinado para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de pacientes que sufren cáncer.

Ejemplos

15 Parte experimental

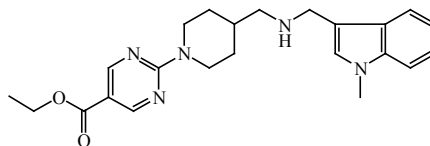
Los siguientes ejemplos se proporcionan a efectos ilustrativos.

En lo sucesivo en la presente, "DCM" se define como diclorometano, "DIPE" se define como éter diisopropílico, "DMA" se define como *N,N*-dimetilacetamida, "DMSO" se define como sulfóxido de dimetilo, "EDC" se define como clorhidrato de *N*-(etilcarbonimidiloil)-*N,N*-dimetil-1,3-propanodiamina, "EtOAc" se define como acetato de etilo, "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

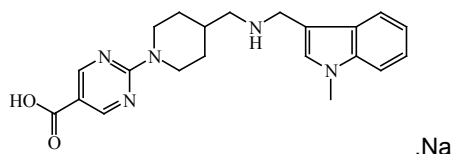
Ejemplo A1

a) Preparación del intermedio 1



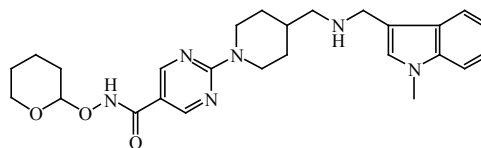
30 Una mezcla del éster etílico del ácido 2-[4-(aminometil)-1-piperidinil]-5-pirimidincarboxílico (0.0114 mol), 1-metil-1*H*-indol-3-carboxaldehído (0.017 mol) y MgSO_4 (0.5 g) en MeOH (80 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 15 horas, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadió tetrahidrobórato de sodio (0.018 mol) en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (6.6 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/ NH_4OH 94/6/0.5). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 4.3 g (90%) del intermedio 1.

b) Preparación del intermedio 2



Una mezcla del intermedio 1 (0.0037 mol) e hidróxido de sodio (0.0074 mol) en EtOH (60 ml) se agitó a 50 °C durante 15 horas, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó el disolvente a sequedad, para obtener 1.5 g (100%) del intermedio 2.

c) Preparación del intermedio 3



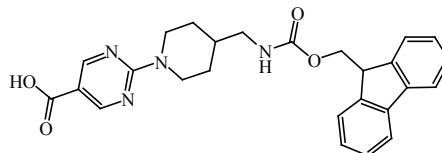
Se añadió EDC (0.0075 mol), a continuación HOBt (0.0075 mol) y a continuación *O*-(tetrahydro-2*H*-piran-2-il)hidroxilamina (0.015 mol) a temperatura ambiente a una mezcla del intermedio 2 (0.005 mol) en DCM (100 ml) y THF (100 ml) con un flujo de N_2 . La mezcla se agitó a 40 °C durante 4 horas, se vertió en agua helada y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (4 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/ NH_4OH 94/6/0.5). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 1 g (42%) del intermedio 3. Una fracción

(0.051 g) se cristalizó en DIPE. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.03 g del intermedio 3; punto de fusión: 70 °C.

Ejemplo A2

5

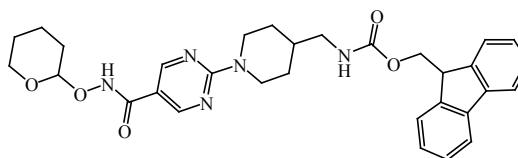
a) Preparación del intermedio 4



Una mezcla del éster etílico del ácido 2-[4-(aminometil)-1-piperidinil]-5-pirimidincarboxílico (0.0072 mol) en THF (40 ml) e hidróxido de sodio 1 N (40 ml) se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se añadió ácido clorhídrico 1 N (40 ml). La mezcla se agitó durante 10 minutos. Se añadió carbonato de sodio (0.0216 mol). La mezcla se agitó durante 10 minutos. Se añadió 1-[[*(9H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]oxi]-2,5-pirrolidindiona (0.0072 mol) en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas, a continuación se enfrió hasta 0 °C y se acidificó con ácido clorhídrico. El precipitado se filtró, se lavó con éter dietílico y se secó, para obtener 4.1 g (100%) del intermedio 4.

10

b) Preparación del intermedio 5

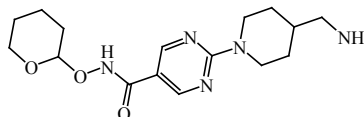


15

Se añadieron trietilamina (0.02 mol), EDC (0.0082 mol) y HOBt (0.0082 mol) a temperatura ambiente a una mezcla del intermedio 4 (0.0068 mol) en DCM/THF (200 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió *O*-(tetrahydro-2*H*-piran-2-il)hidroxilamina (0.0082 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, se vertió en agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ al 10%, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (4 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 98/2/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 3.4 g (89%) del intermedio 5.

20

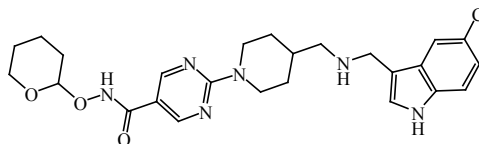
c) Preparación del intermedio 6



Una mezcla del intermedio 5 (0.0355 mol) y piperidina (0.089 mol) en DCM (400 ml) se agitó a 35 °C durante 72 horas. Se evaporó el disolvente. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 80/20/2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 6.7 g (56%). Parte del residuo (0.79 g) se cristalizó en éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.62 g del intermedio 6; punto de fusión: 129 °C.

30

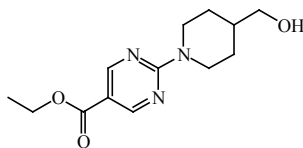
d) Preparación del intermedio 7



Una mezcla del intermedio 6 (0.0009 mol) y 5-cloro-1*H*-indol-3-carboxaldehído (0.0012 mol) en 1,2-dicloroetano (30 ml) se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (0.0013 mol) en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, se vertió sobre agua/NaOH 3 N y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (0.5 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 93/7/0.5). Se recogieron dos fracciones y se evaporó el disolvente, para obtener 0.07 g (16%) del intermedio 7.

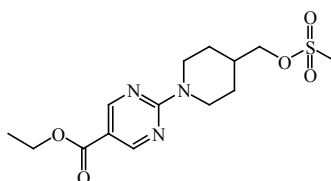
35

a) Preparación del intermedio 8



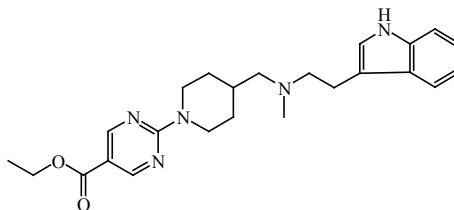
Se añadió una solución del éster etílico del ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidincarboxílico (0.094 mol) en acetonitrilo (40 ml) a 10°C a una suspensión de 4-piperidinmetanol (0.086 mol) y carbonato de potasio (0.172 mol) en acetonitrilo (200 ml) con un flujo de N₂. Se dejó que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente, a continuación se agitó durante 4 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (23 g) se cristalizó en acetonitrilo/éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 7.8 g (34%) del intermedio 8. Se evaporaron las aguas madres. El residuo (17 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (20-45 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 97/3/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 4.6 g (20%) del intermedio 7; punto de fusión: 129 °C.

b) Preparación del intermedio 9



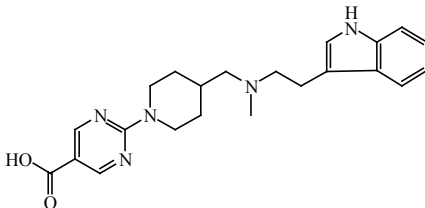
Se añadió trietilamina (0.038 mol) y a continuación cloruro de metanosulfonylo (0.025 mol) a 0°C a una solución del intermedio 8 (0.0189 mol) en DCM (80 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas y se vertió sobre agua helada. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente, para obtener 6.5 g (100%) del intermedio 9.

c) Preparación del intermedio 10



Una mezcla del intermedio 9 (0.0189 mol), *N*-metil-1*H*-indol-3-etanamina (0.0172 mol) y carbonato de potasio (0.0344 mol) en acetonitrilo (180 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 24 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (8.5 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (70-200 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH de 98/2/0 a 97/3/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 1.25 g (20%) del intermedio 10.

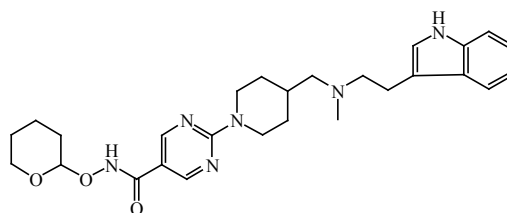
d) Preparación del intermedio 11



.Na

Una mezcla del intermedio 10 (0.003 mol) e hidróxido de sodio (0.006 mol) en EtOH (80 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante toda la noche, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó el disolvente a sequedad, para obtener 1.3 g (100%) del intermedio 11; p.f. > 260 °C.

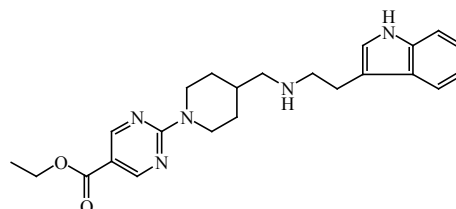
e) Preparación del intermedio 12



Se añadió EDC (0.0045 mol) y a continuación HOBt (0.0045 mol) a temperatura ambiente a una mezcla del intermedio 11 (0.003 mol) en THF (100 ml) y DCM (100 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió *O*-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)hidroxilamina (0.012 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (3 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 94/6/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. Se añadió éter dietílico al residuo (0.82 g). El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.78 g del intermedio 12; punto de fusión: 154 °C.

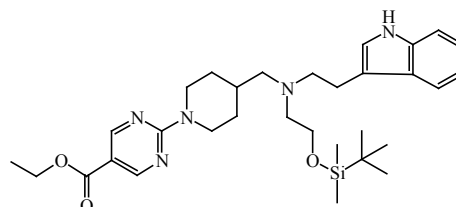
Ejemplo A4

a) Preparación del intermedio 13



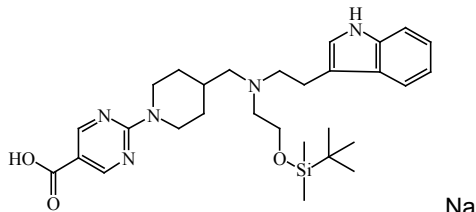
Una mezcla del éster etílico del ácido 2-[4-(aminometil)-1-piperidinil]-5-pirimidincarboxílico (0.0049 mol), metanosulfonato (éster) de 1*H*-indol-3-etanol (0.0054 mol) y carbonato de potasio (0.01 mol) en acetonitrilo (20 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante toda la noche, a continuación se enfrió, se vertió sobre agua helada y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (2.2 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 96/4/0.2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.442 g (22%) del intermedio 13; punto de fusión: 238 °C.

b) Preparación del intermedio 14



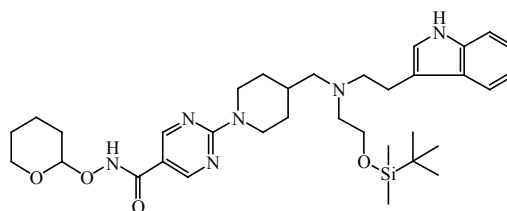
Una mezcla del intermedio 13 (0.0025 mol), (2-bromoetoxi)(1,1-dimetiletil)dimetilsilano (0.0034 mol) y *N*-etil-*N*-(1-metiletil)-2-propanamina (0.0038 mol) en DMSO (20 ml) se agitó a 50 °C durante 15 horas, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente, se vertió sobre agua helada y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (1.7 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 98/2/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.76 g (54%) del intermedio 14.

c) Preparación del intermedio 15



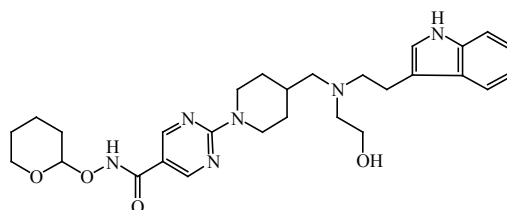
Una mezcla del intermedio 14 (0.0013 mol) e hidróxido de sodio (0.0027 mol) en EtOH (40 ml) se agitó a 80 °C durante toda la noche, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó el disolvente, para obtener 0.75 g (100%) del intermedio 15.

d) Preparación del intermedio 16



5 Se añadió EDC (0.002 mol) y a continuación HOBt (0.002 mol) a temperatura ambiente a una mezcla del intermedio 15 (0.0013 mol) en THF (80 ml) y DCM (80 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió *O*-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)hidroxilamina (0.0068 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (1.3 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 95/5/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.38 g del intermedio 16.

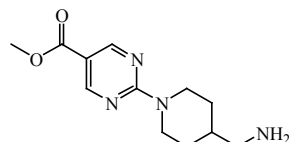
e) Preparación del intermedio 17



10 Una mezcla del intermedio 16 (0.0011 mol) y fluoruro de tetrabutilamonio (0.0032 mol) en THF (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente, para obtener 0.5 g (88%) del intermedio 17.

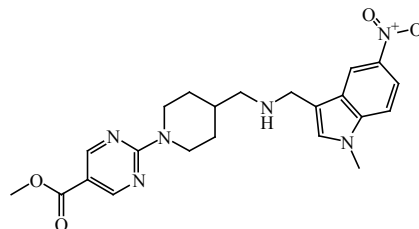
15 Ejemplo A5

a) Preparación del intermedio 45



20 Se añadió gota a gota una solución del éster metílico del ácido 2-cloro-5-pirimidincarboxílico (0.058 mol) en DMA (80 ml) a una solución de 4-piperidinmetanamina (0.116 mol) y *N*-etil-diisopropilamina (0.145 mol) en DMA (150ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y 30 minutos, se vertió sobre agua helada y se extrajo con EtOAc y a continuación con DCM. La fase orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo se cristalizó en DIPE. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 10 g (65%) del intermedio 45.

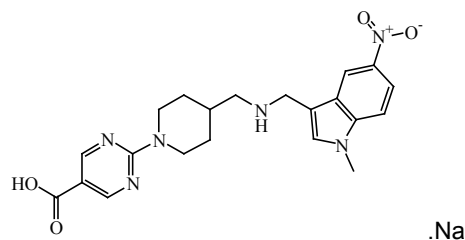
b) Preparación del intermedio 46



25 Una mezcla del intermedio 45 (0.0024 mol), 1-metil-5-nitro-1*H*-indol-3-carboxaldehído (0.0036 mol) y MgSO₄ (0.25 g) en MeOH (80 ml) se agitó a 60 °C durante toda la noche y a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadió tetrahidrobórato de sodio (0.0041 mol) en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (1.1 g) se cristalizó en acetonitrilo. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.9 g (86%) del intermedio 46; punto de fusión: 150 °C.

30

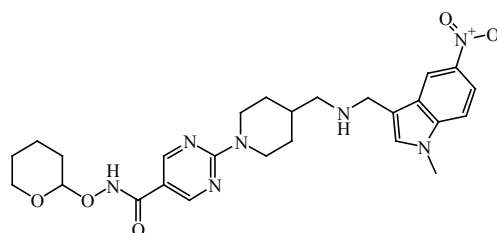
c) Preparación del intermedio 47



Una mezcla del intermedio 46 (0.002 mol) e hidróxido de sodio (0.008 mol) en EtOH (60 ml) se agitó a 60 °C durante toda la noche, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó. Se añadió éter dietílico al residuo. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.6 g (67%) del intermedio 47.

5

d) Preparación del intermedio 48

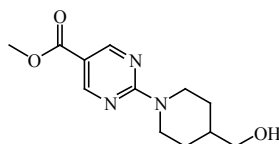


Se añadieron EDC (0.0019 mol) y HOBt (0.0019 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 47 (0.0013 mol) y trietilamina (0.0039 mol) en DCM/THF (50/50) (100 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió *O*-(tetrahydro-2*H*-piran-2-il)hidroxilamina (0.0026 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (1 g) se purificó mediante cromatografía en columna de kromasil (5 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH de 98/2/0.2 a 92/8/0.2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.101 g (15%) del intermedio 48.

10

15 Ejemplo A6

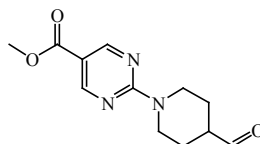
a) Preparación del intermedio 49



Se añadió una solución del éster metílico del ácido 2-cloro-5-pirimidincarboxílico (0.033 mol) en DCM (80 ml) a temperatura ambiente a una solución de 4-piperidinmetanol (0.066 mol) y *N*-etildiisopropilamina (0.083 mol) en DCM (100 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y 30 minutos, se vertió sobre agua helada y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. Se añadió pentano al residuo. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 7.88 g (95%) del intermedio 49.

20

b) Preparación del intermedio 50

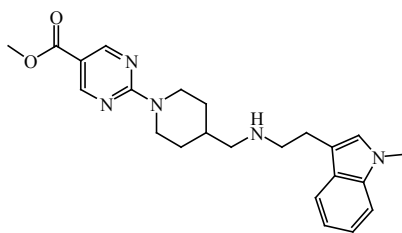


Se añadió gota a gota DMSO (0.058 mol) a -78 °C a una solución de dicloruro de etanodioilo (0.0278 mol) en DCM (50 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó durante 15 minutos. Se añadió gota a gota una solución del intermedio 49 (0.023 mol) en DCM (200 ml). La mezcla se agitó a -78 °C durante 1 hora y 30 minutos. Se añadió gota a gota trietilamina (0.118 mol). La mezcla se agitó a -78 °C durante 1 hora, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo se cristalizó en éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 3.06 g (54%) del intermedio 50.

25

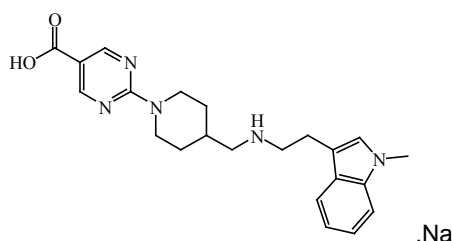
30

c) Preparación del intermedio 51



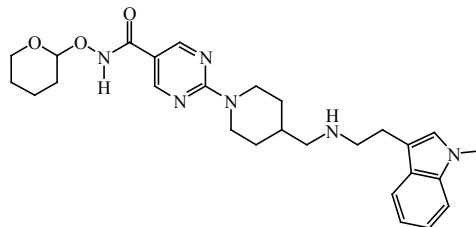
Se añadió el intermedio 50 (0.0122 mol) a 5 °C a una solución de 1-metil-1H-indol-3-etanamina (0.0122 mol) en MeOH (270 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó unos minutos. Se añadieron cianoborohidruro de sodio (0.0183 mol) y ácido acético (0.0183 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, se vertió sobre carbonato de potasio al 10% y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (4.9 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 97/3/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 1.2 g (24%) del intermedio 51.

d) Preparación del intermedio 52



Una mezcla del intermedio 51 (0.0009 mol) e hidróxido de sodio (0.0039 mol) en EtOH (60 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 15 horas, a continuación se evaporó a sequedad, para obtener el intermedio 52. Este intermedio se empleó directamente en el siguiente paso de reacción.

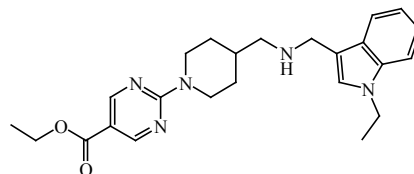
e) Preparación del intermedio 53



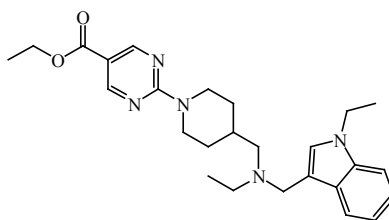
Se añadió HOBt (0.0019 mol) y a continuación EDC (0.0019 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 52 (0.0009 mol) y *O*-(tetrahidro-2H-piran-2-il)hidroxilamina (0.0019 mol) en DCM/THF (130 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (0.93 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 97/3/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.155 g (33%) del intermedio 53.

Ejemplo A7

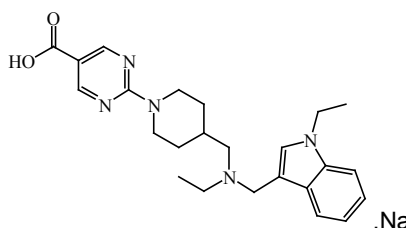
a) Preparación del intermedio 54



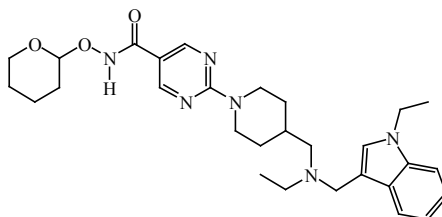
Una mezcla del éster etílico del ácido 2-[4-(aminometil)-1-piperidinil]-5-pirimidincarboxílico (0.0038 mol), 1-etil-1H-indol-3-carboxaldehído (0.0049 mol) y Pd/C al 10% (0.5 g) en MeOH (20 ml) que contenía 1 ml de una solución de tiofeno al 10% en EtOH, se hidrogenó a temperatura ambiente durante 24 horas con una presión de 3 bar, a continuación se filtró a través de celite. Se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo (1.8 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH de 95/5/0.2 a 93/7/0.5). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.7 g (44%) del intermedio 54.

b) Preparación del intermedio 55

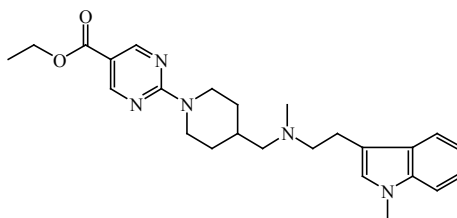
5 Se añadió hidruro de sodio al 60% (0.009 mol) a 0 °C a una solución del intermedio 54 (0.0045 mol) en THF (50 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió gota a gota una solución de yodoetano (0.0062 mol) en THF (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche, se vertió sobre agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (0.6 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 95/5/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.16 g (8%) del intermedio 55.

c) Preparación del intermedio 56

10 Una mezcla del intermedio 55 (0.0003 mol) e hidróxido de sodio (0.03 g) en EtOH (15 ml) se agitó a 80 °C durante 6 horas y a continuación se evaporó a sequedad, para obtener 0.16 g (100%) del intermedio 56.

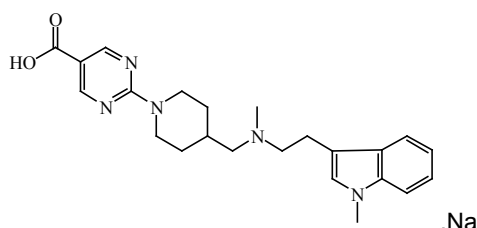
d) Preparación del intermedio 57

15 Se añadieron EDC (0.0005 mol) y HOBT (0.0005 mol) a temperatura ambiente a una mezcla del intermedio 56 (0.0003 mol) en DCM (20 ml) y THF (20 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó durante 15 minutos. Se añadió O-(tetrahydro-2H-piran-2-yl)hidroxilamina (0.0007 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (0.3 g) se purificó mediante cromatografía en columna de kromasil (5 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 93/7/0.35). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.03 g (16%) del intermedio 57.

Ejemplo A8a) Preparación del intermedio 58

25 Se añadió hidróxido de sodio (0.011 mol) a 5 °C a una solución del intermedio 13 (0.0037 mol) en THF (30 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó durante 30 minutos. Se añadió gota a gota una solución de yodometano (0.0081 mol) en THF (10 ml). La mezcla se agitó a 10 °C durante 2 horas, a continuación se dejó que alcanzara la temperatura ambiente durante 1 hora y 30 minutos, se vertió sobre agua helada y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (1.7 g) se purificó mediante cromatografía en columna de kromasil (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 98/2/0.1). Se recogieron dos fracciones y se evaporó el disolvente, para obtener 0.265 g del intermedio 58 y 0.57 g (17%) del intermedio 10.

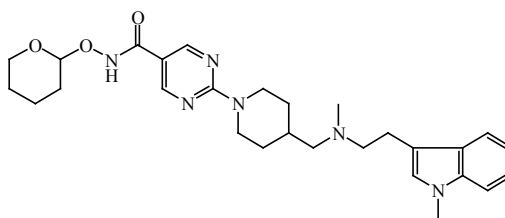
b). Preparación del intermedio 59



Una mezcla del intermedio 58 (0.0006 mol) e hidróxido de sodio (0.0012 mol) en EtOH (30 ml) se agitó a 80 °C durante toda la noche, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó el disolvente, para obtener 0.26 g (100%) del intermedio 59.

5

c). Preparación del intermedio 60

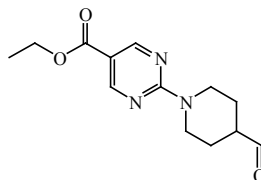


Se añadieron EDC (0.0009 mol) y HOBT (0.0009 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 59 (0.0006 mol) en THF (30 ml) y DCM (30 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió O-(tetrahydro-2H-piran-2-il)hidroxilamina (0.0012 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (0.6 g) se purificó mediante cromatografía en columna de kromasil (5 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 99/1/0.05 y 94/6/0.3). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.1 g (33%) del intermedio 60.

10

15 Ejemplo A9

a). Preparación del intermedio 61

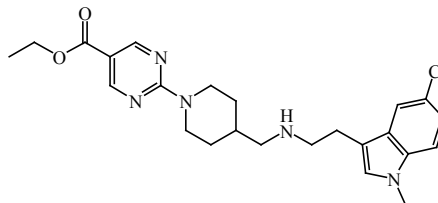


Se añadió DMSO (0.127 mol) a -78 °C a una solución de dicloruro de etanodioilo (0.061 mol) en DCM (110 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó durante 15 minutos. Se añadió una solución del intermedio 8 (0.051 mol) en DCM (200 ml). La mezcla se agitó a -78 °C durante 1 hora y 30 minutos. Se añadió gota a gota trietilamina (0.26 mol). La mezcla se agitó a -78 °C durante 15 minutos y a continuación se dejó que alcanzara la temperatura ambiente durante 2 horas y 30 minutos. Se añadió agua. La mezcla se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (14 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (20-45 μm) (eluyente: ciclohexano/EtOAc 70/30). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 7.6 g (57%) del intermedio 61.

20

25

b). Preparación del intermedio 62

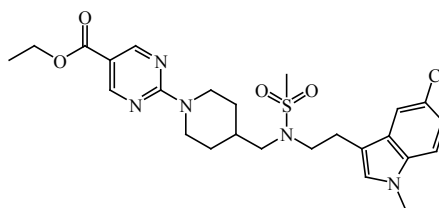


Se añadieron cianoborohidruro de sodio (0.049 mol) y ácido acético (0.034 ml) a temperatura ambiente a una solución de 5-cloro-1-metil-1H-indol-3-etanamina (0.031 mol) e intermedio 61 (0.034 mol) en MeOH (700 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, se vertió sobre carbonato de potasio al 10% y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (14.8 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (20-45 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 95/5/0.2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 4.52 g (32%) del intermedio 62.

30

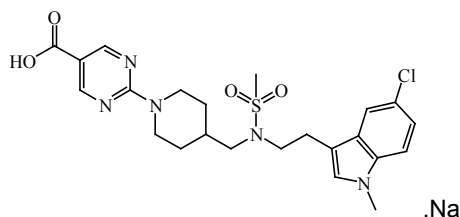
35

c) Preparación del intermedio 63



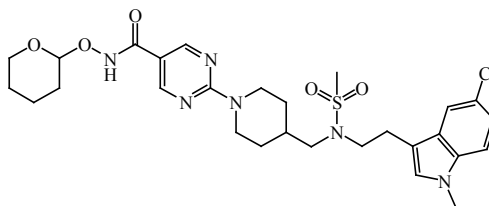
5 Se añadió cloruro de metanosulfonilo (0.0049 mol) a 5 °C a una solución del intermedio 62 (0.004 mol) y trietilamina (0.008 mol) en DCM (150 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, se vertió sobre agua helada y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. Se añadió DIPE al residuo (2.39 g). El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 1.78 g (84%) del intermedio 63; punto de fusión: 162 °C.

d) Preparación del intermedio 64



10 Una mezcla del intermedio 63 (0.0032 mol) e hidróxido de sodio (0.0128 mol) en EtOH (150 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 5 horas, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se le añadió éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 1.57 g (99%) del intermedio 64; punto de fusión > 260 °C.

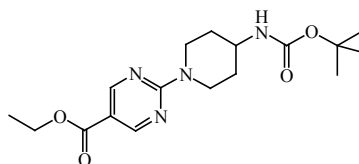
e) Preparación del intermedio 65



15 Se añadieron EDC (0.0064 mol) y HOBt (0.0064 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 64 (0.0032 mol) en THF (160 ml) y DCM (160 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió *O*-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)hidroxilamina (0.0064 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (2.77 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 97/3/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo (0.385 g) se cristalizó en CH₃CN/éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.084 g del intermedio 65; punto de fusión: 179 °C.

Ejemplo A10

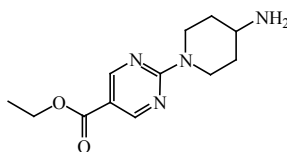
a) Preparación del intermedio 66



25 Se añadió una solución del éster etílico del ácido 2-(metilsulfonil)-5-pirimidincarboxílico (0.094 mol) en acetonitrilo (240 ml) a temperatura ambiente a una solución del éster 1,1-dimetiletílico del ácido 4-piperidinilcarbámico (0.078 mol) y carbonato de potasio (0.156 mol) en acetonitrilo (120 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche, se vertió sobre agua helada y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo se cristalizó en éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 14.4 g (53%) del intermedio 66; punto de fusión: 160 °C.

30

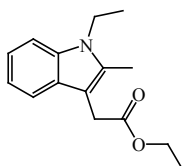
b) Preparación del intermedio 67



Se añadió TFA (20 ml) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 66 (0.0225 mol) en DCM (110 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas, se vertió sobre agua y se basificó con carbonato de potasio. La mezcla se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente, para obtener 5.5 g (98%) del intermedio 67.

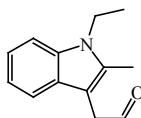
Ejemplo A11

a) Preparación del intermedio 68



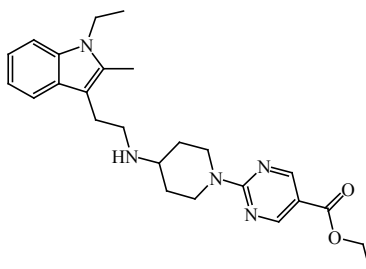
Se añadió hidruro de sodio al 60% en aceite (0.0069 mol) a 0 °C a una solución del éster etílico del ácido 2-metil-1H-indol-3-acético (0.0046 mol) en THF (10 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió yodoetano (0.006 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y se vertió sobre EtOAc y NaCl saturado. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo (1.1 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: ciclohexano/EtOAc 80/20). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.73 g (65%) del intermedio 68.

b) Preparación del intermedio 69



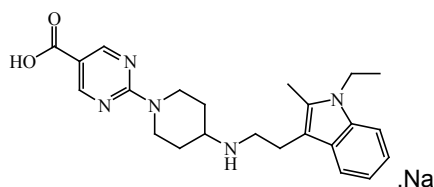
Se añadió gota a gota una solución de hidruro de diisobutilaluminio en tolueno (0.0045 mol) a -78 °C a una solución del intermedio 68 (0.003 mol) en DCM (15 ml) y 1,2-dimetoxietano (15 ml) (tamices moleculares: 3 angstrom) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a -78 °C durante 3 horas, a continuación se detuvo con HCl 3 N y se extrajo con DCM. La fase orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente a sequedad, para obtener 0.7 g (> 100%) del intermedio 69.

c) Preparación del intermedio 70



Se añadió etóxido de titanio (IV) (0.0023 mol) a una mezcla del intermedio 67 (0.0021 mol) y el intermedio 69 (0.0021 mol) en 1,2-dicloroetano (25 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (0.0023 mol) en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, a continuación se detuvo con NaHCO₃ y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo (1.2 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (5 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 95/5/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.2 g (21%) del intermedio 70.

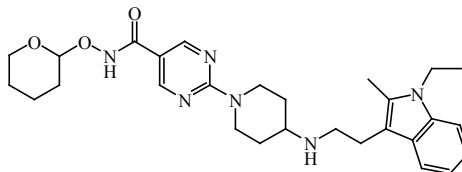
d) Preparación del intermedio 71



Una mezcla del intermedio 70 (0.0004 mol) e hidróxido de sodio (0.0009 mol) en EtOH (30 ml) se agitó a 60 °C durante toda la noche, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó, para obtener 0.2 g (100%) del intermedio 71.

5

e). Preparación del intermedio 72

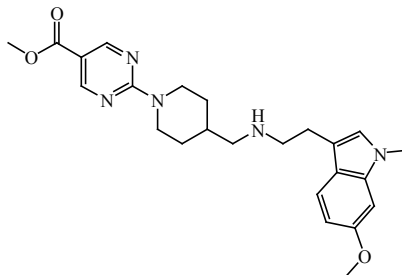


Se añadieron EDC (0.0007 mol) y HOBt (0.1 g) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 71 (0.0004 mol) y trietilamina (0.0009 mol) en DCM/THF (40 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió *O*-(tetrahydro-2*H*-piran-2-il)hidroxilamina (0.0009 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (0.4 g) se purificó mediante cromatografía en columna de kromasil (5 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH de 98/2/0.1 a 90/10/1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.087 g (37%) del intermedio 72.

10

15 Ejemplo A12

a). Preparación del intermedio 73

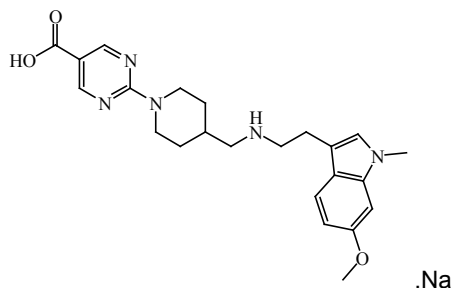


Se añadió el intermedio 50 (0.0046 mol) a 5 °C a una solución de 6-metoxi-1-metil-1*H*-indol-3-etanamina (0.0046 mol) en MeOH (100 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó durante 30 minutos. Se añadieron cianoborohidruro de sodio (0.0068 mol) y después ácido acético (0.0046 mol) en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, se vertió sobre carbonato de potasio al 10% y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (4 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 96/4/0.2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. Una parte (0.7 g) del residuo (2.2 g) se cristalizó en acetonitrilo. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.43 g (61%) del intermedio 73; punto de fusión: 122 °C.

20

25

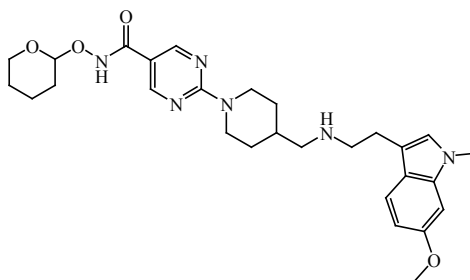
b). Preparación del intermedio 74



Una mezcla del intermedio 73 (0.0015 mol) e hidróxido de sodio (0.006 mol) en EtOH (90 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 8 horas, a continuación se evaporó a sequedad, para obtener el intermedio 74.

30

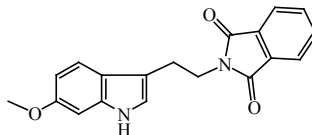
c) Preparación del intermedio 75



Se añadió HOBt (0.003 mol) y a continuación EDC (0.003 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 74 (0.0015 mol) y O-(tetrahydro-2H-piran-2-il)hidroxilamina (0.003 mol) en THF/DCM (200 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (1.1 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (10 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 95/5/0.5). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo (0.24 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (10 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 95/5/0.5). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.17 g (21%) del intermedio 75.

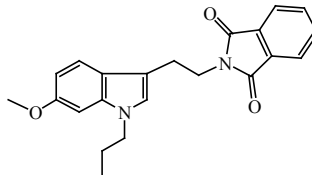
Ejemplo A13

a) Preparación del intermedio 76



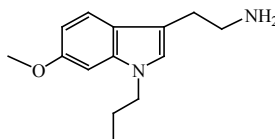
Una mezcla de 6-metoxi-1H-indol-3-etanamina (0.053 mol) y 1,3-isobenzofurandiona (0.058 mol) en tolueno (130 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 48 horas, a continuación se filtró. El filtrado se evaporó, para obtener 5.4 g (32%) del intermedio 76.

b) Preparación del intermedio 77



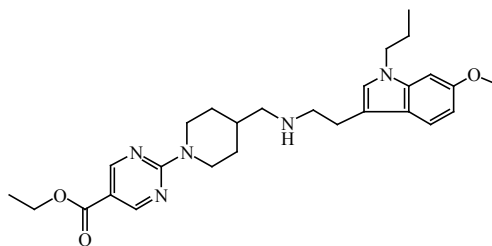
Se añadió gota a gota una solución del intermedio 76 (0.017 mol) en DMF (19 ml) a temperatura ambiente a una suspensión de hidruro de sodio (0.034 mol) en DMF (11 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y 30 minutos. Se añadió yodopropano (0.034 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y 15 minutos. Se añadió NaCl saturado. La mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente, para obtener 4.9 g del intermedio 77. Este producto se empleó directamente en el siguiente paso de reacción.

c) Preparación del intermedio 78



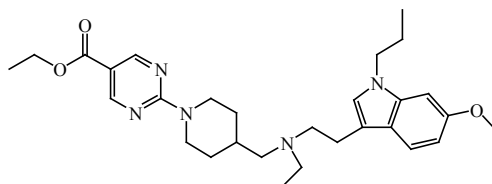
Una mezcla del intermedio 77 (0.068 mol) e hidrazina monohidratada (0.068 mol) en EtOH (60 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 1 hora, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente, para obtener 3.53 g del intermedio 78. Este producto se empleó directamente en el siguiente paso de reacción.

d) Preparación del intermedio 79



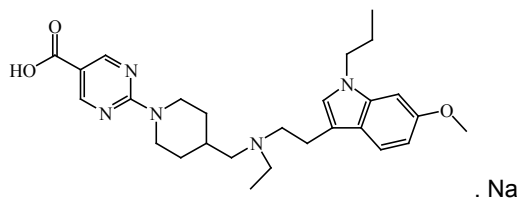
Se añadieron cianoborohidruro de sodio (0.024 mol) y ácido acético (0.0167 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 61 (0.0167 mol) y el intermedio 78 (0.015 mol) en MeOH (380 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos, se vertió sobre carbonato de potasio al 10% y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (8.84 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 96/4/0.2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 2.85 g (40%) del intermedio 79.

e) Preparación del intermedio 80



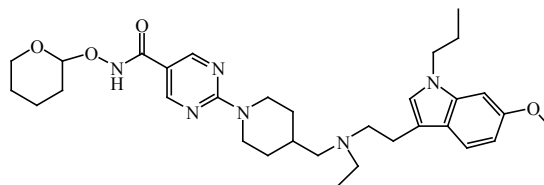
Una mezcla del intermedio 79 (0.0028 mol), yodoetano (0.0056 mol) y trietilamina (0.0085 mol) en DMF (60 ml) se agitó a 50 °C durante 7 horas, se vertió sobre agua helada y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (1.8 g) se purificó mediante cromatografía en columna de kromasil (5 μm) (eluyente: DCM/MeOH de 100/0 a 95/5). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 1.1 g (78%) del intermedio 80.

f) Preparación del intermedio 81

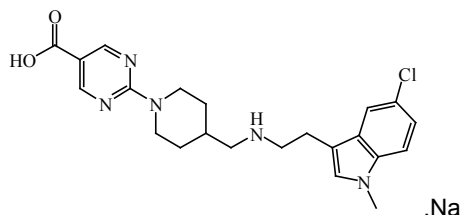


Una mezcla del intermedio 80 (0.0022 mol) e hidróxido de sodio (0.0088 mol) en EtOH (100 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 6 horas, a continuación se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y se evaporó a sequedad. Se añadió éter dietílico al residuo. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.965 g (88%) del intermedio 81; punto de fusión > 260 °C.

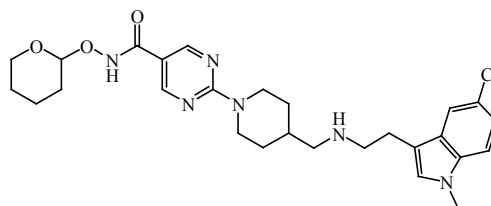
g) Preparación del intermedio 82



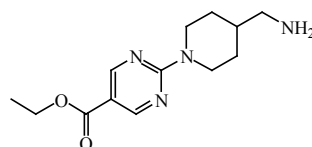
Se añadieron EDC (0.0038 mol) y HOBt (0.0038 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 81 (0.0019 mol) en THF (100 ml) y DCM (100 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió *O*-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)hidroxilamina (0.0038 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, se vertió sobre agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (1.2 g) se purificó mediante cromatografía en columna de kromasil (5 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH de 99/1/0.05 a 93/7/0.35). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.114 g del intermedio 82.

Ejemplo A14a) Preparación del intermedio 83

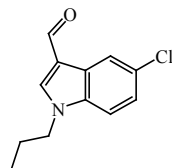
- 5 Una mezcla del intermedio 62 (0.0034 mol) e hidróxido de sodio (0.0134 mol) en EtOH (150 ml) se agitó a 80 °C durante 3 horas, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó a sequedad. Se añadió éter dietílico al residuo. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 1.18 g (78%) del intermedio 83; punto de fusión > 260°C.

b) Preparación del intermedio 84

- 10 Se añadieron EDC (0.0052 mol) y HOBT (0.0052 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 83 (0.0026 mol) en THF (120 ml) y DCM (120 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió *O*-(tetrahydro-2*H*-piran-2-il)hidroxilamina (0.0052 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 días, se vertió sobre agua helada y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (2 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 96/4/0.5). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo (0.75 g, 55%) se purificó mediante cromatografía en columna de kromasil (10 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 96/4/0.5). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.625 g del intermedio 84. Este producto se empleó directamente en el siguiente paso de reacción.

Ejemplo A15Preparación del intermedio 85

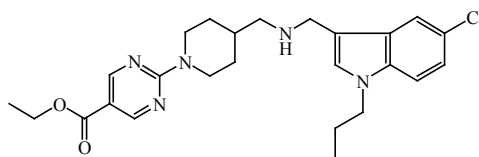
- 25 Se agitaron 4-piperidinmetanamina (0.65 mol) y carbonato de potasio (96 g) en acetonitrilo (1000 ml) y a continuación se añadió gota a gota una solución del éster etílico del ácido 2-(metilsulfonyl)-5-pirimidincarboxílico (0.37 mol) en acetonitrilo (500 ml) a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente y se evaporó el disolvente. El residuo se agitó en agua y la mezcla se extrajo con DCM (2 x 500 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente 1: EtOAc/Hexano 1/1; eluyente 2: MeOH + un poco de NH₄OH). Se recogieron las fracciones del producto, se agitaron con una suspensión de carbonato de potasio y la mezcla se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente, para obtener 31 g (32%) del intermedio 85.

Ejemplo A16a) Preparación del intermedio 86

- 35 Se añadió hidruro de sodio (0.0095 mol) a 5 °C a una solución de 5-cloro-1*H*-indol-3-carboxaldehído (0.0056 mol) en THF (52 ml) con un flujo de N₂. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 hora. Se añadió yodopropano (0.0067 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 días, se vertió sobre agua y se extrajo con EtOAc. La fase

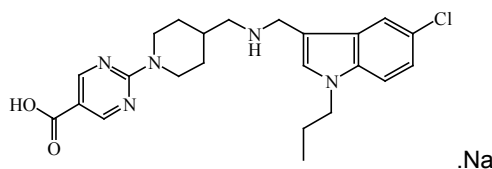
orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró y se evaporó el disolvente, para obtener 1.5 g del intermedio 86. Este producto se empleó directamente en el siguiente paso de reacción.

b) Preparación del intermedio 87



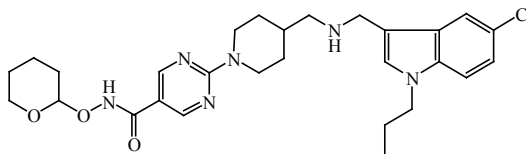
- 5 Se añadieron cianoborohidruro de sodio (0.0068 mol) y ácido acético (0.0046 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 85 (0.0042 mol) y el intermedio 86 (0.0051 mol) en MeOH (120 ml) con un flujo de N_2 . La mezcla se agitó y se calentó a reflujo durante 2 días, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente, se vertió sobre carbonato de potasio al 10% y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (2.42 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/ NH_4OH 95/5/0.2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 1.2 g (60%) del intermedio 87.

c) Preparación del intermedio 88



- 15 Una mezcla del intermedio 87 (0.0025 mol) e hidróxido de sodio (0.01 mol) en EtOH (120 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 4 horas, a continuación se evaporó a sequedad. Se añadió éter dietílico al residuo. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.845 g (72%) del intermedio 88; punto de fusión $> 260^\circ\text{C}$.

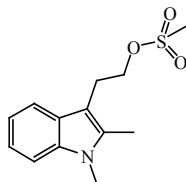
d) Preparación del intermedio 89



- 20 Se añadieron EDC (0.0036 mol) y HOBt (0.0036 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 88 (0.0018 mol) en THF (90 ml) y DCM (90 ml) con un flujo de N_2 . La mezcla se agitó durante 30 minutos. Se añadió O-(tetrahydro-2H-piran-2-yl)hidroxilamina (0.0036 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días, se vertió sobre agua helada y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (1.3 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/ NH_4OH 92/8/0.5). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.54 g (56%) del intermedio 89.

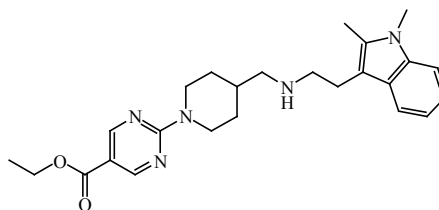
Ejemplo A17

a) Preparación del intermedio 90



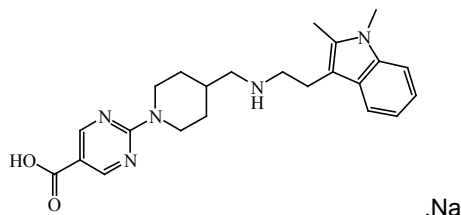
- 30 Se añadió cloruro de metanosulfonilo (0.004 mol) a 10°C a una solución de 1,2-dimetil-1H-indol-3-etanol (0.0026 mol) y trietilamina (0.008 mol) en DCM (10 ml) con un flujo de N_2 . La mezcla se agitó a 10°C durante 4 horas. El disolvente se evaporó a sequedad, para obtener el intermedio 90. Este producto se empleó directamente en el siguiente paso de reacción.

b) Preparación del intermedio 91



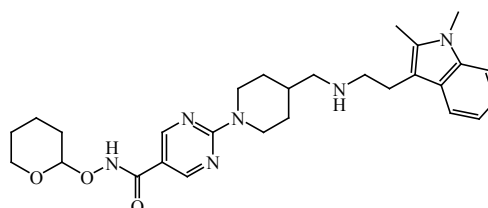
- 5 Una mezcla del intermedio 85 (0.0054 mol), el intermedio 90 (0.0075 mol) y carbonato de potasio (0.021 mol) en acetonitrilo (150 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante 2 días, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente, se vertió sobre agua helada y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (1.88 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 97/3/0.1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.15 g (7%) del intermedio 91.

c) Preparación del intermedio 92



- 10 Una mezcla del intermedio 91 (0.0003 mol) en hidróxido de sodio (0.0014 mol) y EtOH (20 ml) se agitó y se calentó a reflujo durante un día, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó a sequedad. Se añadió éter dietílico al residuo. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.12 g (82%) del intermedio 92; punto de fusión > 260 °C.

d) Preparación del intermedio 93



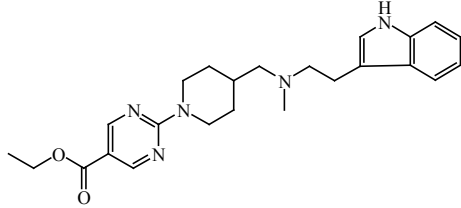
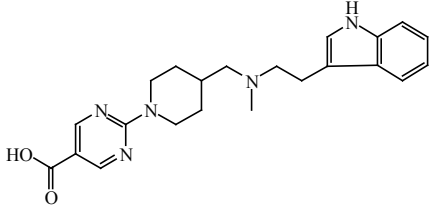
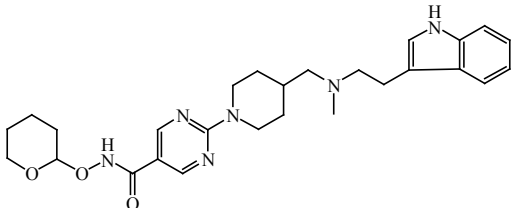
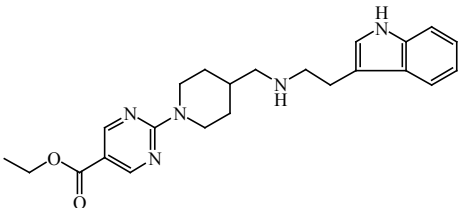
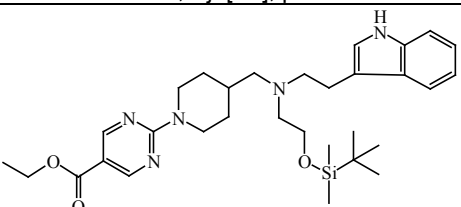
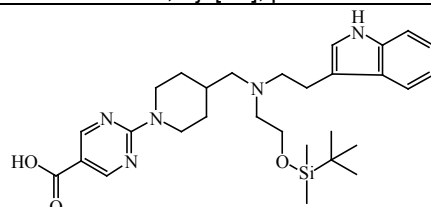
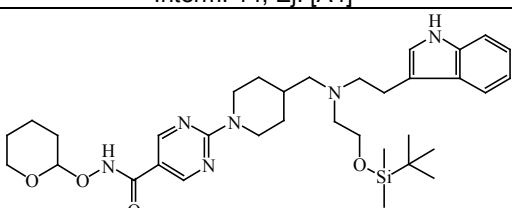
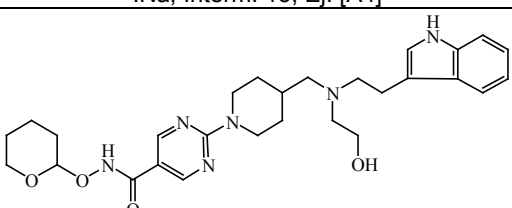
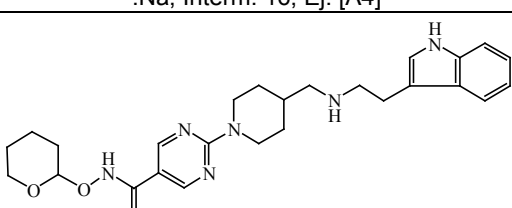
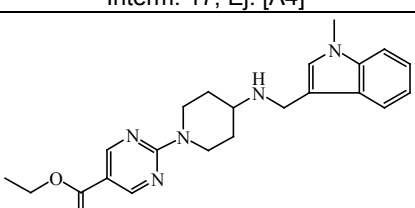
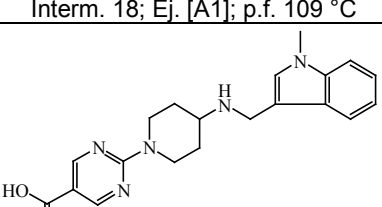
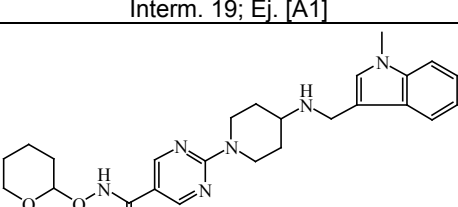
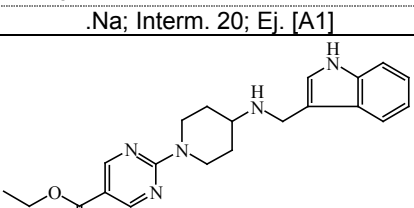
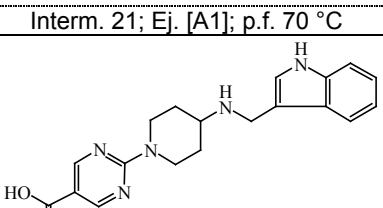
- 15 Se añadieron EDC (0.0005 mol) y HOBT (0.0005 mol) a temperatura ambiente a una solución del intermedio 92 (0.0002 mol) en THF (15 ml) y DCM (15 ml). La mezcla se agitó durante 15 minutos. Se añadió *O*-(tetrahydro-2H-piran-2-yl)hidroxilamina (0.0005 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días, se vertió sobre agua helada y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo (0.14 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (10 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 95/5/0.3). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.035 g (25%) del intermedio 93.

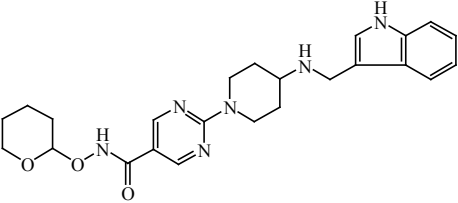
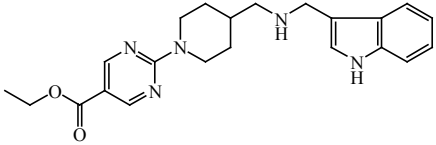
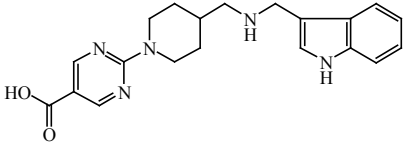
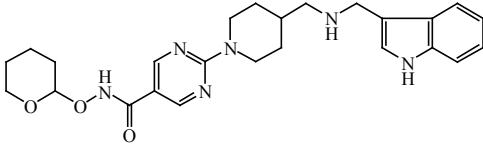
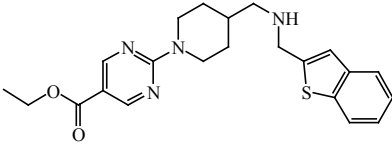
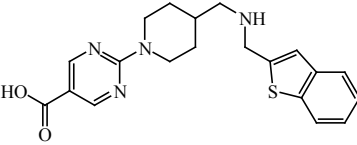
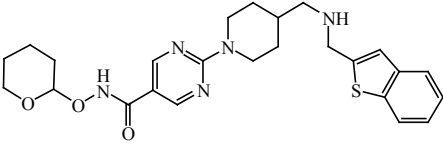
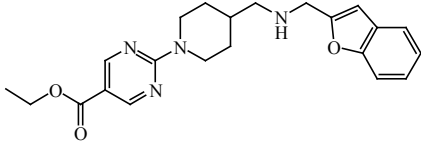
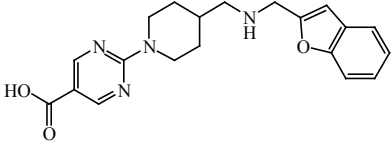
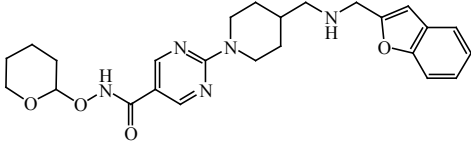
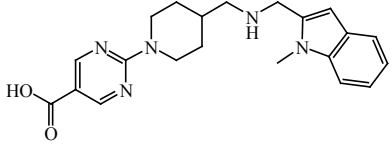
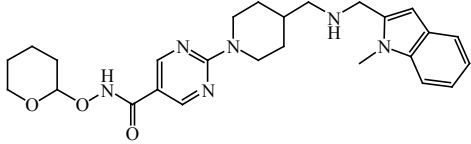
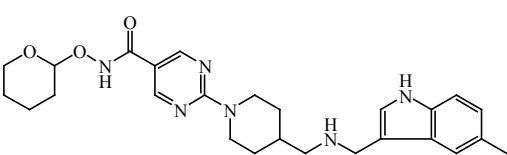
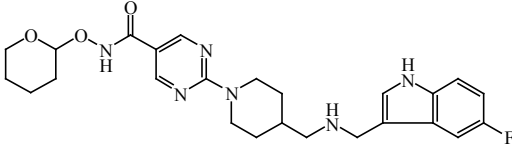
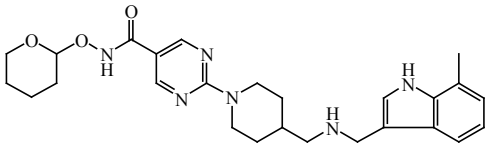
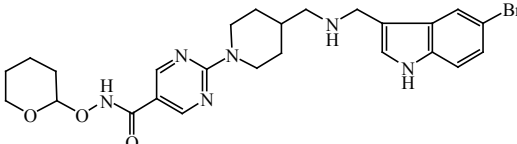
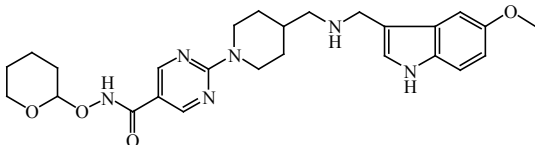
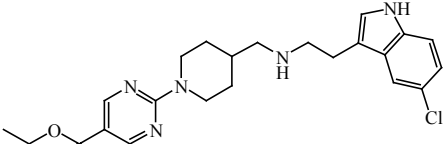
La Tabla F-1 enumera los intermedios preparados de acuerdo con uno de los ejemplos anteriores.

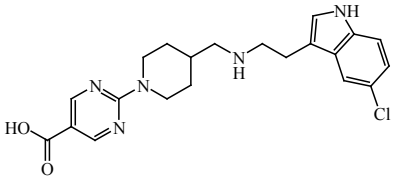
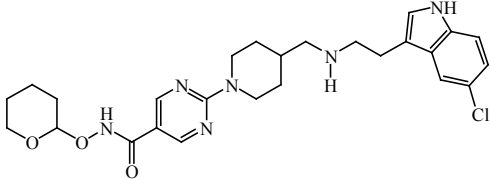
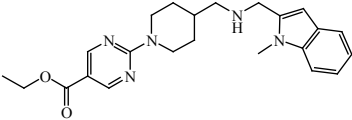
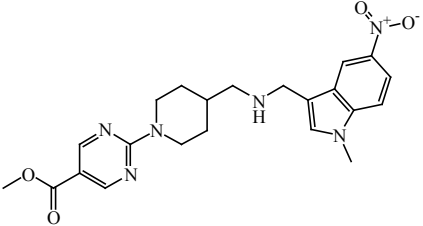
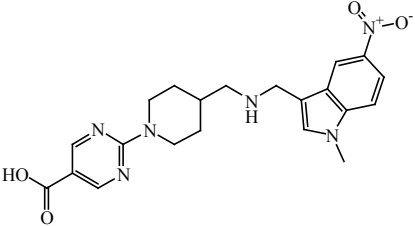
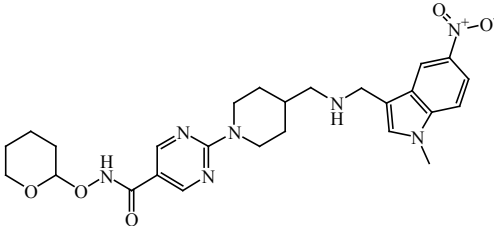
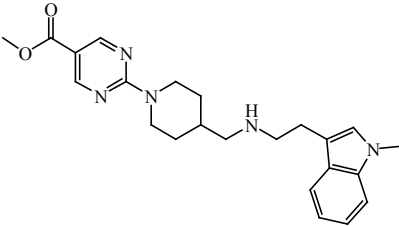
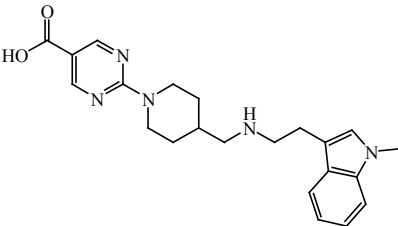
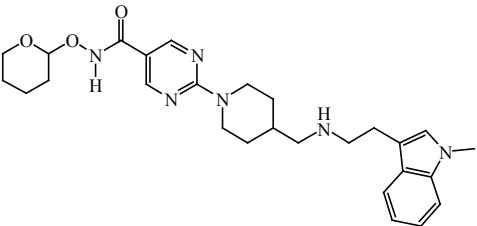
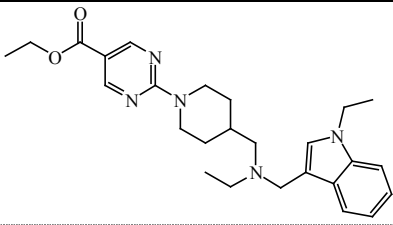
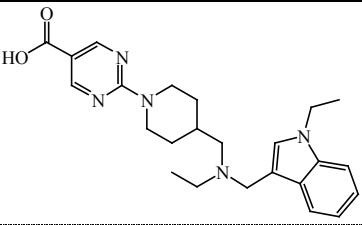
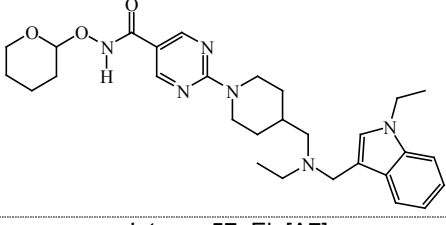
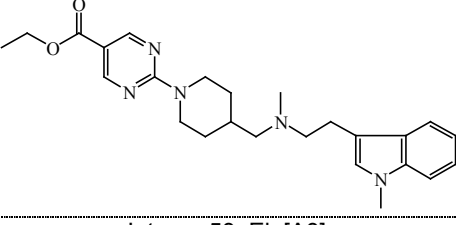
25

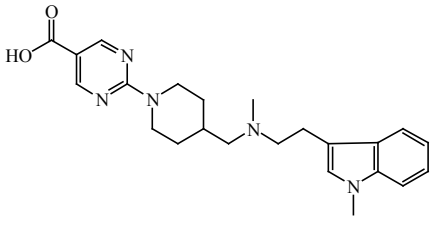
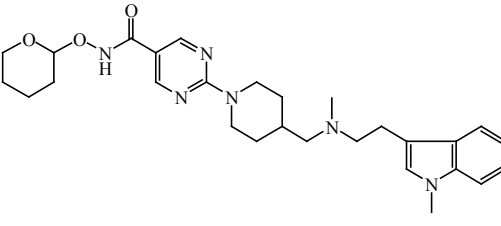
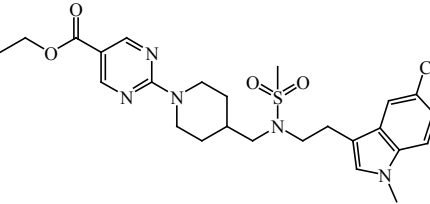
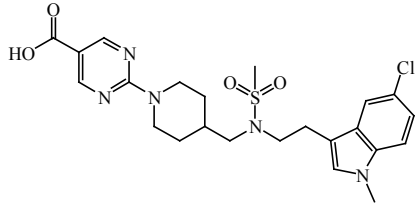
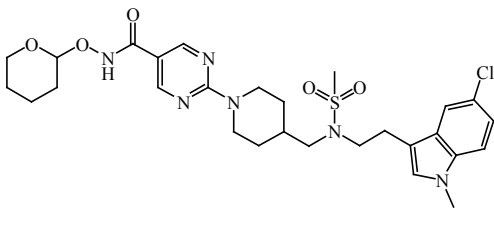
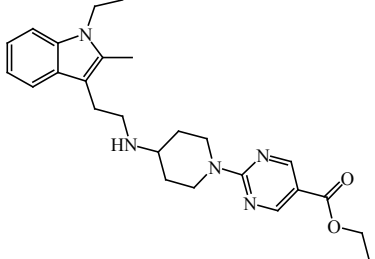
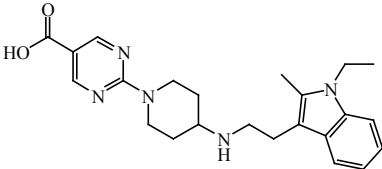
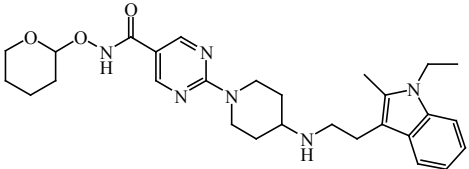
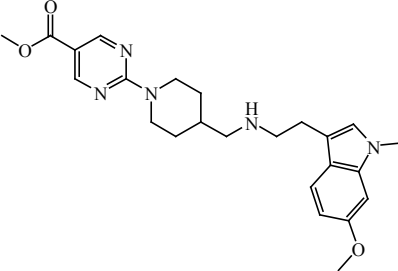
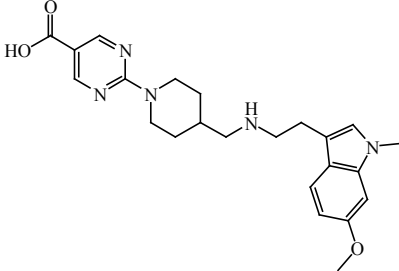
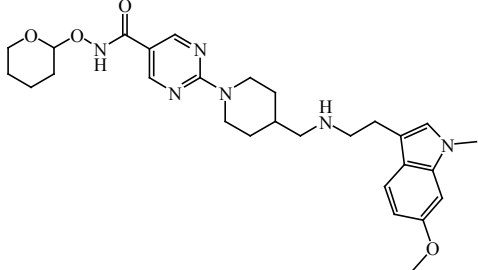
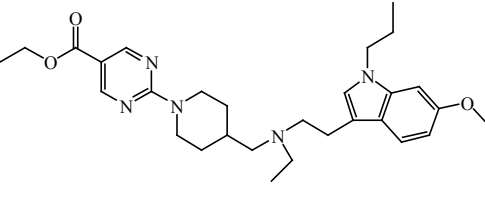
Tabla F-1 (intermedios)

Interm. 1; Ej. [A1]	Interm. 2; Ej. [A1]; p.f. > 260 °C
Interm. 3; Ej. [A1]; p.f. 70 °C	Interm. 7; Ej. [A2]

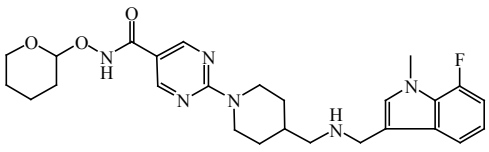
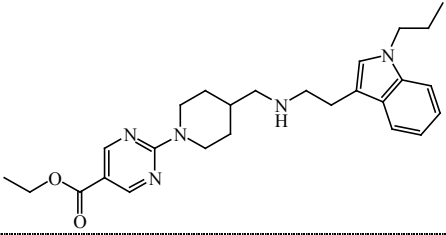
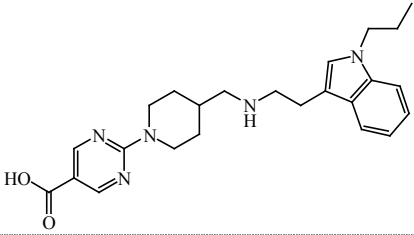
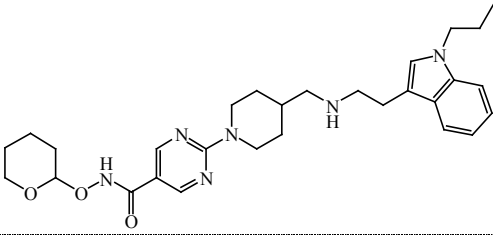
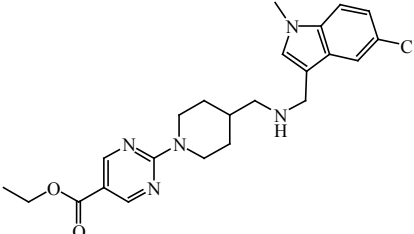
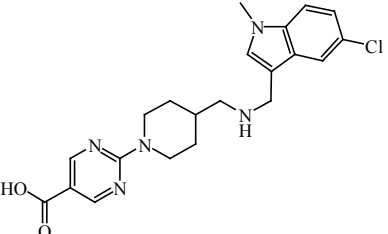
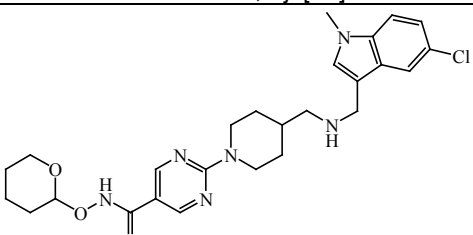
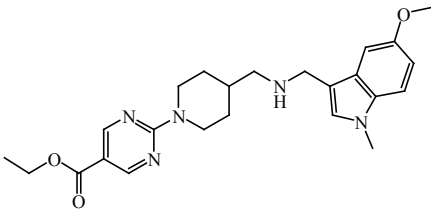
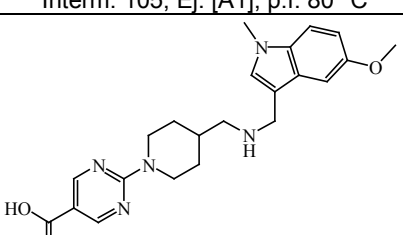
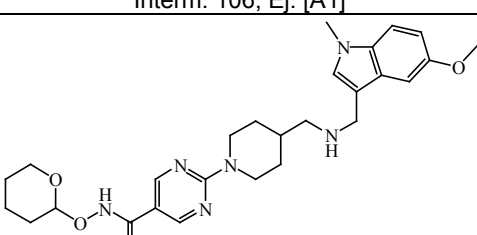
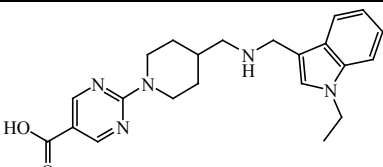
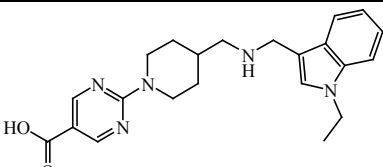
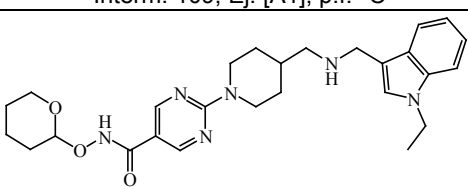
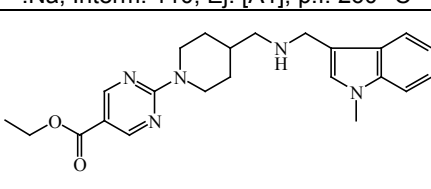
	
Interm. 10; Ej. [A3]	.Na; Interm. 11; Ej. [A3]; p.f. > 260 °C
	
Interm. 12; Ej. [A3]; p.f. 154 °C	Interm. 13; Ej. [A4]; p.f. 238 °C
	
Interm. 14; Ej. [A4]	.Na; Interm. 15; Ej. [A4]
	
.Na; Interm. 16; Ej. [A4]	Interm. 17; Ej. [A4]
	
Interm. 18; Ej. [A1]; p.f. 109 °C	Interm. 19; Ej. [A1]
	
.Na; Interm. 20; Ej. [A1]	Interm. 21; Ej. [A1]; p.f. 70 °C
	
Interm. 22; Ej. [A1]; p.f. 159 °C	.Na; Interm. 23; Ej. [A1]

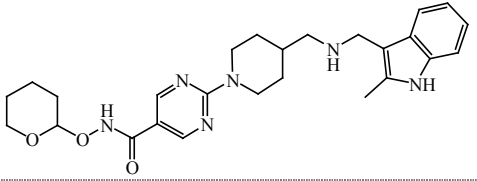
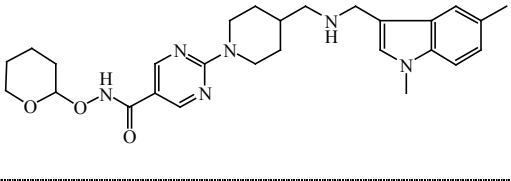
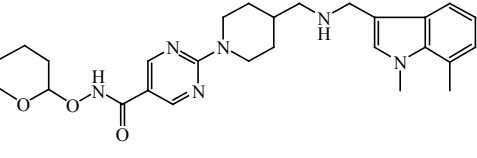
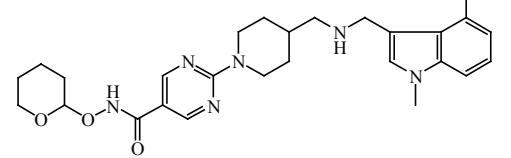
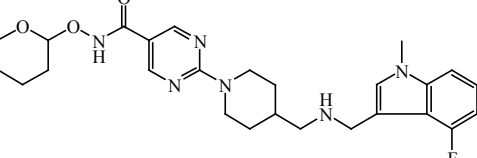
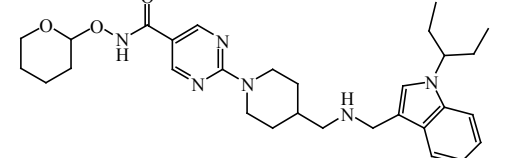
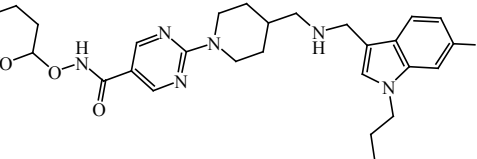
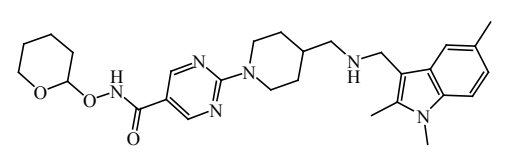
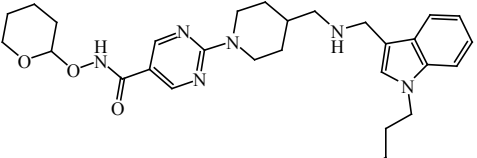
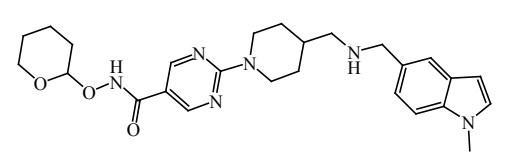
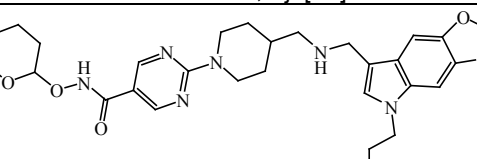
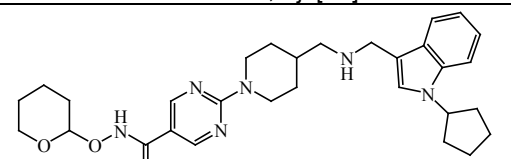
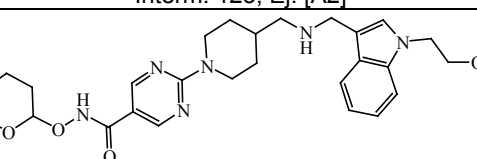
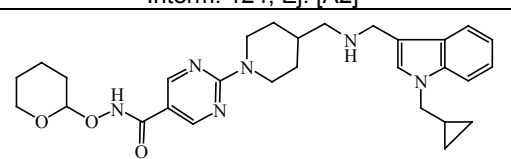
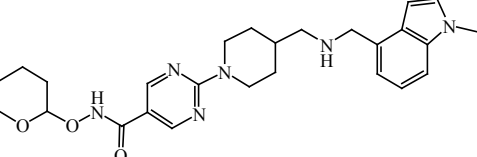
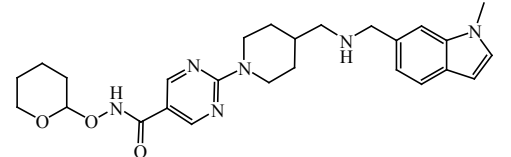
	
Interm. 24; Ej. [A1]; p.f. 100 °C	Interm. 25; Ej. [A1]; p.f. 120 °C
	
Interm. 26; Ej. [A1]	Interm. 27; Ej. [A1]; p.f. 84 °C
	
Interm. 28; Ej. [A1]; p.f. 83 °C	.Na; Interm. 29; Ej. [A1]
	
Interm. 30; Ej. [A1]	Interm. 31; Ej. [A1]; p.f. 85 °C
	
.Na; Interm. 32; Ej. [A1]	Interm. 33; Ej. [A1]
	
.Na; Interm. 34; Ej. [A1]	Interm. 35; Ej. [A1]
	
Interm. 36; Ej. [A2]	Interm. 37; Ej. [A2]
	
Interm. 38; Ej. [A2]; p.f. 173 °C	Interm. 39; Ej. [A2]
	
Interm. 40; Ej. [A2]; p.f. 110 °C	Interm. 41; Ej. [A3]; p.f. 240 °C

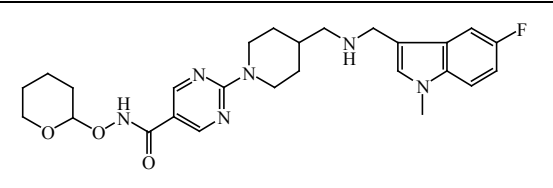
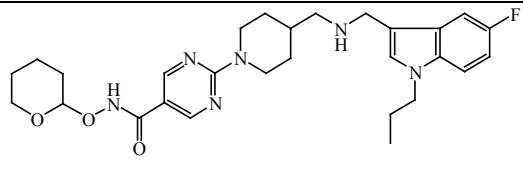
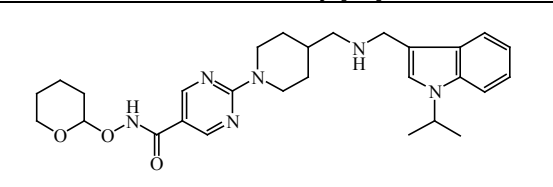
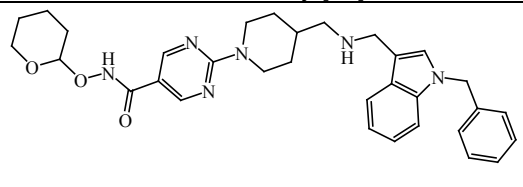
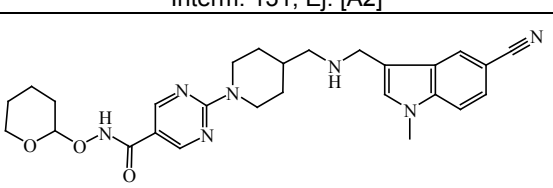
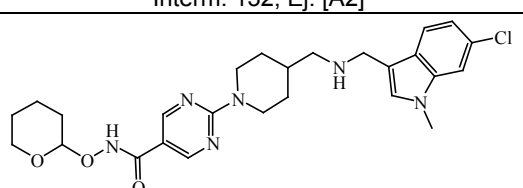
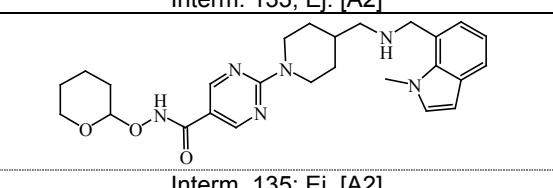
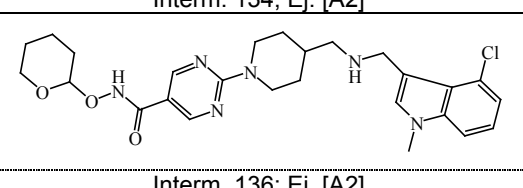
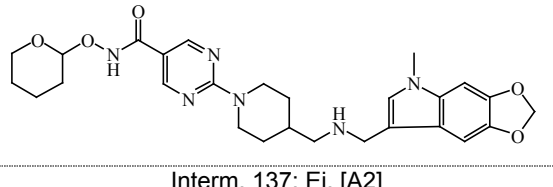
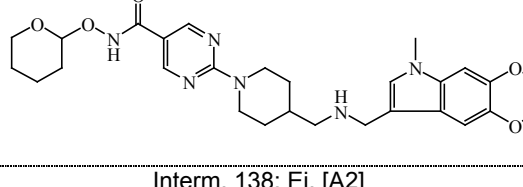
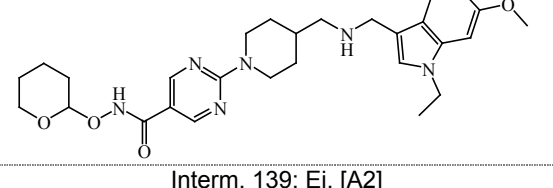
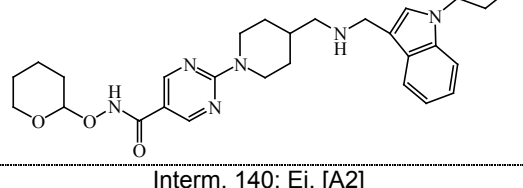
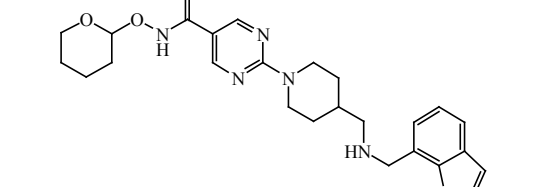
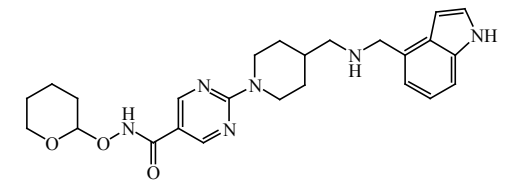
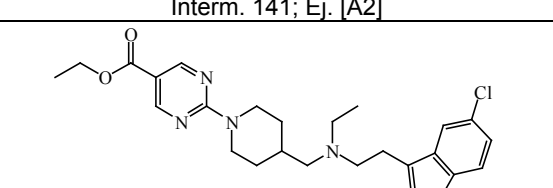
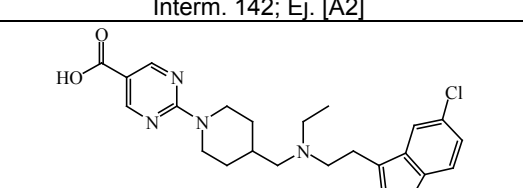
	
.Na; Interm. 42; Ej. [A3]	Interm. 43; Ej. [A3]; p.f. 88°C
	
Interm. 44; Ej. [A1]	
	
Interm. 46; Ej. [A5]; p.f. 150 °C	.Na; Interm. 47; Ej. [A5]
	
Interm. 48; Ej. [A5]	Interm. 51; Ej. [A6]
	
.Na; Interm. 52; Ej. [A6]	Interm. 53; Ej. [A6]
	
Interm. 55; Ej. [A7]	.Na; Interm. 56; Ej. [A7]
	
Interm. 57; Ej. [A7]	Interm. 58; Ej. [A8]

	
.Na; Interm. 59; Ej. [A8]	Interm. 60; Ej. [A8]
	
Interm.63; Ej. [A9]; p.f. 162 °C	.Na; Interm. 64; Ej. [A9]; p.f. > 260 °C
	
Interm. 65 ; Ej. [A9]; p.f. 179 °C	Interm. 70; Ej. [A11]
	
.Na; Interm. 71; Ej. [A11]	Interm. 72; Ej. [A11]
	
Interm. 73; Ej. [A12]; p.f. 122 °C	.Na; Interm. 74; Ej. [A12]
	
Interm. 75; Ej. [A12]	Interm. 80; Ej. [A13]

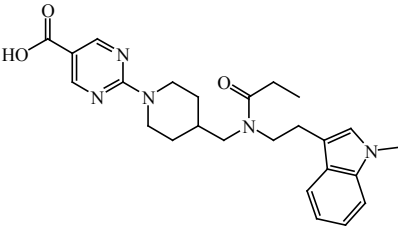
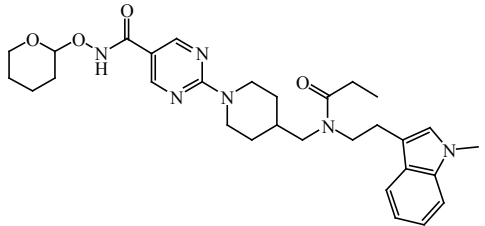
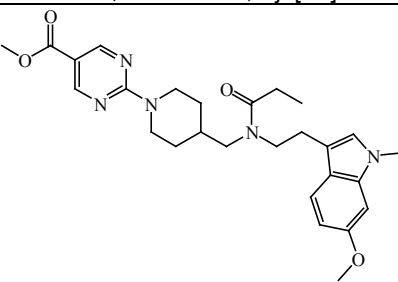
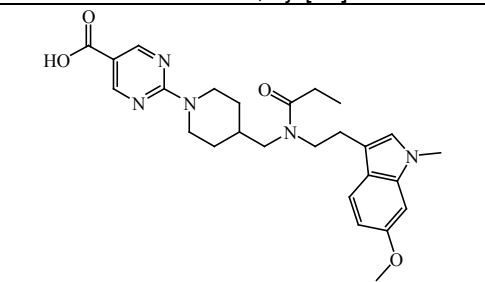
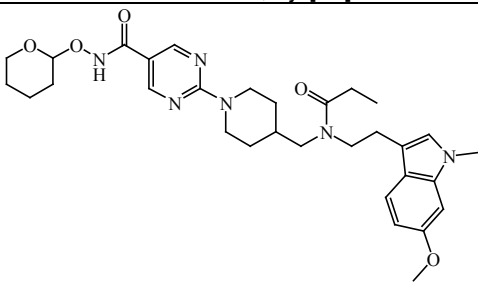
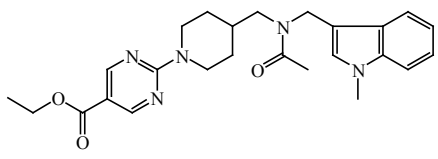
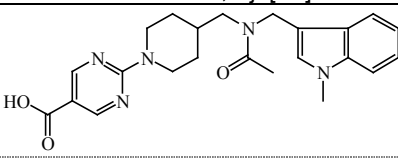
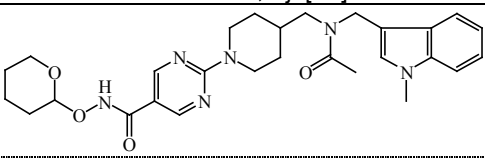
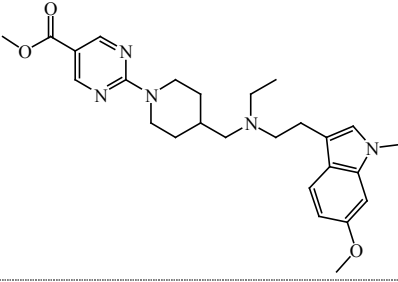
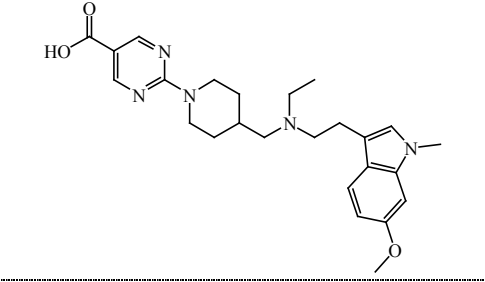
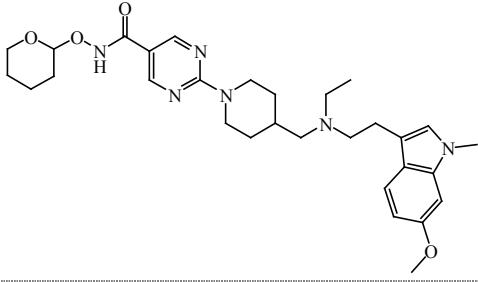
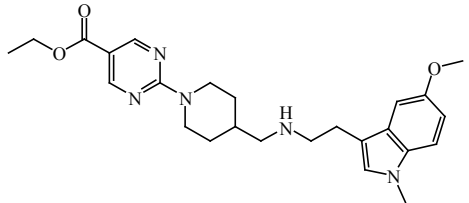
.Na; Interm. 81; Ej. [A13]; p.f. > 260 °C	Interm. 82; Ej. [A13]
Interm. 62; Ej. [A9]	.Na; Interm. 83; Ej. [A14]; p.f. > 260 °C
Interm. 84; Ej. [A14]	Interm. 87; Ej. [A16]
.Na; Interm. 88; Ej. [A16]; p.f. > 260 °C	Interm. 89; Ej. [A16]
Interm. 91; Ej. [A17]	.Na; Interm. 92; Ej. [A17]; p.f. > 260 °C
Interm. 93; Ej. [A17]	Interm. 94; Ej. [A1]
.Na; Interm. 95; Ej. [A1]	Interm. 96; Ej. [A1]
Interm. 97; Ej. [A1]	.Na; Interm. 98; Ej. [A1]

	
Interm. 99; Ej. [A1]	Interm. 100; Ej. [A1]
	
.Na; Interm. 101; Ej. [A1]; p.f. > 260 °C	Interm. 102; Ej. [A1]
	
Interm. 103; Ej. [A1]	.Na; Interm. 104; Ej. [A1]; p.f. > 260 °C
	
Interm. 105; Ej. [A1]; p.f. 80 °C	Interm. 106; Ej. [A1]
	
.Na; Interm. 107; Ej. [A1]; p.f. > 260 °C	Interm. 108; Ej. [A1]; p.f. 80 °C
	
Interm. 109; Ej. [A1]; p.f. °C	.Na; Interm. 110; Ej. [A1]; p.f. 260 °C
	
Interm. 111; Ej. [A1]	Interm. 112; Ej. [A1]

	
Interm. 113; Ej. [A1]	Interm. 114; Ej. [A2]
	
Interm. 115; Ej. [A2]	Interm. 116; Ej. [A2]
	
Interm. 117; Ej. [A2]	Interm. 118; Ej. [A2]
	
Interm. 119; Ej. [A2]	Interm. 120; Ej. [A2]
	
Interm. 121; Ej. [A2]	Interm. 122; Ej. [A2]
	
Interm. 123; Ej. [A2]	Interm. 124; Ej. [A2]
	
Interm. 125; Ej. [A2]	Interm. 126; Ej. [A2]
	
Interm. 127; Ej. [A2]	Interm. 128; Ej. [A2]

	
Interm. 129; Ej. [A2]	Interm. 130; Ej. [A2]
	
Interm. 131; Ej. [A2]	Interm. 132; Ej. [A2]
	
Interm. 133; Ej. [A2]	Interm. 134; Ej. [A2]
	
Interm. 135; Ej. [A2]	Interm. 136; Ej. [A2]
	
Interm. 137; Ej. [A2]	Interm. 138; Ej. [A2]
	
Interm. 139; Ej. [A2]	Interm. 140; Ej. [A2]
	
Interm. 141; Ej. [A2]	Interm. 142; Ej. [A2]
	
Interm. 143; Ej. [A7]	.Na; Interm. 144; Ej. [A7]; p.f. > 260 °C

Interm. 145; Ej. [A7]	Interm. 146; Ej. [A7]
.Na; Interm. 147; Ej. [A7]; p.f. > 260 °C	Interm. 148; Ej. [A7]
Interm. 149; Ej. [A7]	.Na; Interm. 150; Ej. [A7]
Interm. 151; Ej. [A7]	Interm. 152; Ej. [A7]
.Na; Interm. 153; Ej. [A7]	Interm. 154; Ej. [A7]
Interm. 155; Ej. [A9]	.Na; Interm. 156; Ej. [A9]; p.f. > 260 °C
Interm. 157; Ej. [A9]	Interm. 158; Ej. [A9]

	
.Na; Intern. 159; Ej. [A9]	Intern. 160; Ej. [A9]
	
Intern. 161; Ej. [A9]	.Na; Intern. 162; Ej. [A9]; p.f. > 260 °C
	
Intern. 163; Ej. [A9]	Intern. 164; Ej. [A9]
	
.Na; Intern. 165; Ej. [A9]	Intern. 166; Ej. [A9]
	
Intern. 167; Ej. [A12]	.Na; Intern. 168; Ej. [A12]; p.f. > 260 °C
	
Intern. 169; Ej. [A12]; p.f. 80 °C	Intern. 170; Ej. [A13]

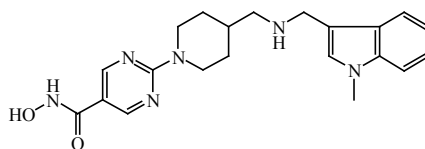
.Na; Interm. 171; Ej. [A13]	Interm. 172; Ej. [A13]
Interm. 173; Ej. [A13]; p.f. 173 °C	.Na; Interm. 174; Ej. [A13]; p.f. > 260 °C
Interm. 175; Ej. [A13]	Interm. 176; Ej. [A17]
.Na; Interm. 177; Ej. [A17]; p.f. > 260 °C	Interm.178 ; Ej. [A17]

B. Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B1

5

Preparación del compuesto 1a

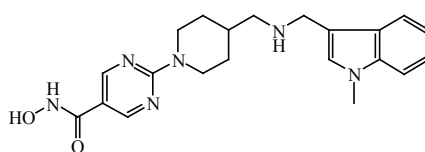
.C₂HF₃O₂

Se añadió TFA (2 ml) a una mezcla del intermedio 3 (0.0006 mol) en MeOH (40 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 horas. Se evaporó el disolvente. El residuo se cristalizó en EtOAc/éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.31 g (86%) del compuesto 1a; punto de fusión: 130 °C.

10

Síntesis alternativa del compuesto 1

Preparación del compuesto 1b



.2HCl

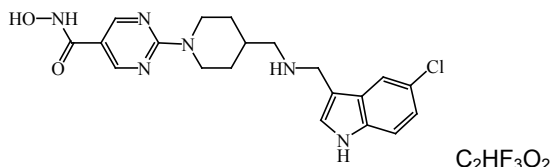
15

Se añadió hidroxilamina (50% en agua, 7.5 ml) y a continuación NaOH 1 N (15 ml) a 10 °C a una mezcla del intermedio 1 (0.0098 mol) en MeOH (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La

mezcla se acidificó hasta un pH de 5-6 añadiendo una solución de HCl 1 N. El precipitado se separó por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó. El residuo (4.5 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice LiChroprep® NH2 (25-40 µm) (eluyente: DCM/MeOH/H₂O 90/10/1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 3.1 g (80%). La sal clorhídrica se preparó con una fracción (0.5 g) en EtOH y el precipitado se separó por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó, para obtener 0.43 g del compuesto 1b; punto de fusión: 220 °C.

Ejemplo B2

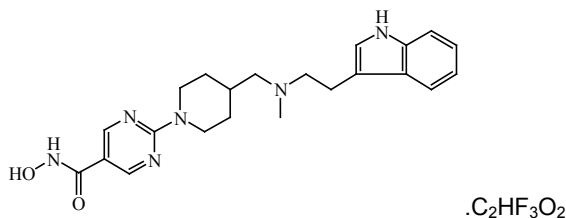
Preparación del compuesto 2



Se añadió TFA (0.5 ml) a una mezcla del intermedio 7 (0.0001 mol) en MeOH (10 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se evaporó el disolvente. El residuo se cristalizó en acetonitrilo/éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.036 g (50%) del compuesto 2; punto de fusión: 205 °C.

Ejemplo B3

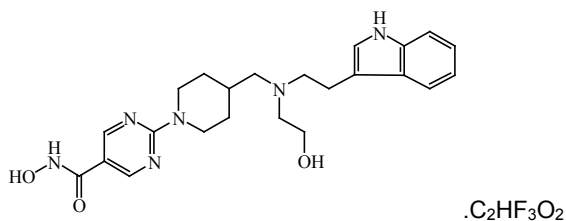
Preparación del compuesto 3



Se añadió TFA (5 ml) a temperatura ambiente a una mezcla del intermedio 12 (0.0014 mol) en MeOH (100 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. Se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo se cristalizó en EtOAc/éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.545 g (74%) del compuesto 3; punto de fusión: 121 °C.

Ejemplo B4

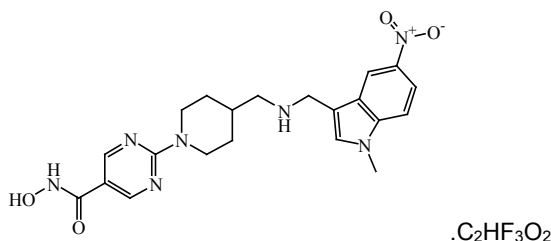
Preparación del compuesto 4



Se añadió TFA (0.5 ml) a una mezcla del intermedio 17 (0.0009 mol) en MeOH (80 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. Se evaporó el disolvente. El residuo se cristalizó en éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.19 g (32%) del compuesto 4; punto de fusión: 103°C.

Ejemplo B5

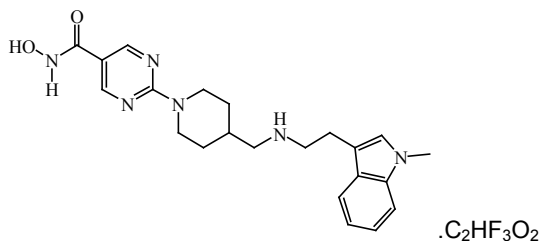
Preparación del compuesto 18



Una mezcla del intermedio 48 (0.0002 mol) en TFA (0.75 ml) y MeOH (15 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se evaporó el disolvente. El residuo se cristalizó en éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.071 g (59%) del compuesto 18.

5 Ejemplo B6

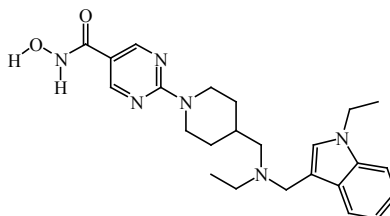
Preparación del compuesto 19



10 Una mezcla del intermedio 53 (0.0003 mol) en TFA (1 ml) y MeOH (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo se cristalizó en MeOH/CH₃CN/éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.133 g (80%) del compuesto 19; punto de fusión: 174 °C.

Ejemplo B7

Preparación del compuesto 20

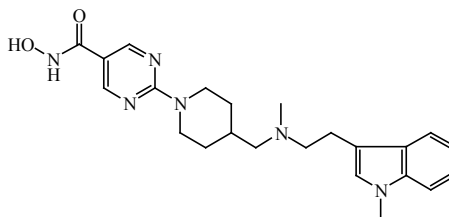


15 Una mezcla del intermedio 57 (0.00005 mol) en TFA (0.25 ml) y MeOH (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se evaporó el disolvente. El residuo (0.04 g) se cristalizó en CH₃CN/éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó. El residuo (0.04 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice LiChroprep® NH₂ (25-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/H₂O 80/20/2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.02 g (80%) del compuesto 20; punto de fusión: 90 °C.

20

Ejemplo B8

Preparación del compuesto 21

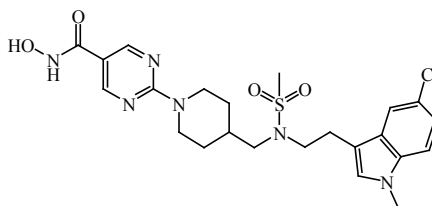


25 Una mezcla del intermedio 60 (0.0001 mol) en TFA (0.5 ml) y MeOH (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se evaporó el disolvente. El residuo (0.15 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice LiChroprep® NH₂ (25-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/H₂O 80/20/2). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente, para obtener 0.064 g (78%) del compuesto 21; punto de fusión: 83 °C.

Ejemplo B9

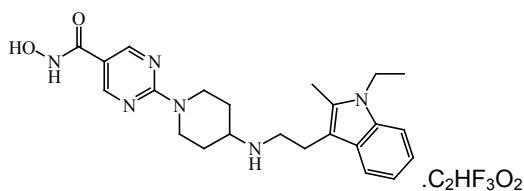
30

Preparación del compuesto 22



Una mezcla del intermedio 65 (0.002 mol) en TFA (6 ml) y MeOH (120 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo se cristalizó en CH₃CN/MeOH/éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.9 g (87%) del compuesto 22; punto de fusión: 183 °C.

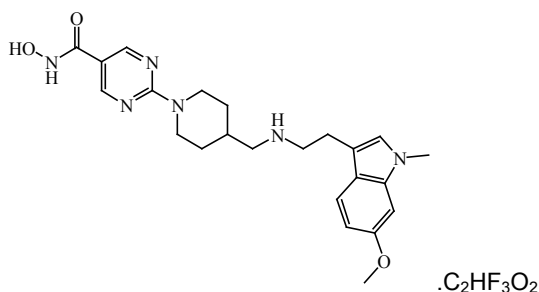
Preparación del compuesto 23



5 Una mezcla del intermedio 72 (0.0001 mol) en TFA (0.5 ml) y MeOH (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. Se evaporó el disolvente. El residuo se cristalizó en éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.059 g (59%) del compuesto 23; punto de fusión: 182 °C.

10 Ejemplo B11

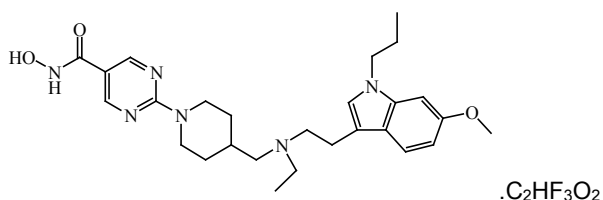
Preparación del compuesto 24



15 Una mezcla del intermedio 75 (0.0003 mol) en TFA (1 ml) y MeOH (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo se cristalizó en MeOH/CH₃CN/éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.147 g (78%) del compuesto 24; punto de fusión: 160 °C.

Ejemplo B12

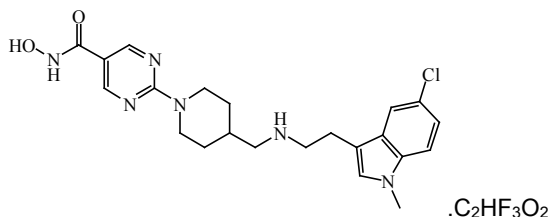
Preparación del compuesto 25



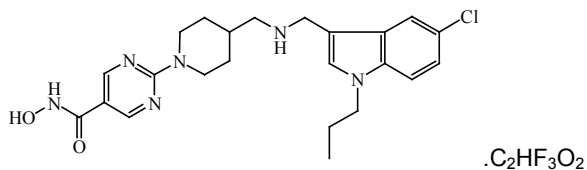
20 Una mezcla del intermedio 82 (0.0009 mol) en TFA (2.5 ml) y MeOH (56 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (25-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/H₂O 90/10/1). Se recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo se cristalizó en DIPE. El precipitado se separó por filtración y se secó, para obtener 0.286 g (53%) del compuesto 25; punto de fusión: 80 °C.

Ejemplo B13

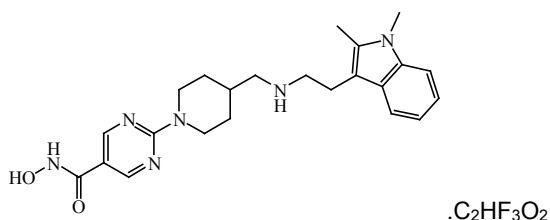
Preparación del compuesto 26



30 Una mezcla del intermedio 84 (0.0012 mol) en TFA (3 ml) y MeOH (60 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se evaporó el disolvente a sequedad. El residuo se cristalizó en DCM/MeOH. El precipitado se separó por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó, para obtener 0.322 g (50%) del compuesto 26; punto de fusión: 188 °C.

Preparación del compuesto 27.

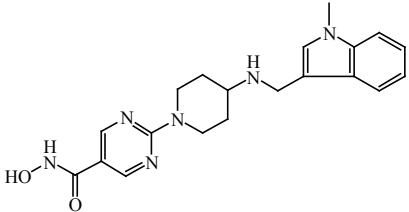
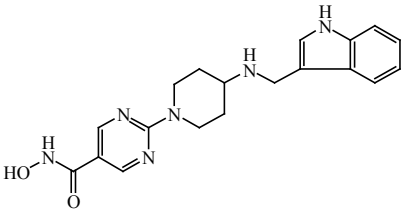
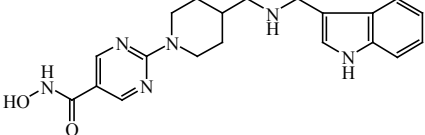
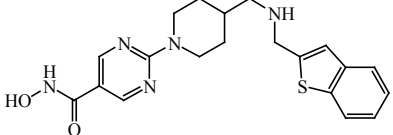
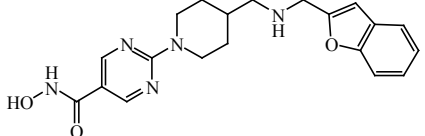
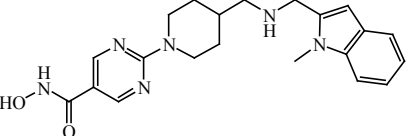
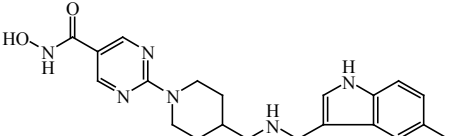
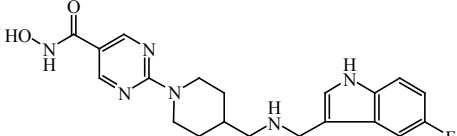
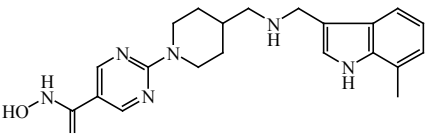
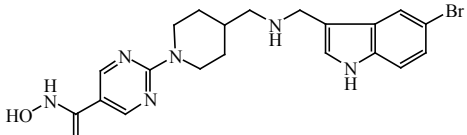
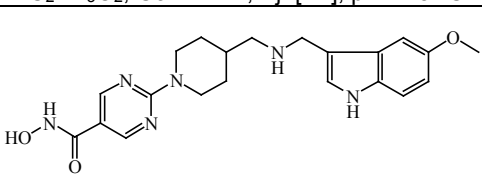
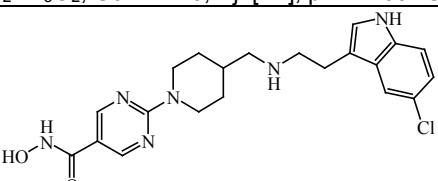
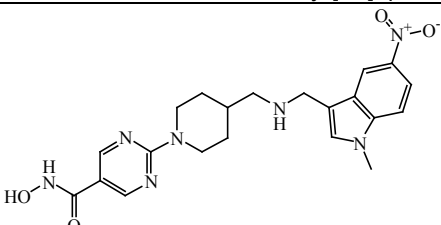
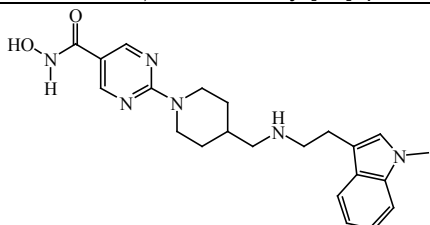
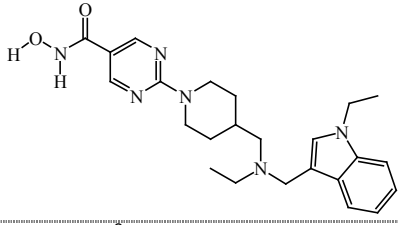
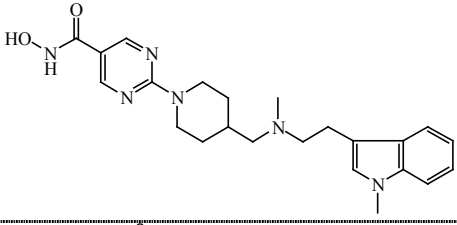
- 5 Una mezcla del intermedio 89 (0.001 mol) en TFA (2.5 ml) y MeOH (50 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, a continuación se evaporó a sequedad. El residuo se cristalizó en MeOH/CH₃CN/éter dietílico. El precipitado se separó por filtración, se lavó con agua y se secó, para obtener 0.33 g (55%) del compuesto 27; punto de fusión: 171 °C.

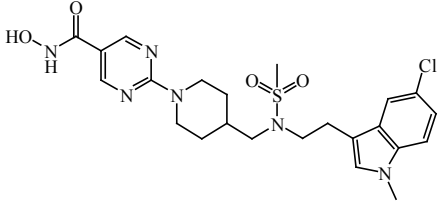
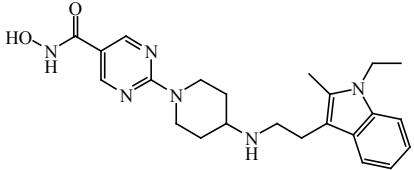
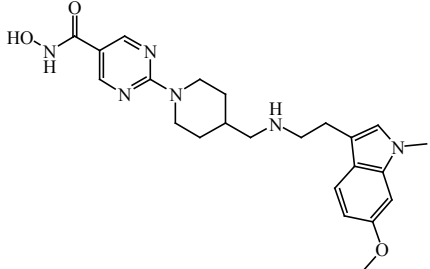
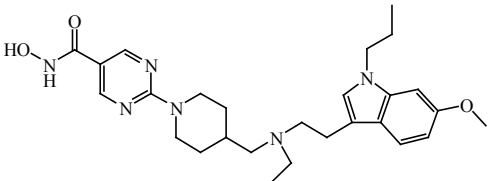
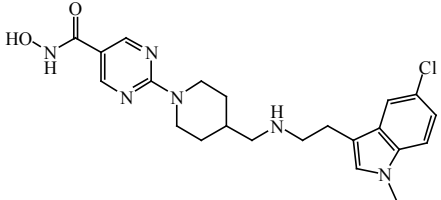
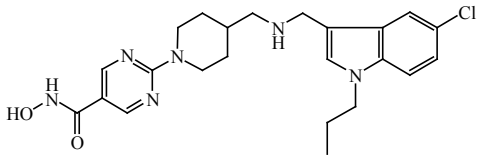
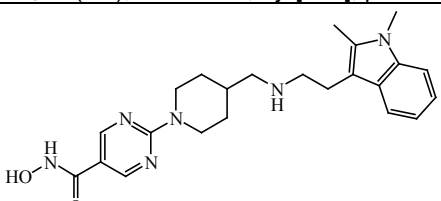
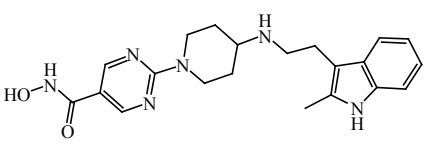
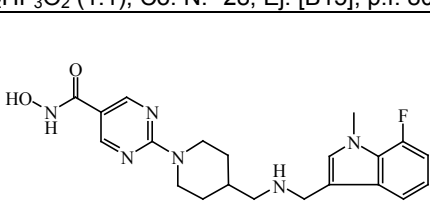
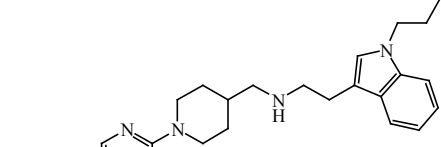
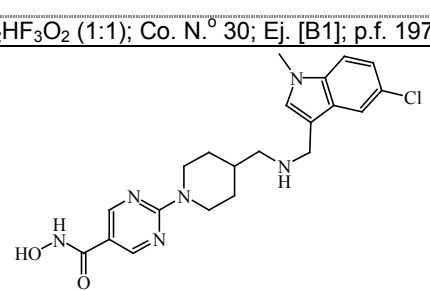
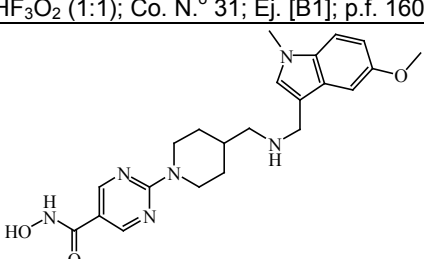
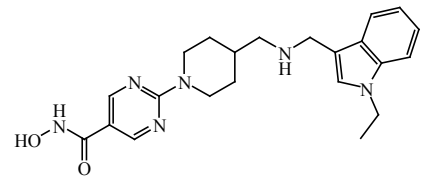
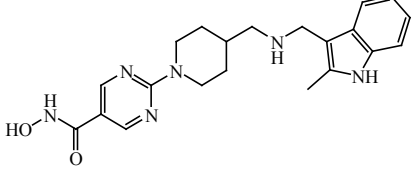
Ejemplo B15Preparación del compuesto 28.

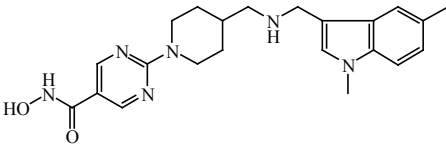
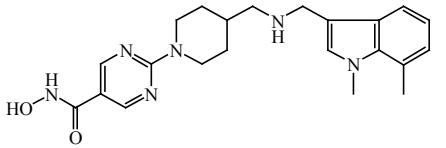
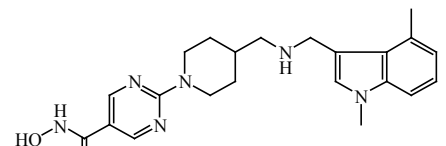
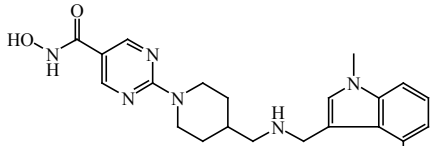
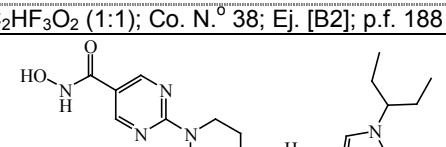
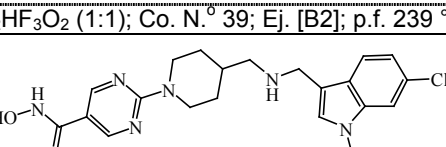
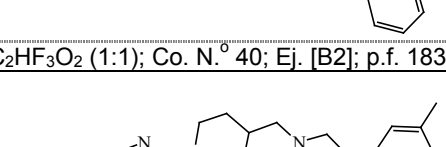
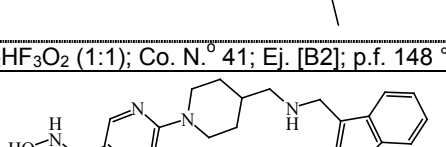
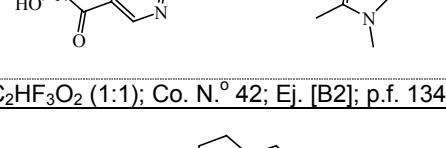
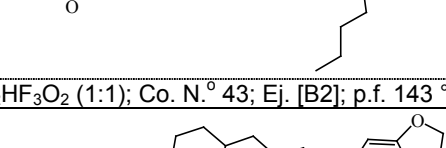
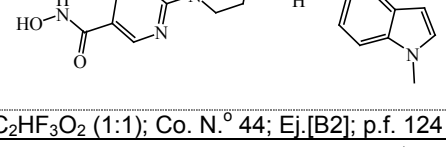
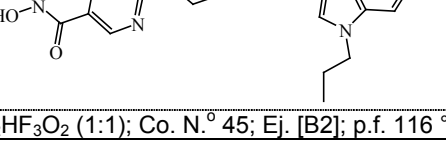
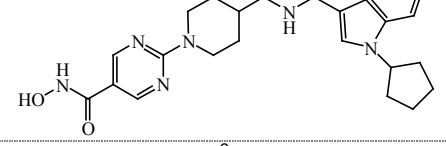
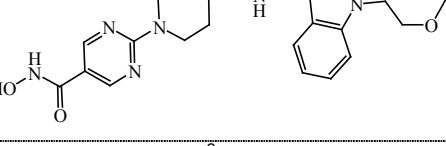
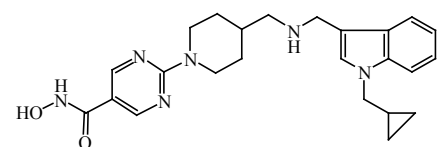
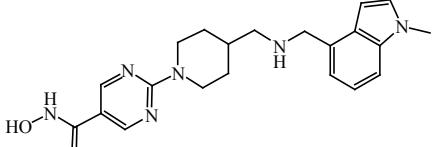
- 10 Una mezcla del intermedio 93 (0.00007 mol) en TFA (0.2 ml) y MeOH (4 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días, a continuación se evaporó a sequedad, para obtener 0.041 g (100%) del compuesto 28; punto de fusión: 80 °C.
- 15 La Tabla F-2 enumera los compuestos preparados de acuerdo con uno de los ejemplos anteriores. Se emplearon las siguientes abreviaturas en las tablas: .C₂HF₃O₂ se refiere a la sal trifluoroacética y p.f. se refiere al punto de fusión.

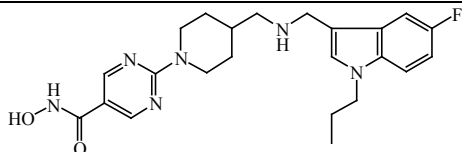
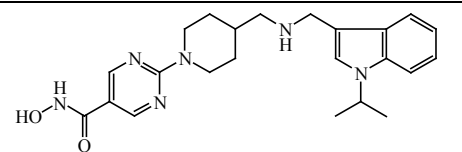
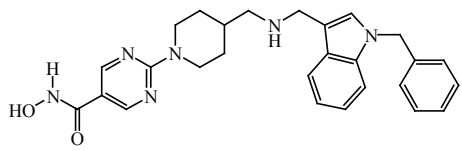
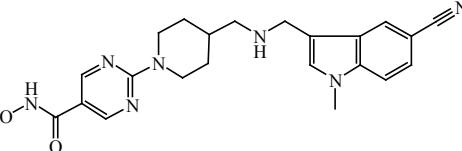
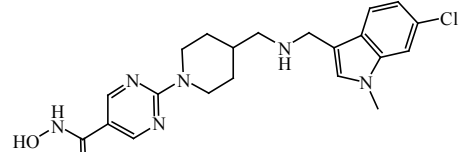
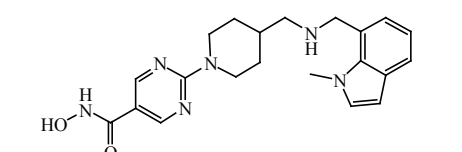
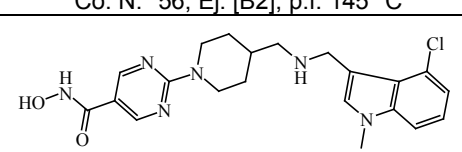
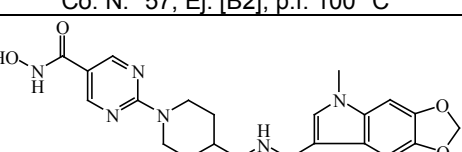
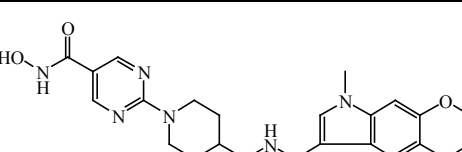
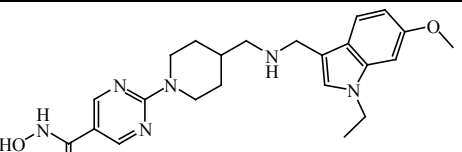
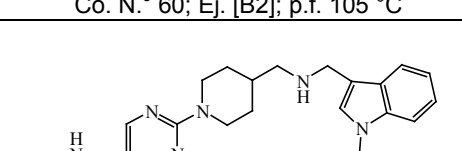
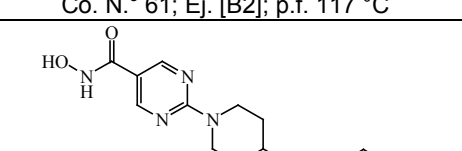
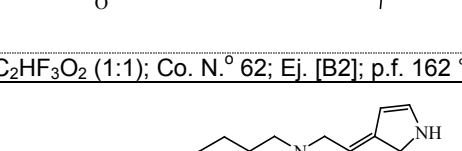
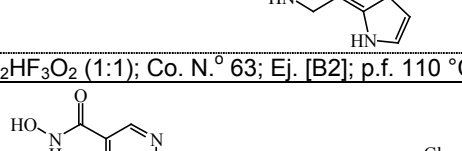
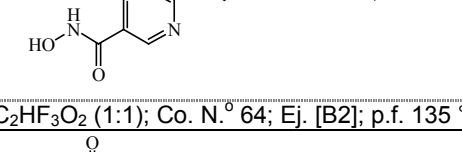
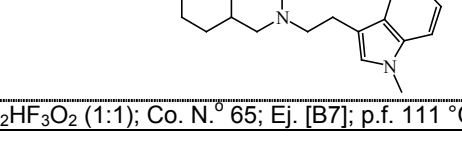
Tabla F-2 (compuestos finales)

<p>.C₂HF₃O₂; Co. N.º 1a; Ej. [B1]; p.f. 163 °C</p>	<p>.HCl; Co. N.º 1b; Ej. [B1]; p.f. 220 °C</p>
<p>.C₂HF₃O₂; Co. N.º 2; Ej. [B2]; p.f. 205 °C</p>	<p>Co. N.º 3; Ej. [B3]; p.f. 121 °C</p>
<p>.C₂HF₃O₂; Co. N.º 4; Ej. [B4]; p.f. 103 °C</p>	<p>.C₂HF₃O₂; Co. N.º 5; Ej. [B1]; p.f. 120 °C</p>

	
.C ₂ HF ₃ O ₂ ; Co. N.º 6; Ej. [B1]; p.f. 132 °C	C ₂ HF ₃ O ₂ ; Co. N.º 7; Ej. [B1]; p.f. 136 °C
	
C ₂ HF ₃ O ₂ ; Co. N.º 8; Ej. [B1]; p.f. 110 °C	C ₂ HF ₃ O ₂ ; Co. N.º 9; Ej. [B1]; p.f. 217 °C
	
C ₂ HF ₃ O ₂ ; Co. N.º 10; Ej. [B1]; p.f. 192 °C	C ₂ HF ₃ O ₂ ; Co. N.º 11; Ej. [B1]; p.f. 186 °C
	
C ₂ HF ₃ O ₂ . H ₂ O; Co. N.º 12; Ej. [B2]; p.f. 192 °C	C ₂ HF ₃ O ₂ ; Co. N.º 13; Ej. [B2]; p.f. 202 °C
	
C ₂ HF ₃ O ₂ ; Co. N.º 14; Ej. [B2]; p.f. 145 °C	C ₂ HF ₃ O ₂ ; Co. N.º 15; Ej. [B2]; p.f. > 260 °C
	
2 C ₂ HF ₃ O ₂ . 1/2 H ₂ O; Co. N.º 16; Ej. [B2]; p.f. 180 °C	.C ₄ H ₁₀ O .C ₂ HF ₃ O ₂ ; Co. N.º 17; Ej. [B3]; p.f. 138 °C
	
.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 18; Ej. [B5]	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 19; Ej. [B6]; p.f. 174 °C
	
Co. N.º 20; Ej. [B7]; p.f. 90 °C	Co. N.º 21; Ej. [B8]; p.f. 83 °C

	
<p>Co. N.º 22; Ej. [B9]; p.f. 183 °C</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 23; Ej. [B10]; p.f. 182 °C</p>
	
<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 24; Ej. [B11]; p.f. 160 °C</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 25; Ej. [B12]; p.f. 80 °C</p>
	
<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 26; Ej. [B13]; p.f. 188 °C</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 27; Ej. [B14]; p.f. 171 °C</p>
	
<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 28; Ej. [B15]; p.f. 80 °C</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 29; Ej. [B1]; p.f. 173 °C</p>
	
<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 30; Ej. [B1]; p.f. 197 °C</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 31; Ej. [B1]; p.f. 160 °C</p>
	
<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 32; Ej. [B1]; p.f. 186 °C</p>	<p>.C₂HF₃O₂ (1:1); Co. N.º 33; Ej. [B1]; p.f. 196 °C</p>
	
<p>Co. N.º 34; Ej. [B1]; p.f. 287 °C</p>	<p>Co. N.º 35; Ej. [B1]</p>

	
.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 36; Ej. [B2]; p.f. > 300 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 37; Ej. [B2]; p.f. 189 °C
	
.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 38; Ej. [B2]; p.f. 188 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 39; Ej. [B2]; p.f. 239 °C
	
.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 40; Ej. [B2]; p.f. 183 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 41; Ej. [B2]; p.f. 148 °C
	
.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 42; Ej. [B2]; p.f. 134 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 43; Ej. [B2]; p.f. 143 °C
	
.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 44; Ej. [B2]; p.f. 124 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 45; Ej. [B2]; p.f. 116 °C
	
.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 46; Ej. [B2]; p.f. 183 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 47; Ej. [B2]; p.f. 161 °C
	
C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 48; Ej. [B2]; p.f. 181 °C	Co. N.° 49; Ej. [B2]; p.f. 104 °C
	
Co. N.° 50; Ej. [B2]; p.f. 114 °C	C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.° 51; Ej. [B2]; p.f. 140 °C

	
C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 52; Ej. [B2]; p.f. 114 °C	C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 53; Ej. [B2]; p.f. 178 °C
	
C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 54; Ej. [B2]; p.f. 159 °C	C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 55; Ej. [B2]; p.f. 144 °C
	
Co. N.º 56; Ej. [B2]; p.f. 145 °C	Co. N.º 57; Ej. [B2]; p.f. 100 °C
	
C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 58; Ej. [B2]; p.f. 130 °C	Co. N.º 59; Ej. [B2]; p.f. 122 °C
	
Co. N.º 60; Ej. [B2]; p.f. 105 °C	Co. N.º 61; Ej. [B2]; p.f. 117 °C
	
C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 62; Ej. [B2]; p.f. 162 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 63; Ej. [B2]; p.f. 110 °C
	
C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 64; Ej. [B2]; p.f. 135 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 65; Ej. [B7]; p.f. 111 °C
	
Co. N.º 66; Ej. [B7]; p.f. 88 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 67; Ej. [B7]; p.f. 119 °C

Co. N.º 68; Ej. [B7]; p.f. 210 °C	Co. N.º 69; Ej. [B9]; p.f. 110 °C
Co. N.º 70; Ej. [B9]; p.f. 80 °C	Co. N.º 71; Ej. [B9]; p.f. 114 °C
Co. N.º 72; Ej. [B9]; p.f. 219 °C	Co. N.º 73; Ej. [B11]; p.f. 98 °C
Co. N.º 74; Ej. [B12]; p.f. 149 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 75; Ej. [B12]; p.f. 184 °C
.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1); Co. N.º 76; Ej. [B15]; p.f. 164 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1.4); Co. N.º 77; Ej. [B5]; p.f. 190 °C
.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1.3); Co. N.º 78; Ej. [B2]; p.f. 114 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1.27); Co. N.º 79; Ej. [B1]; p.f. 189 °C

.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:2.24); Co. N.º 80; Ej. [B1]; p.f. 170 °C	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1.39); Co. N.º 81; Ej. [B1]
--	---

C. Ejemplo farmacológico:

5 El ensayo *in vitro* para la inhibición de la histona-desacetilasa (remítase al ejemplo C.1) evalúa la inhibición de la actividad enzimática de la HDAC obtenida con los compuestos de fórmula (I).

10 La actividad celular de los compuestos de fórmula (I) se determinó en células tumorales A2780, empleando un ensayo colorimétrico para la toxicidad o supervivencia de las células (Mosmann Tim, Journal of Immunological Methods 65: 55-63, 1983) (remítase al ejemplo C.2).

15 La solubilidad de un compuesto determina la capacidad del compuesto para permanecer en solución.

En un primer método, se determina la capacidad de un compuesto para permanecer en solución acuosa cuando se diluye (remítase al ejemplo C.3.a). Se diluyen soluciones patrón en DMSO con un único disolvente tampón acuoso en 3 pasos consecutivos. Para cada dilución, se mide la turbidez con un nefelómetro.

En un segundo método, se puede determinar la solubilidad de un compuesto a diferentes pH empleando un detector de nitrógeno por quimioluminiscencia (remítase al ejemplo C.3.b).

20 La permeabilidad de un fármaco expresa su capacidad para desplazarse de un medio a otro. Concretamente, su capacidad para desplazarse a través de la membrana intestinal hacia la corriente sanguínea y/o desde la corriente sanguínea hacia la diana. La permeabilidad (remítase al ejemplo C.4) se puede determinar mediante la formación de una bicapa de fosfolípidos que actúa como una membrana artificial inmovilizada en un filtro. En el ensayo de la membrana artificial inmovilizada en un filtro, se forma un "sándwich" con una placa de microvaloración de 96 pocillos y una placa de filtración de 96 pocillos, de manera que cada pocillo compuesto está dividido en dos cámaras, con una solución dadora en el fondo y una solución aceptora en la parte superior, separadas por un disco de microfiltración de 125 µm (poros de 0.45 µm), recubierto con una solución en dodecano al 2% (p/v) de dioleoilfosfatidilcolina, en unas condiciones en las que se forman bicapas multilamelares dentro de los canales del filtro cuando el sistema entra en contacto con una solución tampón acuosa. La permeabilidad de los compuestos a través de esta membrana artificial se mide en cm/s. El objetivo consiste en observar la permeabilidad de los fármacos a través de una membrana artificial paralela a 2 pH diferentes: 4.0 y 7.4. La detección del compuesto se lleva a cabo con espectrometría UV a una longitud de onda óptima de entre 250 y 500 nm.

35 El metabolismo de los fármacos se refiere a que un compuesto endobiótico o xenobiótico liposoluble se transforma enzimáticamente en un(os) metabolito(s) polar(es), hidrosoluble(s) y excretable(s). El principal órgano donde tiene lugar el metabolismo de los fármacos es el hígado. Los productos metabólicos suelen ser menos activos que el fármaco original o inactivos. Sin embargo, algunos metabolitos pueden presentar una mayor actividad o efectos tóxicos. Por lo tanto, el metabolismo de los fármacos puede incluir tanto procesos de "desintoxicación" como de "toxicación". Uno de los principales sistemas enzimáticos que determina la capacidad de un organismo para enfrentarse a los fármacos y agentes químicos está representado por las monooxigenasas del citocromo P450, que son enzimas que dependen del NADPH. La estabilidad metabólica de los compuestos se puede determinar *in vitro* empleando tejido humano subcelular (remítase al ejemplo C.5.a). En la presente, la estabilidad metabólica de los compuestos se expresa como el % del fármaco metabolizado después de incubar estos compuestos con microsomas durante 15 minutos. La cuantificación de los compuestos se llevó a cabo mediante análisis de LC-MS. La estabilidad metabólica de los compuestos también se puede determinar calculando la semivida de los compuestos en células hepáticas de ratas (remítase al ejemplo C.5.b).

50 Se ha demostrado que una amplia gama de agentes antitumorales activan la proteína p21, incluidos los agentes que dañan el ADN y los inhibidores de la histona-desacetilasa. Los agentes que dañan el ADN activan el gen p21 a través del supresor tumoral p53, mientras que los inhibidores de la histona-desacetilasa activan transcripcionalmente el gen p21 mediante la transcripción del factor Sp1. De este modo, los agentes que dañan el ADN activan el promotor de p21 a través del elemento de respuesta a p53, mientras que los inhibidores de la histona-desacetilasa activan el promotor de p21 a través de los sitios sp1 (situados en la región de -60 pb a +40 pb relativa a la caja TATA), y ambos provocan una mayor expresión de la proteína p21. Cuando el promotor de p21 en una célula está constituido por un fragmento del promotor de p21 de 1300 pb que no comprende los elementos de respuesta a p53, no responderá, por consiguiente, a los agentes que dañan el ADN.

60 La capacidad de los compuestos para inducir la producción de p21 se puede determinar de varias maneras. Un primer método consiste en tratar las células tumorales con el compuesto de interés y, después de la lisis de las células, detectar la producción de p21 con el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas p21 (ELISA de oncogenes WAF1). El ensayo p21 consiste en un inmunoensayo enzimático de tipo "sándwich" que emplea anticuerpos monoclonales de ratón y anticuerpos policlonales de conejo. Se ha inmovilizado un anticuerpo policlonal de conejo, específico para la proteína p21 humana, sobre la superficie de los pocillos de plástico que se proporcionan en el kit. La p21 presente en la muestra que se desea analizar se unirá al anticuerpo de captura. El anticuerpo monoclonal biotinizado de detección también reconoce la proteína p21 humana y se unirá a toda p21 que

haya sido retenida por el anticuerpo de captura. El anticuerpo de detección, a su vez, está unido mediante estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano. La peroxidasa de rábano cataliza la conversión del sustrato cromogénico tetra-metilbenzidina desde una solución incolora hasta una solución azul (o amarilla, tras la adición del reactivo de detención), cuya intensidad es proporcional a la cantidad de proteína p21 unida a la placa. El producto de reacción coloreado se cuantifica empleando un espectrofotómetro. La cuantificación se lleva a cabo mediante la construcción de una curva estándar empleando concentraciones conocidas de p21 (que se proporcionan liofilizadas). Este ensayo puede evaluar la inducción de la producción de p21 como consecuencia de daños en el ADN o como consecuencia de la inhibición de la histona-desacetilasa (remítase al ejemplo C.6.a).

Otro método determina la capacidad de los compuestos para inducir la producción de p21 como consecuencia de la inhibición de HDAC a nivel celular. Las células se pueden transfectar de forma estable con un vector de expresión que contenga un fragmento del promotor de p21 de 1300 pb y que no comprenda los elementos de respuesta a p53, donde un aumento de la expresión del gen marcador, en comparación con los niveles de control, determina que el compuesto posee capacidad para inducir la producción de p21. El gen marcador es una proteína fluorescente y la expresión del gen marcador se determina como la cantidad de luz fluorescente emitida (remítase al ejemplo C.6.b).

El último método es un método *in vivo* en el que se emplean ratones para llevar a cabo una detección sistemática de la actividad farmacéutica de un compuesto. Las células tumorales transformadas de forma estable descritas anteriormente se pueden administrar a ratones en una cantidad suficiente para producir un tumor. Después de que las células tumorales hayan tenido tiempo suficiente para formar un tumor, se puede administrar un compuesto potencialmente activo a los animales y el efecto de dicho compuesto sobre las células tumorales se evalúa determinando la expresión del gen marcador. La incubación con compuestos farmacéuticos activos provocará un aumento de la expresión del gen marcador en comparación con los niveles de control (remítase al ejemplo C.6.c).

Los inhibidores de HDAC específicos no deberían inhibir otras enzimas, como las proteínas abundantes del CYP P450. Las proteínas del CYP P450 (expresadas en *E. coli*) 3A4, 2D6 y 2C9 convierten sus sustratos específicos en una molécula fluorescente. La proteína CYP3A4 convierte 7-benciloxitri fluorometilcumarina (BFC) en 7-hidroxitri fluorometilcumarina. La proteína CYP2D6 convierte 3-[2-(*N,N*-dietil-*N*-metilamino)etil]-7-metoxi-4-metilcumarina (AMMC) en clorhidrato de 3-[2-(*N,N*-dietilamino)etil]-7-hidroxi-4-metilcumarina y la proteína CYP2C9 convierte 7-metoxi-4-trifluorometilcumarina (MFC) en 7-hidroxitri fluorometilcumarina. Los compuestos que inhiben la reacción enzimática provocarán una reducción de la señal fluorescente (remítase al ejemplo C.7).

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

Ejemplo C.1.a: Ensayo *in vitro* con un sustrato marcado con [³H]

Se incubaron extractos nucleares HeLa (proveedor: Biomol) a 60 µg/ml con 75 µM del sustrato. Como sustrato para determinar la actividad de HDAC, se empleó un péptido sintético, es decir, los aminoácidos 14-21 de la histona H4. El sustrato se biotinizó en la parte terminada en NH₂ con un espaciador de ácido 6-aminohexanoico, se protegió en la parte terminada en COOH con un grupo amida y se introdujo un grupo [³H]acetilo en la lisina 16. El sustrato, biotin-(6-aminohexanoic)Gly-Ala-(³H)-acetil-Lys-Arg-His-Arg-Lys-Val-NH₂, se añadió en un tampón que contenía Hepes 25 mM, sacarosa 1 M, 0.1 mg/ml de BSA y 0.01% de Triton X-100 a pH 7.4. Después de 30 min, la reacción de desacetilación se detuvo añadiendo HCl y ácido acético (concentración final de 0.035 mM y 3.8 mM, respectivamente). Después de detener la reacción, se extrajo el ³H-acetato libre con acetato de etilo. Después de mezclar y centrifugar, se contó la radioactividad en una alícuota de la fase (orgánica) superior con un contador β.

Para cada experimento, se determinaron en paralelo los controles (que contenían extracto nuclear HeLa y DMSO sin compuesto), un blanco de incubación (que contenía DMSO, pero no contenía extracto nuclear HeLa ni compuesto) y las muestras (que contenían el compuesto disuelto en DMSO y extracto nuclear HeLa). En primer lugar, los compuestos se evaluaron a una concentración de 10⁻⁵ M. Cuando los compuestos presentaron actividad a 10⁻⁵ M, se realizó una curva de concentración-respuesta, en la que los compuestos se evaluaron a concentraciones de entre 10⁻⁵ M y 10⁻¹² M. En cada ensayo, el valor del blanco se restó de los valores del control y de la muestra. La muestra de control representó el 100% de desacetilación del sustrato. Para cada muestra, la radioactividad se expresó como un porcentaje del valor medio de los controles. Cuando fue necesario, los valores de CI₅₀ (concentración del fármaco necesaria para reducir la cantidad de metabolitos hasta un 50% del control) se computaron empleando análisis probit para datos estratificados. Los efectos de los compuestos del ensayo se expresan en la presente como pCI₅₀ (el valor negativo del log del valor de CI₅₀) (remítase a la Tabla F-3).

Ejemplo C.1.b: Ensayo *in vitro* con un sustrato marcado fluorescente

Se empleó el ensayo de actividad fluorescente de HDAC/kit de descubrimiento farmacológico de Biomol (N.º de cat.: AK-500-0001). El ensayo de actividad fluorescente de HDAC se basa en la combinación del revelador y el sustrato Fluor de Lys (del inglés, Fluorogenic Histone deAcetylase Lysyl; lisilo de histona-desacetilasa fluorogénico). El sustrato Fluor de Lys comprende una cadena lateral de lisina acetilada. La desacetilación del sustrato sensibiliza el sustrato, de manera que, en un segundo paso, el tratamiento con el revelador de Fluor de Lys produce un fluoróforo.

Se incubaron extractos nucleares HeLa (proveedor: Biomol) a 60 µg/ml con 75 µM del sustrato. El sustrato Fluor de Lys se añadió en un tampón que contenía Tris 25 mM, NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM y MgCl₂·6H₂O 1 mM a pH 7.4. Después de 30 min, se añadió 1 volumen de revelador. El fluoróforo se excitó con luz de 355 nm y se detectó la luz emitida (450 nm) con un fluorómetro para leer placas.

Para cada experimento, se determinaron en paralelo los controles (que contenían extracto nuclear HeLa y tampón), un blanco de incubación (que contenía tampón, pero no contenía extracto nuclear HeLa) y las muestras (que contenían el compuesto disuelto en DMSO y diluido adicionalmente en tampón, y extracto nuclear HeLa). En primer lugar, los compuestos se evaluaron a una concentración de 10⁻⁵ M. Cuando los compuestos presentaron actividad a 10⁻⁵ M, se realizó una curva de concentración-respuesta, en la que los compuestos se evaluaron a concentraciones de entre 10⁻⁵ M y 10⁻⁹ M. Todas las muestras se evaluaron 4 veces. En cada ensayo, el valor del blanco se restó de los valores del control y de la muestra. La muestra de control representó el 100% de desacetilación del sustrato. Para cada muestra, la fluorescencia se expresó como un porcentaje del valor medio de los controles. Cuando fue necesario, los valores de CI₅₀ (concentración del fármaco necesaria para reducir la cantidad de metabolitos hasta un 50% del control) se computaron empleando análisis probit para datos estratificados. Los efectos de los compuestos del ensayo se expresan en la presente como pCI₅₀ (el valor negativo del log del valor de CI₅₀) (remítase a la Tabla F-3).

Ejemplo C.2: Determinación de la actividad antiproliferativa en células A2780

Todos los compuestos evaluados se disolvieron en DMSO y se realizaron diluciones adicionales en el medio de cultivo. Las concentraciones finales de DMSO nunca superaron el 0.1% (v/v) en los ensayos de proliferación celular. Los controles contenían células A2780 y DMSO sin compuesto, y los blancos contenían DMSO pero no contenían células. Se disolvió MTT con una concentración de 5 mg/ml en PBS. Se preparó un tampón de glicina que comprendía glicina 0.1 M y NaCl 0.1 M, tamponado a un pH de 10.5 con NaOH (1 N) (todos los reactivos eran de Merck).

Se cultivaron células de carcinoma de ovario A2780 humanas (una generosa donación del Dr. T.C. Hamilton [Fox Chase Cancer Centre, Pensilvania, EE. UU.]) en medio RPMI 1640 complementado con L-glutamina 2 mM, 50 µg/ml de gentamicina y 10% de suero fetal bovino. Las células se mantuvieron de forma rutinaria como cultivos de monocapa a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5% humidificada. Las células se inocularon una vez por semana empleando una solución de tripsina/EDTA con una tasa de división de 1:40. Todos los medios y complementos se adquirieron en Life Technologies. Las células estaban exentas de contaminación por *Mycoplasma*, según se determinó empleando el kit de cultivo tisular de *Mycoplasma* de Gen-Probe (proveedor: BioMérieux).

Las células se cultivaron en placas de cultivo de 96 pocillos NUNC™ (proveedor: Life Technologies) y se dejó que se adhirieran al plástico durante toda la noche. Las densidades empleadas en las placas fueron de 1500 células por pocillo en un volumen total de 200 µl de medio. Después de que las células se adhirieran a las placas, se cambió el medio y se añadieron los fármacos y/o disolventes hasta un volumen final de 200 µl. Después de cuatro días de incubación, el medio se reemplazó por 200 µl de medio fresco y se determinaron la densidad y viabilidad de las células empleando un ensayo basado en MTT. A cada pocillo, se añadieron 25 µl de solución de MTT y las células se incubaron adicionalmente durante 2 horas a 37 °C. A continuación, el medio se aspiró cuidadosamente y el producto de formazán-MTT azul se disolvió añadiendo 25 µl de tampón de glicina y a continuación 100 µl de DMSO. Las placas de microensayo se agitaron durante 10 min en un agitador de microplacas y se midió la absorbancia a 540 nm empleando un espectrofotómetro de 96 pocillos Emax (proveedor: Sopachem).

En un experimento, los resultados para cada condición experimental son la media de un triplicado de pocillos. Con el fin de realizar un cribado inicial, los compuestos se evaluaron con una concentración única fija de 10⁻⁶ M. Para los compuestos activos, los experimentos se repitieron para establecer curvas completas de concentración-respuesta. Para cada experimento, se realizaron en paralelo los controles (que no contenían fármaco) y un blanco de incubación (que no contenía células ni fármaco). El valor del blanco se restó de los valores del control y la muestra. Para cada muestra, el valor medio para el crecimiento celular (en unidades de absorbancia) se expresó como un porcentaje del valor medio para el crecimiento celular del control. Cuando fue necesario, los valores de CI₅₀ (concentración del fármaco necesaria para reducir el crecimiento celular hasta un 50% del control) se computaron empleando análisis probit para datos estratificados (Finney, D.J., Probit Analyses, 2.^a edición, capítulo 10, Graded Responses, Cambridge University Press, Cambridge 1962). Los efectos de los compuestos del ensayo se expresan en la presente como pCI₅₀ (el valor negativo del log del valor de CI₅₀) (remítase a la Tabla F-3).

Ejemplo C.3: Solubilidad/Estabilidad

C.3.1. Solubilidad en medio acuoso

En el primer paso de dilución, se añadieron 10 µl de una solución patrón concentrada del compuesto activo, disuelto en DMSO (5 mM), a 100 µl de un tampón de citrato de fosfato de pH 7.4 y se mezclaron. En el segundo paso de dilución, se añadió una alícuota (20 µl) del primer paso de dilución a 100 µl del tampón de citrato de fosfato de pH 7.4 y se mezclaron. Finalmente, en el tercer paso de dilución, una muestra (20 µl) del segundo paso de dilución se diluyó

adicionalmente en 100 µl del tampón de citrato de fosfato de pH 7.4 y se mezclaron. Todas las diluciones se realizaron en placas de 96 pocillos. Inmediatamente después del último paso de dilución, se determinó la turbidez de los tres pasos de dilución consecutivos con un nefelómetro. La dilución se realizó por triplicado para cada compuesto con el fin de excluir errores ocasionales. Basándose en las medidas de turbidez, se realizó una clasificación en 3 grupos. Los compuestos con una solubilidad elevada obtuvieron una puntuación de 3 y, para estos compuestos, la primera dilución es transparente. Los compuestos con una solubilidad media obtuvieron una puntuación de 2. Para estos compuestos, la primera dilución no es transparente y la segunda dilución es transparente. Los compuestos con una solubilidad baja obtuvieron una puntuación de 1 y, para estos compuestos, tanto la primera como la segunda dilución no son transparentes (remítase a la Tabla F-3).

C.3.b. Solubilidad/estabilidad a diferentes pH

La solubilidad de un compuesto a diferentes pH también se puede determinar empleando un detector de nitrógeno por quimioluminiscencia (remítase a la Tabla F-3).

Ejemplo C.4: Análisis de permeabilidad a través de una membrana artificial paralela

Las muestras patrón (alícuotas de 10 µl de una solución patrón 5 mM en 100% de DMSO) se diluyeron en un pocillo profundo o placa de premezcla que contenía 2 ml de un sistema tampón acuoso de pH 4 o de pH 7.4 (PSR4 System Solution Concentrate (pION)). Antes de añadir las muestras a la placa de referencia, se añadieron 150 µl de tampón a los pocillos y se realizó una medición del blanco de UV. A continuación, se retiró el tampón y la placa se empleó como placa de referencia. Todas las mediciones se realizaron en placas resistentes a UV (proveedor: Costar o Greiner).

Después de la medición del blanco para la placa de referencia, se añadieron 150 µl de las muestras diluidas a la placa de referencia y se añadieron 200 µl de las muestras diluidas a la placa dadora 1. Se recubrió una placa de filtración aceptora 1 (proveedor: Millipore, tipo: MAIP N45) con 4 µl de una solución formadora de membrana artificial (1,2-dioleoil-sn-glicer-3-fosfocolina en dodecano que contenía un 0.1% de 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol) y se colocó sobre la placa dadora 1 para formar un "sándwich". Se añadió tampón (200 µl) en la parte superior de los pocillos aceptores. El sándwich se cubrió con una tapa y se almacenó durante 18 h a temperatura ambiente en la oscuridad.

Se realizó una medición del blanco para la placa aceptora 2 al añadir 150 µl de tampón a los pocillos, y a continuación se realizó una medición de UV. Después de la medición del blanco para la placa aceptora 2, se retiró el tampón y se transfirieron 150 µl de la solución aceptora de la placa de filtración aceptora 1 a la placa aceptora 2. A continuación, la placa de filtración aceptora 1 se retiró del sándwich. Después de la medición del blanco para la placa dadora 2 (remítase más arriba), se transfirieron 150 µl de la solución dadora de la placa dadora 1 a la placa dadora 2. Los espectros UV de los pocillos de la placa dadora 2, placa aceptora 2 y placa de referencia se escanearon (con un SpectraMAX 190). Se procesaron todos los espectros para calcular la permeabilidad con el software de comandos PSR4p. Todos los compuestos se evaluaron por triplicado. En cada experimento, se emplearon como estándares carbamazepina, griseofulvina, acicloguanisina, atenolol, furosemida y clorotiazida. Los compuestos se clasificaron en 3 categorías, según si tenían una permeabilidad baja (efecto medio $< 0.5 \times 10^{-6}$ cm/s; puntuación 1), una permeabilidad media (1×10^{-6} cm/s $>$ efecto medio $\geq 0.5 \times 10^{-6}$ cm/s; puntuación 2) o una permeabilidad elevada ($\geq 1 \times 10^{-6}$ cm/s; puntuación 3).

Ejemplo C.5: Estabilidad metabólica

Ejemplo C.5.a

Se obtuvieron preparados tisulares subcelulares de acuerdo con Gorrod *et al.* (Xenobiotica 5: 453-462, 1975) mediante separación por centrifugación después de la homogeneización mecánica del tejido.

El tejido hepático se enjuagó con tampón Tris-HCl 0.1 M (pH 7.4) enfriado con hielo para lavar el exceso de sangre. A continuación, el tejido se secó con material absorbente, se pesó y se troceó en pedazos grandes empleando tijeras quirúrgicas. Las piezas de tejido se homogeneizaron en 3 volúmenes de tampón fosfato 0.1 M (pH 7.4) enfriado en hielo, empleando un homogeneizador Potter-S (Braun, Italia) equipado con una mano de mortero de teflón o un homogeneizador Omni-Mix Sorvall, durante 7×10 s. En ambos casos, el recipiente se mantuvo en/sobre hielo durante el proceso de homogeneización.

Los homogeneizados tisulares se centrifugaron a 9000 x g durante 20 minutos a 4 °C empleando una centrífuga Sorvall o una ultracentrífuga Beckman. El sobrenadante resultante se almacenó a -80 °C y se denominó "S9".

La fracción S9 se puede centrifugar adicionalmente a 100 000 x g durante 60 minutos (4 °C) empleando una ultracentrífuga Beckman. El sobrenadante resultante se aspiró cuidadosamente, se tomó una alícuota y se denominó "citosol". El pellet se volvió a suspender en tampón fosfato 0.1 M (pH 7.4) en un volumen final de 1 ml por 0.5 g de peso de tejido original y se denominó "microsomas".

Se tomaron alícuotas de todas las fracciones subcelulares, se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C hasta su uso.

5 Para evaluar las muestras, la mezcla de incubación contenía PBS (0.1 M), compuesto (5 µM), microsomas (1 mg/ml) y un sistema generador de NADPH (glucosa-6-fosfato 0.8 mM, cloruro de magnesio 0.8 mM y 0.8 unidades de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa). Las muestras de control contenían el mismo material, pero los microsomas se reemplazaron por microsomas desactivados por calentamiento (10 min a 95 grados Celsius). La recuperación de los compuestos en las muestras de control fue siempre del 100%.

10 Las mezclas se incubaron previamente durante 5 min a 37 grados Celsius. La reacción se inició en el tiempo cero (t = 0) con la adición de NADP 0.8 mM y las muestras se incubaron durante 15 min (t = 15). La reacción se finalizó con la adición de 2 volúmenes de DMSO. A continuación las muestras se centrifugaron durante 10 min a 900 x g y los sobrenadantes se almacenaron a temperatura ambiente durante no más de 24 h antes del análisis. Todas las incubaciones se realizaron por duplicado. El análisis de los sobrenadantes se realizó mediante análisis de LC-MS.
15 La elución de las muestras se realizó en una columna Xterra MS C18 (50 x 4.6 mm, 5 µm, Waters, EE. UU.). Se empleó un sistema de HPLC Alliance 2790 (proveedor: Waters, EE. UU.). La elución se llevó a cabo con el tampón A (acetato de amonio 25 mM (pH 5.2) en H₂O/acetonitrilo (95/5)), siendo el disolvente B acetonitrilo y el disolvente C metanol, con una velocidad de flujo de 2.4 ml/min. El gradiente empleado consistió en aumentar la concentración de la fase orgánica desde un 0%, pasando por un 50% de B y un 50% de C en 5 min, hasta un 100% de B en 1 min de manera lineal, y la concentración de la fase orgánica se mantuvo estacionaria durante 1.5 min más. El volumen total de inyección de las muestras fue de 25 µl.

25 Se empleó como detector un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo Quattro (proveedor: Micromass, Manchester, Reino Unido) equipado con una fuente ESI. La temperatura de la fuente y la temperatura de desolvatación se fijaron a 120 y 350 °C, respectivamente, y se empleó nitrógeno como nebulizador y gas de secado. Los datos se registraron en un modo de barrido positivo (reacción de ión único). El voltaje del cono se fijó a 10 V y el tiempo de permanencia fue de 1 s.

30 La estabilidad metabólica se expresó como el % de metabolismo del compuesto después de 15 min de incubación en presencia de microsomas activos (E(act)) (% de metabolismo = 100 % -
$$\left(\frac{\text{Corriente iónica total (TIC) de E(act) a t = 15}}{\text{TIC de E(act) a t = 0}} \right) \times 100$$
). Los compuestos con un porcentaje de metabolismo inferior a un 20%

se identificaron como muy estables metabólicamente. Los compuestos con un metabolismo entre un 20 y un 70% se definieron como de estabilidad intermedia y los compuestos que presentaron un porcentaje de metabolismo superior a un 70% se definieron como poco estables metabólicamente. Siempre que se realizó una criba de estabilidad metabólica, se incluyeron tres compuestos de referencia. Se incluyó verapamil como un compuesto con una estabilidad metabólica baja (% de metabolismo = 73%). Se incluyó cisaprida como un compuesto con una estabilidad metabólica media (% de metabolismo = 45%) y se incluyó propanol como un compuesto con una estabilidad metabólica de intermedia a elevada (25% de metabolismo). Se emplearon estos compuestos de referencia para validar el ensayo de estabilidad metabólica.

40 C.5.b: Estabilidad metabólica con un cultivo celular de hepatocitos de ratas

Se aislaron hepatocitos de ratas a partir de ratas Sprague Dowley. Los compuestos se disolvieron para obtener una solución patrón 5 mM en 100% de DMSO y se incubaron con una concentración final de 5 µM durante 0, 15, 30, 60 y 120 min con cultivos celulares de hepatocitos de ratas (0.5 millones de células viables/0.5 ml) empleando placas de 45 24 pocillos.

Se prepararon las muestras para LC-MS añadiendo dos volúmenes de DMSO. Las muestras se agitaron bien y posteriormente se centrifugaron a 900 g durante 10 min (temperatura ambiente). Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Del sobrenadante resultante, se analizaron 50 µl por LC-MS.

50 En la LC-MS, la elución de las muestras se llevó a cabo en una columna Hypersil BDS C18 (50 x 4.6 mm, 5 µm, Thermohypersil, Reino Unido). El sistema de HPLC comprendía un sistema de suministro Surveyor (Surveyor Inc., San José, EE. UU.) equipado con un dispositivo de automuestreo Surveyor. La elución se llevó a cabo empleando el tampón A (acetato de amonio 10 mM (pH 6.9) en H₂O/acetonitrilo (95:5)) y el disolvente B (acetonitrilo), con una velocidad de flujo de 1.2 ml/min. El gradiente empleado consistió en 0.5 min de disolvente A como condición inicial y a continuación se incrementó la concentración de la fase orgánica desde un 0% de B hasta un 95% de B durante 2 min de forma lineal. Esta fase se mantuvo estacionaria durante 2 min más y se volvió a reducir hasta un 0% de B en 0.5 min.

60 El volumen total de inyección de las muestras fue de 50 µl. La temperatura del horno de la columna se mantuvo a 40 °C. El flujo de LC se dividió para la detección de MS y se dejaron entrar 0.1 ml a la fuente. Para la detección, se empleó un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo TSQ Quantum (ThermoFinnigan, LaJolla, EE. UU.) equipado con una fuente ESI. El voltaje de la fuente se fijó a 3800 voltios y la temperatura capilar a 300 °C. El espectrómetro de masas se programó con un modo de ión positivo en un SIM ajustado para la masa de M+H con un ancho de

barrido de 1 Da, para llevar a cabo la cuantificación. El control del instrumento, así como la adquisición y el procesamiento de los datos se llevaron a cabo empleando el software Xcalibur (ThermoFinnigan, San José, CA, EE. UU.). La estabilidad metabólica de los compuestos en hepatocitos de ratas se expresó como semividas *in vitro*.

- 5 Como referencia, se empleó el compuesto R306465 (WO03/76422) (semivida *in vitro*: 8 min). Se evaluaron el compuesto 1 y el compuesto 5 y presentaron una semivida *in vitro* de 81 min y 60 min, respectivamente.

Ejemplo C.6: Capacidad para inducir la producción de p21

Ejemplo C.6.a: Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas p21

Para determinar el nivel de expresión de la proteína p21 en células de carcinoma de ovario A2780 humanas, se ha aplicado el siguiente protocolo. Se cultivaron células A2780 (20 000 células/180 µl) en placas de 96 pocillos en un medio RPMI 1640 complementado con L-glutamina 2 mM, 50 µg/ml de gentamicina y un 10 % de suero fetal bovino. Los compuestos se añadieron con unas concentraciones finales de 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} M, 24 horas antes de la lisis de las células. Todos los compuestos evaluados se disolvieron en DMSO y se realizaron diluciones adicionales en el medio de cultivo. Los sobrenadantes se retiraron de las células 24 horas después de la adición del compuesto. Las células se lavaron con 200 µl de PBS enfriado con hielo. Se aspiraron los pocillos y se añadieron 30 µl del tampón de lisis (Tris.HCl 50 mM (pH 7.6), NaCl 150 mM, 1 % de Nonidet p40 y 10 % de glicerol). Las placas se incubaron durante toda la noche a -70 °C.

Se sacó un número adecuado de placas de microvaloración de la bolsa de aluminio y se colocó en un soporte de pocillos vacío. Se preparó una solución de trabajo (1x) del tampón de lavado (20x concentrado de lavado de placas: 100 ml de solución concentrada 20 veces de PBS y surfactante; contiene 2% de cloroacetamida). El estándar de p21WAF liofilizado se reconstituyó con H₂O destilada y se diluyó adicionalmente con diluyente de muestra (suministrado con el kit).

Las muestras se prepararon diluyéndolas 1:4 en diluyente de muestra. Las muestras (100 µl) y los estándares de p21WAF1 (100 µl) se pipetearon en los pocillos adecuados y se incubaron a temperatura ambiente durante 2 horas. Los pocillos se lavaron 3 veces con 1x tampón de lavado y a continuación se pipetearon 100 µl del reactivo anticuerpo de detección (una solución de anticuerpo p21WAF1 monoclonal biotinizado) en cada pocillo. Estos pocillos se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora y a continuación se lavaron tres veces con 1x tampón de lavado. El conjugado x400 (conjugado de peroxidasa-estreptavidina: solución concentrada 400 veces) se diluyó y se añadieron 100 µl de la solución x1 a los pocillos. Los pocillos se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min y a continuación se lavaron 3 veces con 1x tampón de lavado y 1 vez con H₂O destilada. Se añadió la solución de sustrato (sustrato cromogénico) (100 µl) a los pocillos y los pocillos se incubaron durante 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Se añadió solución de detención a cada pocillo en el mismo orden que la solución de sustrato añadida previamente. Se determinó la absorbancia en cada pocillo empleando un lector espectrofotométrico de placas con longitudes de onda duales de 450/595 nm.

Para cada experimento, se realizaron en paralelo los controles (que no contenían fármaco) y un blanco de incubación (que no contenía células ni fármacos). El valor del blanco se restó de todos los valores del control y de la muestra. Para cada muestra, el valor para la inducción de la producción de p21WAF1 (en unidades de absorbancia) se expresó como un porcentaje del valor para p21WAF2 presente en el control. Un porcentaje de inducción superior a un 130% se definió como una inducción significativa. Se evaluaron nueve compuestos y todos mostraron una inducción significativa a 10^{-6} M.

Ejemplo C.6.b.: Método celular

50 Se cultivaron células A2780 (ATCC) en medio RPMI 1640 complementado con un 10% de FCS, gentamicina y L-glutamina 2 mM a 37 °C en una incubadora humidificada con un 5% de CO₂. Todas las soluciones de cultivos celulares se adquirieron de Gibco-BRL (Gaithersburg, MD). Otros materiales se adquirieron de Nunc.

El ADN genómico se extrajo de células A2780 en crecimiento y se empleó como molde para el aislamiento de PCR jerarquizado del promotor de p21. La primera amplificación se realizó durante 20 ciclos a una temperatura de hibridación de 55 °C empleando el par de oligonucleótidos GAGGGCGCGGTGCTTGG y TGCCGCCGCTCTCTCACC con el ADN genómico como molde. El fragmento resultante de 4.5 kb que contenía el fragmento de -4551 a +88 relativo a la caja TATA se volvió a amplificar con los oligonucleótidos TCGGGTACCGAGGGCGCGGTGCTTGG y ATACTCGAGTGCCGCCGCTCTCTCACC durante 20 ciclos con hibridación a 88 °C, para obtener un fragmento de 4.5 kb, y posteriormente con el par de oligonucleótidos TCGGGTACCGGTAGATGGGAGCGGATAGACACATC y ATACTCGAGTGCCGCCGCTCTCTCACC durante 20 ciclos con hibridación a 88 °C, para obtener un fragmento de 1.3 kb que contenía el fragmento de -1300 a +88 relativo a la caja TATA. Los sitios de restricción XhoI y KpnI presentes en los oligonucleótidos (secuencia subrayada) se emplearon para subclonar.

65 El marcador luciferasa se eliminó del PGL3-basic y se reemplazó por el marcador ZsGreen (del plásmido pZsGreen1-N1) en los sitios de restricción KpnI y XbaI. Se construyó pGL3-basic-ZsGreen-1300 mediante la inserción del

fragmento de 1.3 kb mencionado anteriormente de la región del promotor de p21 humano en los sitios XhoI y KpnI de pGL3-basic-ZsGreen. Todas las enzimas de restricción se adquirieron de Boehringer Mannheim (Alemania).

5 Se añadieron células A2780 a una placa de 6 pocillos con una densidad de 2×10^5 células, se incubaron durante 24 horas y se transfectaron con 2 μg de pGL3-basic-ZsGreen-1300 y 0.2 μg del vector pSV2neo empleando Lipofectamina 2000 (Invitrogen, Bruselas, Bélgica) según describe el fabricante. Las células transfectadas se seleccionaron durante 10 días con G418 (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD) y se cultivaron suspensiones de células individuales. Después de tres semanas, se obtuvieron clones individuales.

10 Los clones seleccionados de A2780 se expandieron y se sembraron a 10 000 células por pocillo en placas de 96 pocillos. 24 horas después de sembrarlas, las células se trataron durante 24 horas más con los compuestos (que afectan a los sitios sp1 de la región del promotor de p21 proximal). Posteriormente, las células se fijaron con PFA al 4% durante 30' y se contratiñieron con tinte Hoechst. La activación del promotor de p21 que conduce a la producción de ZsGreen y, por tanto, la producción de fluorescencia, se monitorizó con el Ascent Fluoroskan (Thermo Labsystems, Bruselas, Bélgica).

20 Para cada experimento, se realizaron en paralelo los controles (que no contenían fármaco) y un blanco de incubación (que no contenía células ni fármacos). El valor del blanco se restó de todos los valores del control y de la muestra. Para cada muestra, el valor para la inducción de la producción de p21 se expresó como un porcentaje del valor para p21 presente en el control. Un porcentaje de inducción superior a un 130% se definió como una inducción significativa.

Se evaluaron setenta y un compuestos y todos mostraron una inducción significativa a 10^{-6} M.

25 Ejemplo C.6.c: Método *in vivo*

Un clon seleccionado se inyectó por vía subcutánea (10^7 células/200 μl) en la ijada de ratones sin pelaje y después de 12 días se obtuvo un tumor que se podía medir con un calibre. A partir del día 12 en adelante, se administraron dosis a los animales, por vía oral o intravenosa, diariamente durante 6 días de disolvente y 20-40 mpk de compuesto (4-10 animales para cada uno). Los tumores se evaluaron para determinar la fluorescencia empleando el sistema de obtención de imágenes de cuerpo entero automatizado desarrollado internamente (un estereomicroscopio de fluorescencia de tipo Olympus[®] SZX12 equipado con un filtro GFP y acoplado a una cámara CCD de tipo JAI[®] CV-M90 controlada por un paquete de software basado en el software IMAQ Vision de National Instruments[®]). Se empleó como referencia el compuesto R306465 (WO03/76422). Los compuestos se clasificaron como inactivos (no se detectó fluorescencia), más débiles, idénticos o mejores que R306465. Se evaluó el compuesto 1 y resultó ser mejor que R306465.

Ejemplo C.7: Capacidad para inhibir P450

40 Todos los compuestos se disolvieron en DMSO (5 mM) y se realizó una dilución adicional hasta 5×10^{-4} M en acetonitrilo. Se realizaron diluciones adicionales en el tampón de ensayo (tampón fosfato NaK 0.1 M de pH 7.4) y la concentración final de disolvente nunca fue superior a un 2%.

45 El ensayo para la proteína CYP3A4 comprende, por pocillo, 15 pmol de P450/mg proteína (en tampón fosfato NaK 0.01M + 1.15% de KCl), un sistema generador de NADPH (glucosa-6-fosfato 3.3 mM, 0.4 U/ml de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, NADP 1.3 mM y $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 3.3 mM en tampón de ensayo) y el compuesto en un volumen total de ensayo de 100 μl . Después de una incubación previa de 5 min a 37 °C, la reacción enzimática se inició con la adición de 150 μM del sustrato de la sonda fluorescente BFC en tampón de ensayo. Después de una incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, la reacción se finalizó tras la adición de 2 volúmenes de acetonitrilo. Las determinaciones de fluorescencia se llevaron a cabo a una longitud de onda de excitación de 405 nm y una longitud de onda de emisión de 535 nm. En este experimento, se incluyó Ketoconazol (valor de $\text{Cl}_{50} = 3 \times 10^{-8}$ M) como compuesto de referencia.

55 El ensayo para la proteína CYP2D6 comprende, por pocillo, 6 pmol de P450/mg proteína (en tampón fosfato NaK 0.01M + 1.15% de KCl), un sistema generador de NADPH (glucosa-6-fosfato 0.41 mM, 0.4 U/ml de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, NADP 0.0082 mM y $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.41 mM en tampón de ensayo) y el compuesto en un volumen total de ensayo de 100 μl . Después de una incubación previa de 5 min a 37 °C, la reacción enzimática se inició con la adición de 3 μM del sustrato de la sonda fluorescente AMMC en tampón de ensayo. Después de una incubación de 45 minutos a temperatura ambiente, la reacción se finalizó tras la adición de 2 volúmenes de acetonitrilo. Las determinaciones de fluorescencia se llevaron a cabo a una longitud de onda de excitación de 405 nm y una longitud de onda de emisión de 460 nm. En este experimento, se incluyó quinidina (valor de $\text{Cl}_{50} < 5 \times 10^{-8}$ M) como compuesto de referencia.

60

El ensayo para la proteína CYP2C9 comprende, por pocillo, 15 pmol de P450/mg proteína (en tampón fosfato NaK 0.01M + 1.15% de KCl), un sistema generador de NADPH (glucosa-6-fosfato 3.3 mM, 0.4 U/ml de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, NADP 1.3 mM y MgCl₂·6H₂O 3.3 mM en tampón de ensayo) y el compuesto en un volumen total de ensayo de 100 µl. Después de una incubación previa de 5 min a 37 °C, la reacción enzimática se inició con la adición de 200 µM del sustrato de la sonda fluorescente MFC en tampón de ensayo. Después de una incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, la reacción se finalizó tras la adición de 2 volúmenes de acetonitrilo. Las determinaciones de fluorescencia se llevaron a cabo a una longitud de onda de excitación de 405 nm y una longitud de onda de emisión de 535 nm. En este experimento, se incluyó sulfafenazol (valor de Cl₅₀ = 6.8 X 10⁻⁷ M) como compuesto de referencia.

Para realizar un cribado inicial, los compuestos se evaluaron a una concentración fija única de 1 X 10⁻⁵ M. Para los compuestos activos, los experimentos se repitieron para establecer curvas completas de concentración-respuesta. Para cada experimento, se realizaron en paralelo los controles (que no contenían fármaco) y un blanco de incubación (que no contenía enzima ni fármacos). Todos los compuestos se analizaron por cuadruplicado. El valor del blanco se restó de todos los valores del control y la muestra. Para cada muestra, el valor medio para la actividad de P450 de la muestra (en unidades de fluorescencia relativas) se expresó como un porcentaje del valor medio para la actividad de P450 del control. El porcentaje de inhibición se expresó como 100% menos el valor medio para la actividad de P450 de la muestra. Cuando fue necesario, se calcularon los valores de Cl₅₀ (concentración del fármaco necesaria para reducir la actividad de P450 hasta un 50% del control).

Tabla F-3: Enumera los resultados de los compuestos evaluados de acuerdo con los ejemplos C.1.a, C.1.b, C.2, C.3.a y C.3.b.

Número de compuesto	Actividad enzimática pCl ₅₀ C.1.a	Actividad enzimática pCl ₅₀ C.1.b	Actividad celular pCl ₅₀ C.2	Solubilidad C.3.a.	Solubilidad C.3.b pH = 2.3 (mg/ml)
5	8.6		6.5		2.0
1a	8.8	9.2	8.2	3	1.4
6	8.2		6.3		
7	8.5		6.1		
3	8.5		6.7		
4	8.7		7.0	3	
17		7.8	6.8		
8		8.3	7.1		2.4
9		8.3	7.1		
10		8.1	7.5	3	3.7
16		8.6	7.1	3	
11		8.2	7.5	3	2.8
2		8.4	7.5	3	
15		8.5	7.5		
14		8.4	7.4		1.7
13		6.0	7.5	3	
12		8.2	7.1	3	
35		8.2	6.7		
68		> 9.0	7.2		2.5
63		> 9.0	7.5		
67		8.3	7.5		1.9
76		7.8	6.7		
72		7.9	6.8		
80		7.8	7.1		
34		8.4	7.5		
33		10.0	7.5		1.6
32		8.0	8.4		1.5
21		8.5	7.6		1.9
49		8.7	7.5		3.3

ES 2 381 117 T3

Número de compuesto	Actividad enzimática pCl ₅₀ C.1.a	Actividad enzimática pCl ₅₀ C.1.b	Actividad celular pCl ₅₀ C.2	Solubilidad C.3.a.	Solubilidad C.3.b pH = 2.3 (mg/ml)
53		10.0	8.0		
20		9.5	8.1		2.7
64		8.9	7.8		
62		9.5	8.0		
28		8.1	7.1		
61		8.9	7.6		
60		8.7	6.9		3.1
59		9.0	7.7		
58		10.0	5.8		
19		8.0	7.1		
24		7.6	6.5		1.6
57		10.2	7.6		2.8
56		9.2	7.6		
55		10.1	7.8		2.0
54		10.2	7.9		
52		10.3	8.1		
51		9.8	8.0		
50		8.6	7.6		2.4
48		> 9.0	8.2		
66		> 9.0	7.4		1.7
73		7.9	7.1		
47		8.8	8.0		4.0
74		8.2	7.1		
46		9.0	8.0		
31		8.2	7.4		
75		7.3	7.1		
27		> 9.0	8.0		
45		9.0	6.7		1.7
44		8.2	7.4		1.8
43		8.5	7.8		2.1
29		7.9	6.9		
42		8.3	7.5		
71		7.5	6.5		
70		8.5	6.8		
69		7.6	6.7		
25		7.6	7.0		
41		8.4	5.8		
40		8.5	7.5		
23		8.4	7.5		
22		9.1	7.2		
26		> 9.0	7.5		
65		> 9.0	7.5		1.6
39		9.0	7.5		2.0
30		9.0	7.5		2.1
38		> 9.0	7.5		
37		8.6	7.5		
36		8.7	8.6		2.5

Número de compuesto	Actividad enzimática pCl ₅₀ C.1.a	Actividad enzimática pCl ₅₀ C.1.b	Actividad celular pCl ₅₀ C.2	Solubilidad C.3.a.	Solubilidad C.3.b pH = 2.3 (mg/ml)
79		8.4	8.1		2.7
18		8.3	8.0		
81		8.9	7.5		

D. Ejemplo de composición: Comprimidos recubiertos con película

Preparación del núcleo del comprimido

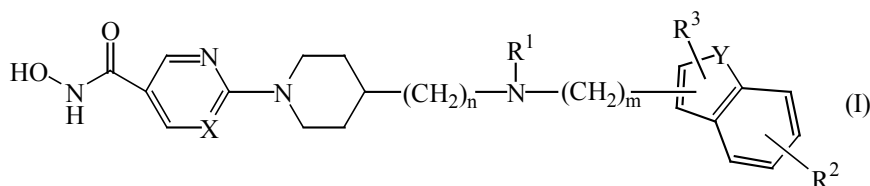
- 5 Una mezcla de 100 g de un compuesto de fórmula (I), 570 g de lactosa y 200 g de almidón se mezcla debidamente y a continuación se humedece con una solución de 5 g de dodecilsulfato sódico y 10 g de polivinilpirrolidona en aproximadamente 200 ml de agua. La mezcla de polvo húmedo se tamiza, se seca y se vuelve a tamizar. A
- 10 continuación, se añaden 100 mg de celulosa microcristalina y 15 g de aceite vegetal hidrogenado. Se mezcla debidamente toda la masa y se comprime formando comprimidos, para proporcionar 10 000 comprimidos, cada uno de los cuales comprende 10 mg de un compuesto de fórmula (I).

Recubrimiento

- 15 A una solución de 10 g de metilcelulosa en 75 ml de etanol desnaturalizado, se añade una solución de 5 g de etilcelulosa en 150 ml de diclorometano. A continuación, se añaden 75 ml de diclorometano y 2.5 ml de 1,2,3-propanotriol. Se muelen 10 g de polietilenglicol y se disuelven en 75 ml de diclorometano. Esta última disolución se añade a la anterior y a continuación se añaden 2.5 g de octadecanoato de magnesio, 5 g de polivinilpirrolidona y 30 ml de una suspensión de color concentrada, y se homogeneiza toda la masa. Los núcleos de los comprimidos se
- 20 recubren con la mezcla obtenida de esta manera en un aparato de recubrimiento.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de formula (I),



5

las formas de tipo N-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables y las formas estereoquímicamente isoméricas de este, donde

10 cada n es un número entero con un valor de 0, 1 o 2 y, cuando n es 0, entonces se refiere a un enlace directo;

cada m es un número entero con un valor de 1 o 2;

15

cada X es independientemente N o CH;

cada Y es independientemente O, S o NR⁴; donde

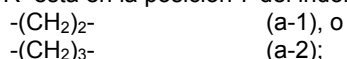
20

cada R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, (alquiloxi C₁₋₆)(alquilo C₁₋₆), cicloalquilo C₃₋₆, (cicloalquil C₃₋₆)metilo, fenil(alquilo C₁₋₆), -C(=O)-CHR⁵R⁶ o -S(=O)₂-N(CH₃)₂; donde

cada R⁵ y R⁶ es independientemente hidrógeno, amino, alquilo C₁₋₆ o aminoalquilo C₁₋₆; y

25

cuando Y es NR⁴ y R² está en la posición 7 del indolilo, entonces R² y R⁴ juntos pueden formar el radical bivalente



R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alquilsulfonilo C₁₋₆, (alquil C₁₋₆)carbonilo o mono- o di(alquil C₁₋₆)aminosulfonilo;

30

R² es hidrógeno, hidroxilo, amino, halo, alquilo C₁₋₆, ciano, alquenilo C₂₋₆, polihaloalquilo C₁₋₆, nitro, fenilo, (alquil C₁₋₆)carbonilo, hidroxycarbonilo, (alquil C₁₋₆)carbonilamino, alquiloxi C₁₋₆, o mono- o di(alquil C₁₋₆)amino;

R³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ o alquiloxiC₁₋₆; y

35

cuando R² y R³ están en átomos de carbono adyacentes, pueden formar el radical bivalente -O-CH₂-O-

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

40

cada n es un número entero con un valor de 0 o 1; cada R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, (alquiloxi C₁₋₆)(alquilo C₁₋₆), cicloalquilo C₃₋₆ o fenil(alquilo C₁₋₆); R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, (alquil C₁₋₆)carbonilo o (alquil C₁₋₆)sulfonilo; y R² es hidrógeno, halo, alquilo C₁₋₆, ciano, nitro, polihaloalquilo C₁₋₆ o alquiloxi C₁₋₆.

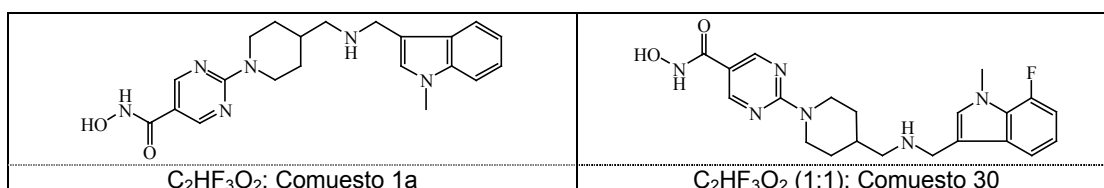
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y 2, donde

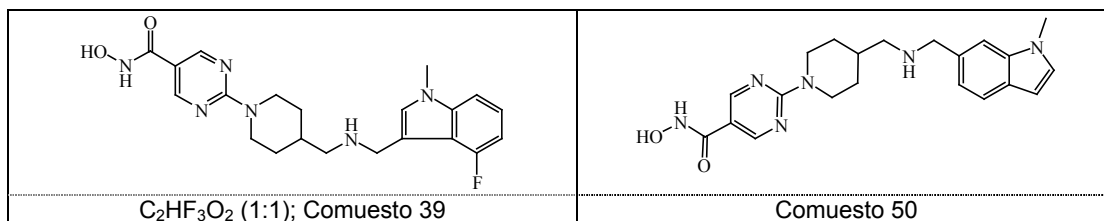
45

cada n es un número entero con un valor de 1; cada m es un número entero con un valor de 1; cada X es independientemente N; cada Y es independientemente NR⁴; cada R⁴ es alquilo C₁₋₆; R¹ es hidrógeno; R² es hidrógeno o halo; y R³ es hidrógeno.

50

4. Un compuesto según se reivindica en la reivindicación 1, 2 y 3, donde dicho compuesto es el compuesto N.º 1a, compuesto N.º 30, compuesto N.º 39 y compuesto N.º 50.





5. Una composición farmacéutica que comprende portadores 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 que se reivindica en la reivindicación 5, donde los portadores farmacéuticamente aceptables y un compuesto como el que se reivindica en las reivindicaciones 1 a 4 están mezclados íntimamente.

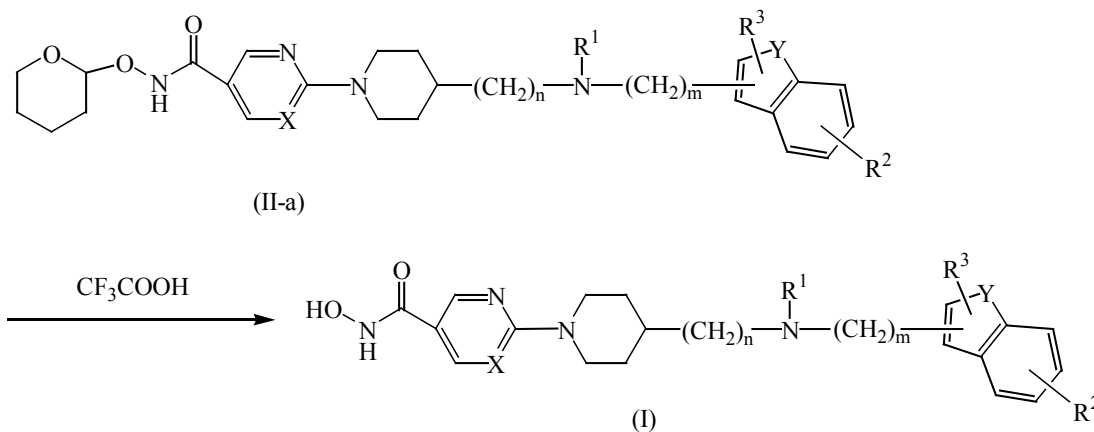
7. Un compuesto como el que se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para emplear como una medicina.

8. El uso de un compuesto como el que se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para la producción de un medicamento para el tratamiento de enfermedades proliferativas.

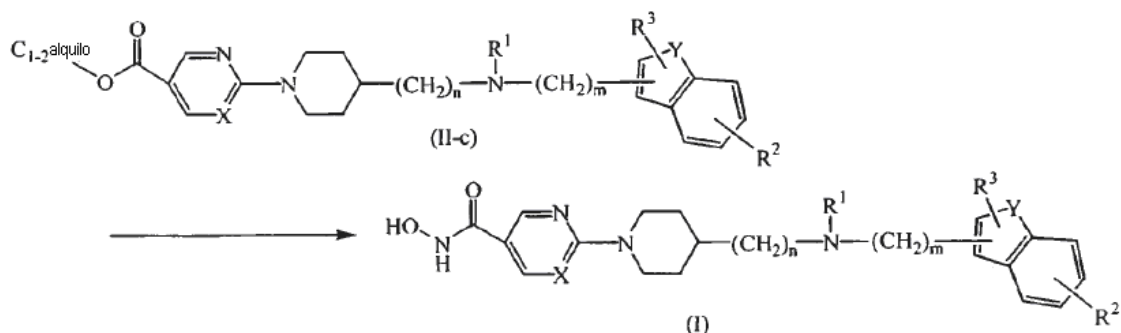
9. Una combinación de un agente contra el cáncer y un inhibidor de HDAC como el que se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

10. Un proceso para preparar un compuesto como el que se reivindica en la reivindicación 1, que se caracteriza por que

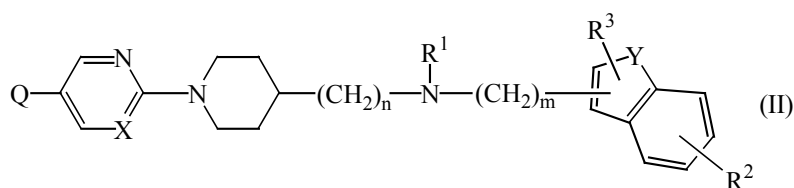
a) se hace reaccionar un intermedio de fórmula (II), donde Q es tetrahidropiraniioxiaminocarbonilo, denominado en la presente intermedio de fórmula (II-a), con un ácido adecuado tal como, por ejemplo, ácido trifluoroacético, para obtener un ácido hidroxámico de fórmula (I).



b) se hace reaccionar un intermedio de fórmula (II), donde Q es (alquiloxi C₁₋₂)carbonilo, denominado en la presente intermedio de fórmula (II-c), con hidroxilamina, en presencia de una base y en un disolvente adecuado, para producir un ácido hidroxámico de fórmula (I).



11. Un compuesto de fórmula (II),



5

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

10 cada *n* es un número entero con un valor de 0, 1 o 2 y, cuando *n* es 0, entonces se refiere a un enlace directo;

cada *m* es un número entero con un valor de 1 o 2;

cada *X* es independientemente N o CH;

15

cada *Y* es independientemente O, S o NR⁴; donde

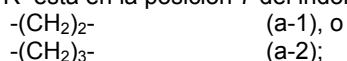
cada R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, (alquiloxi C₁₋₆)(alquilo C₁₋₆), cicloalquilo C₃₋₆, (cicloalquil C₃₋₆)metilo, fenil(alquilo C₁₋₆), -C(=O)-CHR⁵R⁶ o -S(=O)₂-N(CH₃)₂; donde

20

cada R⁵ y R⁶ es independientemente hidrógeno, amino, alquilo C₁₋₆ o aminoalquilo C₁₋₆; y

cuando *Y* es NR⁴ y R² está en la posición 7 del indolilo, entonces R² y R⁴ juntos pueden formar el radical bivalente

25



R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alquilsulfonilo C₁₋₆, (alquil C₁₋₆)carbonilo o mono- o di(alquil C₁₋₆)aminosulfonilo;

30

R² es hidrógeno, hidroxilo, amino, halo, alquilo C₁₋₆, ciano, alquenilo C₂₋₆, polihaloalquilo C₁₋₆, nitro, fenilo, (alquil C₁₋₆)carbonilo, hidroxycarbonilo, (alquil C₁₋₆)carbonilamino, alquiloxi C₁₋₆, o mono- o di(alquil C₁₋₆)amino;

R³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ o alquiloxiC₁₋₆;

35

cuando R² y R³ están en átomos de carbono adyacentes, pueden formar el radical bivalente -O-CH₂-O-; y

Q es (alquiloxi C₁₋₂)carbonilo, hidroxycarbonilo o tetrahidropiraniioxiaminocarbonilo.

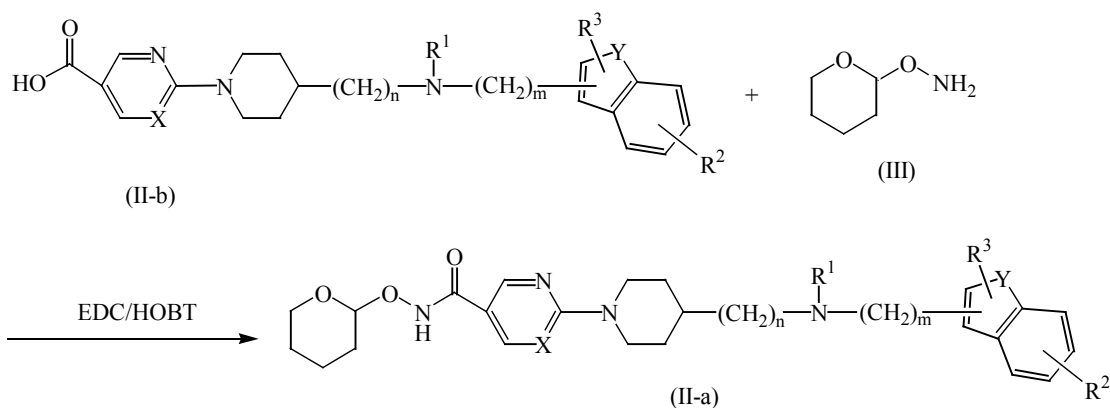
40

12. Un proceso para preparar un compuesto como el que se reivindica en la reivindicación 11, que se caracteriza por que

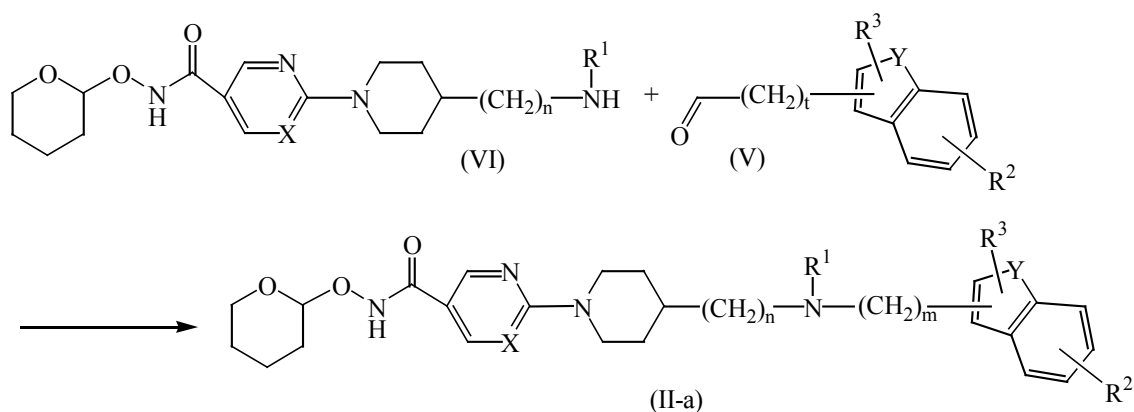
a)

se hace reaccionar un compuesto de fórmula (II), donde Q es hidroxycarbonilo, denominado en la presente compuesto de fórmula (II-b), con un intermedio de fórmula (III) en presencia de reactivos adecuados tales como el monohidrato de *N*-(etilcarbonimidilo)-*N,N*-dimetil-1,3-propanodiamina (EDC) y 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol (HOBT), para formar un compuesto de fórmula (II-a),

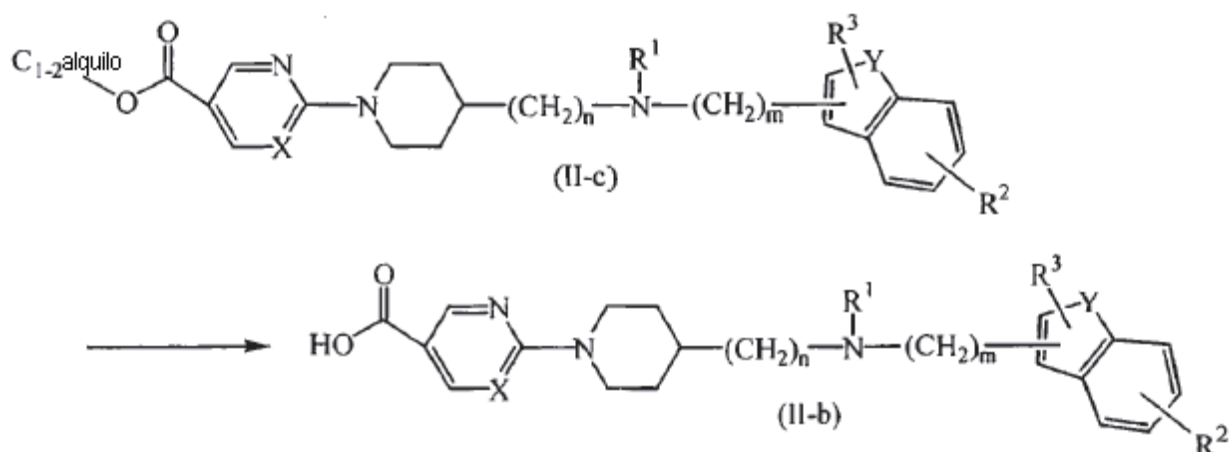
45



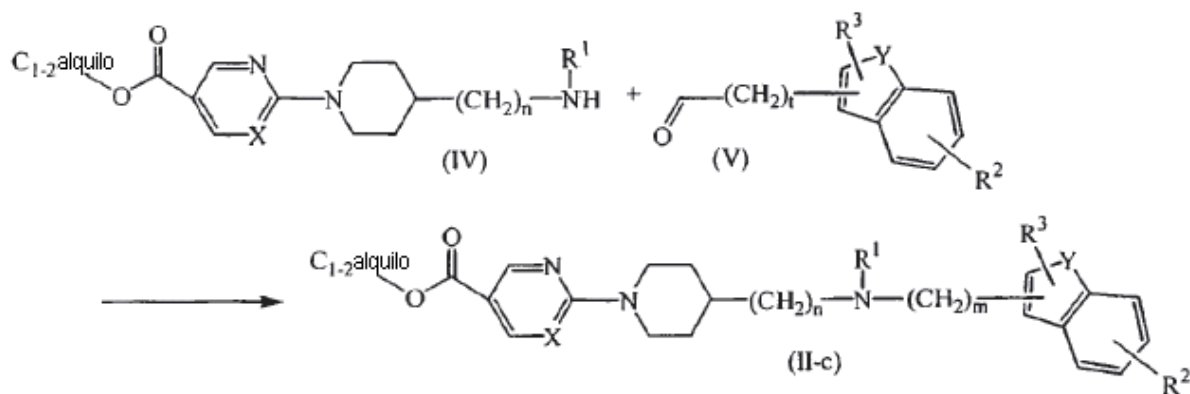
- 5 b) se hace reaccionar un intermedio de fórmula (VI) con el carboxaldehído de fórmula (V) adecuado, donde t es un número entero con un valor de 0 o 1 y, cuando t es 0, entonces se refiere a un enlace directo, en presencia de un reactivo adecuado, para formar un compuesto de fórmula (II-a),



- 10 c) se hace reaccionar un compuesto de fórmula (II), donde Q es metil- o etiloxycarbonil(alquilo C₁₋₂), denominado en la presente compuesto de fórmula (II-c), con una solución ácida o una solución básica adecuada, para formar un compuesto de fórmula (II-b),

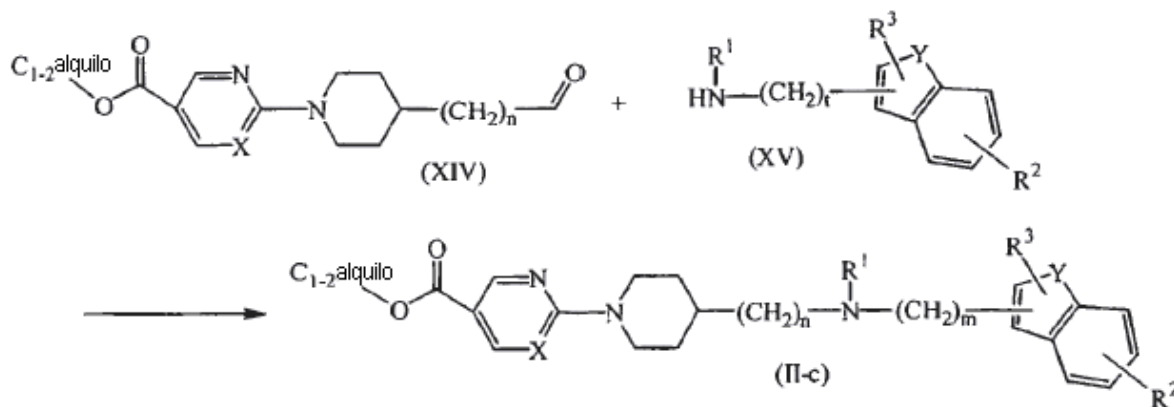


- 15 d) se hace reaccionar el éster etílico del ácido carboxílico de fórmula (IV) con el carboxaldehído de fórmula (V) adecuado, en presencia de un reactivo adecuado, para formar un compuesto de fórmula (II-c),



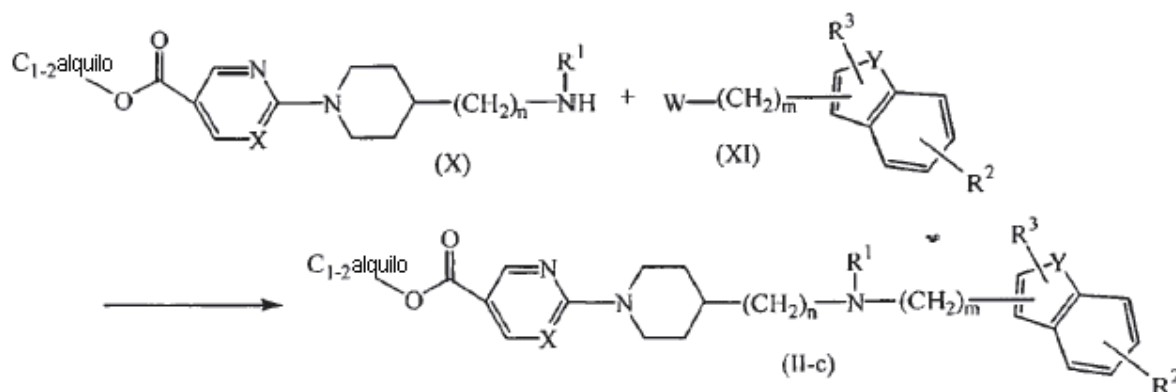
e) se hace reaccionar un intermedio de fórmula (XIV) con el intermedio de fórmula (XV) adecuado, en presencia de un reactivo adecuado en un disolvente adecuado, para formar un compuesto de fórmula (II-c),

5



f) se hace reaccionar un intermedio de fórmula (X) con un intermedio de fórmula (XI), donde W es un grupo saliente adecuado tal como, por ejemplo, halo, p. ej., fluoro, cloro, bromo o yodo, o un radical sulfoniloxi tal como metilsulfoniloxi, para formar un compuesto de fórmula (II-c), o

10



g) se hace reaccionar un intermedio de fórmula (XII) con un intermedio de fórmula (XIII), donde W es un grupo saliente adecuado como se ha descrito previamente, para formar un compuesto de fórmula (II-c).

15

