

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 579 321**

51 Int. Cl.:

C07D 205/08	(2006.01)	A61P 29/00	(2006.01)
C07D 207/277	(2006.01)	A61P 33/00	(2006.01)
C07D 207/28	(2006.01)	A61P 35/00	(2006.01)
C07D 211/78	(2006.01)		
C07D 401/04	(2006.01)		
A61K 31/397	(2006.01)		
A61K 31/4015	(2006.01)		
A61K 31/45	(2006.01)		
A61K 31/4709	(2006.01)		
A61P 25/00	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2012 E 12761967 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.06.2016 EP 2758371**

54 Título: **Nuevos tio-derivados que portan lactamas como inhibidores potentes de HDAC y sus usos como medicamentos**

30 Prioridad:

19.09.2011 EP 11181832

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

09.08.2016

73 Titular/es:

**SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE
RIUNITE S.P.A. (100.0%)
Viale Shakespeare, 47
00144 Rome, IT**

72 Inventor/es:

**GIANNINI, GIUSEPPE;
CABRI, WALTER;
BATTISTUZZI, GIANFRANCO;
VIGNOLA, DAVIDE;
FANTO', NICOLA;
PISANO, CLAUDIO y
VESCI, LOREDANA**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 579 321 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

Nuevos tio-derivados que portan lactamas como inhibidores potentes de HDAC y sus usos como medicamentos

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevos tio-compuestos y describe su uso como medicamentos. La invención incluye los compuestos y la composición farmacéutica que contiene tales compuestos para el uso en medicina, con relación a cánceres, enfermedades inflamatorias, enfermedades neuronales, infecciones por parásitos (p.ej., infección por Plasmodium), así como otras enfermedades en las que existe sensibilidad a la inhibición de HDAC.

Antecedentes de la invención

10 Las histona desacetilasas (HDACs) son una familia de enzimas halladas en numerosos organismos tales como bacterias, hongos, vegetales y animales. Tales enzimas catalizan la eliminación de grupos acetilo de los residuos de lisina ϵ -N-acetilados de diversos sustratos proteicos que incluyen histonas, factores de transcripción, α -tubulina, e importadores nucleares.

Hasta la fecha se han caracterizado dieciocho isoformas de HDAC. Se clasifican en cuatro familias diferentes con respecto a su similitud de secuencias de ADN y su papel biológico dentro de las células.

15 HDAC1, HDAC2, HDAC8 y HDAC3 son miembros de la clase I. Las primeras tres isoformas se hallan principalmente en el núcleo; mientras tanto, HDAC3 también se halla en el citoplasma o asociada a la membrana.

20 HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9 y HDAC10 forman la clase II. Esta clase se ha dividido adicionalmente en dos subclases, la clase IIa (HDAC4, 5, 7 y 9) y la clase IIb (HDAC6 y 10). Las enzimas de la clase II se expresan en un número limitado de tipos celulares, y se trasladan entre el núcleo y el citoplasma (es decir, clase IIa), o son principalmente citoplasmáticas (es decir, clase IIb) (Yang X.J., et al., Mol. Cell. Biol., 2005, 25, 2873).

25 La clase IV comprende solamente un miembro (HDAC11), mientras la clase III, también denominada sirtuinas, está compuesta de enzimas dependientes de NAD^+ . La característica común de las enzimas de las clases I, II y IV reside en su naturaleza dependiente de zinc. Se ha demostrado que los inhibidores de HDAC (HDACi) son inductores potentes de la paralización del crecimiento, la diferenciación y la muerte celular apoptótica de las células transformadas *in vitro* e *in vivo*.

También se demostró que la inhibición de HDAC conduce a la reducción de la inflamación en los modelos de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias (Leoni F., et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 2002, 99, 2995).

30 Uno de los primeros compuestos que se han documentado como HDACi fue el anti-epiléptico muy conocido ácido valproico, que inhibe todas las isoformas de las clases I, II y IV. Una vez reconocido el papel importante de esta familia de enzimas en el desarrollo del cáncer, se emprendió un gran esfuerzo dirigido a hallar HDACi potentes por parte de numerosos grupos académicos, así como por parte de empresas farmacéuticas.

35 Vorinostat, en principio conocido como SAHA (ácido hidroxámico-suberoilánilida), fue el HDACi derivado de hidroxamato de molécula pequeña de una nueva clase que aprobó la FDA en 2006 para tratar un cáncer poco frecuente, el linfoma cutáneo de células T en pacientes que han recibido al menos una terapia sistémica anterior (Grant S., et al., Nature Rev. Drug Discov., 2007, 6, 21). SAHA es un HDACi potente que inhibe las clases I y II, como la gran mayoría de HDACi que están en la actualidad en ensayos clínicos (Paris M., et al., J. Med. Chem., 2008, 51, 1505).

La patente US6511990 describe derivados de hidroxamato dotados de propiedades inhibitorias de HDAC. Dichos derivados se caracterizan por la presencia de dos restos hidrófobos en una estructura similar a SAHA.

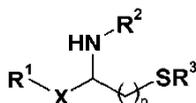
40 En realidad, según sus estructuras, las diversas familias de inhibidores se pueden agrupar en cuatro grupos principales:

- a) ácidos grasos de cadena corta (p.ej., butirato sódico, fenilbutirato, pivanex (butirato de pivaloioximetilo, AN-9), y ácido valproico);
- b) hidroxamatos (p.ej., SAHA, belinostat (PXD101), panobinostat (LBH589), dacinostat (LAQ-824), y tricoestatina);
- 45 c) derivados cíclicos (p.ej., romidepsina o FK-228);
- d) benzamida (p.ej., entinostat (MS-275), mocetinostat (MGCD-0103) y acetildinalina (CI-994)).

50 Se han llevado a cabo algunos ensayos clínicos que implican terapias de combinación, para estudiar la eficacia de HDACi de amplio espectro en combinación con agentes quimioterápicos habituales, (p.ej., docetaxel y vorinostat), en pacientes con cáncer de pulmón, vejiga, o próstata avanzado o recurrente (ensayo clínico NCT00565227). Hace aproximadamente trece años se planteó la hipótesis de que HDAC es un objetivo potencial para el tratamiento de

Suzuki T., *et al.* además describió HDACi con grupos de unión a metales (MBG) que contenían tio más potentes que portaban un resto amida más limitado estéricamente, tal como bifenilo, benzofurano, indol o quinolina en vez del grupo fenilo de SAHA (Suzuki T., *et al.*, J. Med. Chem., 2005, 48, 1019).

5 El documento JP2007238452 describió derivados de Fórmula 2, en la que el átomo de carbono en la posición α con respecto a la carbonil amida se sustituyó por un resto carbamato (es decir, $R^2 = CO_2R$).



Fórmula 2

10 También se han descrito más tarde tales derivados informando de la optimización del grupo CAP (Suzuki T., *et al.*, J. Med. Chem., 2006, 49, 4809) y/o el espaciador (Itoh Y., *et al.*, J. Med. Chem., 2007, 50, 5425). De manera interesante, tales derivados se describieron como selectivos de HDAC6. En particular, Itoh Y. describió derivados que portaban sustituyentes amino de tamaño medio en la posición α con respecto a la carbonil amida que se ha descubierto que eran selectivos de HDAC6 supuestamente debido a la ausencia de un bolsillo hidrófobo para aceptar tales grupos en las otras isoformas.

También se reconoce en general que los tio-derivados son una unidad logarítmica menos activos que sus homólogos de hidroxamato (Wang D., *et al.*, J. Org. Chem., 2007, 72, 5446).

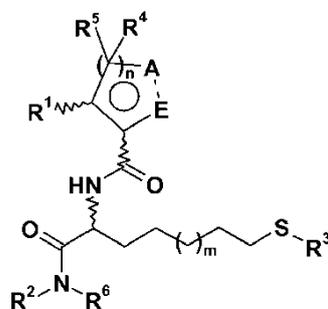
15 SAHA ha mostrado efectos beneficiosos en un modelo de isquemia cerebral focal (Faraco G., *et al.*, Mol. Pharmacol., 2006, 70, 6, 1876).

Por lo tanto, todavía existe una gran necesidad de proporcionar nuevos inhibidores de HDAC que presenten una afinidad de unión nanomolar baja hacia las proteínas HDAC, así como una actividad celular potente.

Descripción de la invención

20 Se ha descubierto que los nuevos tio-derivados están dotados de una actividad inhibitoria potente contra HDAC.

La invención proporciona compuestos de Fórmula (I) o una sal, hidrato o solvato de los mismos, en la preparación de una composición para la inhibición de la actividad de HDAC:



Fórmula I

en la que,

25 R^1 es H, alquilo-(C_1-C_6) o arilo; o de manera alternativa

R^1 y un R^4 , cada uno unido a dos átomos de carbono adyacentes, en el caso de que n sea 2 ó 3, se consideran en conjunto para formar un anillo de ciclopropano;

R^2 es fenilo sustituido opcionalmente con halógeno, benciloxi, alquilo-(C_1-C_3) o CF_3 ; cicloalquilo-(C_3-C_6); aril-alquilo-(C_1-C_6) en el que el arilo está sustituido opcionalmente con benciloxi, alquilo-(C_1-C_3) o CF_3 ;

30 R^3 es H, $PO(OH)_2$, o un grupo de Fórmula (II)



R^7 es alquilo-(C_1-C_7), alcoxi-(C_1-C_6) o $-CH(NH_2)R^8$;

R^8 es H, o la cadena lateral de un α -aminoácido natural;

R^4 y R^5 son en cada caso independientemente H, halógeno, alquilo-(C_1-C_6), o de manera alternativa,

cuando n es 2 ó 3, un R^4 y un R^5 , cada uno unido a dos átomos de carbono adyacentes, se consideran en conjunto para formar un anillo de ciclopropano;

R^6 es H o, de manera alternativa,

5 R^2 y R^6 se consideran en conjunto para formar un heterociclo de cinco a seis miembros que pueden estar fusionados opcionalmente con un resto arilo;

-A-E- es $-(CO)-(NR^9)-$ o $-(NR^9)-(CO)-$;

R^9 es H o alquilo- (C_1-C_3) ;

m es un número entero comprendido entre 0 y 3;

10 n es un número entero comprendido entre 0 y 3 con la condición de que cuando es 2 ó 3, cada R^4 y R^5 puede adoptar un significado diferente para cada caso;

el símbolo \sim significa que el átomo de carbono que porta dicho símbolo puede adoptar una configuración R o S ;

15 el símbolo \circ puede estar ausente, pero si está presente significa que el ciclo puede estar parcialmente insaturado con la condición de que cuando el átomo de carbono que porta R^4 está implicado en un enlace doble, R^5 está ausente;

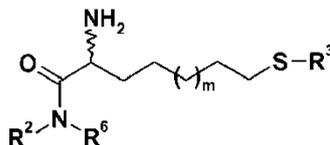
sus tautómeros, sus isómeros geométricos, sus formas ópticamente activas tales como los enantiómeros, diastereómeros y sus formas de racematos, así como las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Una realización de esta invención es la de los compuestos de Fórmula (I), para el uso como medicamentos.

20 En una realización adicional, dicho medicamento es para el uso en un método para tratar un sujeto afectado por cánceres, enfermedades inflamatorias, enfermedades neuronales e infecciones por parásitos (p.ej., infección por Plasmodium).

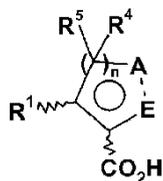
La invención proporciona además un proceso para la preparación de compuestos de Fórmula (I), que implica los métodos sintéticos convencionales que se describen más adelante.

Los compuestos de Fórmula general (I) se pueden obtener haciendo reaccionar compuestos de Fórmula (III),



25 **Fórmula III**

en la que R^2 , R^3 y R^6 y m son como se describieron anteriormente, con compuestos de Fórmula (IV) o una sal orgánica de ellos,

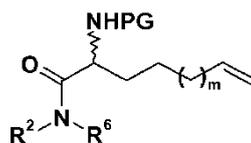


Fórmula IV

30 en la que R^1 , R^4 y R^5 , -A-E- y n son como se describieron anteriormente, en un disolvente aprótico polar en presencia de un agente de acoplamiento bien conocido para los expertos en la técnica del acoplamiento peptídico.

35 Los compuestos de Fórmula general (I), en la que R^3 es H, se pueden obtener haciendo reaccionar compuestos de Fórmula (I) en la que R^3 es un grupo de Fórmula (II) como se definió anteriormente, y todos los otros sustituyentes y parámetros son como se definieron anteriormente, con hidróxido sódico en un disolvente polar. De manera alternativa, tales compuestos se pueden obtener sustituyendo en la reacción anteriormente mencionada el hidróxido sódico por tiometóxido sódico mediante el uso de un procedimiento descrito (Wallace O.B., et al., Tetrahedron Letters, 1998, 39, 2693).

Los compuestos de Fórmula general (III) se pueden obtener haciendo reaccionar compuestos de Fórmula (V),



Fórmula V

en la que R² y R⁶ y m son como se describieron anteriormente, y en la que PG se refiere a un grupo protector de amino, tal como, por ejemplo, *t*-butoxicarbonilo, con compuestos de Fórmula (VI),



- 5 en la que R³ es como se describió anteriormente, en presencia de un iniciador de radicales tal como AIBN en un disolvente polar a una temperatura de hasta 80 °C.

En todas las transformaciones mencionadas, cualquier grupo reactivo que pueda interferir se puede proteger y después desproteger según procedimientos bien establecidos descritos en la química orgánica (p.ej., Greene T. W. y P.G.M. Wuts "Protective Groups in Organic Synthesis", J. Wiley & Sons, Inc., 3^a Ed., 1999) y bien conocidos por los expertos en la técnica. Todas las transformaciones mencionadas son solamente ejemplos de procedimientos bien establecidos descritos en la química orgánica (p.ej., March J., "Advanced Organic Chemistry", J. Wiley & Sons, Inc., 4^a Ed., 1992) y bien conocidos por los expertos en la técnica.

10 Los términos "alquilo-(C₁-C_x)", "alcoxi-(C₁-C_x)", y "cicloalquilo-(C₃-C_x)", en los que x es un número entero comprendido entre 2 y 7 (número entero comprendido entre 4 y 7 con respecto al cicloalquilo), solos o abarcados en una estructura más compleja, se refieren a alquilo lineal o ramificado, alcoxi lineal o ramificado que tienen de 1 a 7 átomos de carbono o grupos cicloalquilo que tienen de 3 a 7 átomos de carbono.

15 Los términos "heterocicloalquilo" y "heterociclo" se refieren a un anillo de cuatro, cinco, seis o siete miembros saturado o parcialmente insaturado (pero no aromático) que contiene al menos un átomo de nitrógeno y opcionalmente uno o más heteroátomos adicionales que pueden ser iguales o diferentes seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre, y cuyos anillos pueden estar sustituidos con restos amino o alquilo. Los heterocicloalquilos preferidos incluyen azetidina, pirrolidina, piperidina, piperazina, cetopiperazina, 2,5-dicetopiperazina, morfolina y tiomorfolina. El heterocicloalquilo de seis miembros puede estar opcionalmente condensado con un arilo como se define más adelante. Tales heterociclos condensados preferidos son, por ejemplo, tetrahydroquinolina y tetrahydroisoquinolina.

20 El término "arilo" se refiere a un grupo carbocíclico aromático de 6 a 14 átomos de carbono que tiene un único anillo (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos que pueden estar unidos de una manera colgante o que pueden estar condensados. Los arilos preferidos incluyen fenilo, naftilo, fenantrenilo, bifenilo y similares. Dicho "arilo" puede tener 1 a 3 sustituyentes elegidos de hidroxilo, halógeno, haloalquilo, ciano, alquilo-(C₁-C_x), alcoxi-(C₁-C_x), benciloxi, amino, aminoalquilo o alquilamino.

25 El término "amino" se refiere al grupo -NH₂.

El término "alquilamino" se refiere al grupo -NHR en el que R es "alquilo-(C₁-C_x)" como se definió anteriormente.

El término "aminoalquilo" se refiere al alquilo-(C₁-C_x) como se definió anteriormente que está sustituido con un grupo amino.

30 El término "haloalquilo" se refiere a restos CF₃ o CHF₂ o a grupos alquilo como se definieron previamente que contienen restos CF₃ o CHF₂.

35 El término "aril-alquilo-(C₁-C₆)" se refiere a grupos alquilo como se definieron anteriormente, que tienen un sustituyente arilo como se definió anteriormente. Los aril-alquilo-(C₁-C₆) preferidos incluyen bencilo, fenetilo, difenil metilo y similares.

40 La expresión "α-aminoácido natural" se refiere a los 20 aminoácidos naturales, en todas las formas isoméricas posibles, y que consisten en glicina, alanina, fenilalanina, valina, leucina, isoleucina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, serina, lisina, histidina, metionina, prolina, cisteína, treonina, triptófano, arginina y tirosina.

El término cáncer significa una neoplasia maligna que invade y destruye el tejido circundante y que puede formar metástasis y finalmente puede matar al hospedador.

45 Las "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a las sales de los compuestos identificados más adelante de Fórmula (I), que conservan la actividad biológica deseada. Los ejemplos de dichas sales incluyen, aunque sin restricción, las sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos (p.ej., ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, y similares), y las sales formadas con ácidos orgánicos tales como

ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido málico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido pamoico, ácido algínico, ácido poliglutámico, ácido naftalensulfónico, ácido toluensulfónico, ácido naftalendisulfónico, ácido metanosulfónico y ácido poli-galacturónico.

5 Se ha descubierto que los derivados (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables, preparadas según la invención, son agentes útiles para el tratamiento de estados patológicos, trastornos y afecciones patológicas mediadas por HDAC; en particular para el tratamiento de cánceres, enfermedades inflamatorias, enfermedades neuronales e infecciones por parásitos (p.ej., infección por Plasmodium).

10 Las composiciones farmacéuticas contendrán al menos un compuesto de Fórmula (I) como ingrediente activo, en una cantidad tal que produzca un efecto terapéutico significativo. Las composiciones cubiertas por la presente invención son completamente convencionales y se obtienen con métodos que son de práctica habitual en la industria farmacéutica, tales como los ilustrados en el manual "Remington's Pharmaceutical Science Handbook", Mack Pub. N.Y. - última edición. Según la vía de administración elegida, las composiciones estarán en forma sólida o líquida, adecuada para la administración oral, parenteral o tópica. Las composiciones según la presente invención contienen, junto con el ingrediente activo, al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Éstas pueden estar
15 constituidas en particular por coadyuvantes de formulación, p.ej., agentes solubilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión y agentes emulsionantes.

20 En general, los compuestos de esta invención se administran en una "cantidad terapéuticamente eficaz". La cantidad del compuesto realmente administrada será determinada generalmente por un médico, a la luz de las circunstancias pertinentes, que incluyen la afección a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto concreto administrado, la combinación de fármacos, la edad, el peso corporal, la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente, y similares. Para cualquier compuesto, la dosis terapéuticamente eficaz puede calcularse inicialmente tanto en ensayos de cultivos celulares como en modelos animales, normalmente con ratones, ratas, cobayas, conejos, perros o cerdos. También se pueden usar modelos animales para determinar el intervalo de concentración y la vía de administración apropiados. Después, esta información puede utilizarse para determinar las
25 dosis y las vías útiles para la administración a seres humanos. Al calcular la Dosis Equivalente Humana (HED, del inglés "Human Equivalent Dose") se recomienda usar la tabla de conversión proporcionada en el documento "Guidance for Industry and Reviewers" (2002, U.S. Food and Drug Administration, Rockville, Maryland, EE.UU.).

30 Generalmente, una dosis eficaz se encontrará entre 0,01 mg/kg y 100 mg/kg, preferiblemente entre 0,05 mg/kg y 50 mg/kg. Para cualquier compuesto, la dosis terapéuticamente eficaz puede calcularse inicialmente tanto en ensayos de cultivos celulares como en modelos animales, normalmente con ratones, ratas, cobayas, conejos, perros o cerdos. La dosis eficaz precisa para un sujeto humano dependerá de la gravedad del estado de enfermedad, la salud general del sujeto, la edad, el peso y el género del sujeto, la dieta, el momento y la frecuencia de la administración, la combinación de fármacos, las sensibilidades de reacción, y la tolerancia/respuesta a la terapia. Esta cantidad puede determinarse mediante experimentación rutinaria y está dentro del criterio del médico.

35 Las composiciones se pueden administrar individualmente a un paciente, o pueden administrarse en combinación con otros agentes, fármacos u hormonas.

40 El medicamento también puede contener un vehículo farmacéuticamente aceptable, para administración del agente terapéutico. Dichos vehículos incluyen anticuerpos y otros polipéptidos, genes y otros agentes terapéuticos tales como liposomas, siempre que el vehículo no induzca la producción de anticuerpos dañinos para el individuo que recibe la composición, y que puedan administrarse sin ninguna toxicidad indebida. Los vehículos adecuados pueden ser macromoléculas grandes de metabolismo lento tales como proteínas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas de virus inactivas.

Se puede encontrar una extensa discusión sobre vehículos farmacéuticamente aceptables en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., N.J. 1991).

45 Los vehículos farmacéuticamente aceptables en composiciones terapéuticas pueden contener adicionalmente líquidos tales como agua, disolución salina, glicerol y etanol.

50 Adicionalmente, en dichas composiciones pueden estar presentes sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes, sustancias tamponantes de pH, y otras similares. Dichos vehículos permiten que las composiciones farmacéuticas sean formuladas como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones, y similares, para la ingestión por parte del paciente.

Una vez formuladas, las composiciones de la invención se pueden administrar directamente al sujeto. Los sujetos a tratar pueden ser animales; en particular, se pueden tratar sujetos humanos.

55 El medicamento de esta invención puede administrarse a través de una serie de rutas que incluyen, aunque sin limitación, la ruta oral, intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intramedular, intratecal, intraventricular, aplicaciones transdérmicas o transcutáneas, subcutáneas, intraperitoneal, intranasal, enteral, tópica, sublingual, intravaginal o rectal.

Las composiciones para administración oral pueden adoptar la forma de disoluciones o suspensiones líquidas en bruto, o polvos en bruto. Más comúnmente, sin embargo, las composiciones se presentan en formas de dosis unitarias para facilitar una dosificación precisa. La expresión "formas de dosis unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado. Las formas de dosis unitarias típicas incluyen ampollas o jeringas rellenas premedidas de las composiciones líquidas, o píldoras, comprimidos, cápsulas o similares, en el caso de composiciones sólidas. En dichas composiciones, el compuesto de la invención habitualmente es un componente minoritario (de entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 50% en peso, o preferiblemente entre aproximadamente 1 y aproximadamente 40% en peso) siendo el resto diversos vehículos o portadores y aditivos de procesado útiles para conformar la forma de dosis deseada. El tratamiento de dosificación puede ser un calendario de dosis individual o un calendario de dosis múltiples. Tal como se indicó anteriormente, los compuestos de la presente invención son útiles como medicamentos debido a sus propiedades de inhibición de HDAC para el tratamiento de trastornos en los que dicha inhibición da como resultado la mejora de la salud del paciente. En particular, los pacientes que padecen cáncer y enfermedades inflamatorias.

Las composiciones en cuestión, junto con los compuestos de Fórmula (I), pueden contener principios activos conocidos adicionales.

Un objetivo adicional de la invención es un proceso para la preparación de composiciones farmacéuticas caracterizado por la mezcla de uno o más compuestos de Fórmula (I) con excipientes, estabilizantes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables adecuados.

Una realización de esta invención es la de los compuestos de Fórmula (I) descritos anteriormente, en la que n es 1 ó 2.

Una realización preferida de esta invención es la de los compuestos de Fórmula (I) descritos anteriormente, en la que R^3 es un grupo de Fórmula (II) como se describió anteriormente.

Según otra realización de la presente invención, el cáncer a tratar es un tumor primario, seleccionado del grupo que comprende sarcoma, carcinoma, melanoma, tumor óseo, tumor neuroendocrino, leucemia linfóide, leucemia mieloide, leucemia monocítica, leucemia megacariocítica, leucemia promielocítica aguda o enfermedad de Hodgkin.

El sarcoma y carcinoma anteriormente mencionados consisten en el grupo que comprende: cáncer de mama; cáncer de pulmón, que incluye cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) y cáncer de pulmón microcítico (SCLC); cáncer gastrointestinal, que incluye cáncer esofágico, gástrico, de intestino delgado, de intestino grueso, rectal y de colon; glioma, que incluye glioblastoma; cáncer ovárico; cáncer de cuello de útero; cáncer endometrial; mesotelioma; cáncer renal; cáncer de próstata; cáncer de peritoneo; cáncer pleural; cáncer de cara y cuello; cáncer de vejiga; cáncer cerebral; y cáncer de la piel o de los ojos.

La neoplasia se puede referir también a un cáncer pediátrico. Por ejemplo, los cánceres pediátricos que se pueden tratar o en los que se puede retrasar la progresión de la afección según la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en: leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma adrenocortical, astrocitomas, cáncer de vejiga, glioma del tronco encefálico, cáncer teratoide/rabdoide atípico del sistema nervioso central, cáncer cerebral, cánceres embrionarios del sistema nervioso central, cáncer cerebral, astrocitomas, craneofaringioma, ependimoblastoma, ependimoma, meduloblastoma infantil, meduloepitelioma, cánceres parenquimatosos pineales de diferenciación intermedia, cánceres neuroectodérmicos primitivos supratentoriales y pineoblastoma, cáncer de mama, cánceres bronquiales, cáncer carcinoide, cáncer de cuello de útero, cordoma, cáncer colorrectal, cáncer esofágico, cáncer de células germinales extracraneales, cáncer gástrico, glioma, cáncer hepatocelular (hígado), linfoma de Hodgkin, cáncer de riñón, cáncer laríngeo, leucemia, leucemia linfoblástica/mieloide aguda, cáncer de hígado, linfoma no Hodgkin, meduloblastoma, mesotelioma, síndrome de neoplasia endocrina múltiple, cáncer nasofaríngeo, cáncer oral, cáncer ovárico, cáncer pancreático, papilomatosis, cáncer de células renales, rabdomiosarcoma, cáncer de glándula salivar, sarcoma, cáncer de piel, timoma y carcinoma tímico, cáncer de tiroides y cáncer vaginal.

Aún otra realización de la presente invención consiste en los compuestos seleccionados del grupo que consiste en: ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((S)-1-ciclopentilcarbamoil-6-mercapto-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, [(S)-1-(3-benciloxi-bencilcarbamoil)-6-mercapto-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, [(S)-6-mercapto-1-(4-trifluorometil-bencilcarbamoil)-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-4-oxo-azetidín-2-carboxílico, ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3S,4S)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico, ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3R,4R)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico, ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3R,4S)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico, ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3S,4R)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico, [(S)-1-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonil)-6-mercapto-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (R)-5-oxo-pirrolidin-2-carboxílico, [(S)-6-mercapto-1-(2-m-tolil-etilcarbamoil)-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (R)-2-oxo-piperidin-3-carboxílico, ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-2-oxo-piperidin-3-carboxílico, ((S)-6-

mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*R*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-6-oxo-1,2,3,6-tetrahidropiridin-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-2-oxo-3-aza-biciclo[4.1.0]heptano-4-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-6-oxo-1,2,5,6-tetrahidro-piridin-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-4-oxo-3-aza-biciclo[4.1.0]heptano-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido 6-oxo-1,6-dihidropiridin-2-carboxílico, ((*S*)-5-mercapto-1-fenilcarbamoil-pentil)-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((*S*)-7-mercapto-1-fenilcarbamoil-heptil)-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-1-metil-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-*m*-tolilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, y ((*S*)-6-mercapto-1-*p*-tolilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico y los profármacos correspondientes en los que R³ es como se describió para los compuestos de Fórmula (I), pero no es H.

Aún otra realización de la presente invención consiste en los compuestos seleccionados del grupo que consiste en: éster de S-((*S*)-6-(((*S*)-4-oxo-azetidín-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-(4-trifluorometil-bencilcarbamoil)-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(3-benciloxi-bencilcarbamoil)-6-(((*S*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-7-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-7-oxo-6-(((*S*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-heptilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-(2-*m*-tolil-etilcarbamoil)-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*R*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-*p*-tolilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-*m*-tolilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-ciclopentilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((3*R**,4*S**)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((3*R**,4*R**)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*R*)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*R**)-(2-oxo-piperidin-3-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((*S*)-1-ciclopentilcarbamoil-6-mercapto-hexil)-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, [(*S*)-1-(3-benciloxi-bencilcarbamoil)-6-mercapto-hexil]-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, [(*S*)-6-mercapto-1-(4-trifluorometil-bencilcarbamoil)-hexil]-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-4-oxo-azetidín-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3*S*,4*S*)-2-oxo-4-fenilpirrolidin-3-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3*R*,4*R*)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3*R*,4*S*)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3*S*,4*R*)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico, [(*S*)-1-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonil)-6-mercapto-hexil]-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*R*)-5-oxo-pirrolidin-2-carboxílico, [(*S*)-6-mercapto-1-(2-*m*-tolil-etilcarbamoil)-hexil]-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*R*)-2-oxo-piperidin-3-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-2-oxo-piperidin-3-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*R*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de éster etílico de ácido tiocarbónico, éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioisobutírico, éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-*m*-tolilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*R*)-1-metil-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*R*)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de éster etílico de ácido tiocarbónico, éster de S-(((*S*)-6-(((*R*)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-*m*-tolilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*R*)-1-metil-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-*m*-tolilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*R*)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-hexilo) de ácido tioacético, éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-1-metil-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético, ((*S*)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-1-metil-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-*m*-tolilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, ((*S*)-6-mercapto-1-*p*-tolilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (*S*)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, y éster de S-(((*S*)-6-(((*S*)-6-oxo-1,2,3,6-tetrahidro-piridin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético.

Descripción del dibujo

Figura 1: Análisis mediante transferencia de Western de extractos citoplasmáticos y nucleares de células NCI-H460 tras el tratamiento con el compuesto del Ejemplo 14.

Los siguientes ejemplos ilustrativos no pretenden suponer en caso alguno una lista exhaustiva de lo que la presente invención pretende proteger.

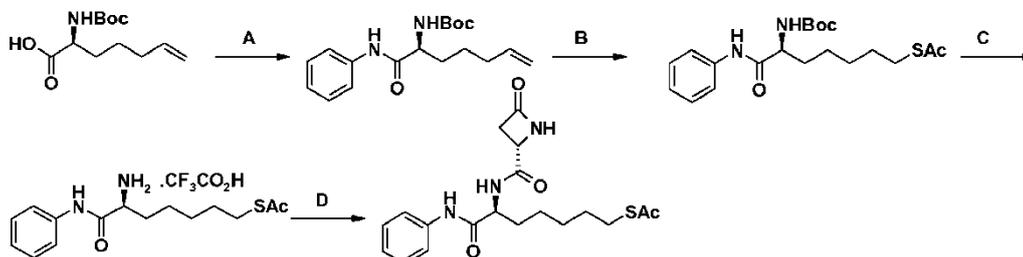
Ejemplos*Abreviaturas:*

	AcOEt:	acetato de etilo
	AIBN:	azobisisobutironitrilo
5	DCM:	diclorometano
	DIPEA:	diisopropiletilamina
	DMF:	dimetilformamida
	EDCI:	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida
	EtOH:	etanol
10	Et ₂ O:	dietil éter
	HPLC:	cromatografía líquida de alto rendimiento
	IPA:	alcohol <i>i</i> -propílico
	MeOH:	metanol
	NaHCO ₃ :	bicarbonato sódico
15	Na ₂ SO ₄ :	sulfato de sodio
	NEt ₃ :	triethylamina
	PyBOP:	(hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfonio)
	TA:	temperatura ambiente
	SAc:	tioacetilo
20	TFA:	ácido trifluoroacético
	TLC:	cromatografía en capa fina

Características generales: Todas las reacciones no acuosas se llevaron a cabo en material de vidrio secado a la llama bajo una presión positiva de argón con exclusión de la humedad de los reactivos y del material de vidrio mediante el uso de técnicas habituales para la manipulación de compuestos sensibles al aire. El THF, tolueno, Et₂O y DCM anhidros se obtuvieron mediante filtración a través de columnas de secado (Sistema de Administración de Disolventes); otros disolventes se destilaron bajo una presión positiva de argón seco antes del uso y se secaron mediante métodos habituales. Se usaron reactivos de grado comercial sin purificación adicional. La cromatografía rápida se llevó a cabo con gel de sílice de malla 230-400 con los sistemas de disolventes indicados. La cromatografía en capa fina se llevó a cabo en placas de gel de sílice con soporte de vidrio, pre-revestidas (Merck 60F₂₅₄). La visualización se llevó a cabo con luz ultravioleta de longitud de onda corta y/o sumergiendo las placas en una disolución de H₂SO₄ acuoso de sulfato de cerio/molibdato de amonio, permanganato potásico, o una disolución etanólica de anisaldehído, seguido de carbonización con una pistola de calor. De manera alternativa, la CCF se puede teñir exponiéndola a vapor de yodo en una cámara de revelado con yodo. Los análisis de masas de baja y alta resolución se llevaron a cabo en espectrómetros AEI-MS 902 o MS-50 mediante el uso de técnicas de electronebulización (ES). Los espectros de resonancia magnética nuclear se registraron en espectrómetros Gemini (Varian) a 300 ó 500 MHz. Los análisis de masas se llevaron a cabo en un espectrómetro Waters ZQ2000 mediante el uso de la técnica de electronebulización (ES). Los análisis de LCMS se llevaron a cabo en un aparato LC-Waters (HPLC Waters Alliance 2695, ZQ2000 MS y un detector PDA-UV 2996).

Ejemplo 1

Éster de S-((S)-6-(((S)-4-oxo-azetidín-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético



A: anilina, PyBOP, DIPEA, DMF y DCM, TA; B: AcSH, AIBN, dioxano, 75 °C; C: TFA, DCM, 0 °C a TA;
D: ácido (S)-4-oxo-azetidín-2-carboxílico, PyBOP, NEt₃, DMF y DCM, TA

Esquema 1

Etapa A: Éster *tert*-butilico de ácido ((S)-1-fenilcarbamoil-hex-5-enil)-carbámico

- 5 Una disolución de ácido (S)-2-*tert*-butoxicarbonilamino-hept-6-enoico (5,24 mmol), DIPEA (15,7 mmol) y anilina (5,76 mmol) se agitó a TA en DCM (70 ml) durante 20 minutos antes de añadir PyBOP (5,24 mmol) y DMF anhidra (5 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a TA. El disolvente se eliminó a presión reducida y la mezcla de reacción bruta se diluyó con AcOEt, se lavó con un 5% de Na₂CO₃, agua y después con un 5% de ácido cítrico acuoso y finalmente con salmuera. Tras la eliminación del disolvente a presión reducida y la purificación en gel de sílice (n-hexano / AcOEt: 9 / 1) se obtuvo el aducto deseado.

Rendimiento: 85%.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,13 (m, 2H), 1,14 (s, 9H), 1,60 (m, 2H), 2,01 (m, 2H), 4,05 (m, 1H), 4,94 (m, 2H), 5,77 (m, 1H), 7,02 (m, 2H), 7,29 (t, 2H), 7,59 (d, 2H), 9,92 (s, 1H).

ESIMS *m/z* 341,2 (M+Na)⁺.

- 15 Etapa B: Éster de S-((S)-6-*tert*-butoxicarbonilamino-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético

A una disolución agitada de éster *tert*-butilico de ácido ((S)-1-fenilcarbamoil-hex-5-enil)-carbámico (250 mg, 0,78 mmol), ácido tioacético (564 µl, 7,8 mmol) a 75 °C en dioxano desgasificado se le añadió AIBN (129 mg, 0,78 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió un exceso de ciclohexeno con agitación, y esta última se mantuvo durante 20 mn. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el producto bruto resultante se lavó más veces con hexano para proporcionar el aducto deseado.

Rendimiento: 81%.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,30 (m, 4H), 1,36 (s, 9H), 1,47 (m, 2H), 1,56 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 4,02 (m, 1H), 6,96 (d, 1H), 7,02 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,57 (d, 2H), 9,89 (s, 1H).

ESIMS *m/z* 417,2 (M+Na)⁺.

- 25 Etapa C: Éster de S-((S)-6-amino-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético

A una disolución agitada en DCM de éster de S-((S)-6-*tert*-butoxicarbonilamino-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético a 0 °C se le añadió TFA lentamente. La mezcla de reacción se dejó calentar después a TA y se agitó durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar el aducto deseado en forma de la sal de trifluoroacetato, que se usó sin ninguna purificación en la etapa siguiente.

- 30 Etapa D: Éster de S-((S)-6-(((S)-4-oxo-azetidín-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético

A una disolución de la sal de trifluoroacetato como se obtuvo en la Etapa C (305 mg, 0,75 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron NEt₃ (312 µl, 2,24 mmol), ácido (S)-4-oxo-azetidín-2-carboxílico (90 mg, 0,79 mmol), PyBOP (408 mg, 0,79 mmol) y DMF (1,7 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche y después se diluyó con AcOEt, se lavó con agua, 5% de Na₂CO₃ ac., salmuera, disolución del 5% de ácido cítrico y salmuera de nuevo. El material bruto se purificó por medio de cromatografía con gel de sílice mediante el uso de AcOEt como eluyente para proporcionar el aducto deseado en forma de un sólido blanco.

Rendimiento: 42 %

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,31 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,64 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,67 (dt, 1H), 2,79 (t, 2H), 3,09 (dd, 1H), 4,06 (dd, 1H), 4,42 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,57 (d, 2H), 8,12 (s, 1H), 8,38 (d, 1H), 10,07 (s, 1H).

40

ESIMS m/z 392,0 (M+H)⁺; ESIMS m/z 504,2 (M+CF₃COO)⁻.

Los Ejemplos 2 a 12 se sintetizaron siguiendo el procedimiento representado en el Esquema 1 mediante el uso de la amina adecuada en la Etapa A y el ácido adecuado en la Etapa D.

Ejemplo 2

5 Éster de S-[(S)-6-(((S)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-(4-trifluorometil-bencilcarbamoi)-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 51%.

¹H RMN (500 MHz, CD₂Cl₂) δ: 1,39 (m, 4H), 1,56 (m, 2H), 1,64-1,94 (m, 5H), 2,05 (m, 1H), 2,24 (m, 2H), 2,32 (s, 3H), 2,84 (t, 2H), 4,00 (m, 1H), 4,46 (m, 3H), 7,21 (m, 1H), 7,32-7,47 (m, 4H), 7,60 (m, 2H).

10 ESIMS m/z 502,09 (M+H)⁺.

Ejemplo 3

Éster de S-[(S)-6-(3-benciloxi-bencilcarbamoi)-6-(((S)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 44%.

15 ¹H RMN (500 MHz, CD₂Cl₂) δ: 1,25-1,48 (m, 4H), 1,56 (m, 2H), 1,62-1,97 (m, 5H), 2,01 (m, 1H), 2,23 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,83 (t, 2H), 3,98 (m, 1H), 4,36 (m, 2H), 4,46 (m, 1H), 5,06 (m, 2H), 6,82-6,92 (m, 3H), 7,02 (m, 1H), 7,25 (t, 1H), 7,32-7,50 (m, 5H).

ESIMS m/z 540,17 (M+H)⁺.

Ejemplo 4

20 Éster de S-[(S)-7-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-7-oxo-6-(((S)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-heptilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 28%.

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,15-1,85 (m, 13H), 2,11 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,79 (m, 3H), 3,69 (m, 2H), 3,91 (m, 1H), 4,45-4,90 (m, 3H), 7,16 (s, 4H) 7,47 (m, 1H), 8,10 (m, 1H).

ESIMS m/z 460,14 (M+H)⁺.

25 Ejemplo 5

Éster de S-[(S)-6-(((S)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-(2-*m*-tolil-etilcarbamoi)-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 27%.

30 ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,06-1,32 (m, 4H), 1,36-1,76 (m, 7H), 1,76-1,88 (m, 1H), 2,10 (t, 2H), 2,26 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,65 (t, 2H), 2,78 (t, 2H), 3,21 (m, 2H), 3,89 (m, 1H), 4,16 (m, 1H), 6,93-7,03 (m, 2H), 7,14 (m, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,86-8,00 (m, 3H).

ESIMS m/z 462,11 (M+H)⁺.

Ejemplo 6

Éster de S-[(S)-6-(((R)-1-metil-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-*m*-tolilcarbamoi)-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 37%.

35 ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,31 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,63 (m, 2H), 1,80 (m, 1H), 2,17 (m, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,58 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 4,13 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 6,85 (d, 1H), 7,16 (t, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 8,47 (d, 1H), 9,99 (s, 1H).

ESIMS m/z 433,4 (M+H)⁺; 546,5 (M+CF₃COO)⁻.

Ejemplo 7

40 Éster de S-[(S)-6-(((S)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-*m*-tolilcarbamoi)-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 53%.

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,33 (m, 4H), 1,50 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 1,88 (m, 1H), 2,11 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,81 (t, 2H), 4,10 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 6,87 (d, 1H), 7,18 (t, 1H), 7,37 (d, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 8,19 (d, 1H), 9,96 (s, 1H).

ESIMS m/z 420,3 (M+H) $^+$.

5 Ejemplo 8

Éster de S-[(S)-6-(((R)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-*m*-tolilcarbamoil-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 43%.

10 ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,30 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,64 (m, 2H), 1,84 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 4,09 (m, 1H), 4,39 (m, 1H), 6,85 (d, 1H), 7,16 (t, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 8,15 (d, 1H), 9,96 (s, 1H).

ESIMS m/z 420,3 (M+H) $^+$.

Ejemplo 9

Éster de S-[(S)-6-(((R)-1-metil-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 36%.

15 ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,34 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,66 (m, 2H), 1,82 (m, 1H), 2,22 (m, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,61 (s, 3H), 2,82 (t, 2H), 4,14 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 7,07 (t, 1H), 7,32 (t, 2H), 7,60 (d, 2H), 8,47 (d, 1H), 10,10 (s, 1H).

ESIMS m/z 420,3 (M+H) $^+$.

Ejemplo 10

20 Éster de S-[(S)-6-(((S)-6-oxo-1,2,3,6-tetrahidro-piridin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 64%.

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,28 (m, 4H), 1,45 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,55 (m, 2H), 2,78 (t, 2H), 4,08 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 5,66 (m, 1H), 6,50 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,47 (m, 1H), 7,56 (d, 2H), 8,02 (d, 1H), 10,10 (s, 1H). ESIMS m/z 440,1 (M+Na) $^+$.

25 Ejemplo 11

Éster de S-(S)-6-(((S)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 25%.

30 ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,32 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,63 (m, 2H), 1,87 (m, 1H), 2,08 (m, 2H), 2,22 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 4,09 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,58 (d, 1H), 7,78 (s, 1H), 8,20 (d, 1H), 10,03 (s, 1H).

ESIMS m/z 406,4 (M+H) $^+$.

Ejemplo 12

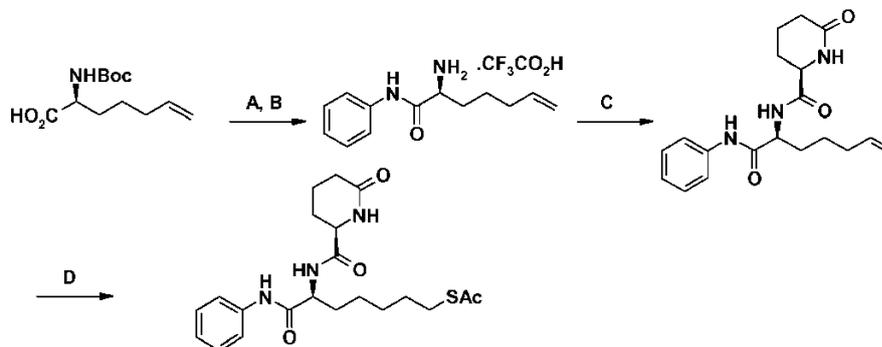
Éster de S-[(S)-6-(((S)-1-metil-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 68%.

35 ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,32 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,58 (m, 2H), 1,68 (m, 2H), 1,86 (m, 2H), 2,17 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,68 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 4,07 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,58 (d, 2H), 8,35 (d, 1H), 10,07 (s, 1H). ESIMS m/z 433,9 (M+H) $^+$.

Ejemplo 13

Éster de S-((S)-6-(((R)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético



A: anilina, PyBOP, DIPEA, DMF y DCM, TA; B: TFA, DCM, 0 °C a TA;
C: ácido (R)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico, PyBOP, NEt₃, DMF y DCM, TA; D: AcSH, AIBN, dioxano, 75 °C

Esquema 2

Etapa A: Éster *tert*-butilico de ácido ((S)-1-fenilcarbamoil-hex-5-enil)-carbámico

5 El compuesto se ha obtenido siguiendo la Etapa A como se describió en el Ejemplo 1.

Etapa B: Fenilamida de ácido (S)-2-amino-hept-6-enoico

A una disolución agitada de éster *tert*-butilico de ácido ((S)-1-fenilcarbamoil-hex-5-enil)-carbámico (es decir, Ejemplo 1, Etapa A) a 0 °C se le añadió TFA lentamente. La mezcla de reacción se dejó calentar después a TA y se agitó durante 2 horas. El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar el aducto deseado cuantitativamente en forma de la sal de trifluoroacetato, que se usó sin ninguna purificación en la etapa siguiente.

Etapa C: ((S)-1-fenilcarbamoil-hex-5-enil)-amida de ácido (R)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico

Una disolución de DCM / DMF (10 ml, 10 / 2) de la sal de trifluoroacetato obtenida en la Etapa A se hizo reaccionar con ácido (R)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico (0,79 mmol) y PyBOP (0,79 mmol) en presencia de NEt₃ (2,25 mmol) durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM y se lavó con un 5% de Na₂CO₃, salmuera, 5% de ácido cítrico y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. La mezcla de reacción bruta se purificó por medio de cromatografía con gel de sílice mediante el uso de AcOEt / MeOH (9 / 1) como eluyente para proporcionar el aducto deseado en forma de un sólido blanco.

Rendimiento: 85%

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,38 (m, 2H), 1,65 (m, 5H), 1,86 (m, 1H), 2,03 (m, 2H), 2,11 (t, 2H), 3,96 (m, 1H), 4,44 (m, 1H), 4,96 (m, 2H), 5,77 (m, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,47 (d, 1H), 7,57 (d, 2H), 8,13 (d, 1H), 10,03 (s, 1H).

ESIMS *m/z* 366,3 (M+Na)⁺; 342,2 (M-H)⁻.

Etapa D: Éster de S-((S)-6-(((R)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético

A una disolución agitada de ((S)-1-fenilcarbamoil-hex-5-enil)-amida de ácido (R)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico (220 mg, 0,64 mmol), ácido tioacético (460 µl, 6,4 mmol) a 75 °C en dioxano desgasificado (7 ml) se le añadió AIBN (105 mg, 0,64 mmol). La mezcla de reacción se agitó hasta la conversión completa del material de partida, tal como se monitorizó mediante análisis de CCF. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se paró con un exceso de ciclohexeno con agitación, y esta última se mantuvo durante 20 minutos. La concentración a presión reducida y la purificación por medio de cromatografía con gel de sílice mediante el uso de Hexano / DCM / IPA : 50/40/10 como eluyente proporcionó el aducto deseado.

Rendimiento: 53%.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,30 (m, 4H), 1,47 (m, 2H), 1,64 (m, 5H), 1,86 (m, 1H), 2,11 (t, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 3,95 (m, 1H), 4,41 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,48 (d, 1H), 7,57 (d, 2H), 8,14 (d, 1H), 10,05 (s, 1H).

35 ESIMS *m/z* 420,1 (M+H)⁺; 532,2 (M+CF₃COO)⁺.

Los Ejemplos 14 a 18 se sintetizaron siguiendo el procedimiento representado en el Esquema 2 mediante el uso de la amina adecuada en la Etapa A y el ácido adecuado en la Etapa C.

Ejemplo 14

Éster de S-[(S)-6-(((S)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-fenilcarbamoil-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 87%.

5 ^1H RMN (200 MHz CDCl_3) δ : 1,31 (m, 4H), 1,47 (m, 2H), 1,64 (m, 5H), 1,84 (m, 1H), 2,09 (t, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 3,95 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,47 (d, 1H), 7,57 (d, 2H), 8,08 (d, 1H), 9,97 (s, 1H).

ESIMS m/z 420,0 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; 532,2 ($\text{M}+\text{CF}_3\text{COO}$)⁻.

Ejemplo 15

Éster de S-[(S)-6-(((S)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-*p*-tolilcarbamoil-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 88%.

10 ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1,30 (m, 2H), 1,47 (m, 2H), 1,64 (m, 5H), 1,84 (m, 1H), 2,10 (t, 2H), 2,23 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 3,94 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 7,09 (d, 2H), 7,45 (d, 2H), 7,47 (d, 1H), 8,06 (d, 1H), 9,87 (s, 1H).

ESIMS m/z 456,6 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Ejemplo 16

15 Éster de S-[(S)-6-(((S)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-*m*-tolilcarbamoil-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 62%.

^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1,31 (m, 4H), 1,47 (m, 2H), 1,61 (m, 5H), 1,84 (m, 1H), 2,10 (t, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 3,95 (m, 1H), 4,36 (m, 1H), 6,85 (d, 1H), 7,16 (t, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,47 (d, 1H), 8,09 (d, 1H), 9,90 (s, 1H).

20 ESIMS m/z 456,4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Ejemplo 17

Éster de S-[(S)-6-(((S)-6-oxo-piperidin-2-carbonil)-amino)-6-ciclopentilcarbamoil-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 51%.

25 ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1,05-1,90 (m, 20H), 2,10 (t, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 3,95 (m, 2H), 4,20 (m, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,82 (s, 1H).

ESIMS m/z 434,38 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.

Ejemplo 18

Éster de S-[(S)-6-(((*R*)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil)-amino)-6-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-hexilo] de ácido tioacético

Rendimiento: 84%.

30 ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1,31 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,66 (m, 2H), 1,84 (m, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,25 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 2,79 (t, 2H), 4,09 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 7,39 (d, 1H), 7,54 (t, 1H), 7,77 (d, 1H), 7,80 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 8,26 (d, 1H), 10,43 (s, 1H).

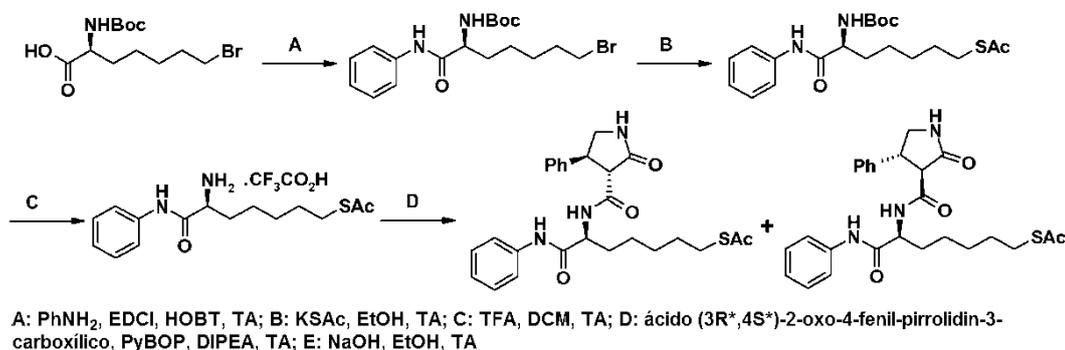
^{19}F RMN (282 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : -62.97

ESIMS m/z 474,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; 586,3 ($\text{M}+\text{CF}_3\text{COO}$)⁻.

35

Ejemplo 19

Éster de S-((S)-6-(((3*R**,4*S**)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carbonil)-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético



Esquema 3

Etapa A: Éster *tert*-butilico de ácido ((*S*)-6-bromo-1-fenilcarbamoil-hexil)-carbámico

- 5 Se añadió EDCI (2,10 g, 11,1 mmol) y anilina (0,68 ml, 7,5 mmol) a una disolución de 7,4 mmol de ácido (*S*)-7-bromo-2-*tert*-butoxicarbonilamino-heptanoico (Gupta P.K., et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2010, 20, 23, 7067) en THF (70 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a TA. El disolvente se eliminó a presión reducida y la mezcla de reacción bruta se diluyó con AcOEt, se lavó con agua y después con un 10% de ácido cítrico acuoso y finalmente con NaHCO₃ saturado. Tras la eliminación del disolvente a presión reducida y la purificación en gel de sílice (n-hexano / AcOEt: 1 / 9) se obtuvo el aducto deseado.

Rendimiento: 91%.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 1,38-1,48 (m, 14H), 1,75-2,00 (m, 3H), 3,48 (t, 2H), 4,30 (m, 1H), 5,40 (m, 1H), 6,50 (m, 1H), 7,12 (t, 1H), 7,33 (t, 2H), 7,60 (d, 2H).

ESIMS *m/z* 421,21 (M+Na)⁺; 423,21 (M+Na)⁺.

- 15 Etapa B: Éster de S-((*S*)-6-*tert*-butoxicarbonilamino-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético

Se añadió tioacetato potásico (9,7 mmol) a una disolución de éster *tert*-butilico de ácido ((*S*)-6-bromo-1-fenilcarbamoil-hexil)-carbámico (6,5 mmol) en EtOH (40 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y el precipitado resultante se vertió en agua y se extrajo dos veces con AcOEt. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄ antes de evaporarla para proporcionar el aducto deseado.

Rendimiento: 97%

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 1,45-1,50 (m, 13H), 1,65-1,55 (m, 3H), 2,10 (t, 3H), 2,74 (m, 1H), 2,84 (t, 2H), 4,17 (s, 1H), 5,04 (s, 1H), 7,10 (t, 1H), 7,30 (t, 1H), 7,52 (d, 2H).

ESIMS *m/z* 417,41 (M+Na)⁺.

- 25 Etapa C: Éster de S-((*S*)-6-amino-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético-trifluoroacetato

Se añadió ácido trifluoroacético (61 mmol) a una disolución de éster de S-((*S*)-6-*tert*-butoxicarbonilamino-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético (6,10 mmol) en DCM (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante cinco horas antes de concentrarla a presión reducida. La mezcla de reacción bruta resultante se resuspendió dos veces en Et₂O para posibilitar la eliminación completa del exceso de ácido trifluoroacético. El aducto deseado se obtuvo en forma de un aceite rojizo.

Rendimiento: cuantitativo

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,20-2,00 (m, 8H), 2,31 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 4,05 (m, 1H), 7,05 (t, 1H), 7,30 (t, 2H), 7,40 (m, 3H), 7,58 (d, 2H), 9,85 (s, 1H).

Etapa D: Éster de S-((*S*)-6-[(2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carbonil)-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético

- 35 Se añadió éster de S-((*S*)-6-amino-6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético-trifluoroacetato (1,03 mmol), DIPEA (3,08 mmol) y PyBOP (1,03 mmol) a una disolución de ácido (3*R**,4*S**)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico en DCM / DMF: 5 / 9. La mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante la noche. Tras la eliminación del disolvente a presión reducida, el sólido resultante se vertió en agua y se extrajo dos veces con AcOEt. La capa orgánica se lavó

después con NaHCO₃, agua y salmuera antes de secarla sobre Na₂SO₄ y concentrarla a presión reducida para producir un aceite. Este último se purificó parcialmente mediante cromatografía con gel de sílice y después se sometió a purificación mediante HPLC.

Rendimiento: 12%.

- 5 ¹H RMN (500 MHz, Acetona-*d*₆) δ: 1,30-1,80 (m, 8H), 2,28 (s, 3H), 2,81 (t, 2H), 3,51 (t, 1H), 3,75 (d, 1H), 3,87 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 7,00-7,40 (m, 8H), 7,53 (s ancho, 1H), 7,84 (m, 2H), 7,89 (d, 1H), 9,80 (s ancho, 1H).

ESIMS *m/z* 482,06 (M+H)⁺.

- 10 Los Ejemplos 20 a 22 se sintetizaron siguiendo el procedimiento representado en el Esquema 3 mediante el uso de la amina adecuada en la Etapa A y el ácido adecuado en la Etapa D.

Ejemplo 20

Éster de S- $\{(S)\text{-}6\text{-}[\{(3R^*,4R^*)\text{-}2\text{-}oxo\text{-}4\text{-}fenil\text{-}pirrolidin\text{-}3\text{-}carbonil\text{-}amino\text{-}6\text{-}fenilcarbamoil\text{-}hexilo\}$ de ácido tioacético

En la Etapa D, el ácido reaccionante fue la mezcla racémica cis (es decir, "3*R**, 4*R**) del ácido 2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico.

- 15 Rendimiento: 60%.

¹H RMN (300 MHz, Acetona-*d*₆) δ: 1,35-2,00 (m, 8H), 2,28 (s, 3H), 2,84 (t, 2H), 3,40 (t, 1H), 3,59 (d, 1H), 3,78 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 4,48 (m, 1H), 7,00-7,40 (m, 9H), 7,63 (m, 2H), 7,89 (d, 1H), 9,25 (s ancho, 1H).

ESIMS *m/z* 482,06 (M+H)⁺.

Ejemplo 21

- 20 Éster de S- $\{(S)\text{-}6\text{-}[\{(R)\text{-}5\text{-}oxo\text{-}pirrolidin\text{-}2\text{-}carbonil\text{-}amino\text{-}6\text{-}fenilcarbamoil\text{-}hexilo\}$ de ácido tioacético

Rendimiento: 35%.

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ: 1,20-2,00 (m, 10H), 2,18 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 4,07 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 7,04 (t, 2H), 7,29 (t, 2H), 7,57 (d, 1H), 7,58 (d, 2H), 8,10 (d, 1H), 9,90 (s, 1H).

ESIMS *m/z* 428,17 (M+Na)⁺.

- 25 Ejemplo 22

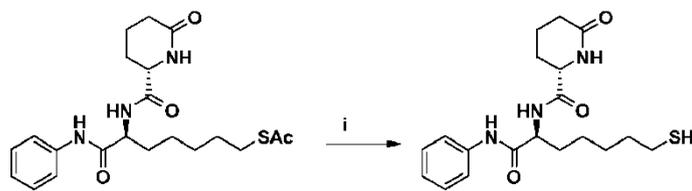
Éster de S- $\{(S)\text{-}6\text{-}[\{(R^*)\text{-}(2\text{-}oxo\text{-}piperidin\text{-}3\text{-}carbonil\text{-}amino\text{-}6\text{-}fenilcarbamoil\text{-}hexilo\}$ de ácido tioacético

Rendimiento: 60%.

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ: 1,42-1,19 (m, 10H), 2,29 (s, 3H), 2,55 (t, 2H), 2,80 (t, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,40 (m, 2H), 4,53 (m, 2H), 7,12 (t, 1H), 7,33 (t, 2H), 7,60 (d, 2H). ESIMS *m/z* 442,14 (M+Na)⁺.

- 30 Ejemplo 23

((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico



i: NaOH, EtOH, TA

Esquema 4

- 35 Una disolución 2 N de NaOH (7,0 mmol) se añadió a una disolución de éster de S- $\{(S)\text{-}6\text{-}[\{(S)\text{-}6\text{-}oxo\text{-}piperidin\text{-}2\text{-}carbonil\text{-}amino\text{-}6\text{-}fenilcarbamoil\text{-}hexilo\}$ de ácido tioacético (0,95 mmol) en EtOH (13 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante la noche y después se vertió en agua y se extrajo con AcOEt, se lavó con agua, salmuera y finalmente se secó sobre Na₂SO₄. La eliminación del disolvente a presión reducida condujo al aducto deseado, que se purificó por medio de HPLC.

Rendimiento: 20%.

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ: 1,50 (m, 4H), 1,68 (m, 2H), 1,80 (m, 2H), 1,95 (m, 3H), 2,10 (m, 1H), 2,38 (m, 2H), 2,55 (t, 2H), 4,15 (t, 1H), 4,53 (m, 1H), 7,12 (t, 1H), 7,33 (t, 2H), 7,60 (d, 2H).

ESIMS *m/z* 400,40 (M+Na)⁺; 376,34 (M-H)⁻.

5 Los Ejemplos 24 a 40 se sintetizaron siguiendo el procedimiento representado en el Esquema 4 mediante el uso del material de partida adecuado.

Ejemplo 24

((S)-1-Ciclopentilcarbamoil-6-mercaptohexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 17.

Rendimiento: 44%.

10 ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,05-1,90 (m, 20H), 2,12 (t, 2H), 2,21 (t, 1H), 2,45 (m, 2H), 3,92 (m, 1H), 3,97 (m, 1H), 4,21 (m, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,82 (s, 1H).

ESIMS *m/z* 392,2 (M+Na)⁺; 368,1 (M-H)⁻.

Ejemplo 25

[(S)-1-(3-Benciloxi-bencilcarbamoil)-6-mercapto-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico

15 El material de partida fue el del Ejemplo 3.

Rendimiento: 32%.

¹H RMN (500 MHz, CD₂Cl₂) δ: 1,20-1,48 (m, 4H), 1,48-2,02 (m, 8H), 2,21 (m, 2H), 2,49 (m, 2H), 3,20-3,42 (m, 2H), 4,51 (m, 1H), 5,04 (s, 2H), 6,80-6,95 (m, 3H), 7,23 (t, 1H), 7,28-7,50 (m, 5H), 7,64 (s, 1H), 7,75 (d, 1H).

ESIMS *m/z* 498,35 (M+H)⁺.

20 Ejemplo 26

[(S)-6-Mercapto-1-(4-trifluorometilbencilcarbamoil)-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 2.

Rendimiento: 33%.

25 ¹H RMN (500 MHz, CD₂Cl₂) δ: 1,38 (m, 4H), 1,52-2,12 (m, 9H), 2,23 (m, 2H), 2,50 (m, 2H), 3,98 (m, 1H), 4,45 (m, 3H), 7,20 (m, 1H), 7,28-7,72 (m, 6H).

ESIMS *m/z* 460,14 (M+H)⁺.

Ejemplo 27

((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-4-oxo-azetidín-2-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 1.

30 Rendimiento: 56%.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,34 (m, 4H), 1,57 (m, 4H), 2,22 (t, 1H), 2,47 (q, 1H), 2,66 (m, 2H), 3,10 (dd, 1H), 4,07 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,58 (d, 2H), 8,15 (s, 1H), 8,43 (d, 1H), 10,11 (s, 1H).

ESIMS *m/z* 372,2 (M+Na)⁺; 348,2 (M-H)⁻.

Ejemplo 28

35 ((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3S,4S)-2-oxo-4-fenil-pirrolidín-3-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 20. Una vez hidrolizada, la mezcla diastereomérica de los dos derivados de tiolato se purificó mediante cromatografía rápida con gel de sílice para permitir la obtención de cada isómero puro.

Rendimiento: 44%.

40 ¹H RMN (500 MHz, Acetona-*d*₆) δ: 1,35-2,00 (m, 8H), 2,42 (t, 2H), 3,40 (t, 1H), 3,59 (d, 1H), 3,78 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 4,48 (m, 1H), 7,00-7,40 (m, 9H), 7,63 (m, 2H), 7,89 (d, 1H), 9,25 (s ancho, 1H).

ESIMS m/z 462,27 (M+Na)⁺.

Ejemplo 29

((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3R,4R)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico

El Ejemplo 29 se obtuvo tras la purificación según el procedimiento del Ejemplo 28. Rendimiento: 37%.

- 5 ¹H RMN (500 MHz, Acetona-*d*₆) δ: 1,35-2,00 (m, 8H), 2,42 (t, 2H), 3,51 (t, 1H), 3,75 (d, 1H), 3,87 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 7,00-7,40 (m, 9H), 7,63 (m, 2H), 7,89 (d, 1H), 9,25 (s ancho, 1H).

ESIMS m/z 462,27 (M+Na)⁺.

Ejemplo 30

((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3R,4S)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico

- 10 El material de partida fue el del Ejemplo 19. Una vez hidrolizada, la mezcla diastereomérica de los dos derivados de tiolato se purificó mediante cromatografía rápida con gel de sílice para permitir la obtención del isómero puro.

Rendimiento: 40%.

¹H RMN (500 MHz, Acetona-*d*₆) δ: 1,30-1,80 (m, 8H), 2,42 (t, 2H), 3,51 (t, 1H), 3,75 (d, 1H), 3,87 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 7,00-7,40 (m, 8H), 7,53 (s ancho, 1H), 7,84 (m, 2H), 7,89 (d, 1H), 9,80 (s ancho, 1H).

- 15 ESIMS m/z 462,81 (M+Na)⁺.

Ejemplo 31

((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3S,4R)-2-oxo-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico

El Ejemplo 31 se obtuvo tras la purificación según el procedimiento del Ejemplo 30. Rendimiento: 37%.

- 20 ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ: 1,35-2,40 (m, 8H), 2,43 (m, 2H), 3,48 (t, 1H), 3,80 (m, 2H), 4,22 (m, 1H), 4,53 (m, 1H), 7,09 (m, 2H), 7,30 (m, 4H), 7,36 (m, 4H), 7,68 (m, 2H).

ESIMS m/z 462,27 (M+Na)⁺.

Ejemplo 32

[(S)-1-(3,4-Dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonil)-6-mercapto-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 4.

- 25 Rendimiento: 37%.

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,10-1,90 (m, 13H), 2,05-2,23 (m, 2H), 2,35-3,00 (m, 4H), 3,60-4,10 (m, 3H), 4,48-4,86 (m, 3H), 7,17 (s, 4H), 7,49 (m, 1H), 8,10 (m, 4H).

ESIMS m/z 418,05 (M+H)⁺.

Ejemplo 33

- 30 ((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (R)-5-oxo-pirrolidin-2-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 21.

Rendimiento: 42%.

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,20-2,00 (m, 10H), 2,18 (m, 2H), 2,21 (t, 1H), 2,45 (m, 1H), 4,05 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,55 (d, 1H), 7,58 (d, 2H), 8,08 (d, 1H), 9,98 (s, 1H).

- 35 ESIMS m/z 364,28 (M+H)⁺.

Ejemplo 34

[(S)-6-Mercapto-1-(2-m-tolil-etilcarbamoil)-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 5.

Rendimiento: 41%.

^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,10-1,34 (m, 4H), 1,42-1,76 (m, 7H), 1,83 (m, 1H), 2,11 (t, 2H), 2,21 (t, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,44 (m, 2H), 2,66 (t, 2H), 3,23 (m, 2H), 3,91 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 6,90-7,08 (m, 2H), 7,16 (t, 1H), 7,51 (s ancho, 1H), 7,89 (d, 1H), 7,95 (t, 1H).

ESIMS m/z 420,09 (M+H) $^+$.

5 Ejemplo 35

((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (R)-2-oxo-piperidin-3-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 22. Una vez hidrolizada, la mezcla diastereomérica de los dos derivados de tiolato se purificó mediante cromatografía rápida con gel de sílice para permitir la obtención del isómero puro.

Rendimiento: 39%.

10 ^1H RMN (500 MHz, CD $_3$ OD) δ : 1,42-1,19 (m, 12H), 2,55 (t, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,40 (m, 2H), 4,53 (m, 2H), 7,12 (t, 1H), 7,33 (t, 2H), 7,60 (d, 2H).

ESIMS m/z 400,40 (M+Na) $^+$.

Ejemplo 36

((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-2-oxo-piperidin-3-carboxílico

15 El Ejemplo 36 se obtuvo tras la purificación según el procedimiento del Ejemplo 35. Rendimiento: 20%.

^1H RMN (500 MHz, CD $_3$ D) δ : 1,40-2,22 (m, 12H), 2,55 (t, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,42 (m, 2H), 4,53 (m, 2H), 7,09 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,68 (d, 2H).

ESIMS m/z 400,40 (M+Na) $^+$.

Ejemplo 37

20 ((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (R)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 13.

Rendimiento: 82%.

25 ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,34 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,64 (m, 5H), 1,87 (m, 1H), 2,11 (t, 2H), 2,22 (t, 1H), 2,44 (m, 2H), 3,96 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,49 (d, 1H), 7,57 (d, 2H), 8,13 (d, 1H), 10,04 (s, 1H).

ESIMS m/z 400,2 (M+Na) $^+$; 376,2 (M-H)-.

Ejemplo 38

((S)-6-Mercapto-1-*m*-tolilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 16.

30 Rendimiento: 25%.

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,34 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,64 (m, 5H), 1,85 (m, 1H), 2,10 (t, 2H), 2,20 (t, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,44 (m, 2H), 3,95 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 6,85 (d, 1H), 7,16 (t, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,48 (d, 1H), 8,06 (d, 1H), 9,89 (s, 1H).

ESIMS m/z 414,3 (M+Na) $^+$; 390,4 (M-H)-.

35 Ejemplo 39

((S)-6-Mercapto-1-*p*-tolilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 15.

Rendimiento: 53%.

40 ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,33 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,60 (m, 5H), 1,83 (m, 1H), 2,10 (t, 2H), 2,21 (t, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,43 (m, 2H), 3,95 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 7,09 (d, 2H), 7,45 (d, 2H), 7,48 (d, 1H), 8,08 (d, 1H), 9,89 (s, 1H).

ESIMS m/z 414,4 (M+Na)⁺; 390,3 (M-H)⁻.

Ejemplo 40

((S)-6-Mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-1-metil-6-oxo-piperidin-2-carboxílico

El material de partida fue el del Ejemplo 12.

5 Rendimiento: 28%.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,34 (m, 4H), 1,49 (m, 2H), 1,57 (m, 3H), 1,66 (m, 2H), 1,88 (m, 2H), 2,17 (m, 2H), 2,67 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 4,08 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 7,02 (t, 1H), 7,26 (t, 2H), 7,56 (d, 2H), 8,33 (d, 1H), 10,05 (s, 1H).

ESIMS m/z 392,0 (M+H)⁺.

10 Ejemplo 41

Éster de {(S)-6-[(S)-6-oxo-piperidin-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de éster etílico de ácido tiocarbónico

15 A una disolución de ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico (0,21 mmol) en DCM (20 ml) se le añadieron NEt₃ (0,23 mmol) y cloroformiato de etilo (0,23 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el producto bruto se purificó por medio de cromatografía con gel de sílice mediante el uso de AcOEt / MeOH: 80 / 20 como eluyente.

Rendimiento: 74%.

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,20 (t, 3H), 1,25-1,45 (m, 4H), 1,52-1,80 (m, 7H), 1,87 (m, 1H), 2,11 (t, 2H), 2,82 (t, 2H), 3,97 (m, 1H), 4,21 (m, 4H), 3,47 (q, 2H), 4,41 (m, 1H), 7,05 (t, 1H), 7,30 (t, 2H), 7,48 (s ancho, 1H), 7,58 (d, 2H), 8,10 (d, 1H), 9,99 (s, 1H).

20 ESIMS m/z 450,15 (M+H)⁺.

El Ejemplo 42 se sintetizó siguiendo el procedimiento del Ejemplo 41 mediante el uso de la ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (R)-5-oxo-pirrolidin-2-carboxílico en vez de ((S)-6-mercapto-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidin-2-carboxílico.

Ejemplo 42

25 Éster de {(S)-6-[(R)-5-oxo-pirrolidin-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de éster etílico de ácido tiocarbónico

Rendimiento: 82%.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,18 (t, 3H), 1,33 (m, 4H), 1,6 (m, 4H), 1,85 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 2,79 (t, 2H), 4,09 (m, 1H), 4,20 (q, 2H), 4,42 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,57 (d, 2H), 7,82 (s, 1H), 8,20 (d, 1H), 10,05 (s, 1H). ESIMS m/z 436,3 (M+H)⁺.

30 Ejemplo 43

Éster de S-[(S)-6-[(S)-6-oxo-piperidin-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioisobutírico

Este compuesto se sintetizó siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 30, pero mediante el uso de cloruro de isobutirilo en vez de cloroformiato de etilo.

Rendimiento: 42%.

35 ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1,04 (t, 6H), 1,22-1,44 (m, 4H), 1,46-1,77 (m, 6H), 1,93 (m, 1H), 2,06 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 2,37 (m, 1H), 2,48 (m, 4H), 3,47 (m, 1H), 4,32 (m, 1H), 4,81 (m, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,57 (d, 2H), 8,33 (d, 1H), 9,99 (s, 1H).

ESIMS m/z 448,24 (M+H)⁺.

Compuesto A

40 Éster de S-(6-fenilcarbamoil-hexilo) de ácido tioacético

Este derivado comercialmente disponible que no presenta el resto de lactama-carbonilamino en la cadena lateral de la estructura se ensayó como un ejemplo comparativo en un experimento *in vivo* que involucró el compuesto del Ejemplo 14 (Tabla 8).

Biología

Ejemplo 44

Ensayo enzimático de HDAC

5 Se llevó a cabo el perfil de HDAC con once isoformas humanas aisladas de HDAC en presencia del sustrato del tetrapéptido fluorogénico RHKKAc (de los residuos de p53 379-382) (10 μ M). Se obtuvieron HDACs humanas aisladas mediante una purificación estándar, con la excepción de HDAC3, que fue una proteína recombinante humana en forma de un complejo de HDAC3 humana de longitud completa con una etiqueta de His C-terminal y los aminoácidos de NCOR2 humana 395-489 con una etiqueta de GST N-terminal co-expresada en un sistema de expresión de baculovirus. Cada compuesto se disolvió en DMSO, y se usaron diluciones progresivamente diluidas para el ensayo. Se usaron TSA y SAHA como compuestos de referencia. Tras su desacetilación, el fluoróforo se liberó, dando lugar a la emisión de fluorescencia que se detectó mediante un fluorímetro, y se determinaron los valores de Cl_{50} de los compuestos analizando las curvas de dosis-inhibición de la respuesta. Se usaron TSA y SAHA como compuestos de referencia.

Tabla 1

Ejemplos	Cl_{50} de las isoformas de HDAC (nM)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
SAHA	+	+	+	+	+	+++	+	+	+	+	+
23	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
24	+	+	++	+++	+	+++	+++	+	+++	+	++
25	+	+	+	+	+	++	+	+++	+	+	+
26	+	+	+	+++	+	+	+	+++	+	+	+
27	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
28	+++	+	+++	+++	++	+++	+	+	+++	+++	+++
29	++	+	++	+++	+	+++	+	+	++	+++	+++
30	++	+	++	+++	+	+	+	+	++	+++	+++
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
32	+	+++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+
33	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
34	++	+	+	+++	+	+++	+	+++	+	++	++
35	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
36	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+++	+++	+++
37	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	+++
38	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
39	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
40	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
$Cl_{50} < 50$ nM: +++; 50 nM < $Cl_{50} < 100$ nM: ++; 100 nM < $Cl_{50} < 500$ nM: +											

Resultados

Los compuestos de la presente invención demostraron ser sumamente potentes con todas las isoformas de HDAC, con una actividad inhibitoria que osciló en la escala nanomolar baja (Tabla 1). Tal hallazgo fue sorprendente a la luz del comportamiento biológico del derivado comparativo (es decir, éster *terc*-butílico de ácido ((S)-1-ciclopentilcarbamoil-6-mercapto-hexil)-carbámico e informado en Itoh Y., et al., J. Med. Chem., 2007, 50, 5425). De hecho, como se informó previamente, se verificó y confirmó su perfil de selectividad hacia HDAC6, hallando además una actividad mucho menor hacia HDAC6 que la mayoría de los compuestos descritos en la presente memoria.

Al comparar el perfil inhibitorio de HDAC de algunos de los derivados anteriores con el de los análogos de hidroxamato correspondientes, se descubrió sorprendentemente que los anteriores tio-derivados fueron al menos equipotentes o aún más potentes que los análogos que contenían un grupo hidroxamato de unión a cinc (Tabla 2).

Tabla 2

Ejemplos	MBG	Isoformas de HDAC										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
21	SH	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
	CONHOH	+++	++	+++	+	++	+++	+++	++	+++	++	+++
31	SH	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	CONHOH	+++	+	+++	+	++	+++	++	+	+++	++	++
33	SH	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
	CONHOH	+++	+	++	+	++	+++	+	+	++	++	++

Cl₅₀ < 50 nM: +++;
 50 nM < Cl₅₀ < 100 nM: ++;
 100 nM < Cl₅₀ < 500 nM: +

Ejemplo 45

Citotoxicidad

Se estudió el efecto citotóxico de algunos compuestos de la presente invención sobre el carcinoma de pulmón no microcítico NCI-H460 y células de cáncer de colon HCT116 según el método de Skehan et al. (Skehan P., et al., J. Natl. Cancer Inst., 1990, 82, 13, 1107), y mediante el uso de SAHA (Vorinostat) como compuesto de referencia.

Se cultivaron células tumorales en medio RPMI 1640 que contenía un 10% de suero bovino fetal inactivado térmicamente y 50 µg/ml de sulfato de gentamicina, y se sembraron en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos hasta aproximadamente un 10% de confluencia. Se dejó que se adhirieran y se recuperaran durante al menos 24 h. Después se añadieron concentraciones variables de los compuestos de la presente invención a cada pocillo para definir su valor de Cl₅₀ (es decir, la concentración que inhibe un 50% la supervivencia celular).

Las placas se incubaron durante 24 h a 37 °C, tras lo cual se lavaron 3 veces mediante la eliminación del sobrenadante y la adición de PBS. Las placas se incubaron después durante otras 48 h a 37 °C. Se añadieron 200 µl de PBS y 50 µl de TCA frío del 80% y las placas se incubaron sobre hielo durante al menos 1 h. Se eliminó el TCA y las placas se lavaron 3 veces mediante inmersión en agua destilada. Después se secaron sobre papel a 40 °C durante 5 min. Se añadieron 200 µl de un 0,4% de sulforrodamina B en un 1% de ácido acético. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante otros 30 min. Se eliminó la sulforrodamina B, y las placas se lavaron 3 veces mediante inmersión en un 1% de ácido acético y se secaron sobre papel y a 40 °C durante 5 min. Después se añadieron 200 µl de Tris 10 mM. Las placas se mantuvieron con agitación magnética durante 20 min. La supervivencia celular se determinó por medio de la densidad óptica mediante un espectrofluorímetro Multiskan a 540 nm. La cantidad de células muertas se calculó como la disminución en porcentaje de la unión de sulforrodamina B en comparación con los cultivos de control. Los valores de Cl₅₀ (informados en la Tabla 3 para la línea celular H460 y en la Tabla 4 para la línea celular HCT116) se calcularon con el programa "ALLFIT".

35

Resultados

Los compuestos de la presente invención mostraron un perfil de inhibición muy bueno, con mucha frecuencia mucho mejor que el observado para el compuesto de referencia SAHA.

Tabla 3

Línea celular H460					
Ejemplo	CI ₅₀ (μM)	Ejemplo	CI ₅₀ (μM)	Ejemplo	CI ₅₀ (μM)
SAHA	+	10	+++	18	+++
1	+++	11	+++	19	+++
5	+	13	+++	21	+++
6	+++	14	+++	41	++
7	+++	15	+++	42	+++
8	+++	16	+++	43	+

CI₅₀ < 0,5 μM: +++;
 0,5 μM < CI₅₀ < 1,0 μM: ++;
 1,0 μM < CI₅₀ < 10 μM: +

5

Tabla 4

Línea celular HCT116			
Ejemplo	CI ₅₀ (μM)	Ejemplo	CI ₅₀ (μM)
SAHA	+	20	++
14	+++	22	+
17	+	31	+
19	+++	33	+

CI₅₀ < 0,5 μM: +++;
 0,5 μM < CI₅₀ < 1,0 μM: ++;
 1,0 μM < CI₅₀ < 10 μM: +

Ejemplo 46

10 El compuesto del Ejemplo 21 se investigó adicionalmente en un panel ampliado de líneas celulares para estudiar su citotoxicidad en comparación con SAHA usado como compuesto de referencia.

15 Se cultivaron células tumorales (A2780, SKOV-3, MDA-MB436, MCF-7, HSC3) en adhesión en medio RPMI 1640 que contenía un 10% de suero bovino fetal inactivado térmicamente y 50 μg/ml de sulfato de gentamicina, y mientras tanto se usó DMEM para la línea celular MDA-MB231. Las células se sembraron en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos hasta aproximadamente un 10% de confluencia. Se dejaron adherirse y recuperarse durante al menos 24 h. Después se añadieron los compuestos de la presente invención a cada pocillo a diversas concentraciones para definir la CI₅₀ de la inhibición de la supervivencia celular. Las placas se incubaron durante 72 h a 37 °C, tras cuyo tiempo se lavaron 3 veces mediante la eliminación del sobrenadante. Se añadieron 200 μl de PBS y 50 μl de TCA frío del 80% y las placas se incubaron sobre hielo durante al menos 1 h. Se eliminó el TCA y las placas se lavaron 3 veces mediante inmersión en agua destilada. Después se secaron sobre papel a 40 °C durante 5 min. Se añadieron 200 μl de un 0,4% de sulforrodamina B en un 1% de ácido acético. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante otros 30 min. Se eliminó la sulforrodamina B, y las placas se lavaron 3 veces mediante inmersión en un 1% de ácido acético y se secaron sobre papel a 40 °C durante 5 min. Después se añadieron 200 μl de Tris 10 mM. Las

20

placas se mantuvieron con agitación magnética durante 20 min. La supervivencia celular se determinó por medio de la densidad óptica mediante un espectrofluorímetro Multiskan a 540 nm. La cantidad de células muertas se calculó como la disminución en porcentaje de la unión de sulforrodamina B en comparación con los cultivos de control. Los valores de CI_{50} (informados en la Tabla 5) se calcularon con el programa "ALLFIT".

- 5 U937, HUT78 y K562 se cultivaron en suspensión en medio RPMI 1640 que contenía un 10% de suero bovino fetal inactivado térmicamente y 50 $\mu\text{g/ml}$ de sulfato de gentamicina, y mientras tanto las células MV4-11 se cultivaron en medio de Dulbecco modificado por Iscove. El procedimiento experimental fue como se describió anteriormente, excepto porque la eliminación del sobrenadante se hizo por medio de centrifugación de las placas a 1600 x g durante 10 min (operación realizada dos veces).
- 10 Los resultados se informan en la Tabla 5.

Tabla 5

Líneas celulares tumorales		CI_{50} (μM) ensayada con fármacos	
Tipo de Cáncer	Tipo de Células	Ejemplo 14	SAHA
ovárico	A2780	1,57	1,71
	SKOV-3	0,38	5,7
mama	MDA-MB231	0,23	1,41
	MDA-MB436	0,18	1,71
	MCF-7	0,19	2,55
cabeza y cuello	HSC3	0,77	8,6
leucemia monocítica aguda	MV4-11	0,19	2,1
	U937	0,049	0,071
linfoma-T	HUT78	0,48	1,5
leucemia mieloide crónica	K562	0,19	0,13

- 15 Los resultados informados en la Tabla 5 demuestran explícitamente que el compuesto del Ejemplo 14 está dotado de propiedades anticancerígenas potentes en un panel natural de líneas celulares, y mientras tanto el compuesto comparativo SAHA demostró en general una actividad biológica generalmente mucho más baja.

Ejemplo 47

Acetilación de tubulina e histona

- 20 Se llevó a cabo un análisis mediante transferencia de Western de extractos citoplasmáticos y nucleares de células NCI-H460 que se habían incubado previamente con el compuesto del Ejemplo 14 o SAHA, para medir la acetilación de α -tubulina e histona, mediante el uso de diversos anticuerpos como se informa a continuación:

- ✓ anticuerpo monoclonal anti-acetil-tubulina de ratón (Sigma; cat. T6793);
- ✓ anticuerpo monoclonal anti- β -actina de ratón (Sigma; cat. A5316);
- ✓ anticuerpo policlonal anti-acetil-Histona H4 de conejo (Upstate; cat. 06-598);
- ✓ anticuerpo monoclonal anti-Histona H4 de ratón (Upstate; cat. 07-108).

- 25 Los experimentos se llevaron a cabo mediante el uso de reactivos de detección para transferencia de Western ECL Plus (de Amersham Biosciences), y se analizó la intensidad de las bandas mediante el uso de un analizador de imágenes de fosforescencia computarizado (PhosphorImager; Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA, EE.UU.).

Resultados

- 30 Se demostró que el compuesto del Ejemplo 14 indujo una hiper-acetilación de la α -tubulina citoplasmática comparable a la observada con el compuesto de referencia SAHA. Además, el compuesto del Ejemplo 14 también

indujo la hiper-acetilación de H4 a una concentración tan baja como 100 nM, mientras que SAHA fue 6 veces menos eficaz en la inducción de la acetilación de la histona H4 (es decir, Figura 1 y Tabla 6).

Tabla 6

Compuesto	CE ₅₀ μM acetilación de H4
Ejemplo 14	0,1
SAHA	0,6

5 Ejemplo 48

Actividad antitumoral

Se inocularon de manera subcutánea (s.c.) células de cáncer de colon HCT116, o de NSCLC NCI-H460, o células de mieloma múltiple H929, todas suspendidas en 0,1 ml de Medio 199, en el flanco derecho de ratones atímicos CD1 (es decir, 5x10⁶ para HCT116; 3x10⁶ para NCI-H460 y 20x10⁶ para H929). Los tratamientos (es decir, como se informaron en la Tabla 6) se iniciaron tres días tras la inyección de los tumores según el calendario cada día x 5/sem. x 3 sem. con la excepción de cisplatino, que se administró cada 4 días/sem. x 3 sem. Los derivados ensayados se administraron en forma de una suspensión en PBS / DMSO / Cremophor EL (Sigma): 85/10/5 (porcentaje de volúmenes).

La actividad antitumoral se determinó midiendo los diámetros de los tumores con un calibre Vernier según la Fórmula

$$VT = d^2 \times D/2$$

en la que d y D son los diámetros más cortos y más largos, respectivamente.

20 Cuando los tumores alcanzaron un volumen de alrededor de 1000 mm³, los ratones se sacrificaron mediante dislocación cervical. La eficacia del fármaco se estudió como la inhibición del volumen tumoral según la Fórmula informada a continuación:

$$IVT\% = 100 - \left[\left(\frac{VT \text{ medio del grupo tratado}}{VT \text{ medio del grupo de control}} \right) \times 100 \right]$$

Se llevó a cabo el registro del peso corporal para determinar la pérdida de peso corporal tal como se calcula en la ecuación siguiente:

$$\%PPC = 100 - \left[\frac{PC_{\text{día } x}}{PC_{\text{día } 1}} \right] \times 100$$

25 En la que PC día x corresponde al peso medio en el día x del experimento, mientras PC día 1 corresponde al peso medio en el primer día del experimento.

Resultados

30 El compuesto del Ejemplo 14 mostró una inhibición del volumen tumoral comparable o incluso superior a una dosis tres veces inferior a la de SAHA en los tres experimentos. Además, todos los animales toleraron bien los tratamientos (Tabla 7).

Tabla 7

Xenoinjerto	Fármacos	Dosis (mg/10 ml/kg)	IVT %	PPC %
HCT116	SAHA	100 v.o.	47	0
	Ejemplo 14	50 i.p.	44	3
NCI-H460	SAHA	100 i.p.	27	0
	Ejemplo 14	50 i.p.	36	2
	Cisplatino	2 i.p.	56	3

ES 2 579 321 T3

	Ejemplo 14 + cisplatino	50 i.p. + 2 i.p.	74	15
H929	SAHA	100 i.p.	21	3
	Ejemplo 14	50 i.p.	30	11

Ejemplo 49

Actividad antitumoral

- 5 El experimento del Ejemplo 48 se repitió con otro compuesto en el modelo animal de ratones que desarrollan cáncer de colon HCT116 como se describió anteriormente o cáncer ovárico A2780, y administrando los fármacos solubilizados de manera oral en PEG200 / DMSO / Cremophor EL (Sigma): 85/10/5 (porcentaje de volúmenes). Los resultados se informan en la Tabla 8.

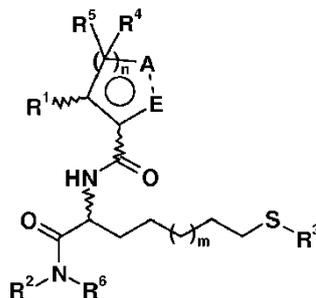
Tabla 8

Xenoinjerto	Fármacos	Dosis (mg/10 ml/kg)	IVT %	PPC %
HCT116	SAHA	100 v.o.	32	1
	Ejemplo 21	60 v.o.	62	1
	compuesto A	100 v.o.	11	0
A2780	SAHA	100 v.o.	53	4
	Ejemplo 21	110 v.o.	89	7

- 10 El compuesto del Ejemplo 21 mostró una actividad biológica potente frente a su análogo el Compuesto A, que está privado de la cadena lateral, y así se demuestra la importancia del resto de lactama-carbonilamino de la estructura. Además, el compuesto del Ejemplo 21 también mostró una actividad biológica intensa en un modelo animal de cáncer ovárico con una IVT superior a la generada por SAHA. También es importante indicar que incluso tras la administración oral, se halló una actividad biológica potente, lo que sugiere una estabilidad elevada con respecto al metabolismo de primer paso.
- 15

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la Fórmula general (I)



Fórmula I

en la que,

- 5 R¹ es H, alquilo-(C₁-C₆) o arilo; o de manera alternativa

R¹ y un R⁴, cada uno unido a dos átomos de carbono adyacentes, en el caso de que n sea 2 ó 3, se consideran en conjunto para formar un anillo de ciclopropano;

R² es fenilo sustituido opcionalmente con halógeno, benciloxi, alquilo-(C₁-C₃) o CF₃; cicloalquilo-(C₃-C₆); aril-alquilo-(C₁-C₆) en el que el arilo está sustituido opcionalmente con benciloxi, alquilo-(C₁-C₃) o CF₃;

- 10 R³ es H, PO(OH)₂, o un grupo de Fórmula (II)



R⁷ es alquilo-(C₁-C₇), alcoxi-(C₁-C₆) o -CH(NH₂)R⁸;

- 15 R⁸ es H, o la cadena lateral de un α-aminoácido natural seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, fenilalanina, valina, leucina, isoleucina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, serina, lisina, histidina, metionina, prolina, cisteína, treonina, triptófano, arginina y tirosina;

R⁴ y R⁵ son en cada caso independientemente H, halógeno, alquilo-(C₁-C₆), o de manera alternativa,

cuando n es 2 ó 3, un R⁴ y un R⁵, cada uno unido a dos átomos de carbono adyacentes, se consideran en conjunto para formar un anillo de ciclopropano;

R⁶ es H o, de manera alternativa,

- 20 R² y R⁶ se consideran en conjunto para formar un heterociclo de cinco a seis miembros que pueden estar fusionados opcionalmente con un resto arilo; -A-E- es -(CO)-(NR⁹)- o -(NR⁹)-(CO)-;

R⁹ es H o alquilo-(C₁-C₃);

m es un número entero comprendido entre 0 y 3;

n es un número entero comprendido entre 0 y 3 con la condición de que cuando es 2 ó 3, cada uno de

- 25 R⁴ y R⁵ pueden adoptar un significado diferente en cada caso;

el símbolo \sim significa que el átomo de carbono que porta dicho símbolo puede adoptar una configuración R o S;

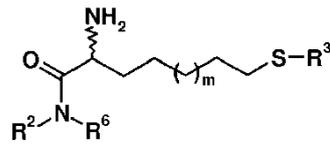
- 30 el símbolo \circ puede estar ausente, pero si está presente significa que el ciclo puede estar parcialmente insaturado con la condición de que cuando el átomo de carbono que porta R⁴ está implicado en un enlace doble, R⁵ está ausente;

sus tautómeros, sus isómeros geométricos, sus formas ópticamente activas tales como los enantiómeros, diastereómeros y sus formas de racematos, así como las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que n es 1 ó 2.
 3. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que m es 1 ó 2.
 35 4. Un compuesto según las reivindicaciones 1 a 2 seleccionado del grupo que consiste en:

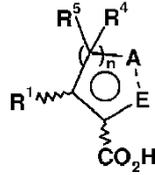
éster de S-[(S)-6-[(S)-4-oxo-azetidín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(S)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-6-(4-trifluorometil-bencilcarbamoil)-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-(3-benciloxi-bencilcarbamoil)-6-[(S)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-7-(3,4-dihidro-1H-isoquinolín-2-il)-7-oxo-6-[(S)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-heptilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(S)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-6-(2-m-tolil-etilcarbamoil)-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(R)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(S)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(S)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-6-p-tolilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(S)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-6-m-tolilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(S)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-6-ciclopentilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(3R*,4S*)-2-oxo-4-fenil-pirrolidín-3-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(3R*,4R*)-2-oxo-4-fenil-pirrolidín-3-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(R)-5-oxo-pirrolidín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(R*)-(2-oxo-piperidín-3-carbonil)-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidín-2-carboxílico, ((S)-1-ciclopentilcarbamoil-6-mercaptop-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidín-2-carboxílico, [(S)-1-(3-benciloxi-bencilcarbamoil)-6-mercaptop-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidín-2-carboxílico, [(S)-6-mercaptop-1-(4-trifluorometil-bencilcarbamoil)-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidín-2-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-4-oxo-azetidín-2-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3S,4S)-2-oxo-4-fenil-pirrolidín-3-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3R,4R)-2-oxo-4-fenil-pirrolidín-3-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3R,4S)-2-oxo-4-fenil-pirrolidín-3-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (3S,4R)-2-oxo-4-fenil-pirrolidín-3-carboxílico, [(S)-1-(3,4-dihidro-1H-isoquinolín-2-carbonil)-6-mercaptop-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidín-2-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (R)-5-oxo-pirrolidín-2-carboxílico, [(S)-6-mercaptop-1-(2-m-tolil-etilcarbamoil)-hexil]-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidín-2-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (R)-2-oxo-piperidín-3-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-2-oxo-piperidín-3-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (R)-6-oxo-piperidín-2-carboxílico, éster de [(S)-6-[(S)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de éster etílico de ácido tiocarbónico, éster de S-[(S)-6-[(S)-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioisobutírico, éster de S-[(S)-6-[(S)-5-oxo-pirrolidín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(S)-5-oxo-pirrolidín-2-carbonil]-amino]-6-m-tolilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(R)-1-metil-5-oxo-pirrolidín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(R)-5-oxo-pirrolidín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de éster etílico de ácido tiocarbónico, éster de S-[(S)-6-[(R)-5-oxo-pirrolidín-2-carbonil]-amino]-6-m-tolilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(R)-1-metil-5-oxo-pirrolidín-2-carbonil]-amino]-6-m-tolilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(R)-5-oxo-pirrolidín-2-carbonil]-amino]-6-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-hexilo} de ácido tioacético, éster de S-[(S)-6-[(S)-1-metil-6-oxo-piperidín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético, ((S)-6-mercaptop-1-fenilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-1-metil-6-oxo-piperidín-2-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-m-tolilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidín-2-carboxílico, ((S)-6-mercaptop-1-p-tolilcarbamoil-hexil)-amida de ácido (S)-6-oxo-piperidín-2-carboxílico, y éster de S-[(S)-6-[(S)-6-oxo-1,2,3,6-tetrahidro-piridín-2-carbonil]-amino]-6-fenilcarbamoil-hexilo} de ácido tioacético.

5. Una composición farmacéutica que contiene al menos un compuesto según las reivindicaciones 1-4 como ingrediente activo en mezclas con al menos un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.
6. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para el uso como un medicamento.
7. El compuesto según la reivindicación 6 para el uso en el tratamiento de un estado patológico para el cual la modulación de la actividad de HDAC daría como resultado una mejora de la salud del paciente.
8. El compuesto para el uso según la reivindicación 7, en el que el estado patológico es un cáncer, una enfermedad neurodegenerativa, una enfermedad inflamatoria, ictus, isquemia o infecciones por Plasmodium.
9. El compuesto para el uso según la reivindicación 8, en el que el cáncer es cáncer de mama, páncreas, pulmón, colon, pleura, peritoneo, cara y cuello, riñón, vejiga, cerebro, próstata, ovarios u ojos.
10. El compuesto para el uso según la reivindicación 9, en el que el cáncer es una forma metastásica de cáncer.
11. El compuesto para el uso según la reivindicación 8, en el que la enfermedad inflamatoria es artritis reumatoide.
12. El compuesto para el uso según la reivindicación 8, en el que la enfermedad neurodegenerativa es la enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica.
13. Un proceso para sintetizar los compuestos de la reivindicación 1, haciendo reaccionar compuestos de Fórmula (III)



Fórmula III

en la que R^2 , R^3 y R^6 y m son como se describieron en la reivindicación 1, con compuestos de Fórmula (IV) en forma de sal o no



Fórmula IV

- 5 en la que R^1 , R^4 y R^5 y n son como se describieron en la reivindicación 1, en un disolvente aprótico polar en presencia de un agente de acoplamiento.

Figura 1

