

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 445 578**

51 Int. Cl.:

**C07D 317/58** (2006.01)

**C07C 311/06** (2006.01)

**C07C 311/13** (2006.01)

**C07C 311/20** (2006.01)

**C07C 311/29** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.09.2001 E 01970011 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2013 EP 1328510**

54 Título: **Compuestos de (E)-N-hidroxi-3-(3-sulfamoil-fenil)-acrilamida y su uso terapéutico**

30 Prioridad:

**29.09.2000 GB 0023986**

**14.06.2001 US 297784 P**

**30.07.2001 US 308136 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**04.03.2014**

73 Titular/es:

**TOPOTARGET UK LIMITED (100.0%)  
7200 The Quorum, Suite 14, Oxford Business  
Park North  
Oxford OX4 2JZ, GB**

72 Inventor/es:

**WATKINS, CLARE J.;  
ROMERO-MARTIN, MARIA-ROSARIO;  
MOORE, KATHRYN G.;  
RITCHIE, JAMES;  
FINN, PAUL W.;  
KALVINSH, IVARS;  
LOZA, EINARS;  
DIKOVSKA, KLARA;  
GAILITE, VIJA;  
VORONA, MAXIM;  
PISKUNOVA, IRINA;  
STARICHENKOV, IGOR;  
ANDRIANOV, VICTOR;  
HARRIS, C. JOHN y  
DUFFY, JAMES E. S.**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 445 578 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

Compuestos de (E)-N-hidroxi-3-(3-sulfamoiil-fenil)-acrilamida y su uso terapéutico

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere generalmente al campo de compuestos biológicamente activos, y más específicamente a ciertos compuestos activos de ácido hidroxámico que inhiben la actividad de HDAC (histona desacetilasa). La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos, y al uso de tales compuestos y composiciones, tanto *in vitro* como *in vivo*, para inhibir afecciones proliferativas, tales como cáncer y psoriasis.

**Antecedentes**

15 El ADN de las células eucariotas está fuertemente complejoado con proteínas (histonas) para formar la cromatina. Las histonas son proteínas pequeñas cargadas positivamente que son ricas en aminoácidos básicos (cargados positivamente a pH fisiológico), que contactan con los grupos fosfato (cargados negativamente a pH fisiológico) del ADN. Existen cinco clases principales de histonas, H1, H2A, H2B, H3, y H4. Las secuencias de aminoácidos de las histonas H2A, H2B, H3, y H4 muestran una extraordinaria conservación entre especies, mientras que la H1 varía algo, y en algunos casos está reemplazada por otra histona, por ejemplo, H5. Cuatro pares de cada H2A, H2B, H3, y H4 en conjunto forman un núcleo proteico octamérico con forma de disco, y se enrollan alrededor del ADN (aproximadamente 140 pares de bases) para formar un nucleosoma. Los nucleosomas individuales están conectados mediante tramos cortos de ADN conector asociado con otra molécula de histona (por ejemplo, H1, o en ciertos casos, H5) para formar una estructura que se asemeja a las cuentas de un collar, que se dispone en un apilamiento helicoidal, conocido como solenoide.

La mayoría de las histonas se sintetizan durante la fase S del ciclo celular, y las histonas recién sintetizadas entran rápidamente en el núcleo para asociarse con el ADN. Pocos minutos después de su síntesis, el ADN nuevo se encuentra asociado con histonas en estructuras nucleosomales.

Una pequeña fracción de las histonas, más específicamente, las cadenas amino laterales de las mismas, se modifican enzimáticamente mediante la adición post-traducción de grupos metilo, acetilo, o fosfato, neutralizando la carga positiva de la cadena lateral, o convirtiéndola en una carga negativa. Por ejemplo, los grupos lisina y arginina se pueden metilar, los grupos lisina se pueden acetilar, y los grupos serina se pueden fosforilar. Para la lisina, se puede acetilar la cadena lateral  $-(CH_2)_4-NH_2$ , por ejemplo, mediante una enzima acetiltransferasa, para obtener la amida  $-(CH_2)_4-NHC(=O)CH_3$ . La metilación, acetilación y fosforilación de los grupos amino terminales de las histonas que se prolongan desde el núcleo nucleosomal afecta a la estructura de la cromatina y a la expresión génica. (Véase, por ejemplo, Spencer y Davie, 1999).

40 La acetilación y desacetilación de histonas está asociada con eventos transcripcionales que conducen a la proliferación y/o diferenciación celular. La regulación de la función de los factores de transcripción también está mediada a través de la acetilación. Revisiones recientes de la desacetilación de histonas incluyen Kouzarides, 1999 y Pazin *et al.*, 1997.

45 La correlación entre el estado de acetilación de las histonas y la transcripción de genes se conoce desde hace más de 30 años (véase, por ejemplo, Howe *et al.*, 1999). Se han identificado ciertas enzimas, específicamente acetilasas (por ejemplo, histona acetiltransferasa, HAT) y desacetilasas (por ejemplo, histona desacetilasa, HDAC), que regulan el estado de acetilación de las histonas en numerosos organismos y se han visto implicadas en la regulación de numerosos genes, confirmando la conexión entre acetilación y transcripción. Véase, por ejemplo, Davie, 1998. En general, la acetilación de histonas correlaciona con la activación transcripcional, mientras que la desacetilación de histonas está asociada con la expresión génica.

Se han identificado un número creciente de histona desacetilasas (HDAC) (véase, por ejemplo, Ng y Bird, 2000). La primera desacetilasa, HDAC1, se identificó en 1996 (véase, por ejemplo, Tauton *et al.*, 1996). Posteriormente, se descubrieron otras dos desacetilasas nucleares de mamíferos, HDAC2 y HDAC3 (véase, por ejemplo, Yang *et al.*, 1996, 1997, y Emiliani *et al.*, 1998). Véase también, Grozinger *et al.*, 1999; Kao *et al.*, 2000; y Van den Wyngaert *et al.*, 2000.

Hasta la fecha se han clonado ocho HDAC humanas:

60 HDAC1 (Nº de Adhesión Genbank NP\_004955)  
 HDAC2 (Nº de Adhesión Genbank NP\_001518)  
 HDAC3 (Nº de Adhesión Genbank 015739)  
 HDAC4 (Nº de Adhesión Genbank AAD29046)  
 65 HDAC5 (Nº de Adhesión Genbank NP\_005465)  
 HDAC6 (Nº de Adhesión Genbank NP\_006035)

HDAC7 (Nº de Adhesión Genbank AAF63491)  
HDAC8 (Nº de Adhesión Genbank AAF73428)

5 Estas ocho HDAC humanas se agrupan dentro de dos clases distintas: las HDAC 1, 2, 3 y 8 están en la clase I, y las HDAC 4, 5, 6 y 7 están en la clase II.

Existen cierto número de histona desacetilasas en la levadura, incluyendo las siguientes:

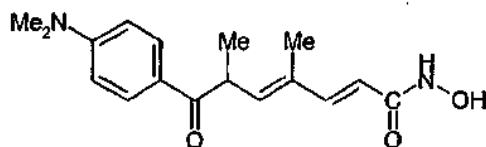
10 RPD3 (Nº de Adhesión Genbank NP\_014069)  
HDA1 (Nº de Adhesión Genbank P53973)  
HOS1 (Nº de Adhesión Genbank Q12214)  
HOS2 (Nº de Adhesión Genbank P53096)  
HOS3 (Nº de Adhesión Genbank Q02959)

15 También existen numerosas desacetilasas vegetales, por ejemplo, HD2, en *Zea mays* (Nº de Adhesión Genbank AF254073\_1).

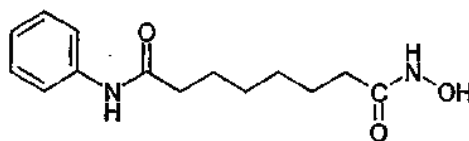
20 Las HDAC funcionan como parte de grandes complejos multiproteicos, que están fijados al promotor y represor de transcripción. Los represores transcripcionales bien caracterizados tales como Mad (Laherty *et al.*, 1997), pRb (Brehm *et al.*, 1998), receptores nucleares (Wong *et al.*, 1998) e YY1 (Yang *et al.*, 1997) se asocian con complejos HDAC para ejercer su función represora.

25 El estudio de inhibidores de histona desacetilasas indica que estas enzimas desempeñan un importante papel en la proliferación y diferenciación celular. El inhibidor tricostatina A (TSA) (Yoshida *et al.*, 1990a) causa la detención del ciclo celular tanto en la fase G1 como en la fase G2 (Yoshida y Beppu, 1988), revierte el fenotipo transformado de diferentes líneas celulares, e induce la diferenciación de células de leucemia de Friend y otras (Yoshida *et al.*, 1990b). Se ha informado que TSA (y SAHA) inhiben el crecimiento celular, inducen la diferenciación terminal, y previenen la formación de tumores en ratones (Finnin *et al.*, 1999).

#### Tricostatina A (TSA)



#### Suberoilánilida del ácido hidroxámico (SAHA)



30

La detención del ciclo celular mediante TSA correlaciona con un aumento de la expresión de gelsolina (Hoshikawa *et al.*, 1994), una proteína actina reguladora que se regula negativamente en cáncer de mama maligno (Mielnicki *et al.*, 1999). Se han observado efectos similares sobre el ciclo y la diferenciación celulares con cierto número de inhibidores de desacetilasa (Kim *et al.*, 1999).

35

También se ha informado que la tricostatina A es útil en el tratamiento de fibrosis, por ejemplo, fibrosis hepática y cirrosis hepática. Véase, por ejemplo, Geerts *et al.*, 1998.

40 Recientemente, se ha informado que ciertos compuestos que inducen la diferenciación inhiben las histona desacetilasas. Se ha informado que varios compuestos antitumorales experimentales, tales como tricostatina A (TSA), trapoxina, suberoilánilida del ácido hidroxámico (SAHA), y fenilbutirato actúan, al menos en parte, inhibiendo las histona desacetilasas (véase, por ejemplo, Yoshida *et al.*, 1990; Richon *et al.*, 1998; Kijima *et al.*, 1993). Además, se ha informado que los sulfuros de dialilo y las moléculas relacionadas (véase, por ejemplo, Lea *et al.*, 1999), oxamflatina (véase, por ejemplo, Kim *et al.*, 1999), MS-27-275, un derivado de benzamida sintético (véase, por ejemplo, Saito *et al.*, 1999; Suzuki *et al.*, 1999; obsérvese que MS-27-275 se renombró posteriormente a MS-275), derivados de butirato (véase, por ejemplo, Lea y Tulsyan, 1995), FR901228 (véase, por ejemplo, Nokajima *et al.*, 1998), depudecina (véase, por ejemplo, Kwon *et al.*, 1998), y bishidroxamida del ácido m-carboxicinámico (véase, por ejemplo, Richon *et al.*, 1998), inhiben histona desacetilasas. *In vitro*, se ha informado que algunos de estos

45

compuestos inhiben el crecimiento de células de fibroblastos causando la detención del ciclo celular en las fases G1 y G2, y pueden conducir a la diferenciación terminal y a la pérdida de potencial de transformación de diversas líneas celulares transformadas (véase, por ejemplo, Richon *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 1999; Yoshida *et al.*, 1995; Yoshida & Beppu, 1988). *In vivo*, se ha informado que el fenibutirato es eficaz en el tratamiento de leucemia promielocítica aguda junto con ácido retinoico (véase, por ejemplo, Warrell *et al.*, 1998). Se ha informado que el SAHA es eficaz para prevenir la formación de tumores de mama en ratas, y tumores pulmonares en ratones (véase, por ejemplo, Desai *et al.*, 1999).

La clara implicación de las HDAC en el control de la proliferación y diferenciación celular sugiere que la actividad aberrante de las HDAC puede desempeñar un papel en el cáncer. La demostración más directa de que las desacetilasas contribuyen al desarrollo de cáncer proviene del análisis de diferentes leucemias promielocíticas agudas (APL). En la mayoría de los pacientes con APL, la translocación de los cromosomas 15 y 17 (t(15;17)) resulta en la expresión de una proteína de fusión que contiene la porción N-terminal del producto génico PML unida a la mayoría de los RAR $\alpha$  (receptor de ácido retinoico). En algunos casos, una translocación diferente (t(11;17)) causa la fusión entre la proteína dedo de cinc PLZF y RAR $\alpha$ . En ausencia de ligando, el RAR $\alpha$  de tipo natural reprime los genes objetivo uniendo los complejos de represor HDAC al promotor de ADN. Durante la hematopoyesis normal, el ácido retinoico (RA) se une al RAR $\alpha$  y desplaza el complejo represor, permitiendo la expresión de los genes implicados en la diferenciación mieloide. Las proteínas de fusión de RAR $\alpha$  que aparecen en los pacientes con APL ya no son responsables de los niveles fisiológicos de RA e interfieren con la expresión de genes inducidos por RA que estimulan la diferenciación mieloide. Esto da como resultado la expansión clonal de células promielocíticas y el desarrollo de leucemia. Los experimentos *in vitro* han mostrado que la TSA es capaz de restaurar la capacidad de respuesta del RA a las proteínas de fusión de RAR $\alpha$  y de permitir la diferenciación mieloide. Estos resultados establecen una conexión entre las HDAC y la oncogénesis y sugiere que las HDAC son objetivos potenciales para la intervención farmacéutica en pacientes con APL. (Véase, por ejemplo, Kitamura *et al.*, 2000; David *et al.*, 1998; Lin *et al.*, 1998).

Además, diferentes líneas de evidencias sugieren que las HDAC pueden ser importantes agentes terapéuticos en otros tipos de cáncer. Las líneas celulares que derivan de numerosos cánceres diferentes (próstata, colorrectal, mama, neuronal, hepático) se inducen para diferenciarse mediante inhibidores de HDAC (Yoshida y Horinouchi, 1999). Se han estudiado cierto número de inhibidores de HDAC en modelos animales de cáncer. Estos reducen el crecimiento tumoral y prolongan la vida de los ratones que portan diferentes tipos de tumores trasplantados, incluyendo melanoma, leucemia, carcinomas de colon, pulmón y gástrico, etc. (Ueda *et al.*, 1994; Kim *et al.*, 1999).

La psoriasis es una enfermedad crónica desfigurante de la piel que se caracteriza por placas escamosas endurecidas, rojas, bien delimitadas: pueden estar limitadas o extendidas. La tasa de prevalencia de psoriasis es de aproximadamente un 2 %, es decir, la padecen 12,5 millones enfermos en los países de la triada (Estados Unidos/Europa/Japón). Mientras que la enfermedad raras veces es fatal, tiene claramente graves efectos perjudiciales en la calidad de vida del paciente: esto se agrava además por la falta de terapias eficaces. Los tratamientos actuales son ineficaces, cosméticamente inaceptables, o poseen efectos secundarios no deseados. Existe por lo tanto una acuciante necesidad clínica sin satisfacer de fármacos eficaces y seguros para esta afección.

La psoriasis es una enfermedad de etiología compleja. Mientras que existe claramente un componente genético, estando implicados cierto número de *loci* génicos, también existen desencadenantes medioambientales sin definir. La causa principal de la psoriasis, a nivel celular, se caracteriza por inflamación local mediada por células T, por hiperproliferación de queratinocitos, y por angiogénesis localizada. Todos ellos son procesos en los que están implicadas las histona desacetilasas (véase, por ejemplo, Saunders *et al.*, 1999; Bernhard *et al.*, 1999; Takahashi *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2001). Por lo tanto, los inhibidores de HDAC pueden encontrar uso en las terapias para psoriasis. Los fármacos candidatos se pueden identificar sistemáticamente, por ejemplo, usando ensayos de proliferación con células T y/o queratinocitos.

Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es proporcionar compuestos que sean inhibidores potentes de histona desacetilasas (HDAC). Existe una necesidad acuciante de tales compuestos, particularmente para su uso como antiproliferativos, por ejemplo, agentes anticancerígenos, agentes para tratamiento de psoriasis, etc.

Tales moléculas poseen deseablemente una o más de las siguientes propiedades y/o efectos:

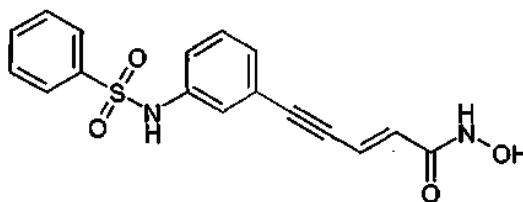
- (a) conseguir fácilmente acceso y afectar a las células tumorales;
- (b) regular negativamente la actividad de HDAC;
- (c) inhibir la formación de complejos de HDAC;
- (d) inhibir las interacciones de los complejos de HDAC;
- (e) inhibir la proliferación celular tumoral;
- (e) estimular la apoptosis celular tumoral;
- (f) inhibir el crecimiento tumoral; y,
- (g) complementar la actividad de agentes quimioterapéuticos tradicionales.

Se han descrito un cierto número de compuestos de ácido hidroxámico.

### Sulfonamidas

- 5 Se ha informado que la oxamflatina, también conocida como ácido (2E)-5-[3-[(fenilsulfonyl)amino]fenil]-pent-2-en-4-inohidroxámico, que se muestra a continuación, posee actividad antiproliferativa *in vitro* frente a diversas líneas celulares tumorales humanas y de ratón, y actividad antitumoral *in vivo* frente a melanoma B16 (véase, por ejemplo, Sonoda *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 1999).

Oxamflatina



10

Ohtani *et al.*, 1993, describen cierto número de compuestos de ácido hidroxámico que se reivindican como inhibidores de la transformación de ras. Muchos de los compuestos son compuestos de ácido hidroxámico que tienen un grupo sulfonamida, y que emplean un grupo principal ácido que es: un fenilen-orto-alquileo (por ejemplo, I-10); fenilen-meta-alquileo (por ejemplo, I-24); fenilen-para-alquileo (por ejemplo, I-12); o naftilen-1,2-diilo (por ejemplo, I-20). Sin embargo, en cualquier caso, el grupo sulfonamida es -SO<sub>2</sub>NR-, en vez de -NRSO<sub>2</sub>-. Además, en cualquier caso, el grupo arilo terminal está unido directamente al grupo sulfonamida -SO<sub>2</sub>NR-, sin un grupo principal arilo intermedio. Ohtani *et al.*, 1996, describen compuestos similares.

15

- 20 Richon *et al.*, 2001, describen diversos compuestos ramificados que aparentemente inhiben histona desacetilasa. Véase la tabla de las páginas 96-101 en el documento citado. Algunos de los compuestos son compuestos de ácido hidroxámico que tiene un grupo ácido hidroxámico (-CONHOH) unido a un punto de ramificación, desde el que se agregan dos grupos arilo. También se describen unos pocos compuestos lineales de ácido hidroxámico, incluyendo un ácido hidroxámico con sulfonamida individual -SO<sub>2</sub>NH- con un grupo principal ácido -(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>- (compuesto 671).

25

Delorme *et al.*, 2001, describen diversos compuestos de ácido hidroxámico, incluyendo compuestos que tienen, entre otros, un grupo sulfonamida. De los 108 compuestos de la tabla de las páginas 114-123 en el citado documento, 88 son ácidos hidroxámicos (-CONHOH), y los restantes son amidas terminales, -CONHR. De los 88 compuestos de ácido hidroxámico, 54 tienen una unión sulfonamida.

30

De los 54 ácidos hidroxámicos con sulfonamida, se indica que 51 tienen un grupo sulfonamida -SO<sub>2</sub>NR-, y se indica que 3 (los compuestos 98, 161, y 162) tienen un grupo sulfonamida -NRSO<sub>2</sub>-.

35

Todos los 54 ácidos hidroxámicos con sulfonamida emplean un grupo principal ácido fenilen-alquileo (análogo a Q<sup>2</sup> en el presente documento). De los 54 compuestos, 52 emplean un grupo fenilen-para-alquileo, y únicamente 2 (los compuestos 41 y 26) emplean un grupo fenilen-meta-alquileo (-Ph-CH<sub>2</sub>- y -Ph-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, respectivamente). Los compuestos 41 y 26 tienen ambos un grupo sulfonamida -SO<sub>2</sub>NR-, en vez de un grupo sulfonamida -NRSO<sub>2</sub>-; el primero tiene un grupo benzotiofenilo, y el último tiene un grupo un grupo fenilo.

40

Todos, excepto uno, los 54 ácidos hidroxámicos con sulfonamida tienen un grupo arilo unido directamente a la sulfonamida; el compuesto 100 tiene un grupo bencilo (Ph-CH<sub>2</sub>-) unido al grupo sulfonamida -SO<sub>2</sub>NR- unido a fenilen-para-etileno.

45

El documento de Patente WO 01/38322 (MetilGene, Inc.; Delorme *et al.*, 2001) se ha discutido anteriormente. El contenido de la solicitud prioritaria es notablemente inferior que el de la solicitud internacional. La solicitud prioritaria describe sulfonamidas "directas" (por ejemplo, -SO<sub>2</sub>NH-) pero no sulfonamidas "inversas" (por ejemplo, -NHSO<sub>2</sub>-) (véase, por ejemplo, la página 2, línea 31; página 4, línea 9; página 5, línea 22 en el documento citado); ninguno de los ejemplos de la solicitud prioritaria tiene un grupo sulfonamida "inverso".

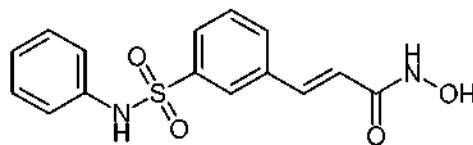
50

Los documentos de Patente WO 00/69819 (G.D. Searle & Co.) y WO 98/38859 (Monsanto Co.) describen ciertos compuestos que tienen un grupo -S(=O)<sub>2</sub>R (en un caso, un grupo sulfonamida inverso, -S(=O)<sub>2</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>) en posición *orto* con respecto a un grupo carbonilo -C(=O)R<sub>20</sub> (en un caso, un grupo ácido hidroxámico, -C(=O)NHOH), en un núcleo de fenileno. Estos compuestos inhiben aparentemente la actividad de metaloproteasa de la matriz (MMP). Ninguno de los compuestos tiene una unión fenilen-*meta*-etenileno.

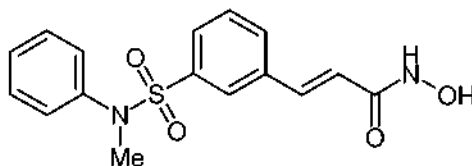
55



En una realización, el compuesto es un compuesto de la siguiente fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



5 En una realización, el compuesto es un compuesto de la siguiente fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



10 Un segundo aspecto de la invención es una composición que comprende un compuesto del primer aspecto y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 Un tercer aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal.

Un cuarto aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto para su uso en un método de tratamiento de una afección proliferativa.

20 Un quinto aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto para su uso en un método de tratamiento de cáncer.

Un sexto aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto para su uso en un método de tratamiento de psoriasis.

25 Un séptimo aspecto de la invención es el uso de un compuesto del primer aspecto para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección proliferativa.

Un octavo aspecto de la invención es el uso de un compuesto del primer aspecto para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.

30 Un noveno aspecto de la invención es el uso de un compuesto del primer aspecto para la preparación de un medicamento para el tratamiento de psoriasis.

### 35 **Descripción detallada**

En el presente documento se describen compuestos de ácido hidroxámico que inhiben la actividad de HDAC.

40 En el presente documento también se describen compuestos activos que tratan una afección proliferativa, tal como cáncer o psoriasis.

En el presente documento también se describen compuestos activos que tratan afecciones que se conoce que están mediadas por HDAC, o que se conoce que se tratan con inhibidores de HDAC (tales como, por ejemplo, tricostatina A).

45 En el presente documento también se describe una composición que comprende un compuesto como se describe en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

50 En el presente documento también se describen métodos de inhibición de HDAC en una célula, que comprenden poner en contacto dicha célula con una cantidad eficaz de un compuesto activo, como se describe en el presente documento.

En el presente documento también se describen métodos de inhibición de la proliferación celular, que comprenden poner en contacto una célula con una cantidad eficaz de un compuesto activo, como se describe en el presente documento, tanto *in vitro* como *in vivo*.

5 En el presente documento también se describen métodos de tratamiento de una afección proliferativa en un paciente que comprenden administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto activo, como se describe en el presente documento. En una realización preferente, la afección proliferativa es cáncer. En una realización preferente, la afección proliferativa es psoriasis.

10 En el presente documento también se describen métodos de tratamiento de una afección en un paciente que se conoce que está mediada por HDAC, o que se conoce que se trata con inhibidores de HDAC (tales como, por ejemplo, tricostatina A), que comprenden administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto activo, como se describe en el presente documento.

15 En el presente documento también se describe un compuesto activo, como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal.

En el presente documento también se describe el uso de un compuesto activo, como se describe en el presente documento, para la preparación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una afección proliferativa. En una realización preferente, la afección proliferativa es cáncer. En una realización preferente, la afección proliferativa es psoriasis.

20 En el presente documento también se describe el uso de un compuesto activo para la preparación de un medicamento, por ejemplo, para el tratamiento de afecciones que se conoce que están mediadas por HDAC, o que se conoce que se tratan con inhibidores de HDAC (tales como, por ejemplo, tricostatina A), como se discute en el presente documento.

25 En el presente documento también se describe un kit que comprende (a) el compuesto activo, proporcionado preferentemente en forma de una composición farmacéutica y en un envase adecuado y/o con un embalaje adecuado; y (b) instrucciones para su uso, por ejemplo, instrucciones escritas de la manera de administrar el compuesto activo.

30 En el presente documento también se describen compuestos que se pueden obtener mediante un método de síntesis como se describe en el presente documento, o un método que comprende un método de síntesis como se describe en el presente documento.

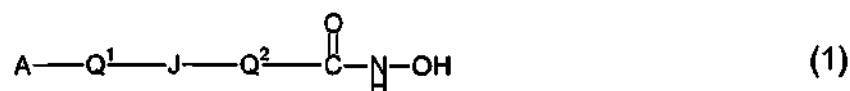
35 En el presente documento también se describen compuestos que se obtienen mediante un método de síntesis como se describe en el presente documento, o un método que comprende un método de síntesis como se describe en el presente documento.

40 En el presente documento también se describen nuevos compuestos intermedios, como se describen en el presente documento, que son adecuados para su uso en los métodos de síntesis que se describen en el presente documento.

45 En el presente documento también se describe el uso de tales nuevos compuestos intermedios, como se describen en el presente documento, en los métodos de síntesis que se describen en el presente documento.

### Compuestos

50 En el presente documento se describen compuestos de ácido hidroxámico de fórmula:



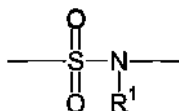
en la que:

55 A es un grupo arilo;  
 Q<sup>1</sup> es un enlace covalente o un grupo principal arilo;  
 J es una unión sulfonamida seleccionada entre:





5 R<sup>1</sup> es un sustituyente de sulfonamido; y,  
Q<sup>2</sup> es un grupo principal ácido;  
con la condición de que si J es:

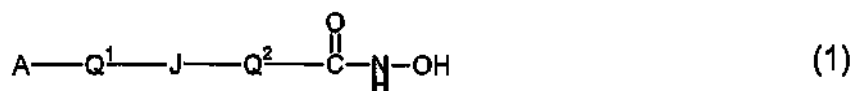


10 entonces Q<sup>1</sup> es un grupo principal arilo;

y sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, amidas, ésteres, éteres, formas protegidas químicamente, y profármacos de los mismos.

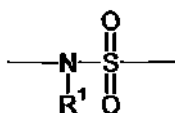
15 En realizaciones preferentes, el grupo ácido hidroxámico, -C(=O)NHOH, está sin modificar (por ejemplo, no es un éster).

En el presente documento también se describen compuestos de ácido hidroxámico de fórmula:



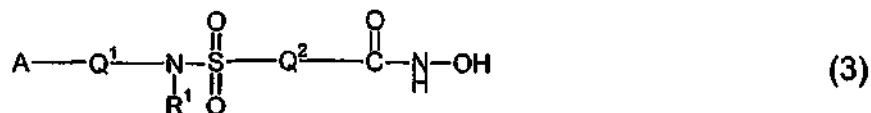
20 en la que:

25 A es un grupo arilo;  
Q<sup>1</sup> es un enlace covalente o un grupo principal arilo;  
J es una unión sulfonamida seleccionada entre:

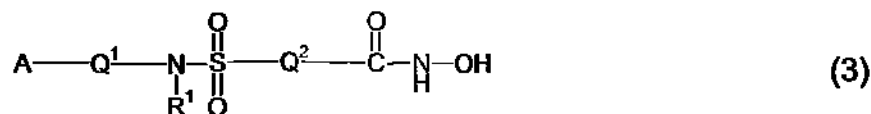


30 R<sup>1</sup> es un sustituyente de sulfonamida; y,  
Q<sup>2</sup> es un grupo principal ácido.

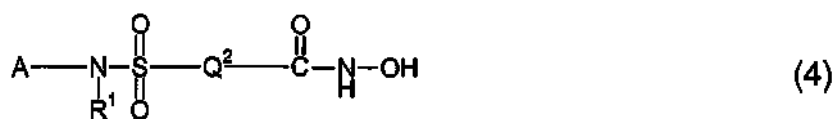
En una realización preferente, Q<sup>1</sup> es un enlace covalente o un grupo principal arilo, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



35 En una realización preferente, Q<sup>1</sup> es un grupo principal arilo, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



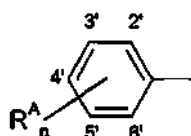
40 En una realización preferente, Q<sup>1</sup> es un enlace covalente, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



Grupo arilo, A

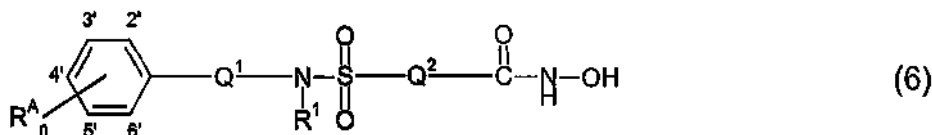
5 En una realización preferente, A es un grupo fenilo, y está opcionalmente sustituido.

En una realización preferente, A es un grupo fenilo opcionalmente sustituido de fórmula:

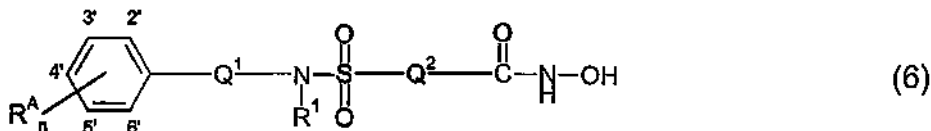


10 en la que n es un número entero de 0 a 5, y cada R<sup>A</sup> es independientemente un sustituyente como se define en el presente documento.

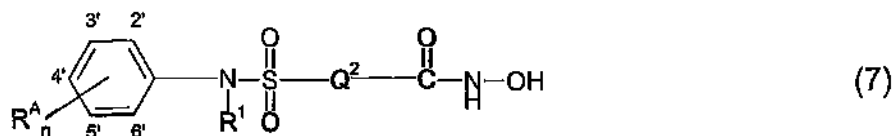
15 En una realización preferente, A es un grupo fenilo opcionalmente sustituido, Q<sup>1</sup> es un enlace covalente o un grupo principal arilo, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



20 En una realización preferente, A es un grupo fenilo opcionalmente sustituido, Q<sup>1</sup> es un grupo principal arilo, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



25 En una realización preferente, A es un grupo fenilo opcionalmente sustituido, Q<sup>1</sup> es un enlace covalente, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



30 En una realización preferente, n es 0.

Ejemplos de sustituyentes de arilo preferentes, R<sup>A</sup>, incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: flúor, cloro, bromo, yodo, metilo, etilo, isopropilo, t-butilo, ciano, trifluorometilo, hidroxilo, metoxi, etoxi, isopropoxi, trifluorometoxi, fenoxi, metiltio, trifluorometiltio, hidroximetilo, amino, dimetilamino, dietilamino, morfolino, amido (sin sustituir, es decir, -CONH<sub>2</sub>), acetamido, acetilo, nitro, sulfonamido (sin sustituir, es decir, -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), y fenilo.

35 Grupo principal arilo, Q<sup>1</sup>

En una realización preferente, Q<sup>1</sup> es un enlace covalente.

40 En una realización preferente, Q<sup>1</sup> es un enlace covalente o un grupo alquileo C<sub>1-7</sub> alifático saturado. En una realización preferente, Q<sup>1</sup> es un grupo alquileo C<sub>1-7</sub> alifático saturado.

En una realización preferente,  $Q^1$  es un enlace covalente o un grupo alquileo  $C_{1-7}$  lineal saturado. En una realización preferente,  $Q^1$  es un grupo alquileo  $C_{1-7}$  lineal saturado.

5 En una realización preferente,  $Q^1$  es un enlace covalente o un grupo alquileo  $C_{1-7}$  ramificado saturado. En una realización preferente,  $Q^1$  es un grupo alquileo  $C_{1-7}$  ramificado saturado.

Grupo principal arilo,  $Q^1$ : longitud de la cadena principal

10 En una realización, el grupo principal arilo,  $Q^1$ , tiene una cadena principal de al menos 2 átomos de carbono; es decir, la cadena más corta de átomos que une el grupo arilo, A, y el grupo sulfonamida, J, tiene 2 o más átomos, más específicamente, 2 o más átomos de carbono. De ese modo, se excluyen grupos tales como metileno ( $-CH_2-$ ) y metileno sustituido ( $-CR_2-$  y  $-CHR-$ ).

15 En una realización, el grupo principal arilo,  $Q^1$ , tiene una cadena principal de 2 átomos de carbono.

En una realización preferente,  $Q^1$  tiene una cadena principal de al menos 2 átomos de carbono, y es un grupo alquileo  $C_{2-7}$  alifático saturado.

20 En una realización preferente,  $Q^1$  tiene una cadena principal de al menos 2 átomos de carbono, y es un grupo alquileo  $C_{2-7}$  lineal saturado.

En una realización preferente,  $Q^1$  tiene una cadena principal de al menos 2 átomos de carbono, y es un grupo alquileo  $C_{2-7}$  ramificado saturado.

25 En una realización preferente, el grupo principal arilo,  $Q^1$ , es: un enlace covalente, o: tiene una cadena principal de al menos 2 átomos de carbono.

En una realización preferente,  $Q^1$  es: un enlace covalente, o: tiene una cadena principal de al menos 2 átomos de carbono y es un grupo alquileo  $C_{2-7}$  alifático saturado.

30 En una realización preferente,  $Q^1$  es: un enlace covalente, o: tiene una cadena principal de al menos 2 átomos de carbono y es un grupo alquileo  $C_{2-7}$  lineal saturado.

35 En una realización preferente,  $Q^1$  es: un enlace covalente, o: tiene una cadena principal de al menos 2 átomos de carbono y es un grupo alquileo  $C_{2-7}$  ramificado saturado.

Grupo principal arilo,  $Q^1$ : ciertas realizaciones

40 Obsérvese que, para las realizaciones que excluyen, por ejemplo, un enlace covalente, ciertas longitudes de cadena principal, etc., se ha de entender que las especies correspondientes que se listan a continuación se excluyen de forma similar de las respectivas realizaciones que se discuten a continuación.

En una realización preferente,  $Q^1$  se selecciona entre:

45 un enlace covalente;

$-CH_2-$ ,  $-(CH_2)_2-$ ,  $-(CH_2)_3-$ ,  $-(CH_2)_4-$ ,  $-(CH_2)_5-$ ,

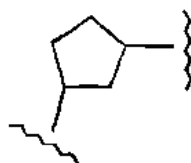
$-CH=CH-$ ;

$-CH=CH-CH=CH-$ ;

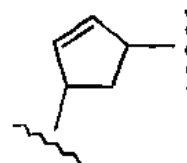
50  $-C(CH_3)=CHCH=CH-$ ,  $-CH=C(CH_3)CH=CH-$ ,  $-CH=CHC(CH_3)=CH-$  y  $-CH=CHCH=C(CH_3)-$ ;

$-CH=CHCH_2CH_2CH_2-$  y  $-CH_2CH_2CH_2CH=CH-$ ; y,

(ciclopent-1,3-ileno)



(4-ciclopenten-1,3-ileno)



55 En una realización preferente,  $Q^1$  se selecciona entre: un enlace covalente,  $-CH_2-$ ,  $-CH_2CH_2-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2-$ ,  $-CH=CH-$  y  $-CH=CH-CH=CH-$ .

Sustituyente de sulfonamido, R<sup>1</sup>

En una realización preferente, R<sup>1</sup> es -H, -Me, -Et, -nPr, -iPr, -nBu, -sBu, o -tBu.

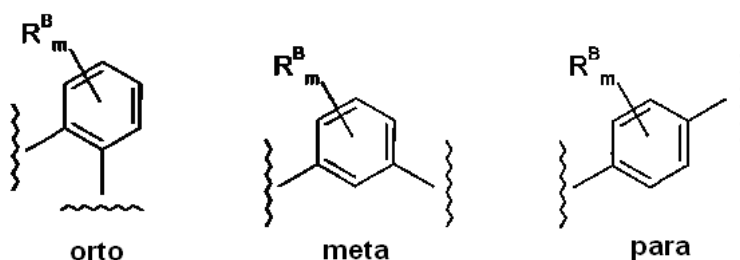
5 En una realización preferente, R<sup>1</sup> es -H, -Me, o -Et.

En una realización preferente, R<sup>1</sup> es -H.

Grupo principal ácido, Q<sup>2</sup>

10 En una realización preferente, Q<sup>2</sup> es fenilen-metileno, fenilen-etileno, fenilen-propileno, o fenilen-etenileno (también conocido como fenilen-vinileno).

15 En los grupos anteriores, la unión fenileno puede ser orto, meta, o para, y el grupo fenileno está opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes de arilo, R<sup>B</sup>:



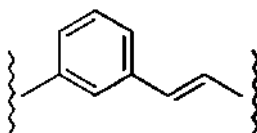
En una realización preferente, la unión fenileno es meta.

20 En una realización preferente, m es 0.

Ejemplos de sustituyentes de arilo preferentes, R<sup>B</sup>, incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: flúor, cloro, metilo, etilo, isopropilo, t-butilo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxi, etoxi, isopropoxi, metiltio, amino, dimetilamino, dietilamino, morfolino, acetamido, nitro, y fenol.

25

En una realización preferente, Q<sup>2</sup> es:

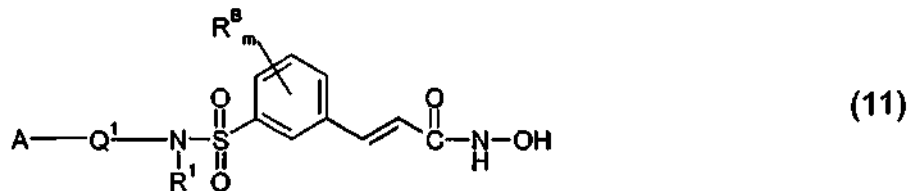


30

Ciertas realizaciones

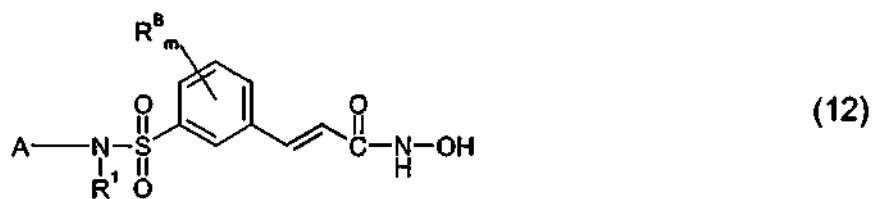
En una realización preferente, Q<sup>1</sup> es un enlace covalente o un grupo principal arilo, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, Q<sup>2</sup> es fenilen-meta-trans-etileno, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:

35



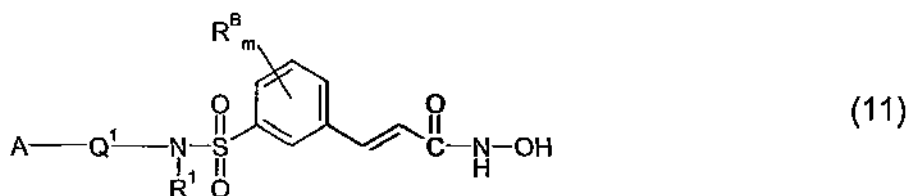
En una realización preferente, Q<sup>1</sup> es un enlace covalente, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, Q<sup>2</sup> es fenilen-meta-trans-etileno, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:

40



En una realización preferente, Q<sup>1</sup> es un grupo principal arilo, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, Q<sup>2</sup> es fenilen-meta-trans-etileno, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:

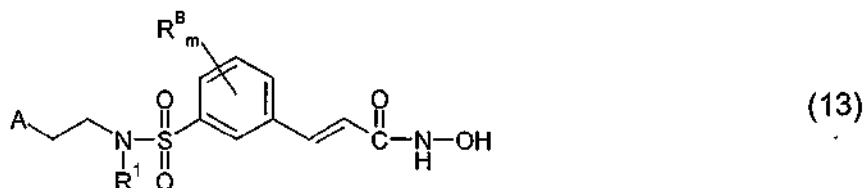
5



En una realización preferente, el grupo principal arilo, Q<sup>1</sup>, tiene una cadena principal de al menos 2 átomos de carbono.

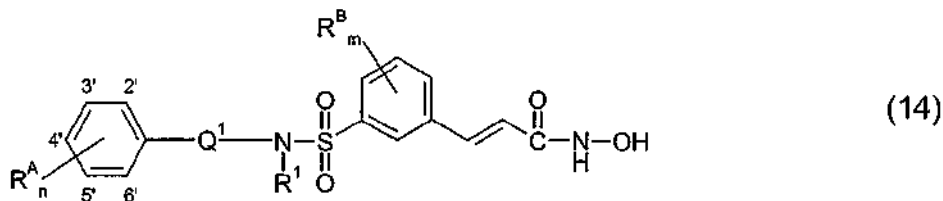
10

En una realización preferente, Q<sup>1</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, Q<sup>2</sup> es fenilen-meta-trans-etileno, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



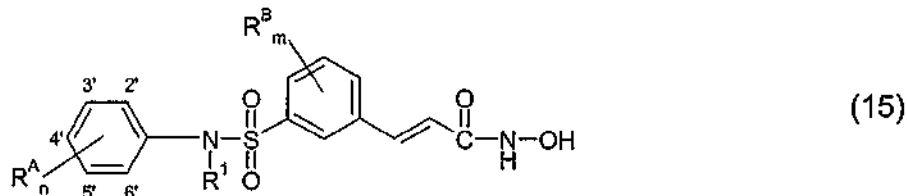
15

En una realización preferente, A es un grupo fenilo opcionalmente sustituido, Q<sup>1</sup> es un enlace covalente o un grupo principal arilo, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, Q<sup>2</sup> es fenilen-meta-trans-etileno, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



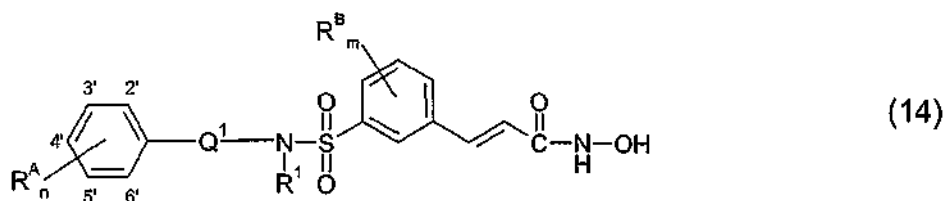
20

En una realización preferente, A es un grupo fenilo opcionalmente sustituido, Q<sup>1</sup> es un enlace covalente, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, Q<sup>2</sup> es fenilen-meta-trans-etileno, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



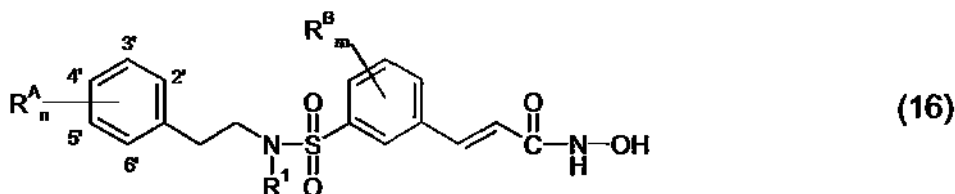
25

En una realización preferente, A es un grupo fenilo opcionalmente sustituido, Q<sup>1</sup> es un grupo principal arilo, J es -NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>-, Q<sup>2</sup> es fenilen-meta-trans-etileno, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



En una realización preferente, el grupo principal arilo,  $Q^1$ , tiene una cadena principal de al menos 2 átomos de carbono.

5 En una realización preferente, A es un grupo fenol opcionalmente sustituido,  $Q^1$  es  $-CH_2CH_2-$ , J es  $-NR^1SO_2-$ ,  $Q^2$  es fenilen-meta-trans-etileno, y los compuestos tienen la siguiente fórmula:



#### 10 Ejemplos de realizaciones específicas

Algunas realizaciones individuales de la presente invención incluyen los siguientes compuestos.

11		PX105684
12		PX105685
17		PX106511
18		PX106512

#### 15 Términos químicos

El término "saturado", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos y/o grupos que no tienen ningún doble enlace carbono-carbono ni triple enlace carbono-carbono.

El término "insaturado", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos y/o grupos que tienen al menos un doble enlace carbono-carbono o triple enlace carbono-carbono.

El término "alifático", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos y/o grupos que son lineales o ramificados, pero no cíclicos (también conocidos como grupos "acíclicos" o "de cadena abierta").

Alquileo  $C_{1-7}$ : la expresión "alquileo  $C_{1-7}$ ", como se usa en el presente documento, se refiere a un resto bidentado que se obtiene retirando dos átomos de hidrógeno, bien ambos del mismo átomo de carbono, o bien uno de cada uno de dos átomos de carbono diferentes, de un compuesto hidrocarburo  $C_{1-7}$  que tiene de 1 a 7 átomos de carbono, que puede ser alifático o alicíclico, o una combinación de los mismos, y que puede estar saturado, parcialmente insaturado, como totalmente insaturado.

Ejemplos de grupos alquileo  $C_{1-7}$  lineales saturados incluyen, pero no se limitan a,  $-(CH_2)_n-$  en el que n es un número entero de 1 a 7, por ejemplo,  $-CH_2-$  (metileno),  $-CH_2CH_2-$  (etileno),  $-CH_2CH_2CH_2-$  (propileno), y  $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$  (butileno).

- 5 Ejemplos de grupos alquileo  $C_{1-7}$  ramificados saturados incluyen, pero no se limitan a,  $-CH(CH_3)-$ ,  $-CH(CH_3)CH_2-$ ,  $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ ,  $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2-$ ,  $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$ ,  $-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_2-$ ,  $-CH(CH_2CH_3)-$ ,  $-CH(CH_2CH_3)CH_2-$  y  $-CH_2CH(CH_2CH_3)CH_2-$ .

#### Acrónimos

- 10 Por conveniencia, numerosos restos químicos se representan en el presente documento usando abreviaturas bien conocidas, que incluyen, pero no se limitan a, metilo (Me), etilo (Et), n-propilo (nPr), iso-propilo (iPr), n-butilo (nBu), terc-butilo (tBu), n-hexilo (nHex), ciclohexilo (cHex), fenilo (Ph), bifenilo (biPh), bencilo (Bn), naftilo (naph), metoxi (MeO), etoxi (EtO), benzoilo (Bz), y acetilo (Ac).

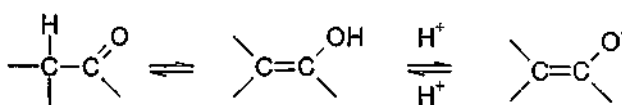
- 15 Por conveniencia, numerosos compuestos químicos se representan en el presente documento usando abreviaturas bien conocidas, que incluyen, pero no se limitan a, metanol (MeOH), etanol (EtOH), iso-propanol (i-PrOH), metil etil cetona (MEK), ácido acético (AcOH), diclorometano (cloruro de metileno, DCM), ácido trifluoroacético (TFA), dimetilformamida (DMF), y tetrahidrofurano (THF).

- 20 Isómeros, sales, solvatos, formas protegidas y profármacos

- 25 Un cierto compuesto puede existir en una o más formas geométricas, ópticas, enantioméricas, diastereoméricas, epiméricas, estereoisoméricas, tautoméricas, conformacionales, o anoméricas particulares, que incluyen, pero no se limitan a, formas cis y trans; formas E y Z; formas c, t, y r; formas endo y exo; formas R, S, y meso; formas D y L; formas (+) y (-); formas ceto, enol, y enolato; formas syn y anti; formas sinclinal y anticlinal; formas  $\alpha$  y  $\beta$ ; formas axial y ecuatorial; formas de bote, silla, bote torcido, sobre, y semisilla; y las combinaciones de las mismas, denominadas colectivamente en lo sucesivo en el presente documento "isómeros" (o "formas isoméricas").

- 30 Obsérvese que, excepto como se discute a continuación para las formas tautoméricas, se excluyen específicamente del término "isómeros", como se usa en presente documento, los isómeros estructurales (o constitucionales) (es decir, los isómeros que difieren en las conexiones entre los átomos en lugar de simplemente en la posición de los átomos en el espacio). Por ejemplo, la referencia a un grupo metoxi,  $-OCH_3$ , no se interpreta como la referencia a su isómero estructural, un grupo hidroximetilo,  $-CH_2OH$ . De forma análoga, la referencia a orto-clorofenilo no se interpreta como la referencia a su isómero estructural, meta-clorofenilo. Sin embargo, la referencia a una clase de estructuras bien puede incluir formas estructuralmente isoméricas que entren dentro de esa clase (por ejemplo, alquilo  $C_{1-7}$  incluye n-propilo e iso-propilo; butilo incluye n-, iso-, sec-, y terc-butilo; metoxifenilo incluye orto-, meta-, y para-metoxi-fenilo).

- 40 La exclusión anterior no se refiere al formas tautoméricas, por ejemplo, formas ceto, enol, y enolato, como, por ejemplo, en los siguientes pares tautoméricos: ceto/enol (que se ilustra a continuación), imina/enamina, amida/imino alcohol, amidina/amidina, nitroso/oxima, tiocetona/enotiol, N-nitroso/hidroxiazó, y nitro/aci-nitro.



- 45 Obsérvese que en el término "isómero" se incluyen específicamente compuestos con una o más sustituciones isotópicas. Por ejemplo, H puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo  $^1H$ ,  $^2H$  (D), y  $^3H$  (T); C puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo  $^{12}C$ ,  $^{13}C$ , y  $^{14}C$ ; O puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo  $^{16}O$  y  $^{18}O$ ; y similares.

- 50 A menos que se especifique otra cosa, la referencia a un compuesto particular incluye la totalidad de tales formas isoméricas, incluyendo racémicos y otras mezclas de las mismas. Los métodos para la preparación (por ejemplo, síntesis asimétrica) y la separación (por ejemplo, cristalización fraccionada o medios cromatográficos) de tales formas isoméricas se conocen en la técnica o se obtienen fácilmente por adaptación de los métodos que se enseñan en el presente documento de una forma conocida.

A menos que se especifique otra cosa, la referencia a un compuesto particular también incluye las formas iónica, de sal, y de solvato (por ejemplo, hidrato) del mismo, por ejemplo, como se discute posteriormente.

- 60 Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar, y/o manipular una sal correspondiente del compuesto activo, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se discuten en Berge *et al.*, 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts", J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19.

Por ejemplo, si el compuesto es aniónico, o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico (por ejemplo, -COOH puede ser -COO<sup>-</sup>), entonces se puede formar una sal con un catión adecuado. Ejemplos cationes inorgánicas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, iones de metales alcalinos tales como Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>, cationes alcalinotérreos tales como Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>, y otros cationes tales como Al<sup>3+</sup>. Ejemplos de cationes orgánicas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, ion amonio (es decir, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e iones amonio sustituidos (por ejemplo, NH<sub>3</sub>R<sup>+</sup>, NH<sub>2</sub>R<sub>2</sub><sup>+</sup>, NHR<sub>3</sub><sup>+</sup>, NR<sub>4</sub><sup>+</sup>). Ejemplos de algunos iones amonio sustituidos adecuados son los que derivan de: etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina. Un ejemplo de un ion amonio cuaternario común es N(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Si el compuesto es catiónico, o tiene un grupo funcional que puede ser catiónico (por ejemplo, -NH<sub>2</sub> puede ser -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), entonces se puede formar una sal con un anión adecuado. Ejemplos de aniones inorgánicas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, los obtenidos a partir de los siguientes ácidos inorgánicos: clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico, y fosforoso. Ejemplos de aniones orgánicas adecuados incluyen, pero no se limitan a, aniones de los siguientes ácidos orgánicos: acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etanosulfónico, etanodisulfónico, oxálico, isetiónico, y valérico.

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar, y/o manipular un solvato correspondiente del compuesto activo. El término "solvato" se usa en el presente documento en el sentido convencional para referirse a un complejo de soluto (por ejemplo, compuesto activo, sal de compuesto activo) y disolvente. Si el disolvente es agua, el solvato se puede denominar convenientemente hidrato, por ejemplo, un monohidrato, un dihidrato, un trihidrato, etc.

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar, y/o manipular el compuesto activo en una forma químicamente protegida. La expresión "forma químicamente protegida", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto en el que uno o más grupos funcionales reactivos están protegidos de reacciones químicas no deseables, es decir, están en forma de un grupo de protección o protector (también conocido como grupo de enmascaramiento o enmascarador). Al proteger un grupo funcional reactivo, se pueden llevar a cabo las reacciones que implican otros grupos funcionales reactivos sin proteger, sin afectar al grupo protegido; el grupo protector se puede retirar, habitualmente en una etapa posterior, sin afectar básicamente al resto de la molécula. Véase, por ejemplo, Protective Groups in Organic Synthesis (T. Green y P. Wuts, Wiley, 1991), y Protective Groups in Organic Synthesis (T. Green y P. Wuts; 3<sup>a</sup> edición; John Wiley y Sons, 1999).

Por ejemplo, un grupo hidroxilo puede estar protegido en forma de un éter (-OR) o un éster (-OC(=O)R), por ejemplo, en forma de: un t-butilo éter; un bencil, benzhidril (difenilmetil), o tritil (trifenilmetil) éter; un trimetilsilil o t-butildimetilsilil éter; o un acetil éster (-OC(=O)CH<sub>3</sub>, -OAc).

Por ejemplo, un grupo aldehído o cetona puede estar protegido en forma de un acetal o cetal, respectivamente, en el que el grupo carbonilo (>C=O) se convierte en un diéter (>C(OR)<sub>2</sub>), por reacción con, por ejemplo, un alcohol primario. El grupo aldehído o cetona se regenera fácilmente por hidrólisis usando un gran exceso de agua en presencia de un ácido.

Por ejemplo, un grupo amina puede estar protegido, por ejemplo, en forma de una amida (-NRCO-R) o un uretano (-NRCO-OR), por ejemplo, en forma de: una metil amida (-NHCO-CH<sub>3</sub>); una benciloxi amida (-NHCO-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, -NH-Cbz); en forma de una t-butoxi amida (-NHCO-OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -NH-Boc); una 2-bifenil-2-propoxi amida (-NHCO-OC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, -NH-Bpoc), en forma de una 9-fluorenilmetoxi amida (-NH-Fmoc), en forma de una 6-nitroveratriloxi amida (-NH-Nvoc), en forma de una 2-trimetilsililetiloxi amida (-NH-Teoc), en forma de una 2,2,2-tricloroetiloxi amida (-NH-Troc), en forma de una aliloxi amida (-NH-Alloc), en forma de una 2-(fenilsulfonil)etiloxi amida (-NH-Psec); o, en casos adecuados (por ejemplo, aminas cíclicas), en forma de un radical nitróxido (>N-O•).

Por ejemplo, un grupo ácido carboxílico puede estar protegido en forma de un éster o una amida, por ejemplo, en forma de: un éster de bencilo; un éster de t-butilo; un éster de metilo; o una metil amida.

Por ejemplo, un grupo tiol puede estar protegido en forma de un tioéter (-SR), por ejemplo, en forma de: un bencil tioéter; un acetamidometil éter (-S-CH<sub>2</sub>NHC(=O)CH<sub>3</sub>).

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar, y/o manipular el compuesto activo en forma de un profármaco. El término "profármaco", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que, cuando se metaboliza, proporciona el compuesto activo deseado. Habitualmente, el profármaco es inactivo, o menos activo que el compuesto activo, pero puede proporcionar propiedades de manipulación, administración o metabólicas ventajosas. Por ejemplo, algunos profármacos son ésteres del compuesto activo; durante el metabolismo, el grupo éster se escinde para proporcionar el fármaco activo. Además, algunos profármacos se activan enzimáticamente para proporcionar el compuesto activo, o un compuesto que, después de reacciones químicas adicionales, proporciona el compuesto activo. Por ejemplo, el profármaco puede ser un derivado de azúcar u otro glicósido conjugado, o puede ser un derivado de éster de aminoácido.



Síntesis

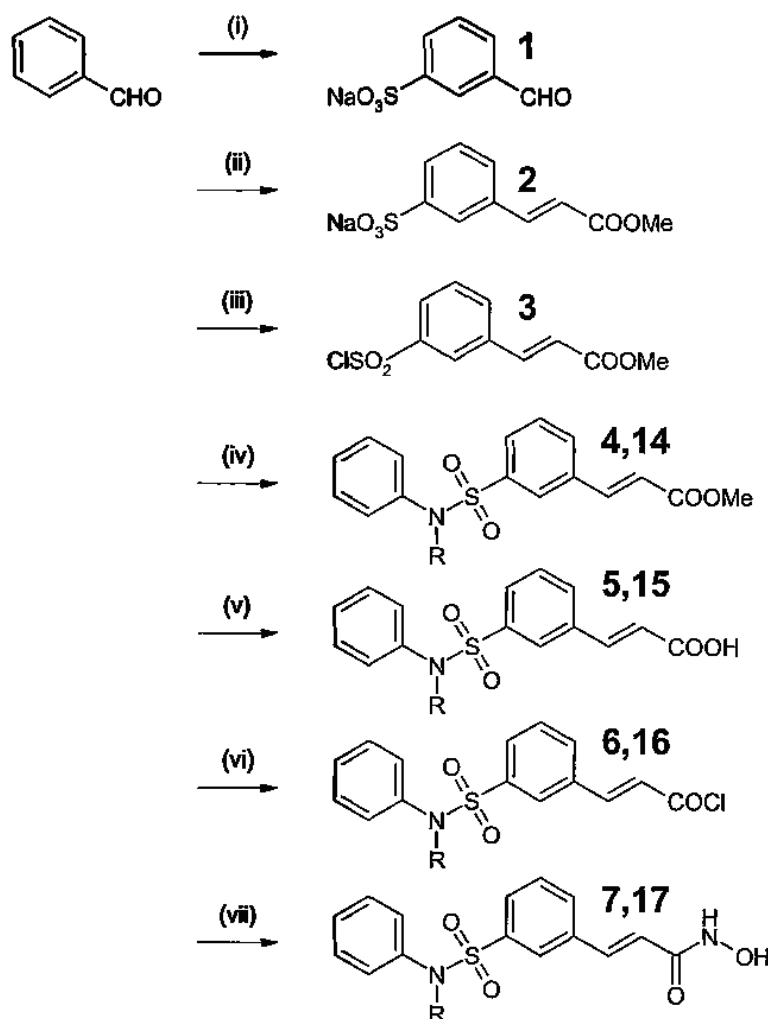
En el presente documento se describen varios métodos para la síntesis química de los compuestos que se describen en el presente documento. Estos métodos se pueden modificar y/o adaptar de formas conocidas para facilitar la síntesis de los compuestos adicionales que se describen en el presente documento.

Los compuestos que se describen en el presente documento se pueden preparar, por ejemplo, mediante los métodos que se describen en el presente documento, o adaptando estos u otros métodos bien conocidos de formas bien conocidas.

En un método, se hace reaccionar un arilaldehído con ácido sulfúrico fumante para formar un producto de sulfonil-arilaldehído. El grupo aldehído se hace reaccionar a continuación con un fosfonoéster, para formar un éster de ácido carboxílico colgante. El grupo sulfonilo se hace reaccionar a continuación con  $\text{SOCl}_2$  para formar un grupo haluro de sulfonilo. El producto se hace reaccionar a continuación con una amina (por ejemplo, una aril amina) para formar la correspondiente sulfonamida. A continuación se desprotege el éster de ácido carboxílico por reacción con una base, y se convierte posteriormente en un haluro de acilo. El haluro de acilo se hace reaccionar con hidroxilamina para formar el correspondiente ácido hidroxámico.

Un ejemplo de este enfoque se ilustra a continuación, en el Esquema 1, en el que las condiciones de reacción son las que siguen: (i)  $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{SO}_3$ , 30 °C con mezcla, mezcla a 40 °C durante 10 horas, mezcla a temperatura ambiente durante una noche, adición de  $\text{H}_2\text{O}$  fría, adición de  $\text{CaCO}_3$ ; (ii)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $(\text{MeO})_2\text{P}(=\text{O})\text{CH}_2\text{COOMe}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , temperatura ambiente, 30 min.; (iii) cloruro de tionilo, benceno, DMF, reflujo, una hora; (iv) anilina, piridina, DCM, 50 °C, 1 hora; (v)  $\text{NaOH}$ ,  $\text{MeOH}$ ; (vi) cloruro de oxalilo, DMF, DCM, 40 °C, 1 hora; (vii) clorhidrato de hidroxilamina y  $\text{NaHCO}_3$  en THF, temperatura ambiente, 1 hora.

Esquema 1

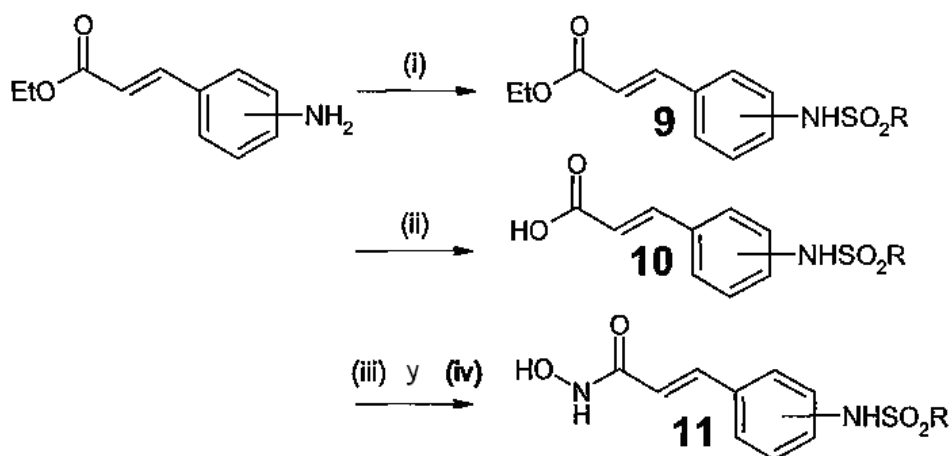


Usando aminas en lugar de anilina, se pueden obtener los correspondientes productos. El uso de anilina, 4-metoxianilina, 4-metilanilina, 4-bromoanilina, 4-cloroanilina, 4-bencilamina, y 4-fenetilamina, entre otras, se describe en el presente documento.

- 5 En otro método, un aminoácido adecuado (por ejemplo, un  $\omega$ -aminoácido) que tiene un ácido carboxílico protegido (por ejemplo, en forma de un éster) y un grupo amino sin proteger se hace reaccionar con un compuesto del cloruro de sulfonilo (por ejemplo,  $\text{RSO}_2\text{Cl}$ ) para obtener la correspondiente sulfonamida que tiene un ácido carboxílico protegido. A continuación se desprotege el ácido carboxílico protegido usando una base para obtener el ácido carboxílico libre, que se hace reaccionar a continuación, por ejemplo, con resina de hidroxilamina 2-clorotritilo seguido de ácido (por ejemplo, ácido trifluoroacético), para obtener el ácido hidroxámico deseado.

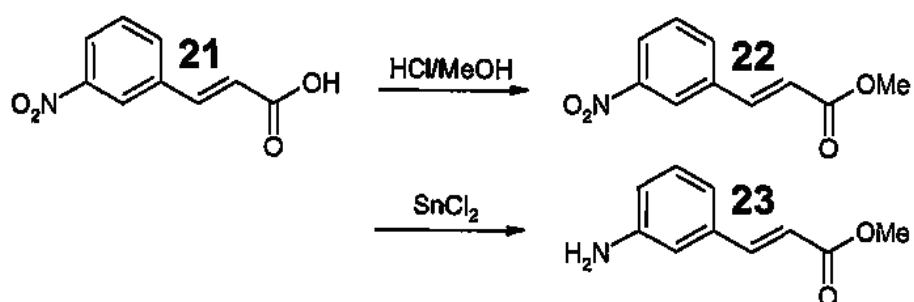
Un ejemplo de este enfoque se ilustra a continuación, en el Esquema 2, en el que las condiciones de reacción son las que siguen: (i)  $\text{RSO}_2\text{Cl}$ , piridina, DCM, temperatura ambiente, 12 horas; (ii)  $\text{LiOH}$  1 M o  $\text{NaOH}$  1 M, dioxano, temperatura ambiente, 3-48 horas; (iii) resina de hidroxilamina 2-clorotritilo, HOAt, HATU, DIPEA, DCM, temperatura ambiente, 16 horas; y (iv) TFA/DCM (5:95, v/v), temperatura ambiente, 1,5 horas.

Esquema 2

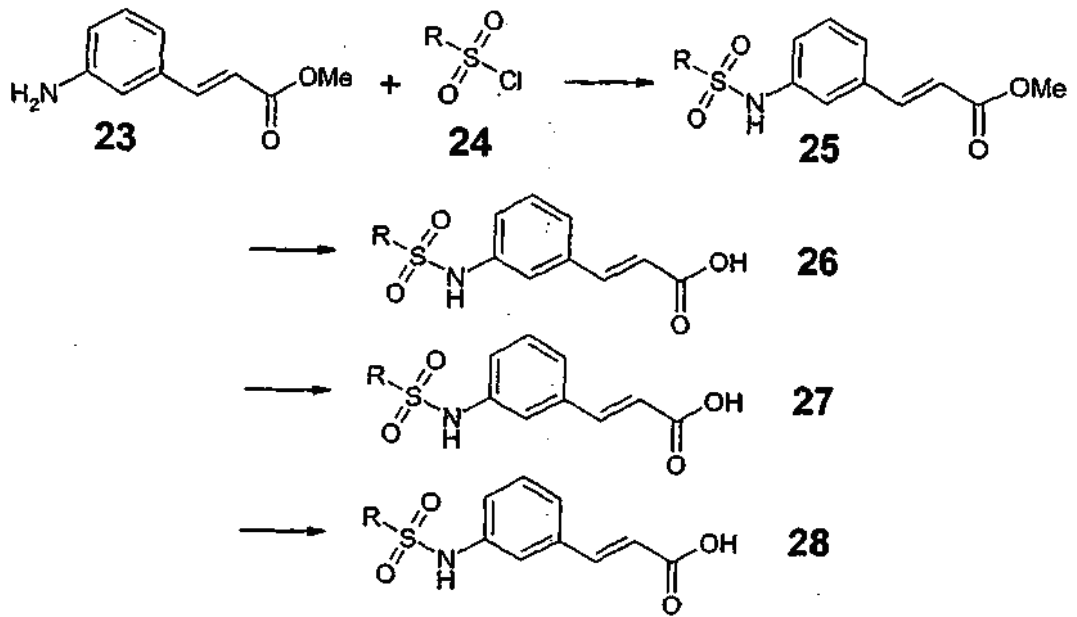


20 A continuación se ilustran métodos adicionales para la síntesis de los compuestos que se describen en el presente documento.

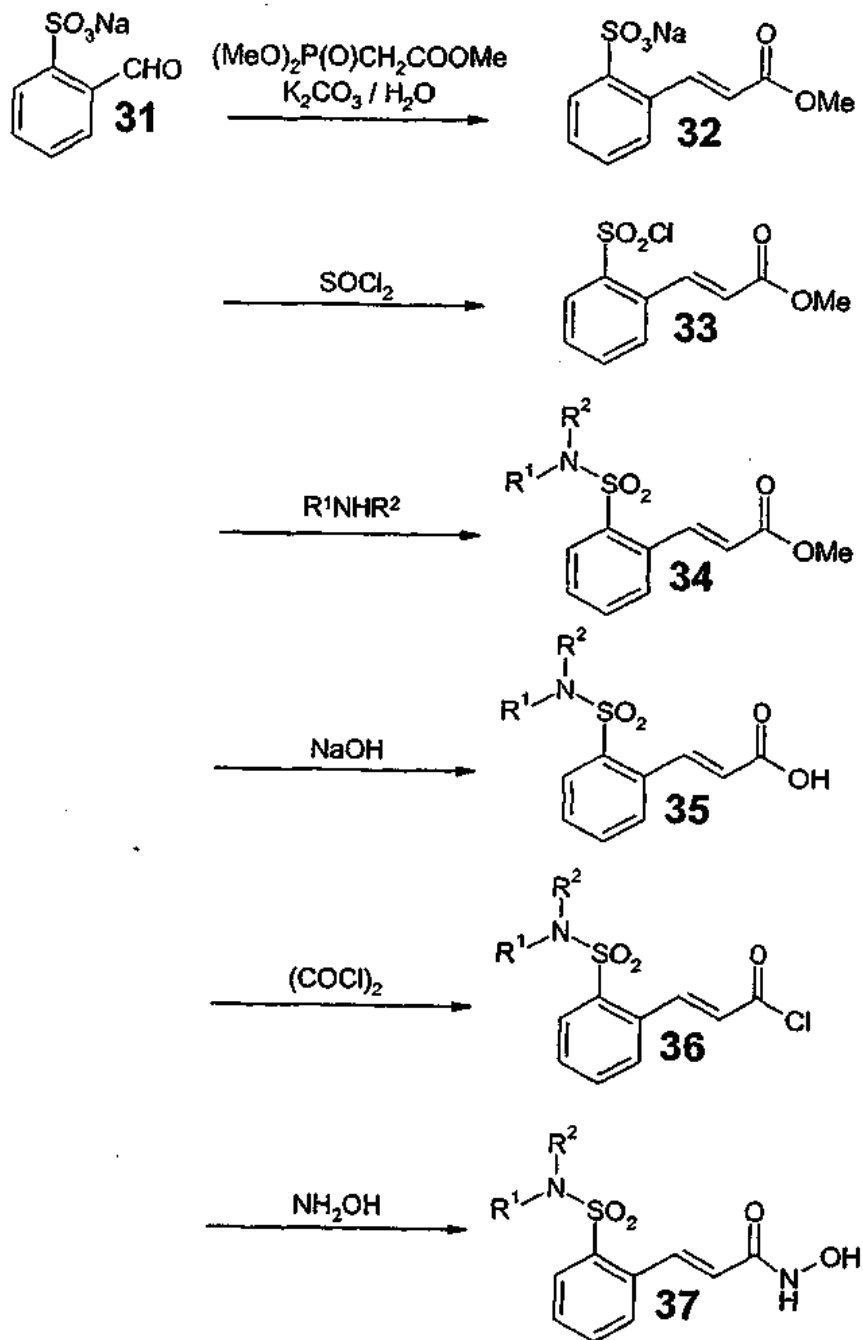
Esquema 3A



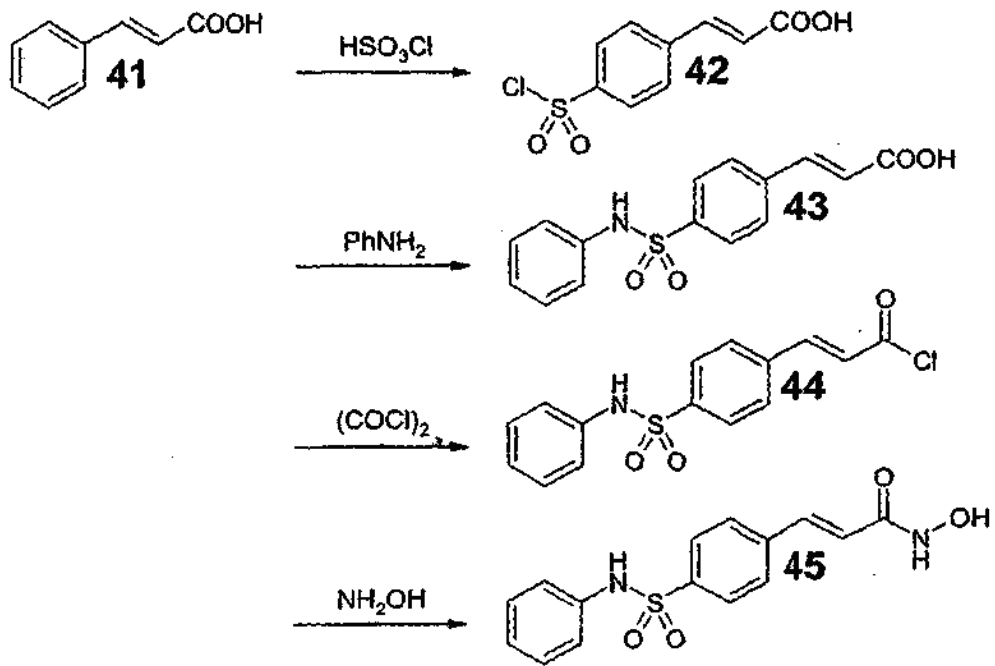
Esquema 3B



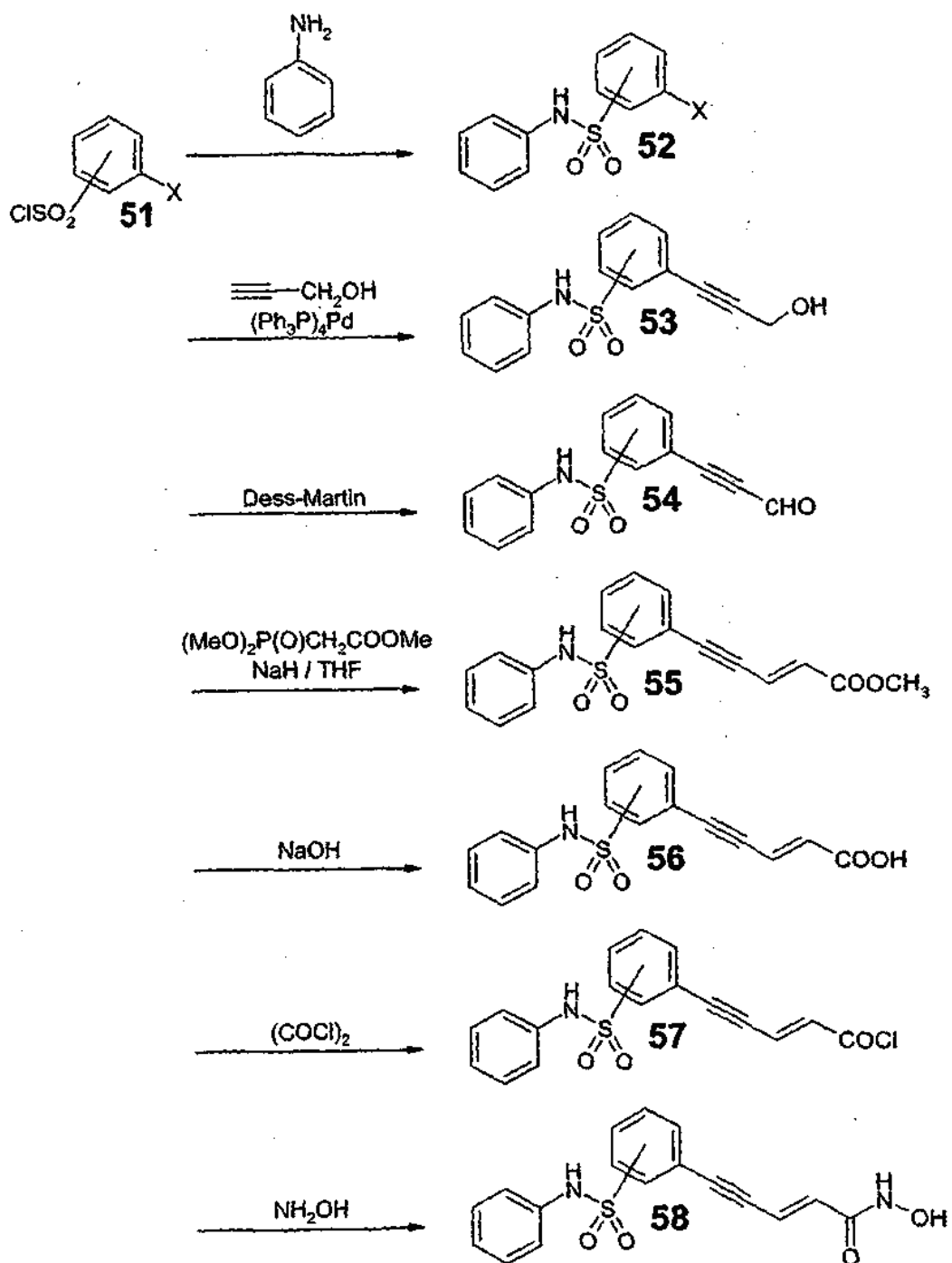
## Esquema 4



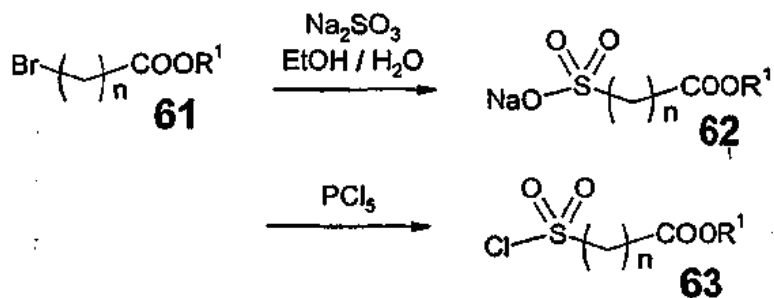
## Esquema 5



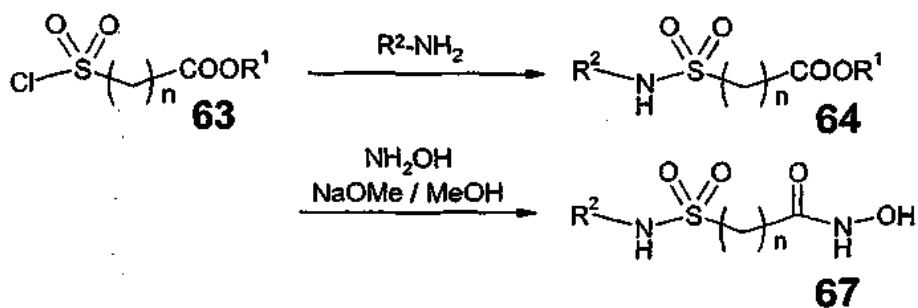
## Esquema 6



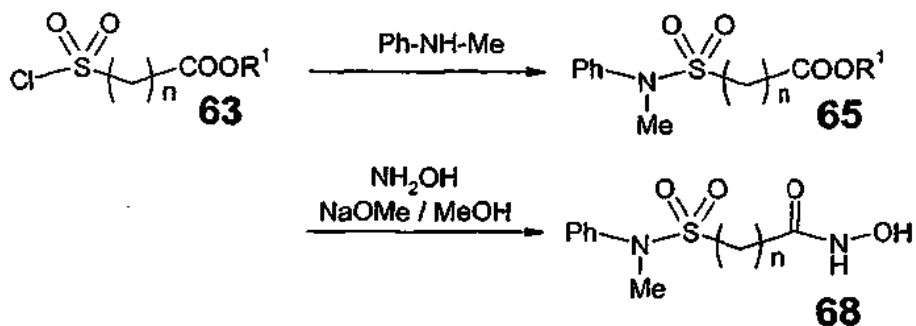
Esquema 7A



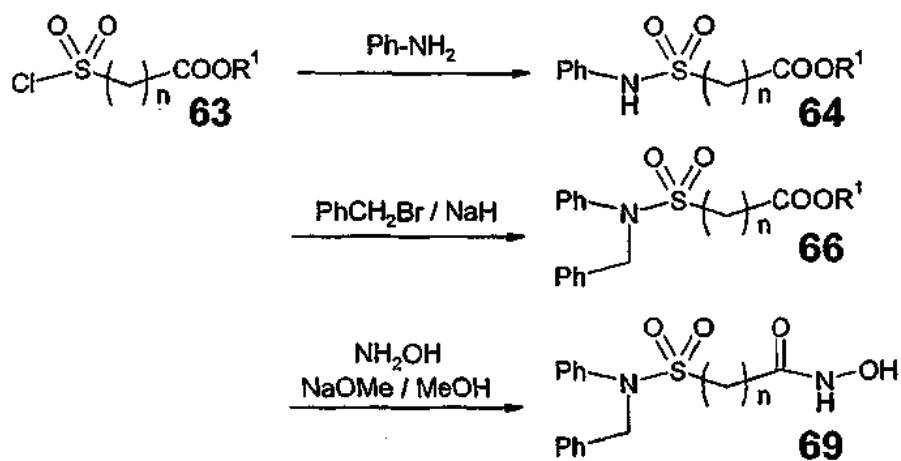
Esquema 7B

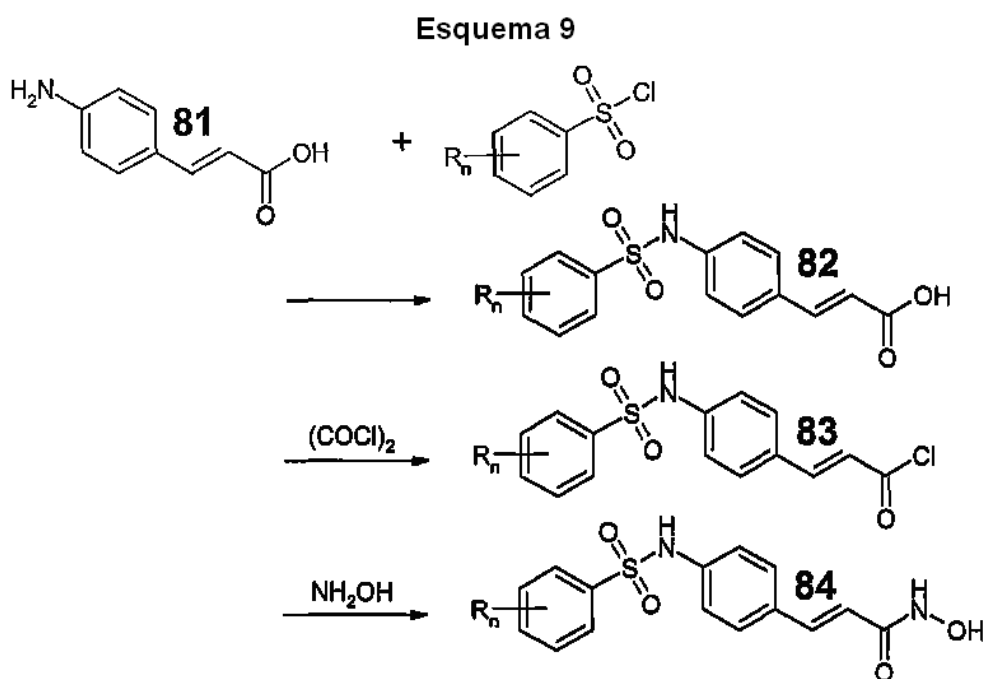
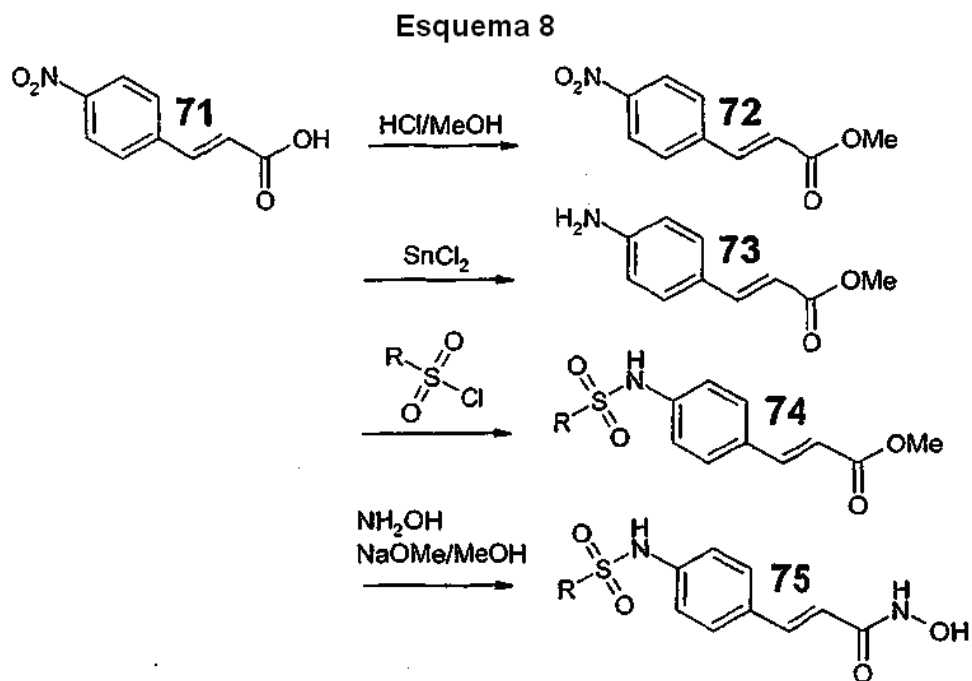


Esquema 7C



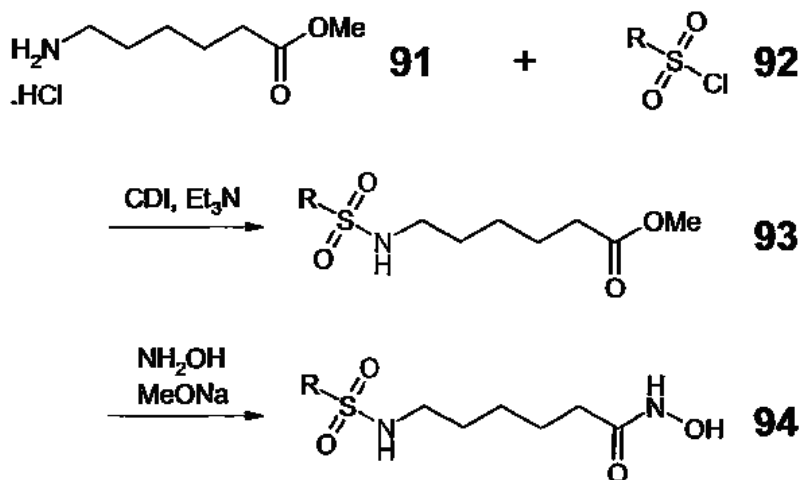
Esquema 7D







## Esquema 10

Usos

5 En el presente documento se describen compuestos activos que son capaces de inhibir HDAC (por ejemplo, inhibir la actividad de HDAC, inhibir la formación de complejos de HDAC, inhibir la actividad de los complejos de HDAC), así como métodos para inhibir la actividad de HDAC, que comprenden poner en contacto una célula con una cantidad eficaz de un compuesto activo, tanto *in vitro* como *in vivo*.

10 El término "activo", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que son capaces de inhibir la actividad de HDAC, que incluyen específicamente tanto compuestos con actividad intrínseca (fármacos) como profármacos de tales compuestos, pudiendo exhibir los profármacos por sí mismos poca o ninguna actividad intrínseca.

15 Un experto habitual en la materia es capaz de determinar fácilmente si un compuesto candidato es activo o no, es decir, si es capaz de inhibir la actividad de HDAC. Por ejemplo, en los ejemplos posteriores se describen ensayos que se usan para evaluar convenientemente la inhibición que ofrece un compuesto particular.

20 Por ejemplo, una muestra de células (por ejemplo, de un tumor) se puede cultivar *in vitro* y se pone en contacto el compuesto candidato con las células, y se observa el efecto del compuesto en estas células. Como ejemplos de "efecto", se puede determinar el estado morfológico de las células (por ejemplo, vivas o muertas), o los niveles de expresión de los genes regulados por HDAC. Cuando se descubre que el compuesto candidato ejerce una influencia sobre las células, estas se pueden usar como marcador de pronóstico o diagnóstico de la eficacia del compuesto en los métodos para tratar a un paciente que porta células del mismo tipo (por ejemplo, ese tumor o un tumor del mismo tipo celular).

25 En el presente documento se describen agentes antiproliferativos. La expresión "agente antiproliferativo", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que trata una afección proliferativa (es decir, un compuesto que es útil en el tratamiento de una afección proliferativa).

30 Las expresiones "proliferación celular", "afección proliferativa", "trastorno proliferativo", y "enfermedad proliferativa", se usan de forma intercambiable en el presente documento y se refieren a la proliferación celular no deseada o incontrolada de células excesivas o anormales que son indeseadas, tal como, crecimiento neoplásico o hiperplásico, tanto *in vitro* como *in vivo*. Ejemplos de afecciones proliferativas incluyen, pero no se limitan a, proliferación celular pre-maligna y maligna, que incluye, pero no se limita a, neoplasmas y tumores malignos, cánceres, leucemias, psoriasis, enfermedades óseas, trastornos fibroproliferativos (por ejemplo, de tejidos colectivos), y aterosclerosis. Se puede tratar cualquier tipo de célula, que incluye, pero no se limita a, las de pulmón, colon, mama, ovario, próstata, hígado, páncreas, cerebro, y piel.

40 Los compuestos antiproliferativos que se describen en el presente documento tienen aplicación en el tratamiento de cáncer, y los así descritos en el presente documento son agentes anticancerígenos. La expresión "agente anticancerígeno", como se usan presente documento, se refiere a un compuesto que trata un cáncer (es decir, un compuesto que es útil en el tratamiento de un cáncer). El efecto anticancerígeno puede surgir de uno o más mecanismos, que incluyen, pero no se limitan, la regulación de la proliferación celular, la inhibición de la angiogénesis (la formación de nuevos vasos sanguíneos), la inhibición de la metástasis (la propagación de un tumor desde su origen), la inhibición de la invasión (la propagación de células tumorales a estructuras vecinas normales), o

la promoción de la apoptosis (muerte celular programada).

Los compuestos que se describen en el presente documento también se pueden usar en el tratamiento de afecciones que se conoce que están mediadas por HDAC, o que se conoce que se tratan con inhibidores de HDAC (tales como, por ejemplo, tricostatina A). Ejemplos de tales afecciones incluyen, pero no se limitan a, las siguientes:

Cáncer (véase, por ejemplo, Vigushin *et al.*, 2001).

Psoriasis (véase, por ejemplo, lavarone *et al.*, 1999).

Trastornos fibroproliferativos (por ejemplo, fibrosis hepática) (véase, por ejemplo, Niki *et al.*, 1999; Corneil *et al.*, 1998).

Trastorno proliferativo de músculo liso (por ejemplo, aterosclerosis, reestenosis) (véase, por ejemplo, Kimura *et al.*, 1994).

Enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, degeneración espino-cerebelar) (véase, por ejemplo, Kuusisto *et al.*, 2001).

Enfermedad inflamatoria (por ejemplo, osteoartritis, artritis reumatoide) (véase, por ejemplo, Dangond *et al.*, 1998; Takahashi *et al.*, 1996).

Enfermedades que involucran angiogénesis (por ejemplo, cáncer, artritis reumatoide, psoriasis, retinopatía diabética) (véase, por ejemplo, Kim *et al.*, 2001).

Trastornos hematopoyéticos (por ejemplo, anemia, anemia falciforme, talasemia) (véase, por ejemplo, McCaffrey *et al.*, 1997).

Infección fúngica (véase, por ejemplo, Bernstein *et al.*, 2000; Tsuji *et al.*, 1976).

Infección parasitaria (por ejemplo, malaria, tripanosomiasis, helmintiasis, infecciones protozoarias) (véase, por ejemplo, Andrews *et al.*, 2000).

Infección bacteriana (véase, por ejemplo, Onishi *et al.*, 1996).

Infección viral (véase, por ejemplo, Chang *et al.*, 2000).

Afecciones que se pueden tratar por regulación inmune (por ejemplo, esclerosis múltiple, diabetes autoinmune, lupus, dermatitis atópica, alergias, asma, rinitis alérgica, enfermedad inflamatoria del intestino; y mejora del injerto de transplantes) (véase, por ejemplo, Dangond *et al.*, 1998; Takahashi *et al.*, 1996).

En el presente documento también se describen compuestos activos para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal. Tal método puede comprender administrar a tal sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto activo, preferentemente en forma de una composición farmacéutica.

El término "tratamiento", como se usa en el presente documento en el contexto de tratar una afección, se refiere generalmente a tratamiento y terapia, tanto de un ser humano como de un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en el que se consigue algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del desarrollo de la afección, e incluye la reducción de la tasa de desarrollo, la detención de la tasa de desarrollo, la mejora de la afección, y la cura de la afección. También se incluye tratamiento como medida profiláctica.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de un compuesto activo, o de un material, composición o forma de dosificación que comprende un compuesto activo, que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado, que corresponde a una relación beneficio/riesgo razonable.

El término "tratamiento" incluye tratamientos y terapias de combinación, en los que se combinan dos o más tratamientos o terapias, por ejemplo, secuencialmente o simultáneamente. Ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero no se limitan a, quimioterapia (la administración de agentes activos, incluyendo, por ejemplo, fármacos, anticuerpos (por ejemplo, como inmunoterapia), profármacos (por ejemplo, como terapia fotodinámica, GDEPT, ADEPT), etc.); cirugía; terapia de radiación; y terapia génica.

En el presente documento también se describe el uso de un compuesto activo para la preparación de un medicamento, por ejemplo, para el tratamiento de una afección proliferativa, como se ha discutido anteriormente.

En el presente documento también se describe el uso de un compuesto activo para la preparación de un medicamento, por ejemplo, para el tratamiento de afecciones que se conoce que están mediadas por HDAC, o que se conoce que se tratan con inhibidores de HDAC (tales como, por ejemplo, tricostatina A), como se ha discutido anteriormente.

5 En el presente documento también se describe un método para inhibir HDAC en una célula que comprende poner en contacto dicha célula con una cantidad eficaz de un compuesto activo.

10 En el presente documento también se describe un método para tratar el cuerpo humano o animal, comprendiendo el método administrar a un sujeto con necesidad de tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto activo, preferentemente en forma de una composición farmacéutica.

15 Los compuestos activos también se pueden usar, como se ha descrito anteriormente, en terapias de combinación, es decir, junto con otros agentes, por ejemplo, agentes citotóxicos.

Los compuestos activos también se pueden usar como parte de un ensayo *in vitro*, por ejemplo, para determinar si es probable que un huésped candidato se beneficie del tratamiento con el compuesto en cuestión.

20 Los compuestos activos también se pueden usar como patrones, por ejemplo, en un ensayo, para identificar otros compuestos activos, otros agentes antiproliferativos, etc.

Los compuestos que se describen en el presente documento también se pueden usar en métodos para mejorar la producción de proteínas mediante cultivo celular (véase, por ejemplo, Furukawa *et al.*, 1998).

#### 25 Vías de administración

El compuesto activo o la composición farmacéutica que comprende el compuesto activo se pueden administrar a un sujeto mediante cualquier vía de administración conveniente, sistémicamente/periféricamente o tópicamente (es decir, en el sitio de acción deseado)

30 Las vías de administración incluyen, pero no se limitan a, oral (por ejemplo, por ingestión); bucal; sublingual; transdérmica (incluyendo, por ejemplo, mediante un parche, escayola, etc.); transmucosa (incluyendo, por ejemplo, mediante un parche, escayola, etc.); intranasal (por ejemplo, mediante pulverización nasal); ocular (por ejemplo, mediante gotas oculares); pulmonar (por ejemplo, mediante terapia de inhalación o insuflación usando, por ejemplo, un aerosol, por ejemplo, a través de la boca o la nariz); rectal (por ejemplo, mediante supositorio o enema); vaginal (por ejemplo, mediante pesario); parenteral, por ejemplo, mediante inyección, incluyendo subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intratecal, intraespinal, intracapsular, subcapsular, intraorbital, intraperitoneal, intratraqueal, subcuticular, intraarticular, subaracnoide, e intraesternal; por implante de un depósito o reservorio, por ejemplo, subcutáneamente o intramuscularmente.

#### 40 Sujeto

El sujeto puede ser un animal.

45 Sujeto puede ser un mamífero, un mamífero placentario, un marsupial (por ejemplo, canguro, uómbat), un monotrema (por ejemplo, ornitorrinco), un roedor (por ejemplo, una cobaya, un hámster, una rata, un ratón), murino (por ejemplo, un ratón), un lagomorfo (por ejemplo, un conejo), ave (por ejemplo, un pájaro), canino (por ejemplo, un perro), felino (por ejemplo, un gato), equino (por ejemplo, un caballo), porcino (por ejemplo, un cerdo), ovino (por ejemplo, una oveja), bovino (por ejemplo, una vaca), un primate, simio (por ejemplo, un mono o simio), un mono (por ejemplo, tití, babuino), un simio (por ejemplo, gorila, chimpancé, orangután, gibón), o un ser humano.

Además, el sujeto puede ser cualquiera de sus formas de desarrollo, por ejemplo, un feto.

En una realización preferente, el sujeto es un ser humano.

#### 55 Formulaciones

60 Aunque que es posible que el ingrediente activo se administre solo, es preferente presentarlo en forma de una composición farmacéutica (por ejemplo, formulación) que comprende al menos un ingrediente activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más vehículos, excipientes, tampones, adyuvantes, estabilizantes, u otros materiales farmacéuticamente aceptables, bien conocidos por los expertos en la materia y opcionalmente otros agentes terapéuticos.

65 En el presente documento también se describen composiciones farmacéuticas, como se han definido anteriormente, y métodos para preparar una composición farmacéutica que comprenden la mezcla de al menos un ingrediente activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más vehículos, excipientes, tampones, adyuvantes,

estabilizantes, u otros materiales farmacéuticamente aceptables, como se describen en el presente documento.

La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que son, dentro del ámbito del juicio médico razonable, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de un sujeto (por ejemplo, un ser humano) sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, de acuerdo con una relación beneficio/riesgo razonable. Cada vehículo, excipiente, etc. también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación.

Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en formas de dosificación unitaria y se pueden preparar mediante cualquier método bien conocido en la técnica de Farmacia. Tales métodos incluyen la etapa de poner en contacto el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan mediante puesta en contacto uniforme e íntima del ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y a continuación, si fuera necesario, dar la forma del producto.

Las formulaciones pueden estar en forma de líquidos, soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, grageas, gránulos, polvos, cápsulas, obleas, píldoras, ampollas, supositorios, pesarios, pomadas, geles, pastas, cremas, pulverizaciones, espumas, lociones, aceites, bolos, electuarios, o aerosoles.

Las formulaciones adecuadas para administración oral (por ejemplo, mediante ingestión) se pueden presentar en forma de unidades discretas tales como cápsulas, obleas o comprimidos, conteniendo cada una una cantidad predeterminada del ingrediente activo; en forma de un polvo o gránulos; en forma de una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o en forma de una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite; en forma de un bolo; en forma de un electuario; o en forma de una pasta.

Un comprimido se puede preparar por compresión o moldeado, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos comprimidos se pueden preparar por compresión en una máquina adecuada del ingrediente activo en una forma no fluida tal como un polvo o gránulos, mezclado opcionalmente con un aglutinante (por ejemplo, povidona, gelatina, hidroxipropilmetil celulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, almidón glicolato sódico, povidona reticulada, carboximetilcelulosa sódica reticulada), tensioactivo o agente de dispersión. Los comprimidos moldeados se pueden preparar por moldeado en una máquina adecuada de una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente revestidos o ranurados y se pueden formular de modo que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo en el mismo usando, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado. Los comprimidos se pueden proporcionar opcionalmente con un revestimiento entérico, para proporcionar la liberación en partes del intestino distintas del estómago.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica (por ejemplo, transdérmica, intranasal, ocular, bucal, y sublingual) se pueden formular en forma de una pomada, crema, suspensión, loción, polvo, solución, pasta, gel, pulverización, aerosol, o aceite. De forma alternativa, una formulación puede comprender un parche o un vendaje tal como una venda o escayola adhesiva impregnada con ingredientes activos y opcionalmente uno o más excipientes o diluyentes.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen grageas que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada, habitualmente sacarosa, goma arábiga o tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y lavados bucales que comprenden el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica en el ojo incluyen también gotas oculares en las que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el ingrediente activo.

Las formulaciones adecuadas para administración nasal, en las que el vehículo es un sólido, incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 20 a aproximadamente 500 micrómetros, que se administra de forma que se toma en una inspiración, es decir, mediante inhalación rápida a través del conducto nasal desde un depósito del polvo que se mantiene cerca de la nariz. Formulaciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido para administración en forma de, por ejemplo, pulverización nasal, gotas nasales, o por administración de aerosol mediante un nebulizador, incluyen soluciones acuosas o aceitosas del ingrediente activo.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica a través de la piel incluyen pomadas, cremas, y emulsiones. Cuando se formula en una pomada, el ingrediente activo se puede emplear opcionalmente con una base de pomada soluble en agua o de parafina. De forma alternativa, los ingredientes activos se pueden formular en una crema con una base de crema de aceite en agua. Si se desea, en la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos aproximadamente un 30 % p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene

dos o más grupos hidroxilo tal como propilenglicol, butano-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol y las mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que aumenta la absorción o la penetración del ingrediente activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Ejemplo de tales compuestos que aumentan la penetración dérmica incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

5 Cuando se formula en forma de una emulsión tópica, la fase aceitosa puede comprender opcionalmente tan solo un emulgente (conocido de otro modo como emulsionador), o puede comprender una mezcla de al menos un emulgente con una grasa o un aceite o tanto una grasa como un aceite. Preferentemente, se incluye un emulgente hidrofílico junto con un emulgente lipofílico que actúa como estabilizante. También es preferente incluir tanto un  
10 aceite como una grasa. Juntos, el emulgente o emulgentes con o sin el estabilizante o estabilizantes componen la denominada cera emulgente, y la cera junto con el aceite y/o la grasa componen la denominada base de pomada emulgente que forma la fase dispersa aceitosa de las formulaciones de crema.

15 Emulgentes y estabilizantes de emulsión adecuados incluyen Tween 60, Span 80, alcohol cetoestearílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y lauril sulfato sódico. La selección de aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en conseguir las propiedades cosméticas deseadas, dado que la solubilidad del compuesto activo en la mayoría de los aceites que se usan previsiblemente en las formulaciones farmacéuticas de emulsión puede ser muy baja. Por lo tanto, la crema debería ser preferentemente un producto no graso, que no manche y lavable con una consistencia adecuada para evitar la fuga de tubos u otros envases. Se pueden usar ésteres mono o  
20 dibásicos de alquilo de cadena lineal o ramificada tales como diisoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol y ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocida como Crodamol CAP, siendo los tres últimos los ésteres preferentes. Estos se pueden usar solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. De forma alternativa, se pueden usar lípidos de punto de fusión elevado tales como parafina  
25 blanda blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

Las formulaciones adecuadas para administración rectal se pueden presentar en forma de un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

30 Las formulaciones adecuadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen además del ingrediente activo, vehículos tales como los que se conoce que son apropiados en la técnica.

35 Las formulaciones adecuadas para administración parenteral (por ejemplo, mediante inyección, incluyendo cutánea, subcutánea, intramuscular, intravenosa intradérmica), incluyen soluciones de inyección isotónicas acuosas y no acuosas estériles, libres de pirógenos, que pueden contener antioxidantes, tampones, conservantes, estabilizantes, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor destinado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes, y liposomas u otros sistemas de micropartículas que se diseñan para dirigir el compuesto a componentes de la sangre  
40 o a uno o más órganos. Ejemplos de vehículos isotónicos adecuados para su uso en tales formulaciones incluyen solución de inyección de cloruro sódico, solución de Ringer, o solución de inyección Ringer con lactato. Habitualmente, la concentración del ingrediente activo en la solución es de aproximadamente 1 ng/ml a aproximadamente 10 µg/ml, por ejemplo de aproximadamente 10 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml. Las formulaciones se pueden presentar en contenedores cerrados herméticamente de dosis unitaria o de dosis múltiple,  
45 por ejemplo, ampollas y viales, y se pueden almacenar en condiciones de liofilización (liofilizados) que requieren únicamente la adición de un vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones de inyección extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles. Las formulaciones pueden estar en forma de liposomas u otros sistemas de micropartículas que se diseñan para dirigir el componente activo a componentes de la sangre o a uno o más órganos.

## 50 Dosificación

Se entenderá que las dosificaciones apropiadas de los compuestos activos, y de las composiciones que comprenden los compuestos activos, pueden variar de paciente a paciente. Determinar la dosificación óptima implicará  
55 generalmente el equilibrio entre el nivel de beneficio terapéutico y cualquier riesgo o efecto secundario perjudicial de los tratamientos que se describen en el presente documento. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de diversos factores que incluyen, pero no se limitan a, la actividad del compuesto particular, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos, y/o materiales usados en combinación, y la edad, sexo, peso, estado general de salud, e historial  
60 médico previo del paciente. La cantidad de compuesto y la vía de administración quedarán en última instancia a discreción del médico, aunque generalmente la dosificación será la que consiga concentraciones locales en el lugar de acción que consigan el efecto deseado.

La administración *in vivo* se puede efectuar en una dosis, de forma continua o intermitente durante el curso del  
65 tratamiento. Los expertos en la materia conocen bien los métodos para determinar los medios y la dosificación de administración más eficaces y variarán con la formulación usada para la terapia, el propósito de la terapia, la célula

objetivo que se va a tratar, y el sujeto que se va a tratar. Se pueden llevar a cabo administraciones individuales o múltiples con el nivel de dosificación y el patrón que va a seleccionar el médico responsable del tratamiento.

- 5 En general, una dosis adecuada del compuesto activo está en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 250 mg por kilogramo de peso corporal de sujeto por día. Cuando el ingrediente activo es una sal, un éster, profármaco, o similar, la cantidad administrada se calcula basándose en el compuesto precursor y de modo que el peso real que se va a usar se aumente de forma proporcional.

#### Kits

- 10 En el presente documento también se describe un kit que comprende (a) el ingrediente activo, proporcionado preferentemente en un envase adecuado y/o con un embalaje adecuado; y (b) instrucciones para su uso, por ejemplo, instrucciones escritas de la manera de administrar el compuesto activo.
- 15 Las instrucciones escritas también pueden incluir una lista de indicaciones para las que el ingrediente activo es un tratamiento adecuado.

#### **Ejemplos**

- 20 Los siguientes son ejemplos que se proporcionan únicamente para ilustrar la presente invención.

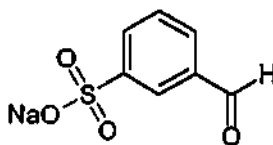
#### General

- 25 Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  se registraron a temperatura ambiente con espectrómetros WH-90/DS o Mercury 200 (Varian). Las medidas de HPLC se llevaron a cabo en un sistema Gilson Modelo 302 equipado con un espectrofotómetro. Los análisis elementales se obtuvieron con un instrumento Carlo Erba EA 1108. Los puntos de fusión se midieron con un aparato de medida de puntos de fusión "Boëtius" o "Fisher" micro y están sin corregir. Se empleó gel de sílice, 0,035-0,070 mm, (Acros) para la cromatografía en columna. Todos los disolventes se purificaron antes de su uso en las técnicas de rutina. Para aislar los productos de reacción, los disolventes se retiraron por evaporación usando un evaporador rotatorio al vacío, no excediendo la temperatura del baño de agua los 40 °C.

- 35 Se adquirieron diversos reactivos en Sigma-Aldrich (The Old Brickyard, New Road, Gillingham, Dorset, Reino Unido), Acros Organics (Janssens Pharmaceuticaaan 3A, 2440 Geel, Bélgica) Lancaster Synthesis Ltd. (Eastgate, White Lund, Morecambe Lancashire, LA3 3DY, Reino Unido), y Maybridge plc (Trevillet, Tingagel, Cornwall, PL34 0HW, Reino Unido).

#### Ejemplo de Referencia 1

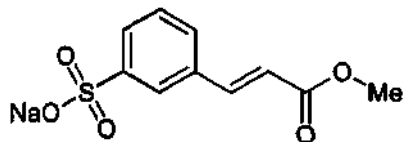
- 40 Ácido 3-formilbencenosulfónico, sal de sodio (1)



- 45 Se puso ácido sulfúrico fumante (5 ml) en un recipiente de reacción y se añadió lentamente benzaldehído (2,00 g, 18,84 mmol) sin exceder la temperatura de la mezcla de reacción más de 30 °C. La solución obtenida se agitó a 40 °C durante diez horas y a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se vertió en hielo y se extrajo con acetato de etilo. La fase acuosa se trató con  $\text{CaCO}_3$  hasta que cesó la evolución de  $\text{CO}_2$  (pH ~ 6-7), a continuación se retiró el  $\text{CaSO}_4$  precipitado por filtración y se lavó con agua. El filtrado se trató con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  hasta que el pH del medio de reacción aumentó a pH 8, se retiró el  $\text{CaCO}_3$  obtenido por filtración y la solución de agua se evaporó al vacío. El residuo se lavó con metanol, los lavados se evaporaron y el residuo se secó en un desecador sobre  $\text{P}_2\text{O}_5$  para proporcionar el compuesto del título (2,00 g, 51 %). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ),  $\delta$ : 7,56-8,40 (4H, m); 10,04 ppm [1H, s].

Ejemplo de Referencia 2

Éster de metilo del ácido 3-(3-sulfofenil)acrílico, sal de sodio (2)



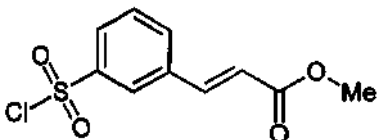
5

Se agitaron sal de sodio del ácido 3-formilbencenosulfónico (1) (1,00 g, 4,80 mmol), carbonato potásico (1,32 g, 9,56 mmol), fosfonoacetato de trimetilo (1,05 g, 5,77 mmol) y agua (2 ml) a temperatura ambiente durante 30 min, se filtró el sólido precipitado y se lavó con metanol. El filtrado se evaporó y se obtuvo el compuesto del título (2) en forma de un sólido de color blanco (0,70 g, 55 %). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, HMDSO), δ: 3,68 (3H, s); 6,51 (1 H, d, J = 16,0 Hz); 7,30-7,88 (5H, m).

10

Ejemplo de Referencia 3

15 Éster de metilo del ácido 3-(3-clorosulfonylphenil)acrílico (3)



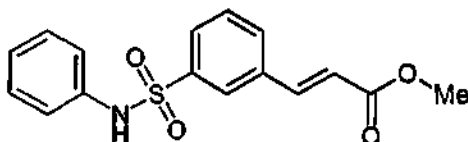
20

A la sal de sodio del éster de metilo del ácido 3-(3-sulfofenil)acrílico (2) (0,670 g, 2,53 mmol) se añadieron benceno (2 ml), cloruro de tionilo (1,508 g, 0,9 ml, 12,67 mmol) y 3 gotas de dimetilformamida y la suspensión resultante se agitó a la temperatura de reflujo durante una hora. La mezcla de reacción se evaporó, el residuo se disolvió en benceno (3 ml), se filtró y el filtrado se evaporó para obtener el compuesto del título (0,640 g, 97 %).

Ejemplo de Referencia 4

25

Éster de metilo del ácido 3-(3-fenilsulfamoilfenil)acrílico (4a)



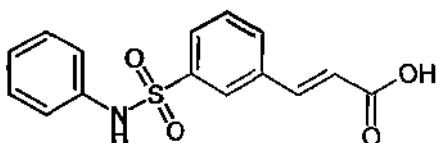
30

Una solución de éster de metilo del ácido 3-(3-clorosulfonylphenil)acrílico (3) (0,640 g, 2,45 mmol) en diclorometano (2 ml) se añadió a una mezcla de anilina (0,465 g, 4,99 mmol) y piridina (1 ml), y la solución resultante se agitó a 50 °C durante una hora. La mezcla de reacción se evaporó y el residuo se repartió entre acetato de etilo y HCl al 10 %. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua, NaCl saturado, y se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). El disolvente se retiró y el residuo se cromatografió sobre gel de sílice con cloroformo-acetato de etilo (7:1, v/v) como eluyente. El producto obtenido se lavó con éter dietílico para obtener el compuesto del título (0,226 g, 29 %). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, HMDSO), δ: 3,72 (3H, s); 6,34 (1H, d, J = 16,0 Hz); 6,68 (1H, s a); 6,92-7,89 (10H, m).

35

Ejemplo de Referencia 5

40 Ácido 3-(3-fenilsulfamoilfenil)acrílico (5a)



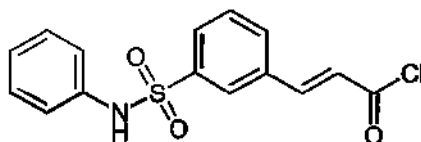
45

Se disolvió éster de metilo del ácido 3-(3-fenilsulfamoilfenil)acrílico (4a) (0,220 g, 0,69 mmol) en metanol (3 ml), se añadió NaOH 1 N (2,08 ml, 2,08 mmol) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche.

La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase acuosa se acidificó con HCl al 10 % y se agitó durante 30 min. El sólido precipitado se filtró, se lavó con agua y se secó en un desecador sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (0,173 g, 82 %).

#### 5 Ejemplo de Referencia 6

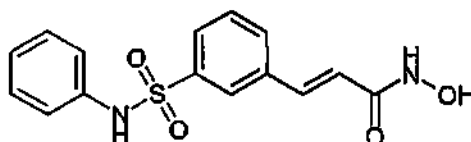
Cloruro de 3-(3-fenilsulfamoilfenil)acrilóilo (**6a**)



10 A una suspensión de ácido 3-(3-fenilsulfamoilfenil)acrilico (**5a**) (0,173 g, 0,57 mmol) en diclorometano (2,3 ml) se añadieron cloruro de oxalilo (0,17 ml, 1,95 mmol) y una gota de dimetilformamida. La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante una hora y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título en bruto (0,185 g).

#### 15 Ejemplo 7

N-Hidroxi-3-(3-fenilsulfamoilfenil)acrilamida (**7a**) (PX105684)

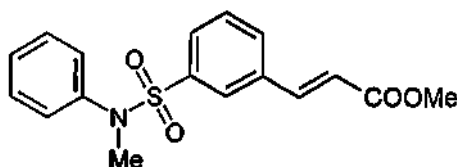


20 A una suspensión de clorhidrato de hidroxilamina (0,200 g, 2,87 mmol) en tetrahidrofurano (3,5 ml) se añadió una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (2,5 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió a la mezcla de reacción una solución de cloruro de 3-(3-fenilsulfamoilfenil)acrilóilo (**6a**) (0,185 g) en tetrahidrofurano (2,3 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla de reacción se repartió  
25 entre acetato de etilo y HCl 2 N. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua y NaCl saturado, el disolvente se retiró y el residuo se lavó con acetonitrilo y éter dietílico.

El compuesto del título se obtuvo en forma de un sólido de color blanco (0,066 g, 36 %), p.f. 172 °C. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, HMDSO), δ: 6,49 (1H, d, J = 16,0 Hz); 7,18-8,05 (10H, m); 9,16 (1 H, s a); 10,34 (1H, s); 10,85 ppm (1H, s a). Análisis por HPLC en columna Symmetry C<sub>18</sub>: impurezas 4 % (tamaño de la columna 3,9 x 150 mm; fase móvil acetonitrilo - tampón fosfato 0,1 M (pH 2,5), 40:60; concentración de muestra 1 mg/ml; caudal 0,8 ml/min; detector UV 220 nm). Anal. calc. para C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S, %: C 56,59, H 4,43, N 8,80. Encontrado, %: C 56,28, H 4,44, N 8,56.

#### 35 Ejemplo de Referencia 8

Éster de metilo del ácido 3-[3-(metilfenilsulfamoil)fenil]acrilico (**4b**)

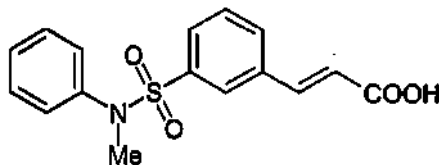


40 Una solución de éster de metilo del ácido 3-(3-clorosulfonilfenil)acrilico (**3**) (0,440 g, 1,68 mmol) en diclorometano (2 ml) se añadió a una mezcla de N-metilaniolina (0,364 g, 3,40 mmol) y piridina (0,5 ml), y la solución resultante se agitó a 50 °C durante una hora. La mezcla de reacción se evaporó y el residuo se repartió entre acetato de etilo y HCl al 10 %. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua, NaCl saturado, y se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). El disolvente se retiró y el residuo se cromatografió sobre gel de sílice con cloroformo-acetato de etilo (15:1, v/v) como eluyente.  
45 El producto obtenido se lavó con éter dietílico para obtener el compuesto del título (0,155 g, 28 %). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, HMDSO), δ: 3,12 (3H, s); 3,74 (3H, s); 6,34 (1H, d, J = 16,0 Hz); 6,97-7,74 (10H, m).



Ejemplo de Referencia 9

Ácido 3-[3-(metilfenilsulfamoil)fenil]acrílico (5b)



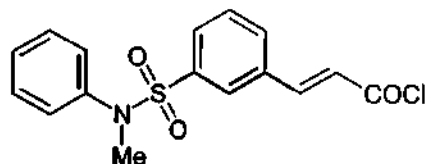
5

Se suspendió éster de metilo del ácido 3-[3-(metilfenilsulfamoil)fenil]acrílico (**4b**) (0,150 g, 0,45 mmol) en metanol (2 ml), se añadió solución 1 N de NaOH (1,35 ml, 1,35 mmol) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase acuosa se acidificó con HCl al 10 % y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua, NaCl saturado, y se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). El disolvente se retiró para obtener el compuesto del título (0,135 g, 94 %).

10

Ejemplo de Referencia 10

15 Cloruro de 3-[3-(metilfenilsulfamoil)fenil]acrililoilo (**6b**)

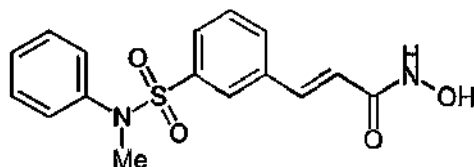


20

A una suspensión de ácido 3-[3-(metilfenilsulfamoil)fenil]acrílico (**5b**) (0,135 g, 0,42 mmol) en diclorometano (2,3 ml) se añadieron cloruro de oxalilo (0,17 ml, 1,95 mmol) y una gota de dimetilformamida. La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante una hora y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título en bruto (0,142 g).

Ejemplo 11

25 N-Hidroxi-3-[3-(metilfenilsulfamoil)fenil]acrilamida (**7b**) (PX105685)



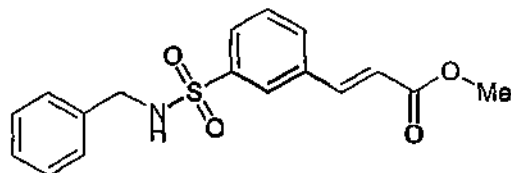
30

A una suspensión de clorhidrato de hidroxilamina (0,200 g, 2,87 mmol) en tetrahidrofurano (3,5 ml) se añadió una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (2,5 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió a la mezcla de reacción una solución de cloruro de 3-[3-(metilfenilsulfamoil)fenil]acrililoilo (**6b**) (0,142 g) en tetrahidrofurano (2,3 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y HCl 2 N. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua y NaCl saturado, el disolvente se retiró y el residuo se lavó con éter dietílico.

35

El compuesto del título se obtuvo en forma de un sólido de color blanco (0,062 mg, 42 %), p.f. 152 °C. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, HMDSO), δ: 3,16 (3H, s); 6,47 (1 H, d, J = 16,0 Hz); 7,03-7,96 (10H, m); 9,09 (1H, s a); 10,78 ppm (1H, s a). Análisis por HPLC en columna Symmetry C<sub>18</sub>: impurezas 1,7 % (tamaño de la columna 3,9 x 150 mm; fase móvil acetonitrilo-tampón fosfato 0,1 M (pH 2,5), 40:60; concentración de muestra 1 mg/ml; caudal 1,0 ml/min; detector UV 220 nm). Anal. calc. para C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S, %: C 57,82, H 4,85, N 8,43. Encontrado, %: C 57,82, H 4,83, N 8,35.

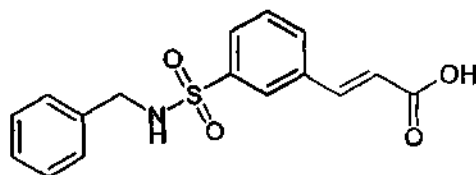
40

Ejemplo de Referencia 28Éster de metilo del ácido 3-(3-bencilsulfamoil-fenil)-acrílico (**4 g**)

5

Una solución de éster de metilo del ácido 3-(3-clorosulfonilfenil)acrílico (**3**) (0,40 g, 1,53 mmol) en dioxano (5,0 ml) se añadió a una mezcla de 4-bencilamina (0,17 ml, 1,53 mmol) en dioxano (1,0 ml) y NaHCO<sub>3</sub> (0,26 g, 3,06 mmol) en agua (3,0 ml), y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla de reacción se evaporó y el residuo se repartió entre acetato de etilo y HCl 2 N. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua, NaCl saturado, y se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). El disolvente se retiró y el residuo se cromatógrafió sobre gel de sílice con éter de petróleo-acetato de etilo (2:1, v/v) como eluyente. El producto obtenido se lavó con éter dietílico para obtener el compuesto del título (0,29 g, 57 %).

10

15 Ejemplo de Referencia 29Ácido 3-(3-bencilsulfamoil-fenil)-acrílico (**5 g**)

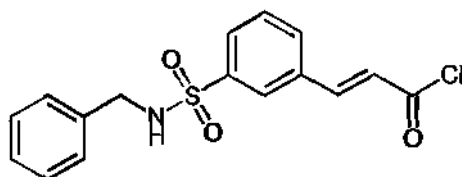
20

A una suspensión de éster de metilo del ácido 3-(3-bencilsulfamoil-fenil)-acrílico (**4 g**) (0,29 g, 0,87 mmol) en metanol (4,5 ml) se añadió solución 1 N de NaOH (2,60 ml, 2,60 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase acuosa se acidificó con solución 2 N de HCl y se agitó durante 30 min. El sólido precipitado se filtró, se lavó con agua y se secó en un desecador sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (0,22 g, 81 %). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, HMDSO), δ: 4,05 (2H, d, J = 6,4 Hz); 6,60 (1 H, d, J = 16,0 Hz); 7,27 (4H, s), 7,52-8,09 (6H, m); 8,20 (1H, t, J = 6,4 Hz); 12,58 (1H, s a).

25

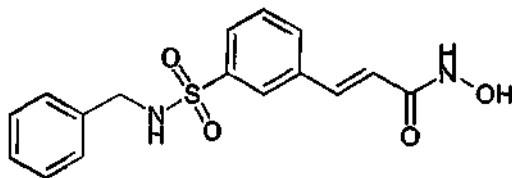
Ejemplo de Referencia 30

30

Cloruro de 3-(3-Bencilsulfamoil-fenil)-acrilóilo (**6 g**)

35

A una suspensión de ácido 3-(3-(bencilsulfamoil-fenil)-acrílico (**5 g**) (0,16 g, 0,52 mmol) en diclorometano (2,0 ml) se añadieron cloruro de oxalilo (0,16 ml, 1,79 mmol) y una gota de dimetilformamida. La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante una hora y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título en bruto (0,17 g).

Ejemplo 31N-Hidroxi-3-(3-bencilsulfamoil)-fenil)-acrilamida (**7 g**) (PX106511)

5

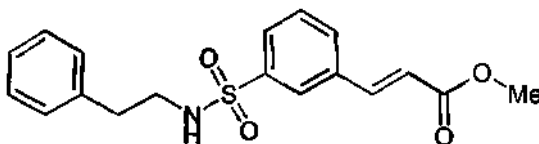
A una suspensión de clorhidrato de hidroxilamina (0,18 g, 2,60 mmol) en tetrahidrofurano (3,0 ml) se añadió una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (2,5 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió a la mezcla de reacción una solución de cloruro de 3-(3-bencilsulfamoil)-fenil)-acrilato (**6 g**) (0,17 g) en tetrahidrofurano (2,0 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y HCl 2 N. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua y NaCl saturado, y el disolvente se retiró.

10

El residuo se cristalizó a partir de acetato de etilo para obtener el compuesto del título (0,12 g, 68 %), p.f. 179 °C. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, HMDSO), δ: 4,02 (d, 2H, J = 6,4 Hz); 6,53 (d, 1H, J = 16,0 Hz); 7,25 (s, 5H); 7,39-8,03 (m, 5H); 8,20 (t, 1 H, J = 6,4 Hz); 9,12 (s a, 1H); 10,80 (s a, 1H). Análisis por HPLC en columna Zorbax SB-C<sub>18</sub>: impurezas 5 % (tamaño de la columna 4,6 x 150 mm; fase móvil acetonitrilo - H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 0,1 %, gradiente de 30 a 100 %; concentración de muestra 0,5 mg/ml; caudal 1,5 ml/min; detector UV 230 nm). Anal. calc. para C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S, %: C 57,82, H 4,85, N 8,43, S 9,6. Encontrado, %: C 57,59, H 4,82, N 8,14, S 9,6.

15

20

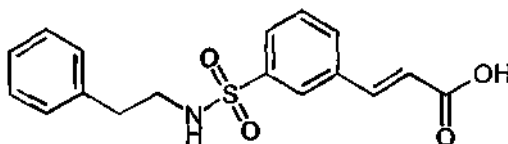
Ejemplo de Referencia 32Éster de metilo del ácido 3-(3-fenetilsulfamoil)-fenil)-acrílico (**4h**)

25

Una solución de éster de metilo del ácido 3-(3-clorosulfonilfenil)-acrílico (**3**) (0,40 g, 1,53 mmol) en dioxano (5,0 ml) se añadió a una mezcla de 4-fenetilamina (0,19 ml, 1,53 mmol) en dioxano (1,0 ml) y NaHCO<sub>3</sub> (0,26 g, 3,06 mmol) en agua (3,0 ml) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla de reacción se evaporó y el residuo se repartió entre acetato de etilo y HCl 2 N. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua, NaCl saturado, y se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). El disolvente se retiró y el residuo se cromatógrafió sobre gel de sílice con éter de petróleo-acetato de etilo (2:1, v/v) como eluyente. El producto obtenido se lavó con éter dietílico para obtener el compuesto del título (0,43 g, 82 %). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, HMDSO), δ: 2,69 (2H, m); 2,98 (2H, m); 3,72 (3H, s); 6,72 (1H, d, J = 16,0 Hz); 7,05-7,43 (5H, m); 7,54-8,14 (6H, m).

30

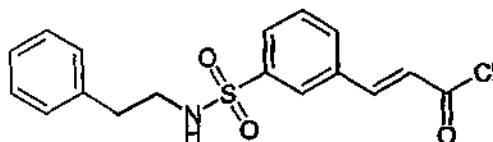
35

Ejemplo de Referencia 33Ácido 3-(3-fenetilsulfamoil)-fenil)-acrílico (**5h**)

40

A una suspensión de éster de metilo del ácido 3-(3-fenetilsulfamoil)-fenil)-acrílico (**4h**) (0,20 g, 0,58 mmol) en metanol (3,0 ml) se añadió solución 1 N de NaOH (1,75 ml, 1,75 mmol) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase acuosa se acidificó con solución 2 N de HCl y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua, NaCl saturado, y se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). El disolvente se retiró y el residuo se lavó con éter para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (0,15 g, 77 %).

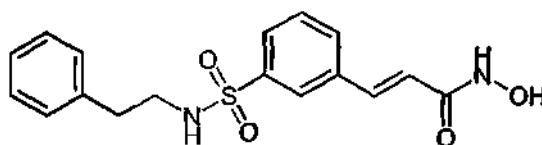
45

Ejemplo de Referencia 34Cloruro de 3-(3-fenetilsulfamoil-fenil)-acrilóilo (**6h**)

5

A una suspensión de ácido 3-(3-fenetilsulfamoil-fenil)-acrílico (**5h**) (0,15 g, 0,45 mmol) en diclorometano (2,0 ml) se añadieron cloruro de oxalilo (0,14 ml, 1,57 mmol) y una gota de dimetilformamida. La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante una hora y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título en bruto (0,16 g).

10

Ejemplo 35N-Hidroxi-3-(3-fenetilsulfamoil-fenil)-acrilamida (**7h**) (PX106512)

15

A una suspensión de clorhidrato de hidroxilamina (0,16 g, 2,25 mmol) en tetrahidrofurano (3,0 ml) se añadió una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (2,0 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió a la mezcla reacción una solución de cloruro de 3-(3-fenetilsulfamoil-fenil)-acrilóilo (**6h**) (0,16 g) en tetrahidrofurano (2,0 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y HCl 2 N. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua y NaCl saturado, y se retiró el disolvente.

20

El residuo se cristalizó a partir de diclorometano-éter para obtener el compuesto del título (0,10 g, 66 %), p.f. 114 °C. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, HMDSO), δ: 2,67 (m, 2H); 3,00 (m, 2H); 6,55 (d, 1 H, J = 16,0 Hz); 7,00-8,05 (m, 11H); 9,12 (s a, 1 H); 10,78 (s a, 1H). Análisis por HPLC en columna Zorbax SB-C<sub>18</sub>: impurezas 5 % (tamaño de la columna 4,6 x 150 mm; fase móvil acetonitrilo - H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 0,1 %, gradiente de 30 a 100 %; concentración de muestra 1,0 mg/ml; caudal 1,5 ml/min; detector: UV 230 nm). Anal. calc. para C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S, %: C 58,94, H 5,24, N 8,09, S 9,26. Encontrado, %: C 58,81, H 5,16, N 8,00, S 9,05.

25

30

Actividad biológica

Los compuestos candidatos se evaluaron para su capacidad de inhibir la actividad de desacetilasa (ensayos bioquímicos) y para inhibir la proliferación celular (ensayos antiproliferativos basados en células), como se describe a continuación.

35

Ensayo primario: actividad de desacetilasa

En resumen, este ensayo se basa en la liberación de acetato radiactivo de un fragmento de histona marcado radiactivamente mediante la acción de enzima HDAC. Los compuestos de ensayo, que inhiben HDAC, reducen el rendimiento de acetato radiactivo. La señal (por ejemplo, cuentas de centelleo) medida en presencia y en ausencia de un compuesto de ensayo proporciona una indicación de la capacidad del compuesto para inhibir la actividad de HDAC. Una disminución de la actividad indica un aumento de inhibición del compuesto de ensayo.

40

El fragmento de histona tiene la secuencia N-terminal de la histona H4, y se marcó con grupos acetilo marcados radiactivamente usando acetilcoenzima A (coA) tritiada junto con una enzima que es el dominio de histona acetiltransferasa del coactivador transcripcional p300. Se incubaron 0,33 mg de péptido H4 (los 20 aminoácidos en N-terminal de la histona H4, sintetizado usando métodos convencionales) con dominio de histona acetiltransferasa p300 marcado con His6 (aminoácidos 1195-1673, expresado en la cepa de *E. coli* BLR(DE3)pLysS (Novagen, N° de cat. 69451-3)) y 3H-acetil coA (10 µl de 3,95 Ci/mmol; de Amersham) en un volumen total de 300 µl de tampón HAT (TrisCl 50 mM pH 8, glicerol al 5 %, KCl 50 mM, ácido etilendiaminatetraacético 0,1 mM (EDTA), ditionitrotritol 1 mM (DTT) y fluoruro de 4-(2-aminoetil)-bencenosulfonilo 1 mM (AEBFS)). La mezcla se incubó a 30 °C durante 45 min después de que se retirara His-p300 usando agarosa níquel-ácido trinitriloacético (Qiagen, N° de cat. 30210). El péptido acilado se separó a continuación de la acetil coA libre mediante cromatografía por exclusión de tamaño sobre Sephadex G-15 (Sigma G-15-120), usando H<sub>2</sub>O destilada como fase móvil.

50

55

Después de la purificación del fragmento de histona radiomarcado, se incubó con una fuente de HDAC (por ejemplo, un extracto de células HeLa (una fuente rica de HDAC), HDAC1 o HDAC2 producidas de forma recombinante) y se extrajo el acetato liberado en una fase orgánica y se determinó cuantitativamente usando cuenta de centelleo. Al incluir un compuesto de ensayo en la fuente de HDAC, se determinó la capacidad del compuesto para inhibir la HDAC.

#### Extracto de células HeLa

El extracto de células HeLa se preparó a partir de células HeLa (ATCC N° de ref. CCL-2) por congelación-descongelación tres veces en TrisCl 60 mM pH 8,0, NaCl 450 mM, glicerol al 30 %. Se usaron dos volúmenes de células de tampón de extracción, y se descartó por centrifugación el material particulado (20800 g, 4 °C, 10 min). El extracto de sobrenadante que tenía actividad de desacetilasa se alicuotó y se congeló para su almacenamiento.

#### HDAC1 y HDAC2 producidas de forma recombinante

Se prepararon plásmidos recombinantes como sigue a continuación

Se clonó HDAC1 humana de longitud completa mediante PCR usando una librería de ADNc  $\lambda$ gt11 Jurkat (Clontech-HL5012b). El fragmento amplificado se insertó en los sitios EcoRI-Sall del vector pFlag-CTC (Sigma-E5394), en el marco con el octapéptido Flag. Se llevó cabo una segunda PCR para amplificar el fragmento que contenía la secuencia de HDAC1 fusionada con el octapéptido Flag. El fragmento resultante se subclonó en los sitios EcoRI-Sac1 del vector de transferencia de baculovirus pAcHTL-C (Pharminggen-21466P).

La HDAC2 humana de longitud completa se subclonó en el vector de transferencia de baculovirus pAcHTL-A (Pharminggen-21464P) mediante la amplificación por PCR del fragmento EcoRI-Sac1 de una construcción HDAC2-pFlag-CTC.

La expresión y la purificación de la proteína recombinante se llevó a cabo como sigue a continuación.

Los baculovirus con HDAC1 y HDAC2 recombinantes se construyeron usando un Kit de Transfección BaculoGold (Pharmin-gen-554740). Los vectores de transferencia se cotransfectaron en células de insecto SF9 (Pharminggen-21300C). La amplificación de los virus recombinantes se llevó a cabo según el Manual de Instrucciones de Pharmingen. Las células SF9 se mantuvieron en un medio SF900 sin suero (Gibco 10902-096).

Para la producción de proteínas, se infectaron  $2 \times 10^7$  células con el virus recombinante apropiado durante 3 días. A continuación, las células se recogieron y se centrifugaron a 3.000 rpm durante 5 minutos. A continuación, se lavaron dos veces en PBS y se resuspendieron en 2 volúmenes de sedimento de tampón de lisis (HEPES 25 mM pH 7,9, EDTA 0,1 mM, KCl 400 mM, glicerol al 10 %, NP-40 al 0,1 %, AEBSF 1 mM). Las células resuspendidas se congelaron en hielo seco y se descongelaron a 37 °C 3 veces y se centrifugaron durante 10 minutos a 14.000 rpm. Se recogió el sobrenadante y se incubó con 300  $\mu$ l de una suspensión de perlas de agarosa Ni-NTA al 50 % (Qiagen-30210). La incubación se llevó a cabo a 4 °C durante 1 hora en una rueda giratoria. A continuación, la suspensión se centrifugó a 500 g durante 5 minutos. Las perlas se lavaron dos veces en 1 ml de tampón de lavado (HEPES 25 mM pH 7,9, EDTA 0,1 mM, KCl 150 mM, glicerol al 10 %, NP-40 al 0,1 %, AEBSF 1 mM). La proteína se eluyó 3 veces en 300  $\mu$ l de tampón de elución (HEPES 25 mM pH 7,9, EDTA 0,1 mM, KCl 250 mM, glicerol al 10 %, NP-40 al 0,1 %, AEBSF 1 mM) que contenía concentraciones crecientes de imidazol: 0,2 M, 0,5 M y 1 M. Cada elución se llevó a cabo durante 5 minutos a temperatura ambiente. La proteína eluida se guardó en glicerol al 50 % a -70 °C.

#### Método de ensayo

Una fuente de HDAC (por ejemplo, 2  $\mu$ l de extracto de HeLa en bruto, 5  $\mu$ l de HDAC1 o HDAC2; en tampón de elución, como se ha indicado anteriormente) se incubó con 3  $\mu$ l de péptido marcado radiactivamente junto con las diluciones apropiadas de los compuestos candidatos (1,5  $\mu$ l) en un volumen total de 150  $\mu$ l de tampón (Tris 20 mM pH 7,4, glicerol al 10 %). La reacción se llevó a cabo a 37 °C durante una hora, después de la que se paró por adición de 20  $\mu$ l de HCl 1 M/acetato sódico 0,4 M. A continuación, se añadieron 750  $\mu$ l de acetato de etilo, las muestras se agitaron vorticialmente y, después de centrifugación (14.000 rpm, 5 minutos), se transfirieron 600  $\mu$ l de la fase superior a un vial que contenía 3 ml de líquido de centelleo (UltimaGold, Packard, N° de cat. 6013329). Se midió la radiactividad usando un Analizador de Centelleo Líquido Tri-Carb 2100TR (Packard).

Se calculó el porcentaje de actividad (% actividad) para cada compuesto de ensayo como:

$$\% \text{ actividad} = \{(S^C - B)/(S^o - B)\} \times 100$$

en la que  $S^C$  representa la señal medida en presencia de enzima y del compuesto que se está ensayando,  $S^o$  representa la señal medida en presencia de enzima pero en ausencia del compuesto que se está ensayando, y B

representa la señal de fondo medida en ausencia de enzima y del compuesto que se está ensayando. La  $CI_{50}$  corresponde a la concentración que consigue un 50 % de actividad.

5 Los datos de  $CI_{50}$  para varios compuestos de la presente invención, como se determinan usando este ensayo, se muestran posteriormente en la Tabla 1.

La medida de la viabilidad celular en presencia de una concentración creciente del compuesto de ensayo en diferentes puntos de tiempo se usa para evaluar tanto la toxicidad como el efecto del compuesto en la proliferación celular.

10

#### Ensayo secundario: proliferación celular

Los compuestos con actividad de inhibición de HDAC, como se determina usando el ensayo primario, se evaluaron posteriormente usando el ensayo secundario basado en células. Se usaron las siguientes líneas celulares:

15

HeLa - línea celular de adenocarcinoma cervical humano (ATCC N° de ref. CCL-2).

K11 - línea de queratinocitos humanos transformados por HPV E7 proporcionada por Pidder Jansen-Duerr, Institut für Bio-medizinische Alternsforschung, Innsbruck, Austria. NHEK-Ad - línea de queratinocitos adultos humanos primarios (Cambrex Corp., East Rutherford, NJ, Estados Unidos).

20

JURKAT - línea de células T humanas (ATCC N° TIB-152).

#### Método de ensayo

25

Se cultivaron las células, se expusieron a los compuestos candidatos, y se incubaron durante un tiempo y, a continuación se evaluó el número de células viables utilizando el Reactivo de Proliferación Celular WST-1 de Boehringer Mannheim (N° de cat. 1644807), que se describe a continuación.

30

Las células se sembraron en placas de 96 pocillos a  $3-10 \times 10^3$  células/pocillo en 100  $\mu$ l de medio de cultivo. Al día siguiente, se añadieron diferentes concentraciones de los compuestos candidatos y las células se incubaron a 37 °C durante 48 horas. Posteriormente, se añadieron 10  $\mu$ l/pocillo de reactivo WST-1 y las células se reincubaron durante 1 hora. Después del período de incubación, se midió la absorbancia.

35

WST-1 es una sal de tetrazolio que se escinde para formar el colorante formazán mediante enzimas celulares. Un aumento en el número de células viables resulta en un aumento de la actividad global de deshidrogenasas mitocondriales de la muestra. Este aumento en la actividad enzimática conduce a un aumento de la cantidad de colorante formazán formado, que correlaciona directamente con el número de células metabólicamente activas en el cultivo. El colorante formazán producido se cuantifica mediante un espectrómetro de barrido multipocillo por medición de la absorbancia de la solución de colorante a una longitud de onda de 450 nm (longitud de onda de referencia 690 nm).

40

Se calculó el porcentaje de actividad (% actividad) en la reducción del número de células viables para cada compuesto de ensayo como:

45

$$\% \text{ actividad} = \{(S^C - B)/(S^\circ - B)\} \times 100$$

en la que  $S^C$  representa la señal medida en presencia del compuesto que se está ensayando,  $S^\circ$  representa la señal medida en ausencia del compuesto que se está ensayando, y B representa la señal de fondo medida en los pocillos de blanco que contienen únicamente medio. La  $CI_{50}$  corresponde a la concentración que consigue un 50 % de actividad. Los valores de  $CI_{50}$  se calcularon usando el paquete de software Prism 3.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA), ajustando el valor máximo a 100 y el valor mínimo a 0.

50

Los datos de  $CI_{50}$  para varios compuestos de la presente invención, como se determinan usando este ensayo, también se muestran posteriormente en la Tabla 2.

55

La medida de la viabilidad celular en presencia de una concentración creciente del compuesto de ensayo en diferentes puntos de tiempo se usa para evaluar tanto la toxicidad como el efecto del compuesto en la proliferación celular.

60

#### Datos biológicos

Los datos de (o porcentaje de actividad) para varios compuestos de la presente invención, como se determinan usando los ensayos que se han descrito anteriormente, se resumen a continuación en la Tabla 1 y la Tabla 2.

65

Tabla 1 Datos del ensayo bioquímico				
Compuesto		Inhibición de HDAC (CI <sub>50</sub> )		
Nº	Ref.	HeLa	HDAC1	HDAC2
	TSA	5	15	17
	Oxamflatina	38	-	-
11	PX105684	19,5	-	124
12	PX105685	238	-	600
17	PX106511	35	-	-
18	PX106512	22	458	-

Tabla 2 Datos del ensayo antiproliferativo basado en células					
Compuesto		Inhibición de proliferación celular en WST-1 (CI <sub>50</sub> )			
Nº	Ref.	HeLa	K11	NHEK-AD	Jurkat
	TSA	0,350	0,38	0,2	0,042
	Oxamflatina	1,1	4,56	3,53	0,260
	MS-275	-	9,16	3,1	0,365
	SAHA	-	6,82	5,37	0,750
11	PX105684	2,2	2,4	1,5	0,2
12	PX105685	7,3	-	-	-
17	PX106511	0,38	2,5	-	0,235
18	PX106512	1,9	2,4	-	0,21

### Actividad

- 5 (1) (A) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como J, una unión sulfonamida “inversa” (es decir, -NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>-). Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con sus análogos de sulfonamida “directa” (es decir, -SO<sub>2</sub>NH-).
- 10 (3) (B2) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como Q<sup>2</sup>, una unión fenilén-meta-etileno. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con sus análogos orto y para.
- 15 (4) (C1) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como Q<sup>1</sup>: un enlace covalente, o: un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de al menos dos átomos de carbono. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que comprenden, como Q<sup>1</sup>, un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de un átomo de carbono.
- 20 (5) (C2) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como Q<sup>1</sup>, un enlace covalente. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que comprenden, como Q<sup>1</sup>, un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de un átomo de carbono.
- 25 (6) (C3) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como Q<sup>1</sup>, un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de al menos dos átomos de carbono. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que comprenden, como Q<sup>1</sup>, un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de un átomo de carbono, y a menudo en comparación con los análogos que comprenden, como Q<sup>1</sup>, un enlace covalente.

30

(8) (A+B2) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como J, una unión sulfonamida “inversa” (es decir,  $-\text{NHSO}_2^-$ ); y como  $\text{Q}^2$ , una unión fenilen-meta-etileno. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que no emplean estos grupos.

5 (9) (A+C1) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como J, una unión sulfonamida “inversa” (es decir,  $-\text{NHSO}_2^-$ ); y como  $\text{Q}^1$ : un enlace covalente, o: un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de al menos dos átomos de carbono. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que no emplean estos grupos.

10 (10) (A+C2) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como J, una unión sulfonamida “inversa” (es decir,  $-\text{NHSO}_2^-$ ); y como  $\text{Q}^1$ , un enlace covalente.

15 Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que no emplean estos grupos.

(11) (A+C3) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como J, una unión sulfonamida “inversa” (es decir,  $-\text{NHSO}_2^-$ ); y como  $\text{Q}^1$ , un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de al menos dos átomos de carbono. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que no emplean estos grupos.

20 (15) (B2+C1) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como  $\text{Q}^2$ , una unión fenilen-meta-etileno; y, como  $\text{Q}^1$ : un enlace covalente, o: un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de al menos dos átomos de carbono. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que no emplean estos grupos.

25 (16) (B2+C2) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como  $\text{Q}^2$ , una unión fenilen-meta-etileno; y, como  $\text{Q}^1$ , un enlace covalente. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que no emplean estos grupos.

30 (17) (B2+C3) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como  $\text{Q}^2$ , una unión fenilen-meta-etileno; y, como  $\text{Q}^1$ , un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de al menos dos átomos de carbono. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que no emplean estos grupos.

35 (21) (A+B2+C1) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como J, una unión sulfonamida “inversa” (es decir,  $-\text{NHSO}_2^-$ ); como  $\text{Q}^2$ , una unión fenilen-meta-etileno; y, como  $\text{Q}^1$ : un enlace covalente, o: un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de al menos dos átomos de carbono. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que no emplean estos grupos.

40 (22) (A+B2+C2) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como J, una unión sulfonamida “inversa” (es decir,  $-\text{NHSO}_2^-$ ); como  $\text{Q}^2$ , una unión fenilen-meta-etileno; y, como  $\text{Q}^1$ , un enlace covalente. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que no emplean estos grupos.

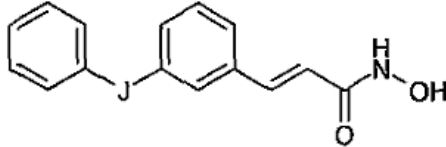
45 (23) (A+B2+C3) Como se ha mencionado anteriormente, en una realización, los compuestos emplean, como J, una unión sulfonamida “inversa” (es decir,  $-\text{NHSO}_2^-$ ); como  $\text{Q}^2$ , una unión fenilen-meta-etileno; y, como  $\text{Q}^1$ , un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de al menos dos átomos de carbono. Tales compuestos disfrutan de la sorprendente e inesperada propiedad de una actividad superior en comparación con los análogos que no emplean estos grupos.

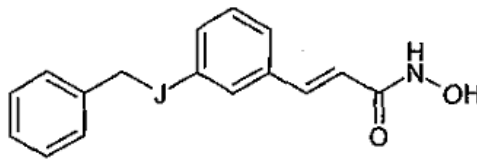
#### 55 Datos comparativos para la dirección de la sulfonamida

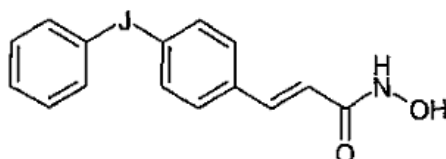
A continuación se muestran datos comparativos para conjuntos de compuestos, en los que la única diferencia en la estructura química es la dirección de la sulfonamida.

60 Los compuestos que emplean, como J, una unión sulfonamida “inversa” (es decir,  $-\text{NHSO}_2^-$ ) tienen sorprendente e inesperadamente una actividad superior en comparación con sus análogos de sulfonamida “directa” (es decir,  $-\text{SO}_2\text{NH}-$ ).



				
Compuesto	Q <sup>1</sup>	J	o/m/p	Cl <sub>50</sub> HeLa
PX105684	-	-NHSO <sub>2</sub> -	m	20 nM
PX089344	-	-SO <sub>2</sub> NH-	m	89 nM

				
Compuesto	Q <sup>1</sup>	J	o/m/p	Cl <sub>50</sub> HeLa
PX106511	-CH <sub>2</sub> -	-NHSO <sub>2</sub> -	m	35 nM
PX089343	-CH <sub>2</sub> -	-SO <sub>2</sub> NH-	m	24 % @ 1 mM

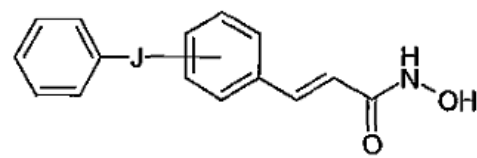
				
Compuesto	Q <sup>1</sup>	J	o/m/p	Cl <sub>50</sub> HeLa
PX117450	-	-NHSO <sub>2</sub> -	p	20 nM
PX106499	-	-SO <sub>2</sub> NH-	p	35 nM

Datos comparativos para la orientación del grupo principal ácido fenilén-alquileo

5 A continuación se muestran datos comparativos para conjuntos de compuestos, en los que la única diferencia en la estructura química es la orientación orto/meta/para del grupo principal ácido fenilén-alquileo.

10 En algunas realizaciones, los compuestos que emplean, como Q<sup>2</sup>, una unión fenilén-meta-alquileo C<sub>1-7</sub> tienen sorprendente e inesperadamente una actividad superior en comparación con sus análogos orto y para.

15 Para los compuestos con una unión sulfonamida "directa", los análogos para son más activos que los análogos meta. Sorprendente e inesperadamente, para los compuestos con una unión sulfonamida "inversa", los análogos meta son tan activos, o más activos, que los análogos para. Por lo tanto, los compuestos que emplean, como J, una unión sulfonamida "inversa" (es decir, -NHSO<sub>2</sub>-) y, como Q<sup>2</sup>, una unión fenilén-meta-alquileo C<sub>1-7</sub>, tienen sorprendente e inesperadamente una actividad superior en comparación con sus análogos "directos".

				
Compuesto	Q <sup>1</sup>	J	o/m/p	Cl <sub>50</sub> HeLa
PX117448	-	-NMeSO <sub>2</sub> -	o	3 % @ 500 nM
PX105685	-	-NMeSO <sub>2</sub> -	m	238 nM

Compuesto	Q <sup>1</sup>	J	o/m/p	Cl <sub>50</sub> HeLa
PX116242	-	-NHSO <sub>2</sub> -	o	9 % @ 500 nM
PX105684	-	-NHSO <sub>2</sub> -	m	20 nM
PX117450	-	-NHSO <sub>2</sub> -	p	20 nM

#### Datos comparativos para el grupo principal arilo, Q<sup>1</sup>

5 A continuación se muestran datos comparativos para conjuntos de compuestos, en los que la única diferencia en la estructura química es el grupo principal arilo.

10 Los compuestos que emplean, como Q<sup>1</sup>: un enlace covalente, o: un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de al menos dos átomos de carbono tienen sorprendente e inesperadamente una actividad superior en comparación con sus análogos que comprenden, como Q<sup>1</sup>, un grupo principal arilo que tiene una cadena principal de un átomo de carbono. La observación de que, como Q<sup>1</sup>, una cadena principal de un átomo proporciona una actividad básicamente reducida en comparación con un enlace covalente, pero que una cadena principal de dos átomos proporciona una actividad básicamente mejorada en comparación con una cadena principal de un átomo, es sorprendente e inesperada.

Compuesto	Q <sup>1</sup>	J	o/m/p	Cl <sub>50</sub> HeLa
PX105684	-	-NHSO <sub>2</sub> -	m	19,5 nM
PX106511	-CH <sub>2</sub> -	-NHSO <sub>2</sub> -	m	35 nM
PX106512	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -	-NHSO <sub>2</sub> -	m	22 nM

15

#### Referencias

20 Se han citado cierto número de patentes y publicaciones para describir y desvelar con mayor detalle la invención y el estado de la técnica con la que está racionada la invención. Se proporcionan aquí las citas completas para estas referencias.

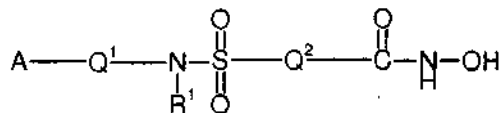
- Andrews *et al.*, 2000, *Int. J. Parasitol.*, Vol. 30, N° 6, pp. 761-768.
- Bernhard, D. *et al.*, 1999, "Apoptosis induced by the histone deacetylase inhibitor sodium butyrate in human leukemic lymphoblasts", *FASEB J.*, Vol. 13, N° 14, pp. 1991-2001.
- 25 Bernstein *et al.*, 2000, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 97, N° 25, pp. 13708-13713.
- Brehm, A., *et al.*, 1998, "Retinoblastoma protein recruits histone deacetylase to repress transcription", *Nature*, 1998, Vol. 391, pp. 597-601.
- Breslow *et al.*, 1994, "Potent inducers of terminal differentiation and methods of use thereof", documento de Patente de Estados Unidos N° 5.369.108 expedido el 29 de noviembre de 1994.
- 30 Breslow *et al.*, 1995, "Novel potent inducers of terminal differentiation and methods of use thereof", documento de solicitud de patente (PCT) internacional publicada con número WO 95/31977 publicado el 30 de noviembre de 1995.
- Breslow *et al.*, 1997, "Potent inducers of terminal differentiation and methods of use thereof", documento de Patente de Estados Unidos N° 5.700.811 expedido el 23 de diciembre de 1997.
- 35 Chang *et al.*, 2000, *Nucleic Acids Res.*, Vol. 28, N° 20, pp. 3918-3925.
- Corneil *et al.*, 1998, documento de solicitud de patente Japonesa publicada, número de publicación JP 10114681 A2.
- Dangond *et al.*, 1998, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 242, N° 3, pp. 648-652.
- David, G., *et al.*, 1998, *Oncogene*, Vol. 16(19), pp. 2549-2556.
- 40 Davie, J.R., 1998, "Covalent modifications of histones: expression from chromatic templates", *Curr. Opin. Genet.*

- Dev., Vol. 8, pp. 173-178.
- Delorme *et al.*, 2001, "Inhibitors of Histone Deacetylase", documento de solicitud de patente (PCT) internacional publicada con número WO 01/38322 publicado del 31 de mayo de 2001.
- Desai *et al.*, 1999, Proc. AACR, Vol. 40, resumen N° 2396.
- 5 Emiliani, S., *et al.*, 1998, "Characterization of a human RPD3 ortholog, HDAC3", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 95, p. 2795-2800.
- Finnin *et al.*, 1999, Nature, Vol. 401, pp. 188-193.
- Furukawa *et al.*, 1998, documento de Patente de Estados Unidos N° 5834.249, "Process for production of protein", 10 de noviembre de 1998.
- 10 Geerts *et al.*, 1998, documento de Publicación de Patente Europea N° EP 0 827 742 A1, publicado el 11 de marzo de 1998.
- Glick, R.D., *et al.*, 1999, "Hybrid polar histone deacetylase inhibitor induces apoptosis and CD95/CD95 ligand expression in human neuroblastoma", Cancer Research, Vol. 59, N° 17, pp. 4392-4399.
- Grozinger *et al.*, 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 96, pp. 4868-4873.
- 15 Hashimoto, N., *et al.*, 1989, "Cell proliferation inhibitors", documento de Publicación de Patente Europea N° EP 0 301 861 A1.
- Hoshikawa, Y., *et al.*, 1994, Exp. Cell. Res., Vol. 214(1), pp. 189-197.
- Howe, L., *et al.*, 1999, Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr., Vol. 9(3-4), pp. 231-243.
- Iavarone *et al.*, 1999, Mol. Cell Biol., Vol. 19, N° 1, pp. 916-922.
- 20 Jung *et al.*, 1997, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Vol. 7, N° 13, pp. 1655-1658.
- Jung *et al.*, 1999, J. Med. Chem., Vol. 42, pp. 4669-4679.
- Kao *et al.*, 2000, Genes & Dev., Vol. 14, p. 55-66.
- Kato *et al.*, 1998, documento de Patente de Estados Unidos N° 5.804.601, "Aromatic hydroxamic acid compounds, their production and use", 08 de septiembre de 1998.
- 25 Kijima *et al.*, 1993, J. Biol. Chem., Vol. 268, pp. 22429-22435.
- Kim *et al.*, 1999, Oncogene, Vol. 18(15), pp. 2461-2470.
- Kim *et al.*, 2001, Nature Medicine, Vol. 7, N° 4, pp. 437-443.
- Kim, M.S., *et al.*, 2001 " Histone deacetylases induce angiogenesis by negative regulation of tumour suppressor genes", Nature Medicine, Vol 7. N° 4 pp. 437-443.
- 30 Kimura *et al.*, 1994, Biol. Pharm. Bull., Vol. 17, N° 3, pp. 399-402.
- Kitamura, K., *et al.*, 2000, Br. J. Haematol., Vol. 108(4), pp. 696-702.
- Kouzarides, T., 1999, "Histone acetylases and deacetylases in cell proliferation", Curr. Opin. Genet. Dev., Vol. 9, N° 1, pp. 40-48.
- Kuusisto *et al.*, 2001, Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol. 280, N° 1, pp. 223-228.
- 35 Kwon *et al.*, 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 95, pp. 3356-3361.
- Laherty, C.D., *et al.*, 1997, Cell, Vol. 89(3), pp. 349-356.
- Lea y Tulsyan, 1995, Anticancer Res., Vol. 15, pp. 879-883.
- Lea *et al.*, 1999, Int. J. Oncol., Vol. 2, pp. 347-352.
- 40 Lin, R.J., *et al.*, 1998, Nature, Vol. 391(6669), pp. 811-814.
- Massa *et al.*, 26 de mayo de 2001, Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 44, N° 13, pp. 2069-2072.
- McCaffrey *et al.*, 1997, Blood, Vol. 90, N° 5, pp. 2075-2083.
- Mielnicki, L.M., *et al.*, 1999, Exp. Cell. Res., Vol. 249(1), pp. 161-176.
- Ng, H.H. y Bird, A., 2000, Trends Biochem. Sci., Vol. 25(3), pp. 121-126.
- Niki *et al.*, 1999, Hepatology, Vol. 29, N° 3, pp. 858-867.
- 45 Nokajima *et al.*, 1998, Exp. Cell Res., Vol. 241, pp. 126-133.
- Ohtani *et al.*, 1993, "Hydroxamic acid derivatives based on aromatic sulfonamide", documento de solicitud de patente (PCT) internacional publicada con número WO 93/12075 publicado el 24 de junio de 1993.
- Ohtani *et al.*, 1996, "(2E)-5-[3-[(Phenylsulfonyl)amino]phenyl]-pent-2-en-4-yno-hydroxamic acid and its derivatives as novel and potent inhibitors of ras transformation", J. Medicinal Chemistry, Vol. 39, N° 15, pp. 2871-2873.
- 50 Onishi *et al.*, 1996, Science, Vol. 274, pp. 939-940.
- Parsons *et al.*, 1998, "Hydroxamic acid compounds having anticancer and antiparasitic properties", documento de solicitud de patente (PCT) internacional publicada con número WO 98/55449 publicado el 10 de diciembre de 1998.
- Pazin, M.J., *et al.*, 1997, "What's up and down with histone deacetylation and transcription?", Cell, Vol. 89, N° 3, pp. 325-328.
- 55 Richon *et al.*, 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 93, pp. 5705-5708.
- Richon *et al.*, 1998, "A class of hybrid polar inducers of transformed cell differentiation inhibits histone deacetylases", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 95, pp. 3003-3007.
- Richon *et al.*, 2001, "Novel class of cytodifferentiating agents and histone deacetylase inhibitors, and methods of use thereof", documento de solicitud de patente (PCT) internacional publicada con número WO 01/18171 publicado el 15 de marzo de 2001.
- 60 Saito *et al.*, 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 96, pp. 4592-4597.
- Saunders, N. *et al.*, 1999 "Histone deacetylase inhibitors as potential anti-skin cancer agents", Cancer Res., Vol. 59, N° 2 pp. 399-404.
- 65 Sonoda, H. *et al.*, 1996, Oncogene, Vol. 13, pp. 143-149.
- Spencer, V.A. y Davie, J.R., 1999, Gene, Vol. 240(1), pp. 1-12.

- Suzuki *et al.*, 1998, documento de Publicación de Patente Japonesa con número 10-182583 publicado el 07 de julio de 1998.
- Suzuki *et al.*, 1999, "Synthesis and histone deactylase inhibitory activity of new benzamide derivatives", J. Med. Chem., Vol. 42, pp. 3001-3003.
- 5 Takahashi *et al.*, 1996, J. Antibiot. (Tokio), Vol. 49, N° 5, pp. 453-457.
- Takahashi, I., *et al.*, 1996, "Selective inhibition of IL-2 gene expression by trichostatin A, a potent inhibitor of mammalian histone deacetylase", J. Antibiot. (Tokio), Vol. 49, N° 5, pp. 453-457.
- Tauton, J., *et al.*, 1996, "A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p", Science, Vol. 272, pp. 408-411.
- 10 Tsuji *et al.*, 1976, J. Antibiot. (Tokio), Vol. 29, N° 1, pp. 1-6.
- Ueda, H., *et al.*, 1994, J. Antibiot. (Tokio), Vol. 47(3), pp. 315-323.
- Van den Wyngaert *et al.*, 2000, FEBS, Vol. 478, pp. 77-83.
- Vigushin *et al.*, 2001, Clin. Cancer Res., Vol. 7, N° 4, pp. 971-976.
- Warrell *et al.*, 1998, J. Natl. Cancer Inst., Vol. 90, pp. 1621-1625.
- 15 Wong, J., *et al.*, 1998, EMBO J., Vol. 17(2), pp. 520-534.
- Yang, W.M., *et al.*, 1996, "Transcriptional repression of YY1 is mediated by interaction with a mammalian homolog of the yeast global regulator RPD3", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 93, pp. 12845-12850.
- Yang, W.M., *et al.*, 1997, "Isolation and characterization of cDNAs corresponding to an additional member of the human histone deacetylase gene family", J. Biol. Chem., Vol. 272, pp. 28001-28007.
- 20 Yoshida *et al.*, 1995, Bioessays, Vol. 17, pp. 423-430.
- Yoshida, M. y Horinouchi, S., 1999, Ann. N. Y. Acad. Sci., Vol. 886, pp. 23-36.
- Yoshida, M., Beppu, T., 1988, "Reversible arrest of proliferation of rat 3Y1 fibroblasts in both G1 and G2 phases by trichostatin A", Exp. Cell. Res., Vol. 177, pp. 122-131.
- Yoshida, M., *et al.*, 1990a, J. Biol. Chem., Vol. 265(28), pp. 17174-17179.
- 25 Yoshida, M., *et al.*, 1990b, J. Antibiot. (Tokio), Vol. 43(9), pp. 1101-1106.

REIVINDICACIONES

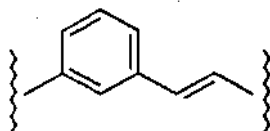
1. Un compuesto de la siguiente fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



5

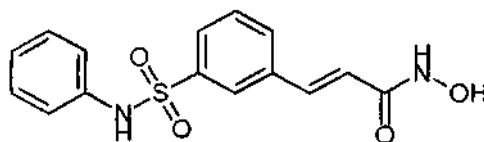
en la que:

- 10 A es fenilo;  
 Q<sup>1</sup> es un enlace covalente o un grupo alquileo C<sub>1-7</sub> alifático saturado;  
 R<sup>1</sup> es -H, -Me, -Et, -nPr, -iPr, -nBu, -sBu o -tBu; y  
 Q<sup>2</sup> es:



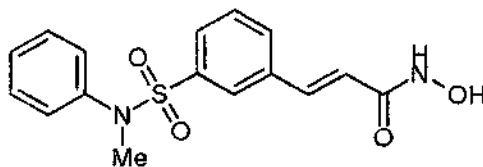
15

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que Q<sup>1</sup> es un enlace covalente.  
 3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que Q<sup>1</sup> es un grupo alquileo C<sub>1-7</sub> alifático saturado.  
 20 4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R<sup>1</sup> es -H, -Me, o -Et.  
 5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es un compuesto de la siguiente fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



25

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es un compuesto de la siguiente fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



30

7. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.  
 35 8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal.  
 9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en un método de tratamiento de una afección proliferativa.  
 40 10. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en un método de tratamiento de cáncer.

11. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en un método de tratamiento de psoriasis.
- 5 12. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección proliferativa.
13. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.
- 10 14. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de psoriasis.