

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 712 803**

51 Int. Cl.:

**C07D 401/06** (2006.01)  
**C07D 403/06** (2006.01)  
**C07D 471/04** (2006.01)  
**C07D 261/08** (2006.01)  
**C07D 263/32** (2006.01)  
**C07D 277/30** (2006.01)  
**C07D 513/04** (2006.01)  
**A61K 31/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.02.2012 PCT/US2012/026874**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **07.09.2012 WO12118782**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2012 E 12751918 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2019 EP 2680694**

54 Título: **Inhibidores de histona desacetilasa**

30 Prioridad:

**28.02.2011 US 201161447416 P**

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

**14.05.2019**

73 Titular/es:

**BIOMARIN PHARMACEUTICAL INC. (100.0%)  
105 Digital Drive  
Novato, CA 94949, US**

72 Inventor/es:

**JACQUES, VINCENT;  
RUSCHE, JAMES R.;  
PEET, NORTON P. y  
SINGH, JASBIR**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 712 803 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

Inhibidores de histona desacetilasa

**Campo técnico**

5 Esta invención se refiere en general a la inhibición de enzimas histona desacetilasas ("HDAC") (p. ej., HDAC1, HDAC2 y HDAC3).

**Antecedentes**

10 Hasta la fecha, se han identificado 18 HDAC en seres humanos y hay pruebas crecientes de que las 18 histona desacetilasas (HDAC) en seres humanos no son de función redundante. Las HDAC se clasifican en tres grupos principales basados en su homología con proteínas de levaduras. La clase I incluye HDAC1, HDAC2, HDAC3 y HDAC8 y tiene homología con RPD3 de levaduras. HDAC4, HDAC5, HDAC7 y HDAC9 pertenecen a la clase IIa y tienen homología con HDAC1 de levaduras. HDAC6 y HDAC10 contienen dos sitios catalíticos y se clasifican como clase IIb, mientras que HDAC11 tiene restos conservados en su centro catalítico que son compartidos por las desacetilasas tanto de clase I como de clase II y se coloca en la clase IV. Estas HDAC contienen cinc en su sitio catalítico y son inhibidas por compuestos como la tricostatina A (TSA) y vorinostat [ácido suberoilánilida hidroxámico (SAHA)]. Las HDAC de clase III se conocen como sirtuinas. Tienen homología con Sir2 de levadura, requieren NAD<sup>+</sup> como cofactor, y no contienen cinc en el sitio catalítico. En general, los inhibidores de HDAC dependientes de cinc incluyen un grupo de unión al Zn, así como un dominio de reconocimiento de superficie.

20 Las HDAC están implicadas en la regulación de una serie de procesos celulares. Las histonas acetiltransferasas (HAT) y HDAC acetilan y desacetilan restos de lisina en el extremo N de las proteínas histonas afectando así a la actividad transcripcional. También se ha mostrado que regulan la acetilación postraduccional de al menos 50 proteínas no histona tales como la  $\alpha$ -tubulina (véase, por ejemplo, Kahn, N et al., *Biochem J* 409 (2008) 581, Dokmanovic, M et al., *Mol Cancer Res* 5 (2007) 981).

25 La alteración de la expresión de genes a través de la modificación de cromatina se puede llevar a cabo inhibiendo enzimas histona desacetilasas (HDAC). Hay evidencia de que la acetilación y desacetilación de histonas son mecanismos mediante los cuales se logra la regulación transcripcional en una célula, un suceso principal en la diferenciación, proliferación y apoptosis celular. Se ha planteado la hipótesis de que estos efectos ocurren a través de cambios en la estructura de la cromatina por alteración de la afinidad de las proteínas histonas por el ADN enrollado en el nucleosoma. Se cree que la hipacetilación de las proteínas histonas aumenta la interacción de la histona con la cadena principal de fosfatos del ADN. La unión más estrecha entre la proteína histona y el ADN puede convertir al ADN inaccesible a los elementos reguladores y maquinaria transcripcionales. Se ha mostrado que las HDAC catalizan la eliminación de grupos acetilo de los grupos  $\epsilon$ -amino de los restos de lisina presentes dentro de la extensión N-terminal de las histonas nucleares, conduciendo así a la hipacetilación de las histonas y bloqueo de la maquinaria y elementos reguladores transcripcionales.

35 Por lo tanto, la inhibición de la HDAC puede conducir a la depresión transcripcional mediada por histona desacetilasa de genes supresores de tumores. Por ejemplo, las células tratadas en cultivo con inhibidores de HDAC han mostrado una inducción constante del inhibidor de quinasa p21, que tiene una función importante en la detención del ciclo celular. Se cree que los inhibidores de HDAC aumentan la tasa de transcripción de p21 por la propagación del estado hiperacetilado de histonas en la región del gen p21, haciendo así que el gen esté accesible a la maquinaria transcripcional. Además, las proteínas no histonas implicadas en la regulación de la muerte celular y el ciclo celular también sufren acetilación y desacetilación de lisina por las HDAC e histona acetil transferasa (HAT).

40 Esta prueba respalda el uso de inhibidores de HDAC en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer. Por ejemplo, el vorinostat (ácido suberoilánilida hidroxámico (SAHA)) ha sido aprobado por la FDA para tratar el linfoma cutáneo de células T y se está investigando para el tratamiento de tumores sólidos y hematológicos. Además, están en desarrollo otros inhibidores de HDAC para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda, enfermedad de Hodgkin, síndromes mielodisplásicos y cánceres de tumores sólidos.

50 Los inhibidores de HDAC también han mostrado que inhiben citoquinas proinflamatorias, tales como las implicadas en trastornos autoinmunitarios e inflamatorios (p. ej., TNF- $\alpha$ ). Por ejemplo, se ha mostrado que el inhibidor de HDAC MS275 ralentiza el avance de la enfermedad y la destrucción articular en la artritis inducida por colágeno en modelos de rata y ratón. Otros inhibidores de HDAC han mostrado ser eficaces en el tratamiento o mejora de enfermedades o afecciones inflamatorias en modelos o ensayos in vivo para trastornos tales como la enfermedad de Crohn, colitis e inflamación e hipersensibilidad de las vías respiratorias. Los inhibidores de HDAC también han mostrado mejorar la inflamación de la médula espinal, desmielinización y pérdida neuronal y axonal en la encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (véase, por ejemplo, Wanf L et al, *Nat Rev Drug Disc* 8 (2009) 969).

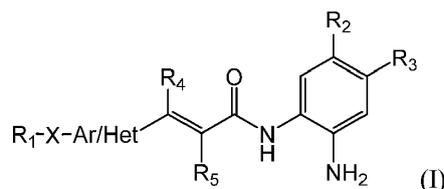
55 La expansión de repeticiones de tripletes en el ADN genómico está asociada con muchas afecciones neurológicas (p. ej., enfermedades neurodegenerativas y neuromusculares) que incluyen distrofia miotónica, atrofia muscular espinal, síndrome de X frágil, enfermedad de Huntington, ataxias espinocerebelosas, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Kennedy, atrofia muscular espinal y bulbar, ataxia de Friedreich y enfermedad de Alzheimer. La

5 expansión de repeticiones de tripletes puede causar enfermedad por alteración de la expresión de genes. Por ejemplo, en la enfermedad de Huntington, ataxias espinocerebelosas, síndrome de X frágil, y distrofia miotónica, las repeticiones expandidas conducen al silenciamiento génico. En la ataxia de Friedreich, la anomalía del ADN encontrada en 98% de los pacientes de FRDA es una hiperexpansión inestable de una repetición del triplete GAA en el primer intrón del gen de frataxina (véase Campuzano et al., *Science* 271:1423 (1996)), que conduce a la insuficiencia de frataxina produciendo una neurodegeneración espinocerebelosa progresiva. Puesto que pueden afectar a la transcripción y corregir potencialmente la desregulación transcripcional, se han ensayado inhibidores de HDAC y se ha mostrado que afectan positivamente a las enfermedades neurodegenerativas (véase Herman D et al, *Nat Chem Bio* 2 551 (2006) para la ataxia de Friedreich, Thomas EA et al, *Proc Natl Acad Sci USA* 105 15564 (2008) para la enfermedad de Huntington).

10 Los inhibidores de HDAC también pueden tener una función en afecciones y enfermedades relacionadas con la cognición. De hecho, se ha hecho cada vez más evidente que la transcripción es probablemente un elemento clave para procesos de memoria a largo plazo (Alberini CM, *Physiol Rev* 89 121 (2009)) destacando así otra función para los inhibidores de HDAC que penetran el SNC. Aunque los estudios han mostrado que el tratamiento con inhibidores de HDAC no específicos tales como butirato sódico, puede conducir a la formación de memoria a largo plazo (Stefanko DP et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 106 9447 (2009)), se sabe poco de la función de isoformas específicas. Una serie limitada de estudios ha mostrado que, dentro de la clase I de HDAC, el objetivo principal del butirato sódico, el inhibidor prototípico usado en estudios de cognición, la HDAC2 (Guan J-S et al, *Nature* 459 55 (2009)) y HDAC3 (McQuown SC et al, *J Neurosci* 31 764 (2011)) han mostrado regular procesos de la memoria y como tales son objetivos interesantes para la mejora o extinción de la memoria en afecciones que afectan a la memoria tales como, pero no limitado a la enfermedad de Alzheimer, trastorno de estrés postraumático o drogadicción.

### Resumen

En un aspecto, se presenta un compuesto de fórmula (I):



25 en donde:

**Ar/Het** es un heteroarilo de 5 miembros seleccionado del grupo que consiste en pirazolilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, isoxazolilo, 3,5-dimetilpirazolilo e isotiazolilo;

**X** es  $-Y-[C(R^a)_2]_a[C(R^b)_2]_b$ ;

en donde:

30 **Y** es  $CR^c=CR^d$ ;

**a** es 1-3;

**b** es 0-3;

cada caso de **R<sup>a</sup>** y **R<sup>b</sup>** se selecciona independientemente de H, F y alquilo C1-C6;

cada uno de **R<sup>c</sup>** y **R<sup>d</sup>** es H;

35 cada uno de **R<sup>4</sup>** y **R<sup>5</sup>** se selecciona independientemente de H, alquilo C1-C6 y F;

**R<sup>1</sup>** es:

(i) arilo C6-C10, que está opcionalmente sustituido con 1-3 **R<sup>o</sup>**; o

(ii) heteroarilo monocíclico o bicíclico que incluye 5-10 átomos en el anillo, que está opcionalmente sustituido con 1-3 **R<sup>o</sup>**; en donde 1-4 de los átomos en el anillo es/son un heteroátomo independientemente seleccionado de O, N, N-H, N-R<sup>o</sup> y S; o

(iii) heterociclilo que incluye 4-10 átomos en el anillo, que está opcionalmente sustituido con 1-3 **R<sup>o</sup>**; en donde 1-4 de los átomos en el anillo es/son un heteroátomo independientemente seleccionado de O, N, N-H, N-R<sup>o</sup> y S;

cada caso de **R<sup>o</sup>** se selecciona independientemente del grupo que consiste en:

• halógeno;

- alquilo C1-C6; fluoroalquilo (C1-C6);
- hidroxilo;
- hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);
- alcoxi C1-C6; fluoroalcoxi (C1-C6);
- 5 • (alquil C1-C6)C(O)-;
- (alquil C1-C6)NH-; (alquil C1-C6)<sub>2</sub>N-;
- formilo; formil-alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); ciano; ciano-alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);
- SO<sub>2</sub>-alquilo(C1-C6); SO-alquilo(C1-C6); y
- nitro;

10 **R2** es H; y

**R3** es H, F o Cl;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En un aspecto adicional, se presentan los compuestos de fórmula (I) específicamente descritos en la presente memoria (o una de sus sales farmacéuticamente aceptables) (p. ej., compuestos **B2, D1, D2, D11, E2 y G2**).

15 En un aspecto, se presenta una composición (p. ej., una composición farmacéutica), que incluye un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables como se define en cualquier parte en la presente memoria y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición puede incluir una cantidad eficaz del compuesto o sal farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición puede incluir además un agente terapéutico adicional.

20 En otro aspecto, se presenta una forma farmacéutica, que incluye de aproximadamente 0.05 miligramos a aproximadamente 2000 miligramos (p. ej., de aproximadamente 0.1 miligramos a aproximadamente 1000 miligramos, de aproximadamente 0.1 miligramos a aproximadamente 500 miligramos, de aproximadamente 0.1 miligramos a aproximadamente 250 miligramos, de aproximadamente 0.1 miligramos a aproximadamente 100 miligramos, de aproximadamente 0.1 miligramos a aproximadamente 50 miligramos, o de aproximadamente 0.1 miligramos a aproximadamente 25 miligramos) de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables como se define en cualquier parte en la presente memoria. La forma farmacéutica puede incluir además un vehículo farmacéuticamente aceptable y/o un agente terapéutico adicional.

25 La invención se refiere en general a un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables como se define en cualquier parte en la presente memoria, para usar en la inhibición de una HDAC (p. ej., HDAC1 o HDAC2; p. ej., HDAC3).. En algunas realizaciones, el uso puede incluir, p. ej., poner en contacto una HDAC (p. ej., HDAC1 o HDAC2; p. ej., HDAC3) en una muestra (p. ej., una célula o tejido) con un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria. En otras realizaciones, el uso puede incluir administrar un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables como se define en cualquier parte en la presente memoria, a un sujeto (p. ej., un mamífero, tal como un ser humano). Por consiguiente, en otro aspecto más, esta invención incluye un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria, para usar en el cribado de compuestos que inhiben (p. ej., inhiben selectivamente) una o más HDAC (p. ej., HDAC1 o HDAC2; p. ej., HDAC3).

30 En un aspecto, se presenta un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria, para usar en la inhibición selectiva de HDAC3, que incluye poner en contacto una HDAC3 en una muestra (p. ej., una célula o tejido) con un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria; o administrar un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria, a un sujeto (p. ej., un mamífero, tal como un ser humano).

35 En un aspecto, se presenta un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria, para usar en la inhibición selectiva de HDAC1 o HDAC2 (p. ej., HDAC1) que incluye poner en contacto la HDAC1 o HDAC2 (p. ej., HDAC1) en una muestra (p. ej., una célula o tejido) con un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria; o administrar un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria, a un sujeto (p. ej., un mamífero, tal como un ser humano).

En un aspecto, se presenta un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria, para usar en medicina.

En un aspecto, se presenta un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria, para usar en el tratamiento de:

5 - una enfermedad o trastorno mediado por HDAC1 o HDAC2;

- una enfermedad o trastorno mediado por HDAC3;

10 - un trastorno neurológico tal como ataxia de Friedreich, distrofia miotónica, atrofia muscular espinal, síndrome de X frágil, enfermedad de Huntington, ataxia espinocerebelosa, enfermedad de Kennedy, esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular espinal y bulbar y enfermedad de Alzheimer; un cáncer (p. ej., linfoma cutáneo de células T, linfomas de células B y cáncer colorrectal); una enfermedad inflamatoria (p. ej., psoriasis, artritis reumatoide y osteoartritis); una afección de deterioro de la memoria; un trastorno de estrés postraumático; una drogadicción; una infección por *Plasmodium falciparum* (p. ej., malaria) así como otras infecciones por parásitos.

15 En algunas realizaciones, el sujeto puede ser un sujeto que lo necesita (p. ej., un sujeto identificado como que necesita dicho tratamiento, tal como un sujeto que tiene, o está en riesgo de tener una o más enfermedades o afecciones descritas en la presente memoria). La identificación de un sujeto que necesita dicho tratamiento puede estar en el criterio de un sujeto o un profesional sanitario y puede ser subjetivo (p. ej., opinión) u objetivo (p. ej., medible mediante una prueba o método de diagnóstico). En algunas realizaciones, el sujeto puede ser un mamífero. En algunas realizaciones, el sujeto puede ser un ser humano.

20 En un aspecto, se presentan métodos para preparar compuestos descritos en la presente memoria. En realizaciones, los métodos incluyen tomar uno cualquier de los compuestos intermedios descritos en la presente memoria y hacerlos reaccionar con uno o más reactivos químicos en una o más etapas para producir un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define en cualquier parte en la presente memoria.

25 Algunos de los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria tienen mayores (es decir, aumentadas, p. ej., aumentadas en un factor de aproximadamente 2 o más) estabildades en ácido. En algunas realizaciones, los compuestos de fórmula (I) tienen mejores resistencias a la degradación, p. ej., menos de aproximadamente 25% de degradación (p. ej., menos de aproximadamente 20% de degradación, menos de aproximadamente 15% de degradación o menos de aproximadamente 10% de degradación) cuando se exponen a pH ácido, p. ej., condiciones ácidas dirigidas a imitar las del estómago, p. ej., incubación (p. ej., como una solución 10  $\mu$ M) a 50°C y a un pH de aproximadamente 2,0 durante aproximadamente cuatro horas. La resistencia de los compuestos a la degradación o metabolismo a pH ácido puede ser una característica útil para un agente farmacéutico (p. ej., un fármaco). La mayor estabilidad a pH bajo puede permitir, por ejemplo, que etapas de preparación del procedimiento, tales como la formación de sal, ocurran sin degradación significativa de la sal deseada. Además, es preferible que los productos farmacéuticos administrados por vía oral sean estables al pH ácido del estómago. En algunas realizaciones, los compuestos presentan mayor estabilidad cuando se exponen a pH ácido con semividas de estabilidad mayores de p. ej. 12 h o p. ej. 18 h o p. ej. 24 h a pH 2 y 50°C.

35 En algunas realizaciones, los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria, inhiben selectivamente la HDAC3, p. ej., inhiben selectivamente la HDAC3 frente a la HDAC1 y HDAC2 (p. ej., presentan 5 veces más selectividad o mayor, p. ej., presentan 25 más selectividad o mayor). Sin querer estar limitados por la teoría, se cree que los inhibidores selectivos de HDAC3 pueden aumentar la expresión de fraxatina, y por lo tanto podrían ser útiles en el tratamiento de afecciones neurológicas (p. ej., afecciones neurológicas asociadas con la expresión reducida de fraxatina, tal como la ataxia de Friedreich). También se cree que la inhibición de la HDAC3 tiene una función importante en la consolidación de la memoria (McQuown SC et al, *J Neurosci* 31 764 (2011)). Los inhibidores selectivos de HDAC3 podrían proporcionar ventajas para el tratamiento de afecciones neurológicas frente al uso de inhibidores de HDAC de amplio espectro, reduciendo las toxicidades asociadas con la inhibición de otras HDAC. Dichos inhibidores específicos de HDAC3 proporcionarían un mayor índice terapéutico, dando como resultado una mejor tolerancia por los pacientes durante el tratamiento crónico o a largo plazo.

En algunas realizaciones adicionales, los compuestos inhiben selectivamente la HDAC1 y/o HDAC2 (p. ej., presentan 5 veces más selectividad o mayor, p. ej., presentan 25 más selectividad o mayor).

50 En algunas realizaciones, se ha mostrado que los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria inhiben las histonas desacetilasas de clase I y esta inhibición ha dado como resultado un aumento in vitro de la expresión del ARNm de la frataxina en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de pacientes con ataxia de Friedreich. En otras realizaciones, se ha mostrado que los compuestos de la invención inhiben la proliferación in vitro de células de cáncer colorrectal de una forma dependiente de la dosis. En realizaciones adicionales se ha demostrado que los compuestos de la invención aumentan la memoria a largo plazo in vivo usando el paradigma de reconocimiento de objeto nuevo.

En algunas realizaciones, los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria presentan mayor

5 penetración cerebral. Por ejemplo, se observan relaciones cerebro/plasma mayores de aproximadamente 0,25 (p. ej., mayores de aproximadamente 0,50, mayores de aproximadamente 1,0, mayores de aproximadamente 1,5, o mayores de aproximadamente 2,0) cuando se administran a ratones algunos de los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria. Por lo tanto, se espera que dichos compuestos sean particularmente adecuados para terapias que se dirigen al cerebro (p. ej., afecciones neurológicas tales como la ataxia de Friedreich, distrofia miotónica, atrofia muscular espinal, síndrome de X frágil, enfermedad de Huntington, ataxia espinocerebelosa, enfermedad de Kennedy, esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular espinal y bulbar, y enfermedad de Alzheimer; una afección de deterioro de la memoria; un trastorno de estrés postraumático; una drogadicción).

10 En algunas realizaciones, los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria inhiben selectivamente la HDAC3, p. ej., inhiben selectivamente la HDAC3 frente a la HDAC1 y HDAC2 (p. ej., presentando 5 veces más selectividad o mayor, p. ej. presentando 25 veces más selectividad o mayor) y presentan mayor penetración cerebral (p. ej., como se ha descrito antes).

15 En algunas realizaciones, los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria inhiben selectivamente la HDAC1 y/o HDCA2, p. ej., inhiben selectivamente la HDAC1 y/o HDCA2 frente a la HDAC3 (p. ej., presentando 5 veces más selectividad o mayor, p. ej. presentando 25 veces más selectividad o mayor) y presentan mayor penetración cerebral (p. ej., como se ha descrito antes).

Las realizaciones pueden incluir uno o más de las siguientes características.

[A] Variable X

20 [1] X es  $-Y-[C(R^a)_2]_a[C(R^b)_2]_b$ , en donde Y es  $CR^c=CR^d$  (en algunas realizaciones, el doble enlace entre  $CR^c$  y  $CR^d$  tiene la configuración *trans*; en otras realizaciones, el doble enlace entre  $CR^c$  y  $CR^d$  tiene la configuración *cis*). Las realizaciones también pueden incluir una o más de las características descritas en [a] y [b] más adelante.

[a] En algunas realizaciones, cada caso de  $R^a$  y  $R^b$  (cuando están presentes) es H.

[b] El doble enlace entre  $CR^c$  y  $CR^d$  tiene la configuración *trans*. Cada uno de  $R^c$  y  $R^d$  H.

a es 1 o 2 (p. ej., 1). b es 0 o 1 (p. ej., 0).

25 a es 1 o 2, p. ej., 1; y b es 0 o 1, p. ej., 0.

b es 0 (en realizaciones, a es 1 o 2, p. ej., 1).

X es  $-CH=CH-C(R^a)_2-$ . En algunas realizaciones, cada  $R^a$  es hidrógeno. En otras realizaciones, cada  $R^a$  es un sustituyente distinto de hidrógeno (p. ej., alquilo C1-C6), y cada  $R^a$  pueden ser el mismo o diferentes, p. ej., el mismo. Por ejemplo, cada  $R^a$  puede ser el mismo alquilo C1-C6, tal como  $CH_3$ .

30 X es  $-CH=CH-CH(R^a)-$ . En algunas realizaciones,  $R^a$  es hidrógeno; en otras realizaciones,  $R^a$  es un sustituyente distinto de hidrógeno (p. ej., como se ha descrito antes).

35 X es  $-CH=CH-C(R^a)_2-C(R^a)_2-$ . En algunas realizaciones, cada  $R^a$  es hidrógeno. En otras realizaciones, cada  $R^a$  es un sustituyente distinto de hidrógeno (p. ej., alquilo C1-C6), y cada  $R^a$  pueden ser el mismo o diferentes, p. ej., el mismo. Por ejemplo, cada  $R^a$  puede ser el mismo alquilo C1-C6, tal como  $CH_3$ . En otras realizaciones más, en una pareja de  $R^a$  geminales, cada  $R^a$  es hidrógeno; y en la otra pareja de  $R^a$  geminales, cada  $R^a$  es un sustituyente distinto de hidrógeno (p. ej., como se ha descrito antes).

X es  $-CH=CHCH(R^a)CH(R^a)-$ . En algunas realizaciones, cada  $R^a$  es hidrógeno; en otras realizaciones, cada  $R^a$  es un sustituyente distinto de hidrógeno; en otras realizaciones más, un  $R^a$  es hidrógeno, y el otro es un sustituyente distinto de hidrógeno.

40 Por ejemplo, X es  $-CH=CH-CH_2-$  o  $-CH=CH-CH_2-CH_2-$  (p. ej., en las realizaciones anteriores, el doble enlace puede tener la configuración *trans*). En ciertas realizaciones, X es  $-CH=CH-CH_2-$  (p. ej., *trans*).

[B] Variables R4 y R5

En algunas realizaciones, cada uno de R4 y R5 es H.

[C] Variable Ar/Het

45 En algunas realizaciones, Ar/Het es grupo heteroaromático de 5 miembros seleccionado de pirazolilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, isoxazolilo, 3,5-dimetilpirazolilo e isotiazolilo.

En algunas realizaciones, Ar/Het es grupo heteroaromático de 5 miembros seleccionado de pirazolilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo. En ciertas realizaciones, Ar/Het es pirazolilo. En algunas realizaciones, Ar/Het es 3,5-dimetilpirazolilo.

**[D] Variable R1**

5 [1] En algunas realizaciones, **R1** es arilo C6-C10, que está opcionalmente sustituido con 1-3 R<sup>o</sup>. En ciertas realizaciones, **R1** es fenilo o naftilo (p. ej., fenilo), que está opcionalmente sustituido con 1-3 R<sup>o</sup> (en realizaciones, cada R<sup>o</sup> se selecciona independientemente de F, OH, alquilo C1-C6, fluoroalquilo (C1-C6), alcoxi C1-C6, fluoroalcoxi C1-C6 y ciano).

En otras realizaciones, **R1** es arilo C8-C10, que contiene un anillo de fenilo condensado con un anillo no aromático y que está opcionalmente sustituido con 1-3 R<sup>o</sup> (p. ej., opcionalmente sustituido con indanilo o tetralinilo).

10 [2] En algunas realizaciones, **R1** es heteroarilo monocíclico o bicíclico que incluye 5-10 átomos en el anillo, que está opcionalmente sustituido con 1-3 R<sup>o</sup>; en donde 1-4 de los átomos en el anillo es/son un heteroátomo independientemente seleccionado de O, N, N-H, N-R<sup>o</sup> y S.

En ciertas realizaciones, R1 es heteroarilo monocíclico, tal como piridilo.

En otras realizaciones, R1 es heteroarilo bicíclico, tal como los que son completamente aromáticos tales como indolilo y similares.

15 En otras realizaciones más, R1 es heteroarilo bicíclico que contiene un átomo del anillo nitrógeno cabeza de puente y opcionalmente otros átomos del anillo heteroátomos, tales como indolizínilo, pirrolopirimidínilo, pirazolopiridinilo, imidazopiridinilo, imidazopiriazínilo, triazolopiridinilo, imidazotiazolilo, imidazooxazolilo.

20 Otros ejemplos de grupos heteroarilo R1 incluyen, sin limitación, pirazolilo, pirrolilo, 2-oxo-indolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, tetrahidro-isoquinolinilo, benzofuranilo, benzodioxanilo, benzodioxolilo (también conocido como metilendioxfenilo) y el correspondiente análogo difluoro (CF<sub>2</sub>), tiazolilo, 2-oxopiridinilo, N-óxido de piridinilo, pirimidínilo, tienilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, piridazinilo, imidazolilo, pirazinilo, isotiazolilo, 1,1-dióxido de 1,2-tiazínilo, bencimidazolilo, tiadiazolilo, benzopiranilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzoxazolilo, benzotienilo, oxadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, dioxoindolilo (isatina), ftalimido, y los congéneres dihidro y tetrahidro de los sistemas de anillos completamente insaturados.

25 [3] En algunas realizaciones, **R1** es heterociclilo que incluye 4-10 átomos en el anillo, que está opcionalmente sustituido con 1-3 R<sup>o</sup>; en donde 1-4 de los átomos del anillo es/son un heteroátomo independientemente seleccionado de O, N, N-H, N-R<sup>o</sup> y S (p. ej., heterociclilo bicíclico que contiene un átomo del anillo nitrógeno cabeza de puente y opcionalmente otros átomos del anillo heteroátomos).

30 Los ejemplos de grupos heterociclilo R1 incluyen, sin limitación, piperidinilo, morfolinilo, pirrolidinilo, azetidínilo, azepanilo, isoxazolidínilo, oxazolidínilo, tiazolidínilo, imidazolinilo, quinuclidínilo, isotiazolidínilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, tiamorfolínilo, sulfóxido de tiamorfolínilo, tiamorfolínil-sulfona, dioxanilo, tropanilo y otras aminas bicíclicas con puente, quiniclidínilo.

**[E] Variables R2 y R3**

[1] En algunas realizaciones, **R2** es hidrógeno, y **R3** es un sustituyente distinto de hidrógeno (p. ej., fluoro). En ciertas realizaciones, los compuestos pueden presentar selectividad para HDAC 3.

35 [2] En algunas realizaciones, cada uno de **R2** y **R3** es hidrógeno.

**[F] Combinaciones no limitantes de [A] a [E]**

40 En algunas realizaciones, una o más de las características descritas en uno o más de **[A][1][a]** y **[A][1][b]** se pueden combinar con: las características descritas en **[B]**, y/o una o más de las características descritas en **[C]**, y/o una o más de las características descritas en uno o más de **[D][1]**, **[D][2]** y **[D][3]**, y/o una o más de las características descritas en uno o más de **[E][1]** y **[E][2]**.

En algunas realizaciones, una o más de las características descritas en uno o más de **[A][1][a]** y **[A][1][b]** se pueden combinar con: las características descritas en **[B]**, y/o una o más de las características descritas en **[C]**, y/o una o más de las características descritas en uno o más de **[D][1]**, **[D][2]** y **[D][3]**, y/o una o más de las características descritas en uno o más de **[E][1]** y **[E][2]**.

45 En algunas realizaciones, una o más de las características descritas en uno o más de **[A][1][a]** y **[A][1][b]** se pueden combinar con: las características descritas en **[B]**, y una o más de las características descritas en **[C]**, y una o más de las características descritas en **[D][1]**, y una o más de las características descritas en uno o más de **[E][1]** y **[E][2]**.

50 En algunas realizaciones, una o más de las características descritas en **[A][1][b]** se pueden combinar con: las características descritas en **[B]**, y/o una o más de las características descritas en **[C]**, y/o una o más de las características descritas en uno o más de **[D][1]**, **[D][2]** y **[D][3]**, y/o una o más de las características descritas en uno o más de **[E][1]** y **[E][2]**.

En algunas realizaciones, una o más de las características descritas en [A][1][b] se pueden combinar con: las características descritas en [B], y una o más de las características descritas en [C], y una o más de las características descritas en [D][1], y una o más de las características descritas en uno o más de [E][1] y [E][2].

5 Las realizaciones pueden incluir una cualquiera o más de las características descritas en la presente memoria. Por ejemplo, una o ambas de las siguientes: **R1** es arilo C6-C10 (p. ej., fenilo), que está opcionalmente sustituido con 1-3 R<sup>0</sup>; y Ar/Het es grupo heteroaromático de 5 miembros seleccionado de pirazolilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, p. ej., Ar/Het es pirazolilo. En realizaciones, cada uno de R4 y R5 es hidrógeno; y/o uno o más de los siguientes: (i) **R2** es hidrógeno, y **R3** es un sustituyente distinto de hidrógeno (p. ej., fluoro), en ciertas realizaciones, los compuestos pueden presentar selectividad para HDAC 3; y (ii) cada uno de **R2** y **R3** es hidrógeno.

## 10 Definiciones

El término "mamífero" incluye organismos, que incluyen ratones, ratas, vacas, ovejas, cerdos, conejos, cabras, caballos, monos, perros, gatos y seres humanos.

15 "Una cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto que confiere un efecto terapéutico (p. ej., trata, p. ej., controla, mitiga, mejora, alivia o ralentiza el avance de; o previene, p. ej. retrasa el inicio o reduce el riesgo de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección o sus síntomas) en un sujeto tratado. El efecto terapéutico puede ser objetivo (es decir, medible por algún ensayo o marcador) o subjetivo (es decir, el sujeto da una indicación o nota un efecto). Una cantidad eficaz del compuesto descrito antes puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 1000 mg/kg, (p. ej., de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg). Las dosis eficaces también variarán dependiendo de la vía de administración, así como de la posibilidad de uso simultáneo con otros agentes.

20 El término "halogeno-" o "halógeno" se refiere a cualquier radical de flúor, cloro, bromo o yodo.

25 En general, y salvo que se indique otra cosa, los nombres de prefijos de sustituyentes (radicales) derivan del hidruro original por (i) sustitución de "ano" en el hidruro original por el sufijo "ilo"; o (ii) sustitución de "e" en el hidruro original por el sufijo "ilo"; (aquí, al(a los) átomo(s) con la valencia libre, cuando se especifique, se le(s) da números tan bajos como sea coherente con cualquier numeración establecida del hidruro original). Los nombres abreviados aceptados, p. ej., furilo, piridilo y piperidilo, y los nombres triviales, p. ej., fenilo y tienilo también se usan a lo largo de la presente memoria. Los sistemas de numeración/letras convencionales también se siguen para la numeración de sustituyentes.

30 Se usan las siguientes definiciones, salvo que se describe otra cosa. Los valores específicos y generales citados a continuación para radicales, sustituyentes e intervalos, son solo ilustrativos; no excluyen otros valores definidos y otros valores dentro de los intervalos definidos para los radicales y sustituyentes. Alquilo, alcoxi y similares indican grupos tanto lineales como ramificados.

35 Como se usa en la presente memoria, el término "alquilo" usado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo hidrocarburo saturado que puede ser de cadena lineal o ramificado. En algunas realizaciones, el grupo alquilo contiene de 1 a 12, de 1 a 8, o de 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de restos alquilo incluyen, pero no se limitan a grupos químicos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo, isobutilo, sec-butilo; homólogos superiores tales como 2-metil-1-butilo, n-pentilo, 3-pentilo, n-hexilo, 1,2,2-trimetilpropilo, n-heptilo, n-octilo, y similares. En algunas realizaciones, el resto alquilo es metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo o 2,4,4-trimetilpentilo.

40 A lo largo de las definiciones, se usa el término "Cy-Cz" (p. ej., C1-C6 y similares), en donde y y z son números enteros e indican el número de carbonos, en donde y-z indica un intervalo que incluye los puntos finales.

Como se menciona en la presente memoria, la expresión "grupo alquilo" se refiere a un grupo de fórmula -O(alquilo). Alcoxi puede ser, por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, iso-butoxi, sec-butoxi, pentoxi, 2-pentoxi, 3-pentoxi o hexiloxi.

45 Como se usa en la presente memoria, el término "arilo" usado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un resto hidrocarbonado aromático monocíclico o un resto hidrocarbonado policíclico (p. ej., que tiene 2, 3 o 4 anillos unidos condensados) que incluye al menos un anillo aromático. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, indanilo y tetralinilo. En algunas realizaciones, los grupos arilo tienen de 6 a 10 átomos de carbono.

50 Como se menciona en la presente memoria, "heteroarilo" se refiere a un anillo monocíclico aromático o bicíclico condensado que incluye al menos un anillo aromático, cada uno de los cuales contiene al menos un (típicamente de uno a tres) átomos del anillo nitrógeno, oxígeno o azufre (independientemente seleccionado cuando está presente más de uno). Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, pero no se limitan a piridilo, pirazolilo, pirrolilo, 2-oxo-indolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, tetrahydro-isoquinolinilo, benzofuranilo, indolilo, benzodioxanilo, benzodioxolilo (también conocido como metilendioxifenilo) y el correspondiente análogo difluoro (CF<sub>2</sub>), tiazolilo, 2-oxopiridinilo, N-óxido de piridinilo, pirimidinilo, tienilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, piridazinilo, imidazolilo, pirazinilo, isotiazolilo, 55 1,1-dióxido de 1,2-tiazinilo, bencimidazolilo, tiadiazolilo, benzopiranilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzoxazolilo,

- 5 benzotienilo, oxadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, dioxindolilo (isatina), ftalimido; los heteroarilos que contienen un átomo del anillo nitrógeno cabeza de puente y opcionalmente otros átomos del anillo heteroátomos, tales como indolizínilo, pirrolopirimidínilo, pirazolopiridinilo, imidazopiridinilo, imidazopiriazínilo, triazolopiridinilo, imidazotiazolilo, imidazooxazolilo); y los correspondientes congéneres dihidro y tetrahidro de los sistemas de anillo totalmente insaturados.
- 10 Como se usa en la presente memoria, la frase "opcionalmente sustituido" significa no sustituido (p. ej., sustituido con un H) o sustituido. Como se usa en la presente memoria, el término "sustituido" significa que se elimina un átomo de hidrógeno y se sustituye por un sustituyente. Se entiende que la sustitución en un átomo dado está limitada por la valencia. El uso de un nombre de prefijo de sustituyente (radical) tal como alquilo sin el modificador "opcionalmente sustituido" o "sustituido" se entiende que significa que el sustituyente particular no está sustituido. Sin embargo, el uso de "fluoroalquilo Cy-Cz" sin el modificador "opcionalmente sustituido" o "sustituido" se entiende todavía que significa un grupo alquilo, en el que al menos un átomo de hidrógeno se sustituye por flúor.
- 15 Salvo que se indique otra cosa, a la nomenclatura de sustituyentes que no se definen explícitamente en la presente memoria, se llega nombrando la parte terminal del grupo funcional seguido por el grupo funcional adyacente hacia el punto de unión. En general, el punto de unión para un sustituyente se indica por el último término en el grupo. Por ejemplo, (heterociclil)-alquilo(C1-C6) se refiere a un resto de heteroaril-alquileo- en donde el conector alquileo tiene de 1 a 6 carbonos, y el sustituyente está unido por el conector alquileo.
- 20 Como se usa en la presente memoria, el término "cicloalquilo", usado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un resto hidrocarbonado cíclico saturado. Los grupos cicloalquilo de ejemplo incluyen, sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.
- 25 Como se usa en la presente memoria, el término "ciano", usado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo de fórmula -CN, en donde los átomos de carbono y nitrógeno están unidos entre sí por un triple enlace.
- Como se usa en la presente memoria, la expresión "halogenoalquilo Cy-Cz" y similares usada sola o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo alquilo que tiene desde un átomo de halógeno a  $2n+1$  átomos de halógeno, que pueden ser iguales o diferentes, donde "n" es el número de átomos de carbono en el grupo alquilo. En algunas realizaciones, los átomos de halógeno son átomos de flúor.
- 30 Como se usa en la presente memoria, "halogenoalcoxi," usado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo de fórmula -O-halogenoalquilo. Un ejemplo de grupo halogenoalcoxi es  $OCF_3$ . En algunas realizaciones, los átomos de halógeno son átomos de flúor.
- 35 Como se usa en la presente memoria, el término "heterociclilo" usado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un sistema de anillo saturado, que tiene átomos del anillo carbonos y al menos un átomo del anillo heteroátomo seleccionado de nitrógeno, azufre y oxígeno (independientemente seleccionados cuando está presente más de uno). Cuando el grupo heterociclilo contiene más de un heteroátomo, los heteroátomos pueden ser los mismos o diferentes. Los grupos heterociclilo pueden incluir sistemas de anillo mono o bicíclicos (p. ej., que tiene 2 anillos condensados). Los grupos heterociclilo también pueden incluir grupos heterocicloalquilo cabeza de puente. Como se usa en la presente memoria, "grupos heterociclilo cabeza de puente" se refiere a un resto heterociclilo que contiene al menos un heteroátomo cabeza de puente (p. ej., nitrógeno). En algunas realizaciones, los átomos de carbono o heteroátomos en el(los) anillo(s) del grupo heterocicloalquilo pueden estar oxidados para formar un grupo carbonilo o sulfonilo (u otra unión oxidada) o un átomo de nitrógeno puede estar cuaternizado.
- 40 Como para cualquiera de los grupos anteriores que contienen uno o más sustituyentes, se entiende, por supuesto, que dichos grupos no contienen ninguna sustitución o patrones de sustitución que sean estéricamente impracticables y/o sintéticamente no factibles. Además, los compuestos de esta invención incluyen todos los isómeros estereoquímicos que proceden de la sustitución de estos compuestos.
- 45 Salvo que se definan de otra forma, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto ordinario en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque en la práctica o ensayo de la presente invención se pueden emplear métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son sólo ilustrativos y no se pretende que sean limitantes.
- 50 Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, y a partir de las reivindicaciones.
- 55 Se entenderá que algunas características de la invención que, por claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también se pueden proporcionar combinadas en una única realización. A la inversa, diversas características de la invención que, por brevedad, se describen en el contexto de una única realización, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada.
- Por lo tanto, para facilitar la exposición, se entiende también que cuando en esta memoria descriptiva, un grupo se

define por "como se define en cualquier parte en la presente memoria" (o similar), las definiciones para ese grupo particular incluyen la primera definición genérica que aparece y más amplia, así como cualesquiera definiciones subgenéricas y específicas indicadas en cualquier parte en esta memoria descriptiva. También, para facilitar la exposición, la definición "sustituyente distinto de hidrógeno" se refiere de forma colectiva a las posibilidades no hidrógeno para esa variable particular.

### Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es una gráfica de barras que muestra el efecto de los compuestos en la memoria a largo plazo para el reconocimiento de objetos. Los datos se presentan como el índice de discriminación entre objeto conocido y nuevo en función del compuesto y la dosis. En el grupo de barras más a la izquierda, las dosis representadas de izquierda a derecha son (0, 3, 10, 30 mg/kg); en el grupo de barras del centro y más a la derecha, las dosis representadas de izquierda a derecha son (3, 10, 30 mg/kg);

### Descripción detallada

Los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria pueden contener uno o más centros asimétricos y por lo tanto aparecer como racematos y mezclas racémicas, enantiómeros individuales, diastereoisómeros individuales y mezclas de diastereoisómeros. Aunque la fórmula (I) se muestra sin relación con la estereoquímica, la presente invención incluye dichos isómeros ópticos (enantiómeros) y diastereoisómeros; así como los estereoisómeros R y S racémicos y enantioméricamente puros, resueltos; así como otras mezclas de los estereoisómeros R y S y sus sales farmacéuticamente aceptables. Se pretende que el uso de estos compuestos cubra la mezcla racémica o cualquiera de los enantiómeros quirales.

Los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria también pueden contener uniones (p. ej. enlaces carbono-carbono, enlaces carbono-nitrógeno tales como enlaces amida) en donde la rotación del enlace está restringida respecto a esa unión particular, p. ej., restricción que resulta de la presencia de un anillo o doble enlace. Por consiguiente, todos los isómeros *cis/trans* y *E/Z* e isómeros rotacionales están expresamente incluidos en la presente invención.

Un experto en la técnica reconocerá también que pueden existir tautómeros para los compuestos descritos en la presente memoria. La invención incluye todos dichos tautómeros incluso aunque no se muestran en las fórmulas en la presente memoria. Todas dichas formas isómeras de dichos compuestos están expresamente incluidas en la presente invención.

Los isómeros ópticos se pueden obtener en forma pura por procedimientos convencionales conocidos para los expertos en la técnica, e incluyen, pero no se limitan a la formación de sales diastereoisómeras, resolución cinética y síntesis asimétrica. Véase, por ejemplo, Jacques, et al., "Enantiomers, Racemates and Resolutions" (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen, S.H., et al., *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E.L. "Stereochemistry of Carbon Compounds" (McGraw-Hill, NY, 1962); Wilen, S.H. "Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions" p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972). También se entiende que esta invención abarca todos los posibles regioisómeros y sus mezclas, que se pueden obtener en forma pura por procedimientos de separación convencionales, conocidos para los expertos en la técnica, e incluyen, pero no se limitan a cromatografía en columna, cromatografía en capa fina y cromatografía líquida de alto rendimiento.

Los compuestos descritos en la presente memoria también incluyen las diferentes formas de hidrato y solvato de los compuestos.

Los compuestos descritos en la presente memoria también pueden incluir todos los isótopos de átomos que aparecen en los compuestos intermedios o finales. Los isótopos incluyen los átomos que tienen el mismo número atómico pero diferente número másico. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio.

Los compuestos descritos en la presente memoria también incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en la presente memoria. Como se usa en la presente memoria, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal formada por la adición de un ácido o base farmacéuticamente aceptable a un compuesto descrito en la presente memoria. Como se usa en la presente memoria, la frase "farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sustancia que es aceptable para usar en aplicaciones farmacéuticas desde una perspectiva toxicológica y no interacciona de forma adversa con el principio activo. Las sales farmacéuticamente aceptables, que incluyen mono y bisales, incluyen, pero no se limitan a las derivadas de ácidos orgánicos e inorgánicos tales como, pero no limitados a ácidos acético, láctico, cítrico, cinámico, tartárico, succínico, fumárico, maleico, malónico, mandélico, málico, oxálico, propiónico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, glicólico, pirúvico, metanosulfónico, etanosulfónico, toluenosulfónico, salicílico, benzoico y ácidos aceptables igualmente conocidos. Se encuentran listas de sales adecuadas en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 17<sup>a</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418, *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977); y "Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use A Handbook; Wermuth, C. G. y Stahl, P. H. (eds.) Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, 2002 [ISBN 3-906390-26-8].

En algunas realizaciones, los compuestos son profármacos. Como se usa en la presente memoria, "profármaco" se

refiere a un resto que libera un compuesto descrito en la presente memoria cuando se administra a un paciente. Los profármacos se pueden preparar modificando grupos funcionales presentes en los compuestos de modo que las modificaciones son escindidas por manipulación rutinaria o in vivo, en los compuestos originales. Los ejemplos de profármacos incluyen compuestos como se describen en la presente memoria que contienen uno o más restos moleculares unidos a un grupo hidroxilo, amino, sulfhidrilo o carboxilo del compuesto, y que cuando se administran a un paciente, se escinden in vivo para formar el grupo hidroxilo, amino, sulfhidrilo o carboxilo libre, respectivamente. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a derivados de acetato, formiato y benzoato de grupos funcionales alcohol y amina en los compuestos descritos en la presente memoria. La preparación y uso de profármacos se describe en T. Higuchi y V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 del A.C.S. Symposium Series, y en *Bioreversible Carriers in Drug Design*, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

#### Síntesis de compuestos de fórmula (I)

Los compuestos descritos en la presente memoria se pueden preparar en una variedad de formas conocidas por un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los compuestos descritos en la presente memoria se pueden sintetizar usando los métodos descritos más adelante en lo sucesivo, junto con métodos sintéticos conocidos en la técnica de la química orgánica sintética o variaciones de la misma como apreciarán los expertos en la técnica.

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar convenientemente de acuerdo con los procedimientos indicados en la sección de ejemplos, a partir de materiales de partida disponibles en el mercado, compuestos conocidos en la bibliografía, o compuestos intermedios preparados fácilmente, usando métodos y procedimientos sintéticos convencionales conocidos para los expertos en la técnica. Los métodos y procedimientos sintéticos convencionales para la preparación de moléculas orgánicas y transformaciones y manipulaciones de grupos funcionales se pueden obtener fácilmente de la bibliografía científica relevante o de libros de texto convencionales en la técnica. Se apreciará que, donde se dan condiciones de procedimiento típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reaccionantes, disolventes, presiones, etc.), también se pueden usar otras condiciones de procedimiento salvo que se exponga otra cosa. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reaccionantes o disolvente particulares usados, pero dichas condiciones las puede determinar el experto en la técnica mediante procedimientos de optimización rutinaria. Los expertos en la técnica de la síntesis orgánica reconocerán que la naturaleza y el orden de las etapas sintéticas presentadas puede variar con el fin de optimizar la formación de los compuestos descritos en la presente memoria.

Las transformaciones de química sintética útiles en la síntesis de los compuestos descritos en la presente memoria son conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, las descritas en R.C. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, 2ª ed., Wiley-VCH Publishers (1999); P.G.M. Wuts y T.W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4ª Ed., John Wiley and Sons (2007); L. Fieser y M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); y L. Paquette, ed., *Enciclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995), y sus ediciones posteriores. La preparación de compuestos puede implicar la protección y desprotección de diferentes grupos químicos, La necesidad de protección y desprotección, y la selección de los grupos protectores adecuados la puede determinar fácilmente un experto en la técnica. La química de grupos protectores se puede encontrar, por ejemplo, en Wuts PGM y Greene TW, 2006, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, Cuarta Edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU. Los ajustes de los grupos protectores y los métodos de formación y escisión descritos en la presente memoria se pueden ajustar según sea necesario a la luz de los diferentes sustituyentes.

Las reacciones de los procedimientos descritos en la presente memoria se pueden llevar a cabo en disolventes adecuados que los puede seleccionar fácilmente el experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los disolventes adecuados pueden ser sustancialmente no reactivos con los materiales de partida (reaccionantes), los compuestos intermedios o productos a las temperaturas a las que se llevan a cabo las reacciones, es decir, temperaturas que pueden variar desde la temperatura de congelación del disolvente a la temperatura de ebullición del disolvente. Una reacción dada se puede llevar a cabo en un disolvente o una mezcla de más de un disolvente. Dependiendo de la etapa de reacción particular, se pueden seleccionar disolventes adecuados para una etapa de reacción particular.

Los procedimientos descritos en la presente memoria se pueden vigilar de acuerdo con cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación de producto se puede vigilar por medios espectroscópicos, tales como espectroscopía de resonancia magnética nuclear (p. ej., RMN de  $^1\text{H}$  y/o  $^{13}\text{C}$ ) espectroscopía infrarroja, espectrofotometría (p. ej., UV-visible), o espectrometría de masas, o por cromatografía tal como cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) o cromatografía de capa fina.

Los compuestos descritos en la presente memoria se pueden separar de una mezcla de reacción y purificar adicionalmente por un método tal como cromatografía en columna, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) o recristalización.

Un experto en la técnica reconocerá que hay métodos adicionales de producción de los compuestos de fórmula (I) además de los descritos en la sección de ejemplos.

## Uso

Una histona desacetilasa (HDAC), como se describe en la presente memoria, puede ser cualquier polipéptido que tenga aspectos característicos de polipéptidos que catalizan la eliminación del grupo acetilo (desacetilación) de proteínas objetivo acetiladas. Los aspectos característicos de las HDAC son conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Finnin et al., 1999, *Nature*, 401:188). Por lo tanto, una HDAC puede ser un polipéptido que reprime la transcripción génica por desacetilación de los grupos  $\epsilon$ -amino de restos de lisina conservados situados en el extremo N de histonas, p. ej., H3, H4, H2A y H2B, que forman el nucleosoma. Las HDAC también desacetilan otras proteínas tales como p53, E2F,  $\alpha$ -tubulina y MyoD (véase, por ejemplo, Annemieke et al., 2003, *Biochem. J.*, 370:737). Las HDAC también se pueden localizar en el núcleo y algunas HDAC se pueden encontrar tanto en el núcleo como también en el citoplasma.

Los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria pueden interactuar con cualquier HDAC. En algunas realizaciones, los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria tendrán actividad al menos aproximadamente 2 veces (p. ej., al menos aproximadamente 5 veces, 10 veces, 15 veces o 20 veces) mayor para inhibir una o más HDAC de clase I (p. ej., HDAC1, HDAC2 o HDAC3) en comparación con una o más de otras HDAC (p. ej., una o más HDAC de clase IIa, IIb o IV).

La invención presenta un compuesto de fórmula (I) como se describe en la presente memoria, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento del cáncer en un paciente que lo necesite. En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido, neoplasma, carcinoma, sarcoma, leucemia o linfoma. En algunas realizaciones, las leucemias incluyen leucemias agudas y leucemias crónicas tales como la leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML) y leucemia de células pilosas; linfomas tales como linfomas cutáneos de células T (CTCL), linfomas no cutáneos de células T periféricas, linfomas asociados con virus linfotrópico de células T humanas (HTLV) tales como leucemia/linfoma de células T adultas (ATLL), enfermedad de Hodgkin y linfomas no Hodgkin, linfomas de células grandes, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL); linfoma de Burkitt; linfoma del sistema nervioso central (CNS) primario; mieloma múltiple; tumores sólidos infantiles tales como tumores cerebrales, neuroblastoma, retinoblastoma, tumor de Wilm, tumores óseos y sarcomas de tejidos blandos, tumores sólidos comunes de adultos tales como cánceres de cabeza y cuello (p. ej., oral, laríngeo y esofágico), cánceres genitourinarios (p. ej., próstata, vejiga, riñón, útero, ovario, testicular, rectal y colon), cáncer de pulmón, cáncer de mama.

En algunas realizaciones, el cáncer es (a) cardíaco: sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rhabdomioma, liposarcoma), mixoma, rhabdomioma, fibroma, lipoma y teratoma; (b) de pulmón: carcinoma broncogénico (células escamosas, células pequeñas indiferenciadas, células grandes indiferenciadas, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma; (c) gastrointestinal: esófago (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomioma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma, leiomioma), páncreas (adenocarcinoma ductal, insulinoma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado, (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma veloso, hamartoma, leiomioma); (d) del tracto genitourinario: riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilm (nefroblastoma), linfoma, leucemia), vejiga y uretra (carcinoma de células escamosas, carcinoma de células transicionales, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículos (seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoides, lipoma); (e) de hígado: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma; (f) óseo: sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de células del retículo), mieloma múltiple, cordoma tumor maligno de células gigantes, osteocondroma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes; (g) sistema nervioso: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteitis deformante), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma (pinealoma), glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), médula espinal (neurofibroma, meningioma, glioma, sarcoma); (h) ginecológico: útero (carcinoma de endometrio), cuello uterino (carcinoma de cuello uterino, displasia de cuello uterino pretumoral), ovarios (carcinoma de ovario, cistoadenocarcinoma seroso, cistoadenocarcinoma mucinoso), carcinoma no clasificado (tumores de células de la teca-granulosa, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioides), rhabdomioma embrionario, trompas de falopio (carcinoma); (i) hematológico: sangre (leucemia mieloide [aguda y crónica], leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico), enfermedad de Hodgkin, linfoma de no Hodgkin (linfoma maligno); (j) cutáneo: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, lunares nevos displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis; y (k) glándulas suprarrenales: afecciones de neuroblastoma.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) como se describe en la presente memoria, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento de una enfermedad

5 inflamatoria en un paciente que lo necesite. En algunas realizaciones, el trastorno inflamatorio es una enfermedad inflamatoria aguda y crónica, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad alérgica, enfermedad asociada con el estrés oxidativo, y enfermedades caracterizadas por la hiperproliferación celular. Los ejemplos no limitantes son afecciones inflamatorias de una articulación que incluyen artritis reumatoide (RA) y artritis psoriásica; enfermedades inflamatorias del intestino tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa; espondiloartropatías; escleroderma; psoriasis (incluyendo psoriasis mediada por células T) y dermatosis inflamatorias tales como una dermatitis, eczema, dermatitis atópica, dermatitis de contacto alérgica, urticaria; vasculitis (p. ej., vasculitis necrosante, cutánea y por hipersensibilidad); miositis eosinofílica, fascitis eosinofílica; cánceres con infiltración de leucocitos de la piel u  
 10 órganos, lesión isquémica, que incluye isquemia cerebral (p. ej., lesión cerebral como resultado de traumatismo, epilepsia, hemorragia o accidente cerebrovascular, cada uno de los cuales puede conducir a neurodegeneración); HIV, insuficiencia cardíaca, enfermedad hepática crónica, aguda o maligna, tiroiditis autoinmunitaria; lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjogren, enfermedades pulmonares (p. ej., ARDS); pancreatitis aguda; esclerosis lateral amiotrófica (ALS); enfermedad de Alzheimer; caquexia/anorexia; asma; aterosclerosis; síndrome de fatiga crónica, fiebre; diabetes (p. ej., diabetes insulino dependiente o diabetes de inicio juvenil); glomerulonefritis;  
 15 rechazo de injerto contra huésped (p. ej., en trasplante); choque hemorrágico; hiperalgesia: enfermedad inflamatoria intestinal; esclerosis múltiple; miopatías (p. ej., metabolismo de proteínas musculares, en especial en septicemia); osteoartritis; osteoporosis; enfermedad de Parkinson; dolor; parto prematuro; psoriasis; lesión por reperfusión; toxicidad inducida por citoquinas (p. ej., choque séptico, choque endotóxico); efectos secundarios de la terapia con radiación, enfermedad de la articulación temporomandibular, metástasis tumoral; o una afección inflamatoria que  
 20 resulta de una distensión, esguince, daño del cartílago, traumatismo tal como quemadura, cirugía ortopédica, infección u otros procesos de enfermedades.

Las enfermedades y afecciones alérgicas incluyen, pero no se limitan a enfermedades alérgicas respiratorias tales como asma, rinitis alérgica, enfermedades pulmonares por hipersensibilidad, neumonitis por hipersensibilidad, neumonías eosinofílicas (p. ej., síndrome de Loeffler, neumonía eosinofílica crónica), hipersensibilidad de tipo  
 25 retardado, enfermedades pulmonares intersticiales (ILD) (p. ej., fibrosis pulmonar idiopática o ILD asociada con artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, espondilitis anquilosante, esclerosis sistémica, síndrome de Sjogren, polimiositis o dermatomiositis); anafilaxia sistémica o respuestas de hipersensibilidad, alergias a fármacos (p. ej., a penicilina, cefalosporinas), alergias a picaduras de insectos y similares.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) como se describe en la presente memoria, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en la prevención o tratamiento de un trastorno relacionado con la memoria en un paciente que lo necesite. Los compuestos de fórmula (I) se pueden usar para tratar pacientes con deterioros de la memoria asociados con trastornos cognitivos directos tales como amnesia, demencia y delirio; trastornos de ansiedad como fobias, trastornos de pánico, estrés psicosocial (p. ej., como se ve en víctimas de desastres, catástrofes o violencia), trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de ansiedad  
 35 generalizada y trastorno de estrés postraumático; trastornos del estado de ánimo tales como depresión y trastorno bipolar; y trastornos psicóticos tales como esquizofrenia y el trastorno delirante. Los deterioros de la memoria, un distintivo de enfermedades neurodegenerativas tales como, pero no limitado a enfermedad de Parkinson, Alzheimer, Huntington, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), ataxia espinocerebelosa, así como envejecimiento, también se pueden tratar usando los compuestos de fórmula (I). Además, los compuestos de la invención se pueden usar para  
 40 tratar la drogadicción por la desaparición del comportamiento de búsqueda de drogas.

En un aspecto adicional, esta solicitud presenta un compuesto de fórmula (I) como se describe en la presente memoria, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento de una afección neurológica (p. ej., ataxia de Friedreich (FRDA), distrofia miotónica, atrofia muscular espinal, síndrome de X frágil, enfermedad de Huntington, una ataxia espinocerebelosa, enfermedad de Kennedy, esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular espinal y bulbar, enfermedad de Alzheimer o esquizofrenia, trastorno bipolar y enfermedades relacionadas).

En un aspecto adicional, la solicitud proporciona un kit para usar en el tratamiento o prevención de un trastorno seleccionado de un trastorno neurológico (p. ej., ataxia de Friedreich, distrofia miotónica, atrofia muscular espinal, síndrome de X frágil, enfermedad de Huntington, una ataxia espinocerebelosa, enfermedad de Kennedy, esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular espinal y bulbar o enfermedad de Alzheimer), una afección o enfermedad que afecta a la memoria, un cáncer, un trastorno inflamatorio, o una infección por *Plasmodium falciparum* (p. ej., malaria) en un paciente que lo necesite, que comprende (i) un compuesto de fórmula (I) descrito en la presente memoria o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y (ii) instrucciones que comprenden una guía para administrar dicho compuesto a dicho paciente.

55 En algunas realizaciones de los usos anteriores, los usos incluyen además ensayar la actividad del compuesto candidato para aumentar la expresión de uno o más genes cuya expresión ha disminuido en la afección neurológica (p. ej., frataxina, huntingtina, factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas, coactivador 1, alfa (PGC1A), ataxina, retraso mental del cromosoma X frágil (FMR1), proteína quinasa de la distrofia miotónica (DMPK), o receptor de andrógenos). En algunas realizaciones, la actividad del compuesto candidato para aumentar la expresión de uno o más genes cuya expresión ha disminuido en la  
 60 afección neurológica se mide en un animal, p. ej., un modelo animal de la afección neurológica.

En algunas realizaciones de los usos anteriores, el uso se repite para una pluralidad de compuestos de ensayo (p. ej., al menos 10, 20, 50, 100, 200, 500 o 1000 compuestos de ensayo).

En otro aspecto, esta solicitud presenta un compuesto de fórmula (I) como se describe en la presente memoria, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento de una afección neurológica (p. ej., ataxia de Friedreich, distrofia miotónica, atrofia muscular espinal, síndrome de X frágil, enfermedad de Huntington, ataxias espinocerebelosas, enfermedad de Kennedy, esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular espinal y bulbar o enfermedad de Alzheimer) que incluye llevar a cabo cualquiera de los usos anteriores, en donde el compuesto se formula en una composición farmacéutica y administrar la composición farmacéutica a un paciente que tiene una afección neurológica.

10 Se ha mostrado que los inhibidores de HDAC tienen actividad antimalaria (Andrews et al., 2000, *Int. J. Parasitol.*, 30:761-768; Andrews et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 52:1454-61). La presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) como se describe en la presente memoria, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento de una infección por *Plasmodium falciparum* (p. ej., malaria) en un paciente que lo necesite.

15 Composiciones farmacéuticas

Los inhibidores de HDAC se pueden administrar solos o formulados como composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas incluyen una cantidad adecuada del inhibidor de HDAC en combinación con un vehículo adecuado y opcionalmente otros ingredientes útiles.

20 Las sales aceptables de los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a las preparadas a partir de los siguientes ácido: ácidos alquil, alquenil-, aril-, alquilaril- y alquenilaril-mono-, di- y tricarbónicos de 1 a 20 átomos de carbono, opcionalmente sustituidos con 1 a 4 hidroxilos; ácidos alquil-, alquenil-, aril-, alquilaril- y alquenilaril-mono-, di- y trisulfónicos de 1 a 20 átomos de carbono, opcionalmente sustituidos con 1 a 4 hidroxilos; ácidos dibásicos y ácidos minerales. Los ejemplos incluyen ácidos clorhídrico; bromhídrico; sulfúrico; nítrico; fosfórico; láctico (que incluye (+)-L-láctico, (+/-)-DL-láctico); fumárico; glutárico; maleico; acético; salicílico; p-toluenosulfónico; tartárico (que incluye (+)-L-tartárico); cítrico; metanosulfónico; fórmico; malónico; succínico; naftaleno-2-sulfónico; y bencenosulfónico. También se pueden preparar sales farmacéuticamente aceptables en forma de sales de amina, sales de amonio o sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, tales como sales de sodio, potasio o calcio del grupo de ácidos carboxílicos. Estas se forman a partir de bases de metales alcalinos o metales alcalinotérreos o de compuestos amínicos.

30 Las composiciones farmacéuticas de compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria adecuados para la administración oral pueden estar en forma de (1) unidades discretas tales como cápsulas, sobres, comprimidos o pastillas, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del inhibidor de HDAC; (2) un polvo o gránulos; (3) un bolo, electuario o pasta; (4) una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o (5) una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. Las composiciones adecuadas para la administración tópica en la boca, por ejemplo por vía bucal o sublingual, incluyen pastillas. Las composiciones adecuadas para la administración parenteral incluyen suspensiones estériles acuosas y no acuosas o soluciones para inyección. Las composiciones adecuadas para la administración rectal se pueden presentar en forma de supositorios.

40 Las composiciones farmacéuticas de compuestos de fórmula (I) descritos en la presente memoria, se pueden formular usando un vehículo sólido o líquido. El vehículo sólido o líquido debe ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no se perjudicial para el receptor. Si la composición farmacéutica está en forma de comprimido, entonces el inhibidor de HDAC se mezcla con un vehículo que tiene las propiedades de compresión necesarias, en proporciones adecuadas, y se compacta en la forma y tamaño deseados. Si la composición está en forma de polvo, el vehículo es un sólido finamente dividido mezclado con el principio activo finalmente dividido. Los polvos y comprimidos pueden contener hasta 99% del principio activo. Los vehículos sólidos adecuados incluyen, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión y resinas de intercambio iónico. Un vehículo sólido puede incluir una o más sustancias que pueden actuar como saborizantes, lubricantes, solubilizantes, agentes de suspensión, cargas, deslizantes, adyuvantes de la compresión, aglutinantes o agentes disgregantes de comprimidos. Un vehículo adecuado también puede ser un material de encapsulación.

55 Si la composición es una solución, suspensión, emulsión, jarabe, elixir o composición presurizada, entonces se pueden usar vehículos líquidos. En este caso, el inhibidor de HDAC se disuelve o suspende en un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos adecuados de vehículos líquidos para la administración oral y parenteral incluyen (1) agua; (2) alcoholes, p. ej. alcoholes monohídricos y polihídricos tales como glicoles, y sus derivados; y (3) aceites, p. ej. aceite de arachis y aceite de coco fraccionado. Para la administración parenteral, el vehículo también puede ser un éster oleoso tal como oleato de etilo y miristato de isopropilo. Los vehículos líquidos para composiciones presurizadas incluyen hidrocarburo halogenado u otros propulsores farmacéuticamente aceptables. El vehículo líquido puede contener otros aditivos farmacéuticamente aceptables tales como solubilizantes; emulsionantes; tampones; conservantes; edulcorantes; agentes saborizantes; agentes de suspensión; agentes

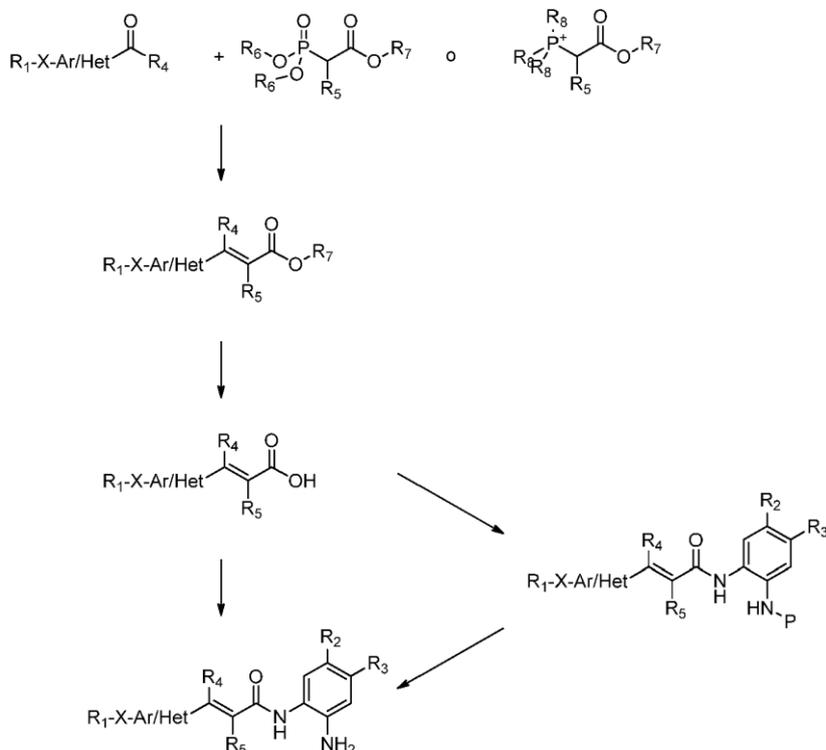
espesantes; colorantes; reguladores de la viscosidad; estabilizantes; osmo-reguladores; derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosa sódica; antioxidantes; y bacteriostáticos. Otros vehículos incluyen los usados para formular pastillas tales como sacarosa, goma arábiga, tragacanto, gelatina y glicerina, así como los usados en la formulación de supositorios tales como manteca de cacao o polietilenglicol.

- 5 Si la composición se va a administrar por vía intravenosa o intraperitoneal por infusión o inyección, se pueden preparar soluciones del inhibidor de HDAC en agua, opcionalmente mezclada con un tensioactivo no tóxico. También se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos, triacetina, y sus mezclas y en aceites. En condiciones ordinarias de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos. La composición adecuada para inyección o infusión puede incluir soluciones o dispersiones acuosas estériles o polvos estériles que comprenden el principio activo, que están adaptados para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones estériles inyectables o infundibles, opcionalmente encapsuladas en liposomas. En todos los casos, la forma farmacéutica final debe ser estéril, fluida y estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento. El excipiente o vehículo líquido puede ser un disolvente o medio de dispersión líquido como se ha descrito antes. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante la formación de liposomas, por el mantenimiento del tamaño de partículas requerido en el caso de dispersiones o por el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos se puede llevar a cabo mediante diferentes agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, tampones o cloruro sódico. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede llevar a cabo mediante el uso en las composiciones de agentes retardantes de la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina. Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando el inhibidor de HDAC en la cantidad requerida en el disolvente adecuado con algunos de los otros ingredientes citados antes, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son técnicas de secado con vacío y liofilización, que dan un polvo del inhibidor de HDAC, más cualquier ingrediente adicional deseado presente en las soluciones esterilizadas por filtración previamente.
- 10
- 15
- 20
- 25

- Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de dosis unitaria o múltiples dosis o en una forma que permita la liberación lenta o controlada del inhibidor de HDAC. Cada dosis unitaria puede estar en forma de un comprimido, cápsula o composición envasada tal como, por ejemplo, un polvo envasado, vial, ampolla, jeringa precargada o sobre que contiene líquidos. La forma de dosis unitaria también puede ser el número adecuado de cualesquiera composiciones en forma envasada. Las composiciones farmacéuticas en forma de múltiples dosis se pueden envasar en recipientes tales como ampollas y viales sellados. En este caso, el inhibidor de HDAC se puede almacenar en un estado congelado-secado (liofilizado) que requiere solo la adición de un vehículo líquido estéril inmediatamente antes de usar. Además, las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos de la clase previamente descrita.
- 30
- 35

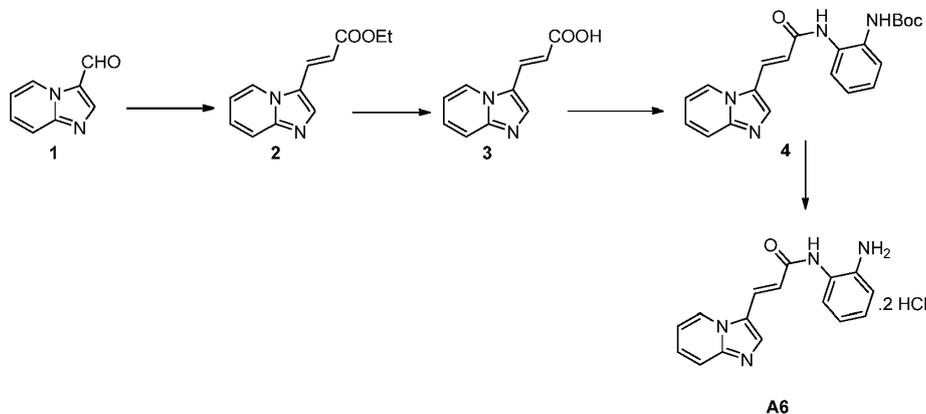
## Ejemplos

## Método A



- 5 Los compuestos descritos en la presente memoria, donde R<sub>1</sub>, X, Ar/Het, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> se definen como se describe en cualquier parte en la presente memoria, se pueden obtener por reacción de un aldehído o cetona heterocíclico mono o bicíclico, sintetizado usando métodos bien conocidos para los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Joule JA y Mills K, Heterocyclic Chemistry, Quinta edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU.) con un reactivo de Wittig o Horner-Wadsworth-Emmons para formar un éster de acrilato  $\gamma$ -sustituido.
- 10 Después de saponificación, se prepara una N-(o-aminofenil)amida sustituida o no sustituida por una reacción de formación de amida del ácido acrílico con una o-fenilendiamina sustituida o no sustituida, protegida o no protegida, donde P es un grupo protector como se define en Wuts PGM y Greene TW, 2006, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Cuarta edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU. Los compuestos de la invención se pueden obtener después de desprotección, si es necesario, usando métodos bien conocidos para los expertos en la técnica y que se describen, por ejemplo, en Wuts PGM y Greene TW, 2006, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Cuarta edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU.
- 15

Ejemplo de referencia 1: sal de hidrocloreto de la (E)-N-(2-aminofenil)-3-(imidazo[1,2-a]piridin-3-il)acrilamida A6



(E)-3-(imidazo[1,2-a]piridin-3-il)acrilato de etilo

- 20 Se añadió (etoxicarbonilmetil)trifenilfosforano (0.72 g, 2.05 mmol) a una solución de imidazo[1,2-a]piridina-3-carbaldehído (0.25 g, 1.71 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (THF) (20 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de

reacción se calentó durante la noche a 65°C. Después de completarse la reacción indicado por HPLC, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (EtOAc) (20 ml) y se inactivo con una solución saturada de cloruro amónico (10 ml). La capa orgánica se lavó con agua (3 x 20 ml) y salmuera (15 ml). Se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó para dar el producto bruto. Este producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc en hexanos al 50-80% para proporcionar el (*E*)-3-(imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il)acrilato de etilo puro (0.19 g) en forma de un sólido blanco. ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 217.

Ácido (*E*)-3-(imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il)acrílico

Se añadió una solución acuosa 1 M de KOH (2.2 ml) a una solución de (*E*)-3-(imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il)acrilato de etilo (0.19 g, 0.88 mmol) en EtOH:THF (1:1 v/v) (10 ml). La solución resultante se calentó a 50°C durante 3 h. Después de completarse la reacción, la mezcla de reacción se evaporó y se añadió agua (10 ml) al residuo. Esta solución se acidificó con cuidado a pH 4 con una solución acuosa de HCl 3 M. Puesto que el producto, el ácido (*E*)-3-(imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il)acrílico, era soluble en agua, la solución se concentró a presión reducida y el residuo sólido se usó directamente para la siguiente etapa. ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 189.

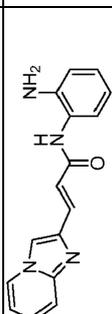
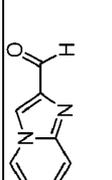
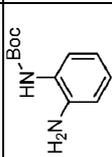
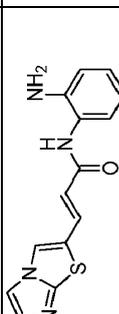
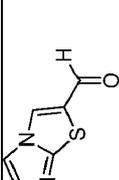
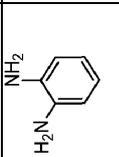
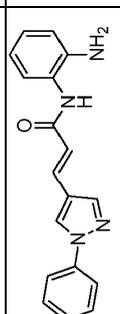
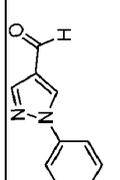
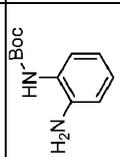
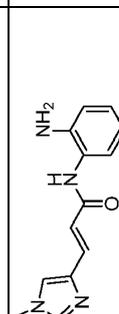
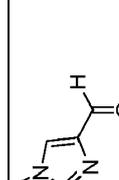
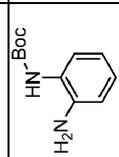
(*E*)-(2-(3-(imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo

Se añadió diisopropiletamina (DIPEA, 0.34 g, 2.63 mmol) a una solución de ácido (*E*)-3-(imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il)acrílico (0.17 g, 0.88 mmol) en 20 ml de diclorometano (DCM). Después de la adición de 2-aminofenilcarbamato de *tert*-butilo (0.22 g, 1.65 mmol) y hexafluorofosfato de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HATU, 0.43 g, 1.14 mmol) la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Después de completarse la reacción indicado por HPLC, la mezcla de reacción se lavó con solución saturada de bicarbonato sódico (NaHCO<sub>3</sub>) y salmuera. Se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y evaporó para dar el (*E*)-(2-(3-(imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo bruto. El sólido se lavó con acetato de etilo (50 ml) y solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> para dar el producto puro en forma de un sólido de color claro (0.11 g). ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 379.

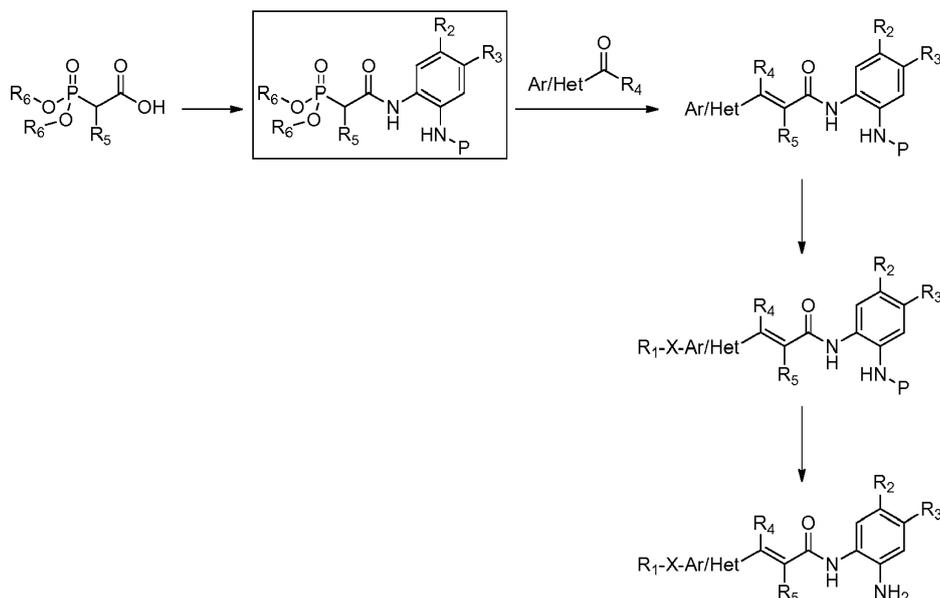
(*E*)-N-(2-aminofenil)-3-(imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il)acrilamida

Se añadió una solución de HCl en dioxano 4 M (2.5 ml) a una solución de (*E*)-(2-(3-(imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo (0.11 g, 0.29 mmol) en dioxano (2.5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se observó la formación de precipitado. Después de completarse la reacción indicado por HPLC/MS, la mezcla de reacción se diluyó con éter dietílico (20 ml) y la sal se filtró, se lavó con éter y se secó durante la noche para dar la sal de HCl de la (*E*)-N-(2-aminofenil)-3-(imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il)acrilamida (80 mg) en forma de un sólido blanquecino. RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ: 9.04 - 9.13 (m, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.17 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 8.00 - 8.13 (m, 2H), 7.66 (td, J= 6.9, 1.4 Hz, 1H), 7.42 - 7.58 (m, 4H), 7.21 (d, J = 15.8 Hz, 1H); ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 279.2

Compuesto	Estructura	aldehído	diamina	MS	RMN
A1 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 260	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.57 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 7.52 - 7.62 (m, 1H), 7.20 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 7.04 (ddd, J = 8.0, 7.6, 1.4 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.74 (td, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 2.67 - 2.79 (m, 3H)
A2 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 243	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.88 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.54 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.17 (dd, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 7.04 (td, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 6.74 (td, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H)
A3 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 260	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.50 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.21 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.05 (td, J = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 15.7 Hz, 2H), 6.87 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.73 (td, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 2.31 (s, 1H)
A4 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 244	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.01 (s, 1H), 7.48 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 7.18 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.04 (ddd, J = 8.0, 7.3, 1.4 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.73 (td, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 2.49 (s, 3H)
A5 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 244	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.49 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.21 (dd, J = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.04 (ddd, J = 8.0, 7.7, 1.5 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 6.73 (td, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 2.31 (s, 3H)
A6 (sal) (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 279	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 9.09 (dt, J = 7.1, 0.8 Hz, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.17 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 8.10 (ddd, J = 9.1, 6.9, 1.1 Hz, 1H), 8.03 (dt, J = 9.1, 1.2 Hz, 1H), 7.66 (td, J = 6.9, 1.4 Hz, 1H), 7.43 - 7.60 (m, 4H), 7.21 (d, J = 15.7 Hz, 1H)
A7 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 243	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.59 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 7.19 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.04 (td, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 6.74 (td, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 6.59 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H)
A8 (compuesto de referencia)					RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.50 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.17 - 7.29 (m, 2H), 7.06 (d, J = 15.7 Hz, 2H), 7.05 (ddd, J = 8.0, 7.5, 1.5 Hz, 1H), 6.83 - 6.97 (m, 3H), 6.75 (td, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H)

Compuesto	Estructura	aldehído	diamina	MS	RMN
A9 (sal de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 279	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.82 (dt, J = 7.0, 1.1 Hz, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.06 (ddd, J = 9.1, 7.0, 1.1 Hz, 1H), 7.96 (dt, J = 9.1, 0.8 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 7.45 - 7.57 (m, 5H), 7.22 (d, J = 15.9 Hz, 1H)
A10 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 285	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.11 (s, 1H), 7.78 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 7.20 (dd, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 7.04 (ddd, J = 8.2, 7.7, 1.4 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 8.2, 1.4 Hz, 1H), 6.74 (ddd, J = 7.8, 7.7, 1.4 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 15.4 Hz, 1H)
A11 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 305	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.53 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.78 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.64 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.51 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 7.35 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.04 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.69 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 6.74 (t, J = 7.7 Hz, 1H)
A12 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 243	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.69 (s, 1H), 7.51 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.19 (dd, J = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.03 (dt, J = 8.1, 1.4 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 8, 1.4 Hz, 1H), 6.74 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 6.74 (dt, J = 8, 1.2 Hz, 1H), 3.73 (s, 3H)

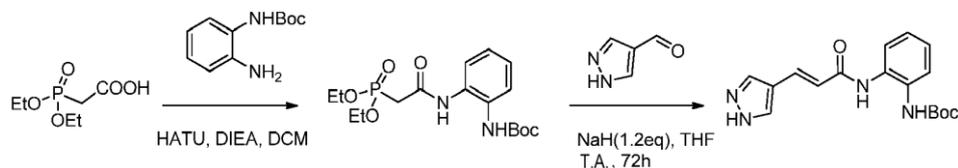
## Método B



Los compuestos descritos en la presente memoria, donde R1, X, R2, R3, R4, R5, Ar/Het se definen como se definen en cualquier parte en la presente memoria, se pueden obtener por precipitación del compuesto intermedio avanzado Ar/Het-CR4=CR5-CO-NH-C6H2R2R3(NH-P) donde P es un grupo protector, como se define, por ejemplo, en Wuts PGM y Greene TW, 2006, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Cuarta edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU., y NH-P está en orto al grupo CO-NH, es decir, en las posiciones 1 y 2 del anillo aromático.

Por lo tanto, se puede hacer reaccionar un reactivo de ácido carboxílico de Wittig o Horner-Wadsworth-Emmons, preparado por métodos bien conocidos para los expertos en la técnica tales como la reacción de Arbuzov, con una *o*-fenilendiamina sustituida o no sustituida adecuadamente monoprottegida. Después este compuesto se hace reaccionar con un aldehído o cetona heterocíclico monocíclico o bicíclico para formar la correspondiente acrilamida  $\gamma$ -sustituida. Este compuesto intermedio avanzado se puede derivatizar para generar compuestos de la invención, por reacción con diferentes reactivos que contienen R1-X usando técnicas de acoplamiento bien conocidas para los expertos en la técnica tales como, pero no limitadas a acoplamiento de Suzuki, acoplamiento de Heck, alquilación, acilación. El mismo compuesto intermedio se puede simplemente desproteger para formar el compuesto de referencia donde R1 es H y X es un enlace sencillo.

Ejemplo 2: Compuesto intermedio avanzado (*E*)-(2-(3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo



(2-(2-(Dietoxifosforil)acetamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo

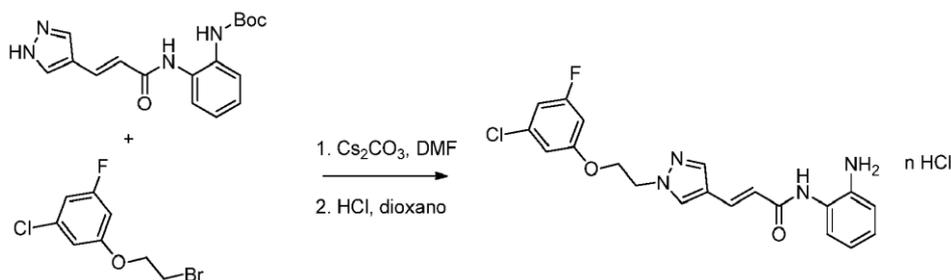
Se añadieron DIPEA (5.16 g, 6.90 ml, 40 mmol) y 2-aminofenilcarbamato de *tert*-butilo (2.08 g, 10 mmol) a una solución de ácido 2-(dietoxifosforil)acético (2.15 g, 11 mmol) en DCM (120 ml). Después de agitar la mezcla durante diez minutos, se añadió HATU (4.56 g, 12 mmol) a la reacción y se continuó agitando durante 6 h a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Después de completarse la reacción indicado por HPLC, la mezcla de reacción se lavó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera. Se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se filtró. El filtrado se evaporó a vacío para dar el producto bruto, que se trituroó con hexanos en EtOAc al 30% en v/v durante 30 min. El sólido se filtró, se lavó con hexanos en EtOAc al 30% y se secó para dar 2.92 g de (2-(2-(dietoxifosforil)acetamido)-fenil)carbamato de *tert*-butilo en forma de un sólido blanquecino con 76% de rendimiento. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.64 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 7.37 (dd, 1H, *J* = 1.8 Hz, 8.1 Hz), 7.07-7.24 (m, 2H), 4.20 (m, 4H), 3.15 (d, 2H, *J* = 21.9 Hz), 1.51 (s, 9H), 1.35 (t, 6H, *J* = 6.9 Hz), MS: ES<sup>+</sup>(M+Na)<sup>+</sup>: 410

(*E*)-(2-(3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo

Se añadió una suspensión de NaH al 60% en aceite de parafina (192 mg, 5 mmol) en porciones a una solución de (2-(2-(dietoxifosforil)acetamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo (1.93 g, 5 mmol) en THF anhidro (25 ml) a 0°C. La

mezcla de reacción se agitó durante 30 min antes de calentarla a temperatura ambiente. Después se añadió 1*H*-pirazol-4-carbaldehído (400 mg, 4.16 mmol) disuelto en THF anhidro (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 72 h en atmósfera de nitrógeno. Después de completarse la reacción indicado por HPLC, la mezcla se diluyó con EtOAc (80 ml) y se inactivó con una solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (10 ml). La capa orgánica se separó y se lavó con agua (40 ml) y salmuera (20 ml). Se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y el sólido se filtró. El filtrado se evaporó a vacío. El producto bruto aislado se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de EtOAc en hexanos al 0-100% para proporcionar 986 mg de (*E*)-(2-(3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo en forma de un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7.93 (s ancho, 2H), 7.64 (d, 1H, *J* = 15.6 Hz), 7.56 (d, 1H, *J* = 7.2 Hz), 7.45 d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 7.11-7.24 (m, 2H), 6.59 (d, 1H, *J* = 15.6 Hz), 1.50 (s, 9H), MS: ES<sup>+</sup>(M+Na)<sup>+</sup>: 351

10 Ejemplo de referencia 3: sal de hidrocloreto de la (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-(2-(3-cloro-5-fluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida B5



(*E*)-(2-(3-(1-(2-(3-cloro-5-fluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo

15 Se añadió carbonato de cesio (98 mg, 0.30 mmol) a una solución de (*E*)-(2-(3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo (100 mg, 0.30 mmol) en DMF anhidra (4 ml). Después se añadió una solución de 1-(2-bromoetoxi)-3-cloro-5-fluorobenceno (76 mg, 0.30 mmol) en DMF (1 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Se diluyó con EtOAc (30 ml) y se lavó con agua (2x40 ml) y salmuera (10 ml). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se filtró. El producto bruto evaporado se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de EtOAc en hexanos al 0-100% para proporcionar 144 mg de (*E*)-(2-(3-(1-(2-(3-cloro-5-fluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo en forma de un sólido blanco. MS: ES<sup>+</sup>(M+Na)<sup>+</sup>: 523

(*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-(2-(3-cloro-5-fluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida

25 Se añadió una solución de HCl en dioxano 4 M (2 ml) a una solución de (*E*)-(2-(3-(1-(2-(3-cloro-5-fluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo (118 mg, 0.23 mmol) en dioxano (3 ml) y la mezcla se agitó durante 6 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. Después la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (15 ml). La sal se filtró, se lavó con EtOAc y se secó durante la noche para dar 99 mg de la sal de ácido clorhídrico de la (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-(2-(3-cloro-5-fluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida en forma de un sólido blanquecino. MS: ES<sup>+</sup>(M+Na)<sup>+</sup>: 423

30 Ejemplo de referencia 4: sal de hidrocloreto de la (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-(2-(3,5-difluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida B3

(*E*)-(2-(3-(1-(2-(3,5-difluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo

35 Como se ha descrito antes para la síntesis de B5, se añadieron carbonato de cesio (64 mg, 0.27 mmol) seguido de una solución de 1-(2-bromoetoxi)-3,5-difluorobenceno (76 mg, 0.30 mmol) en DMF (1 ml) a una solución de (*E*)-(2-(3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo (90 mg, 0.27 mmol) en DMF anhidra (4 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Después se diluyó con 30 ml de EtOAc y se lavó con agua (2x40 ml) y salmuera (10 ml). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se filtró. El filtrado concentrado se purificó por cromatografía en gel de sílice usando un gradiente de EtOAc en hexanos de 0-100% para proporcionar, después de evaporación a presión reducida de las fracciones reunidas, 123 mg de (*E*)-(2-(3-(1-(2-(3,5-difluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo en forma de un sólido blanco. MS: ES<sup>+</sup>(M+Na)<sup>+</sup>: 507

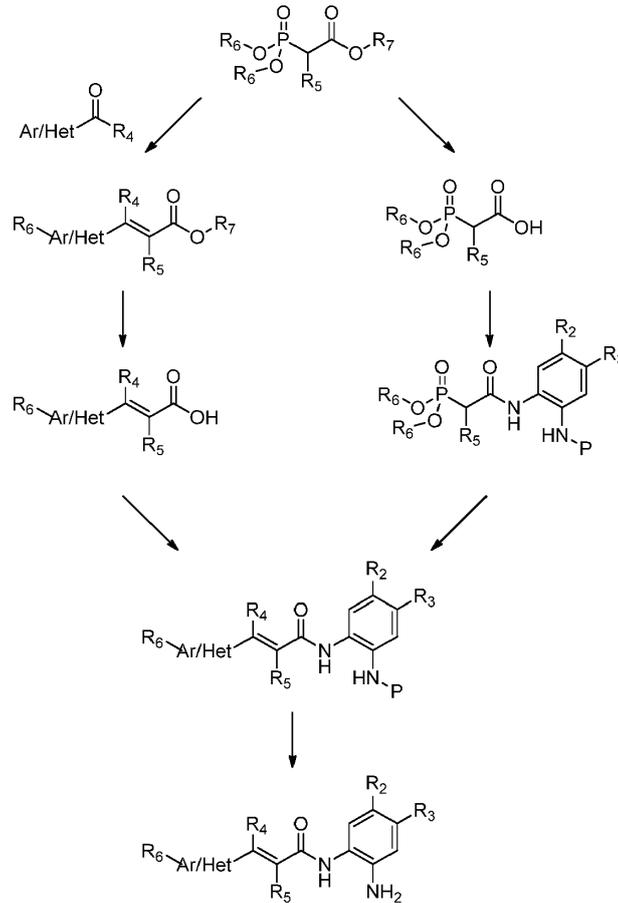
(*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-(2-(3,5-difluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida

45 Se mezcló una solución de (*E*)-(2-(3-(1-(2-(3,5-difluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo (113 mg, 0.23 mmol) en dioxano (3 ml) con una solución de HCl en dioxano 4 M (2 ml). La mezcla se agitó durante 6 h a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Después la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (15 ml). La sal se filtró, se lavó con EtOAc y se secó durante la noche hasta 92 mg de la sal de ácido clorhídrico de la (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-(2-(3,5-difluorofenoxi)etil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida en forma de un sólido blanquecino. MS: RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ: 8.07 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.70 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.28 - 7.54 (m, 4H), 6.62 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 6.45 - 6.57 (m, 3H), 4.55 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 4.37 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H) ES<sup>+</sup>(M+Na)<sup>+</sup>: 407

Tabla: Método B

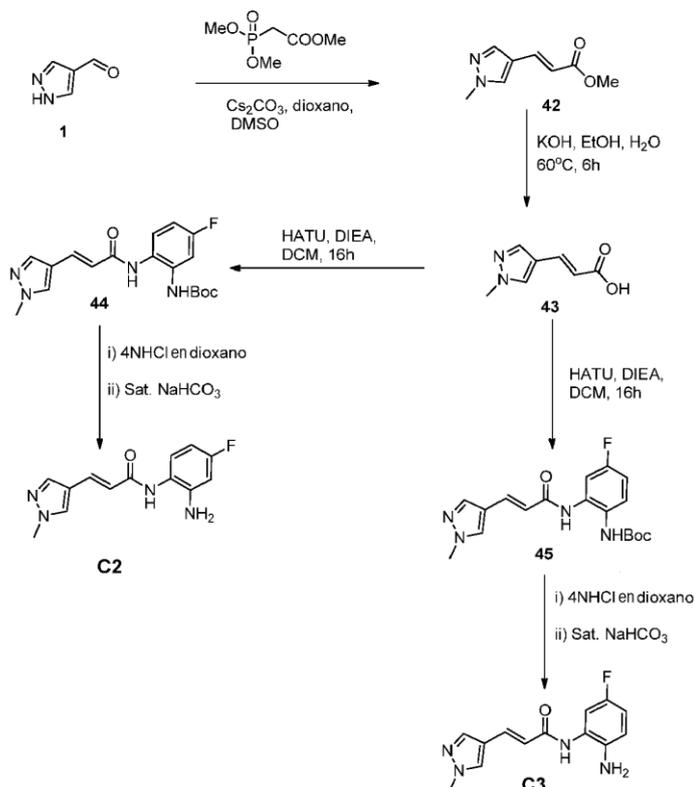
Compuesto	Estructura	reactivo de acoplamiento R1-X	MS	RMN
B1 (sal) (compuesto de referencia)			ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 283	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.13 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.72 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.30 - 7.62 (m, 4H), 6.65 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.05 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 1.17 - 1.46 (m, 1H), 0.56-0.82 (m, 2H), 0.36 - 0.49 (m, 2H)
B2 (sal)			ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 363	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.08 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.73 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.34 - 7.58 (m, 6H), 7.05 (t, J = 9.1 Hz, 2H), 6.63 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 6.63 (dd, J = 15.7, 0.8 Hz, 1H), 6.38 (dt, J = 15.7, 6.3 Hz, 1H), 4.95 (dd, J = 6.3, 0.8 Hz, 2H)
B3 (sal) (compuesto de referencia)			ES <sup>+</sup> (M+Na) <sup>+</sup> 407	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.07 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.70 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 7.28 - 7.54 (m, 4H), 6.62 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 6.45 - 6.57 (m, 3H), 4.55 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 4.37 (t, J = 5.2 Hz, 2H)
B4 (sal) (compuesto de referencia)			ES <sup>+</sup> (M+Na) <sup>+</sup> 429	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.09 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.72 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.40 - 7.54 (m, 3H), 7.37 (dd, J = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.06 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.61 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.59 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 4.45 (t, J = 5.2 Hz, 2H)
B5 (sal) (compuesto de referencia)			ES <sup>+</sup> (M+Na) <sup>+</sup> 423	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.07 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.71 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.32 - 7.57 (m, 4H), 6.77 (dt, J = 8.2, 2.2 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.61 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 6.66 (dt, J = 10.7, 2.2 Hz, 1H), 4.55 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 4.38 (t, J = 5.2 Hz, 2H)
B6 (compuesto de referencia)			ES <sup>+</sup> (M+Na) <sup>+</sup> 367	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.00 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.55 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.17 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.92 - 7.07 (m, 3H), 6.82 - 6.92 (m, 3H), 6.73 (td, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.51 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 4.31 (t, J = 5.2 Hz, 1H)

## Método C



- Los compuestos descritos en la presente memoria, donde R2, R3, R4, R5 son como se definen en cualquier parte en la presente memoria, donde Ar/Het es un heterociclo mono o bicíclico con un grupo amino libre, y R6 representa R1-X, se pueden preparar usando un procedimiento de Horner-Wadsworth-Emmons donde el aldehído o cetona heterocíclico correspondiente, tal como, pero no limitado a 1*H*-pirazol-3-carbaldehído, 1*H*-pirazol-4-carbaldehído, 1-(1*H*-pirazol-4-il)etanona, 1*H*-imidazol-4-carbaldehído, se hace reaccionar con un éster de ácido dialcoxifosfonoacético para dar el correspondiente éster de  $\gamma$ -(*N*-alquilheterociclo)acrilato. El éster se puede hidrolizar y hacer reaccionar el ácido con una *o*-fenilendiamina sustituida o no sustituida, protegida o no protegida, para dar los compuestos de la invención después de desprotección, si es necesario, usando métodos bien conocidos para los expertos en la técnica y que se describen, por ejemplo, en P.G.M. Wuts y T.W. Greene, 2006, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Cuarta edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU.

Ejemplo de referencia 5: (*E*)-*N*-(2-amino-5-fluorofenil)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida C2



(*E*)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo

5 Se añadió  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (1.304 g, 4 mmol) a una solución de 1*H*-pirazol-4-carbaldehído (0.192 g, 2 mmol) en dioxano (8 ml) a temperatura ambiente. Se añadió trimetilfosonoacetato (0.364 g, 0.40 mmol) a esta suspensión, seguido de DMSO (2 ml). La mezcla de reacción se calentó a 100°C durante la noche. Después se diluyó con EtOAc (40 ml), y se lavó con agua (40 ml) y salmuera (20 ml). La capa orgánica se concentró a vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, usando un gradiente de EtOAc en hexanos de 0-100% para proporcionar el (*E*)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo (0.278 g).  $\text{ES}^+$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  167

10 Ácido (*E*)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrílico

15 Se disolvió (*E*)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo (0.24 g, 1.45 mmol) en MeOH (10 ml). Se añadió una solución 1 M de KOH (5.8 ml) y la mezcla se calentó a 70°C durante la noche. Después la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y se añadió agua (10 ml) al residuo. Esta solución se acidificó con cuidado a pH 4 con una solución acuosa de HCl 3 M. El ácido carboxílico precipitó y se extrajo con acetato de etilo. La capa de EtOAc se lavó con agua (2 x 10 ml) y salmuera (1 x 15 ml). Se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó a vacío para dar el ácido (*E*)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrílico en forma de un sólido blanco (160 mg).  $\text{ES}^+$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  153

(*E*)-(5-fluoro-2-(3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo

20 Se añadieron DIPEA (0.16 g, 1.20 mmol), 4-fluoro-*tert*-butil-2-aminofenilcarbamato (0.14 g, 0.64 mmol) y HATU (0.20 g, 0.52 mmol) a una solución de ácido (*E*)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrílico (0.061 g, 0.401 mmol) en DCM (10 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Después de completarse la reacción indicado por HPLC, la solución orgánica se lavó con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y después salmuera. Se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y después el disolvente se evaporó. El (*E*)-(5-fluoro-2-(3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo bruto se purificó por cromatografía en columna usando un gradiente de EtOAc en hexanos al 20-80% para dar el compuesto del título (0.15 g) en forma de un sólido blanquecino.  $\text{ES}^+$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  361.

(*E*)-*N*-(2-amino-4-fluorofenil)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida

30 El (*E*)-(5-fluoro-2-(3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo (0.15 g, 0.42 mmol) se disolvió en dioxano (4 ml). Se añadió una solución de HCl 4 M en dioxano (4 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se observó la precipitación de la sal. Después la mezcla de reacción se diluyó con éter dietílico (20 ml) y la sal de hidrocloreto bruta se filtró. Se agitó con solución saturada de bicarbonato sódico (exceso) y se filtró. El precipitado se lavó con agua y se secó a vacío. Se obtuvo la (*E*)-*N*-(2-amino-4-fluorofenil)-3-(1-metil-1*H*-pirazol-4-

il)acrilamida (73 mg) en forma de un sólido blanquecino. RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.88 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.53 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.12 (dd, J = 8.5, 5.9 Hz, 1H), 6.54 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 6.55 (dd, J = 10.5, 3.0 Hz, 1H), 6.39 (td, J = 8.5, 2.7 Hz, 1H), 3.90 (s, 4H); ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 261.

Ejemplo de referencia 6: (E)-N-(2-amino-4-fluorofenil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)acrilamida C3

5 (E)-(4-fluoro-2-(3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo

Se usó el protocolo descrito antes para la síntesis del (E)-(4-fluoro-2-(3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo sustituyendo el análogo 5-fluoro por el 4-fluoro-*tert*-butil-2-aminofenilcarbamato (0.14 g, 0.64 mmol). Por lo tanto, partiendo del ácido (E)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)acrilico (0.061 g, 0.401 mmol) en DCM (10 ml), se obtuvieron 0.10 g de (E)-(4-fluoro-2-(3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo puro en forma de un sólido blanquecino después de cromatografía en gel de sílice. ES<sup>+</sup>(M+H)<sup>+</sup> 361.

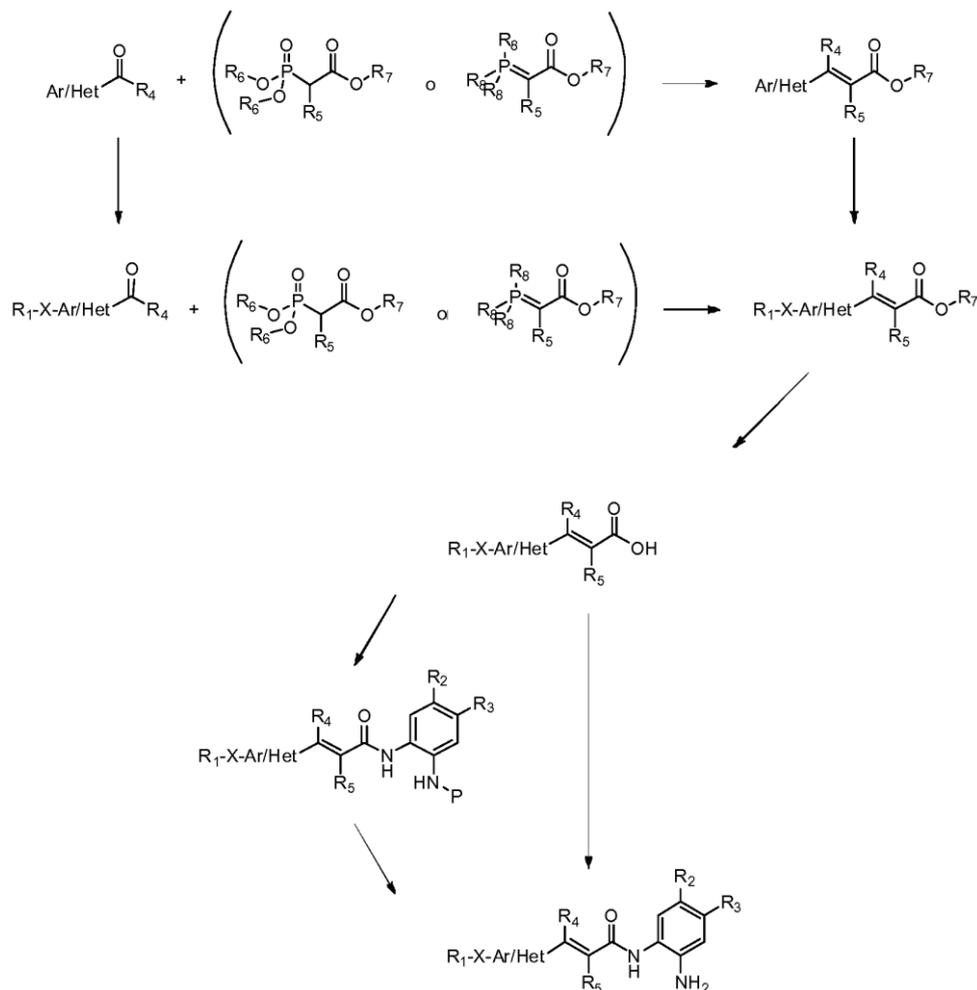
(E)-N-(2-amino-5-fluorofenil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)acrilamida

La eliminación del grupo protector se llevó a cabo por adición de una solución de HCl en dioxano 4 M (2.5 ml) a una solución del (E)-(4-fluoro-2-(3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo (0.10 g, 0.28 mmol) en dioxano (2.5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con éter dietílico (20 ml) y se filtró la sal de hidrocloreto de la (E)-N-(2-amino-5-fluorofenil)-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)acrilamida precipitada. Se suspendió en una solución saturada de bicarbonato sódico y la mezcla se agitó. El sólido se filtró y se lavó con agua y después se secó con vacío para dar el producto puro (58 mg) en forma de un sólido blanquecino. ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 261.

20 Tabla: método 3

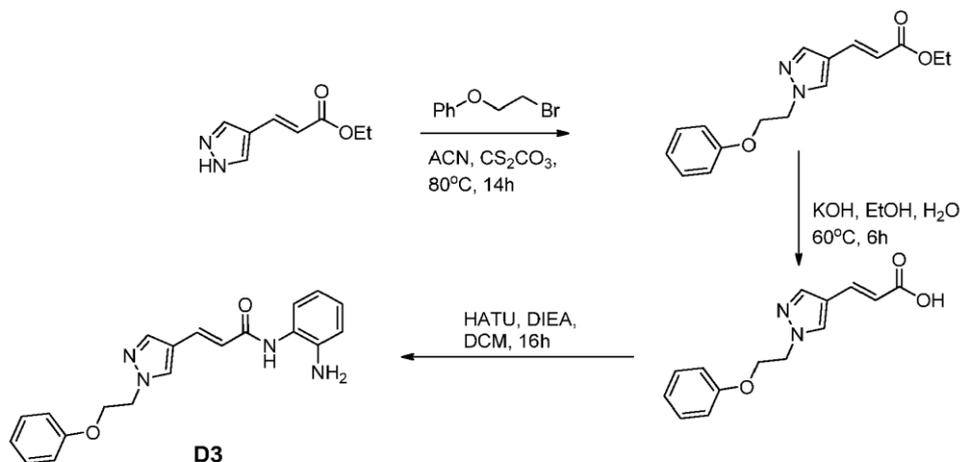
Compuesto	Estructura	R-(RO) <sub>2</sub> P(O)CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> R	diamina	MS	RMN
C1 (compuesto de referencia)		CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -		ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 257	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.94 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.55 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.17 (dd, J = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 7.04 (td, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.74 (td, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.20 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 1.47 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
C2 (compuesto de referencia)		CH <sub>3</sub> -		ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 261	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.88 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.53 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.12 (dd, J = 8.5, 5.9 Hz, 1H), 6.54 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 6.55 (dd, J = 10.5, 3.0 Hz, 1H), 6.39 (td, J = 8.5, 2.7 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H)
C3 (compuesto de referencia)		CH <sub>3</sub> -		ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 261	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.89 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.56 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 9.9, 2.7 Hz, 1H), 6.78 (td, J = 8.5, 2.7 Hz, 1H), 6.84 (dd, J = 8.8, 5.8 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H)

## Método D

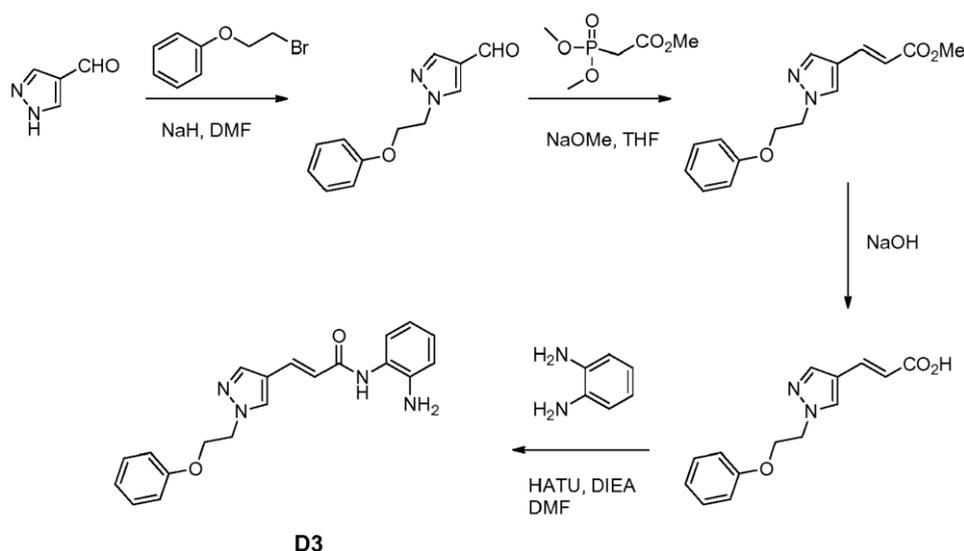


Los compuestos descritos en la presente memoria, donde R1, X, R2, R3, R4, R5 y Ar/Het se definen como se definen en cualquier parte en la presente memoria, se pueden preparar por reacción de un aldehído o cetona heterocíclico mono o bicíclico, que se puede preparar por métodos bien conocidos para los expertos en la técnica y detallados, por ejemplo, en Joule JA y Mills K, *Heterocyclic Chemistry*, Quinta edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU., con un éster de ácido dialcoxilfosforil-acético o un éster de ácido trialkil- o trifenilfosforaniliden-acético para dar el correspondiente éster de  $\gamma$ -(heterociclo)acrilato Ar/Het-CR<sub>4</sub>=CR<sub>5</sub>-COOR<sub>7</sub>. Después se puede añadir el resto R1-X a este compuesto intermedio por métodos de síntesis bien conocidos para los expertos en la técnica, que incluyen, pero no se limitan al acoplamiento de Heck, reacción de Suzuki, alquilación, acilación. Alternativamente, el sustituyente R1-X se puede acoplar al aldehído o cetona antes de la reacción de Wittig o Horner-Wadsworth-Emmons para dar el mismo éster intermedio. Después el éster se puede hidrolizar y hacer reaccionar el ácido con una o-fenilendiamina sustituida o no sustituida, protegida o no protegida, para dar los compuestos de la invención después de desprotección, si es necesario, usando métodos bien conocidos para los expertos en la técnica y que se describen, por ejemplo, en P.G.M. Wuts y T.W. Greene, 2006, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, Cuarta edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU.

Ejemplo de referencia 7: (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida D3



O alternativamente



(*E*)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de etilo

5 Se añadieron carbonato de cesio (0.490 g, 1.5 mmol) y 1-(2-bromoetoxi)benceno (0.261 g, 1.30 mmol) a una solución de (*E*)-3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilato de etilo (0.167 g, 1 mmol) en ACN (8 ml) a temperatura ambiente. La suspensión se agitó durante la noche a 80°C. Después la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y los sólidos precipitados se separaron por filtración. El filtrado se concentró y purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de EtOAc en hexanos de 0-60% para proporcionar el compuesto del título (0.203 g, 71%) en forma de un aceite incoloro. ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 287

10 Ácido (*E*)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrílico

A una solución de (*E*)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de etilo (0.143 g, 0.5 mmol) en EtOH (6 ml) se añadió KOH (0.168 g, 3 mmol) en agua (2 ml) y la solución se calentó a 60°C durante 6 h. Después la mezcla de reacción se evaporó a vacío y se añadió agua (10 ml) al residuo. Esta disolución se acidificó a pH 4 con HCl acuoso 3 N y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporaron a vacío para dar el ácido (0.117g, 91%) en forma de un sólido blanco. ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 259

Síntesis alternativa: 1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-carbaldehído

20 Se añadió hidruro sódico (al 60%, 6.3 g, 1.0 eq) a una solución de 1*H*-pirazol-4-carbaldehído (15 g, 156 mmol) en DMF (150 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar y se agitó a temperatura ambiente. Después se añadió (2-bromoetoxi)benceno (30.2 g, 1 eq) y la mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se inactivó por adición de cloruro amónico acuoso, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en

columna usando un gradiente de hexano/EtOAc (de 10:1 a 0:100). Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron a presión reducida para dar el 1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-carbaldehído (24 g, 71%).

Síntesis alternativa: (*E*)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo

5 Se disolvió fosfonoacetato de trimetilo (20.6 g, 112 mmol) en 350 ml de THF. Después se añadió una solución de NaOMe al 25% en p/p (25 ml) a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agitó durante 30 min. Se añadió 1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-carbaldehído (24 g, 111 mmol) disuelto en 150 ml de THF y la mezcla de reacción se agitó durante 5 h antes de inactivarla con solución acuosa de cloruro amónico y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó por  
10 cromatografía en columna usando un gradiente de hexano/EtOAc (de 30:1 a 1:2) para dar el (*E*)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo (22 g, 72.7%).

Síntesis alternativa: ácido (*E*)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrílico

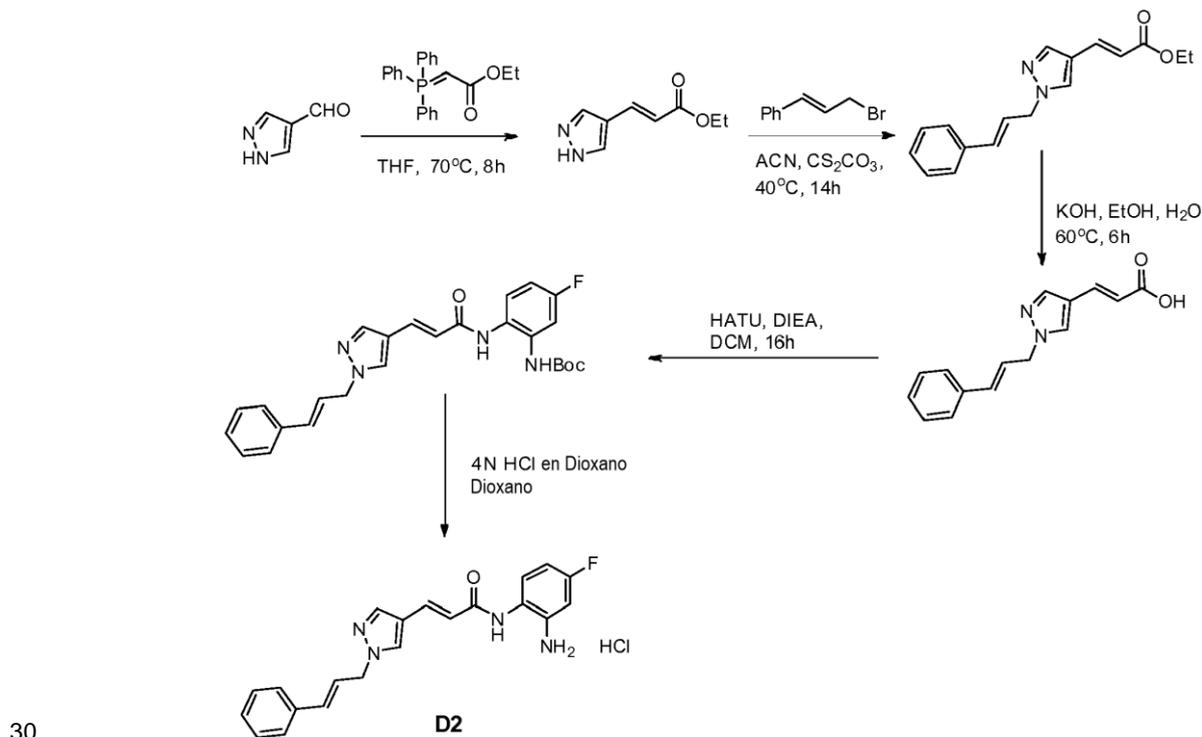
15 Se añadió una solución acuosa de NaOH 3 M NaOH (80 ml) a una solución de (*E*)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo (22 g, 81 mmol) en MeOH (150 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante la noche. El disolvente se evaporó a presión reducida. La solución concentrada se lavó con éter dietílico, se acidificó a pH = 2 con HCl diluido, y se extrajo con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, antes de secarlos sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Las sales se filtraron y se lavaron y el filtrado se evaporó a presión reducida. El producto precipitó en la solución concentrada después de reposar. Se filtró y se secó a vacío para dar el correspondiente ácido (*E*)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrílico (18 g, 86%).

(*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida, D3

20 Se añadieron HATU (0.228 g, 0.60 mmol), DIPEA (0.258 g, 2.00 mmol) y *o*-fenilendiamina (0.129 g, 1.20 mmol) a una solución de ácido ((*E*)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrílico (0.103 g, 0.40 mmol) en DCM (25 ml). La solución se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Los disolventes se evaporaron a vacío y el residuo se recogió en EtOAc (40 ml). Esta solución se lavó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de EtOAc en hexanos al 0-80%) para dar D3 en forma de un sólido blanquecino (0.094 g, 68%). RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ: 8.01 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.55 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 7.21 - 7.31 (m, 2H), 7.17 (dd, J = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 7.03 (td, J = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 6.81 - 6.97 (m, 4H), 6.73 (td, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.53 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 4.34 (t, J = 5.0 Hz, 2H); ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 349.

25

Ejemplo 8: Sal de hidrocioruro de la (*E*)-*N*-(2-amino-4-fluorofenil)-3-(1-(2-fenoxietil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida D2



(*E*)-3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilato de etilo

Se añadió [(etoxicarbonil)metilen]trifenilfosforano (0.836 g, 2.4 mmol) a una solución de 1*H*-pirazol-4-carbaldehído

(0.192 g, 2 mmol) en THF (6 ml) a temperatura ambiente. Esta solución se calentó a 70°C en atmósfera de nitrógeno durante 8 h. El análisis de HPLC/MS indicó que se había completado la reacción y se observaba tanto el isómero E como el Z del producto. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó a vacío para dar el producto bruto. Este producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc en hexanos al 0-80% como eluyente para proporcionar, después de evaporación de las fracciones combinadas, el (E)-3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilato de etilo puro (0.198 g, 60%) en forma de un sólido blanco. ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 167

(E)-3-(1-cinamil-1*H*-pirazol-4-il) acrilato de etilo

Se añadió carbonato de cesio (0.490 g, 1.5 mmol) a una solución de (E)-3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilato de etilo (0.167 g, 1 mmol) en ACN (8 ml) a temperatura ambiente. La suspensión se agitó y se añadió 1-((E)-3-bromoprop-1-enil)benceno (0.256 g, 1.30 mmol). La mezcla se calentó a 40°C durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, los sólidos precipitados se separaron por filtración. El filtrado se concentró y purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de EtOAc en hexanos de 0-60% para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (0.214 g, 76%) . ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 283

Ácido (E)-3-(1-cinamil-1*H*-pirazol-4-il)acrílico

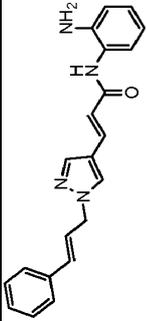
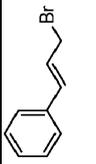
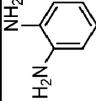
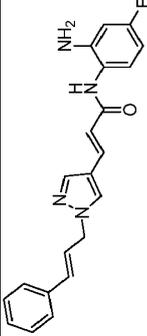
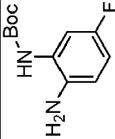
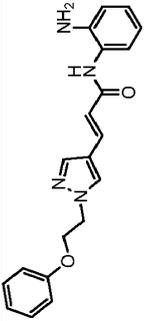
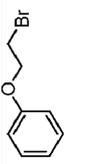
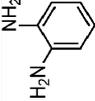
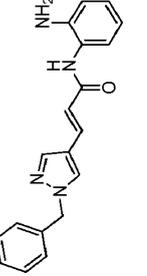
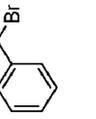
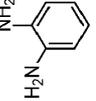
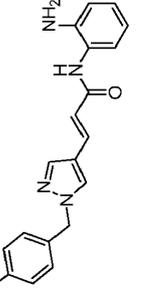
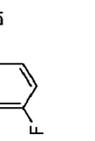
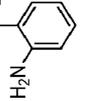
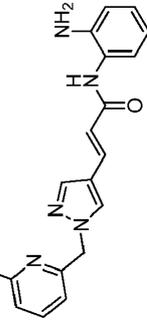
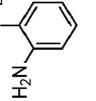
El éster etílico del ácido (E)-3-(1-cinamil-1*H*-pirazol-4-il)acrílico (0.141 g, 0.5 mmol) disuelto en etanol (EtOH, 6 ml) se hidrolizó por adición de una solución de KOH (0.168 g, 3 mmol) en agua (2 ml). La mezcla se calentó a 60°C y la temperatura se mantuvo durante 6 h. Después los disolventes se evaporaron a vacío y se añadió agua (10 ml) al residuo. Esta disolución se acidificó con cuidado a pH 4 con una solución de HCl 3 M en agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera. Se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó para dar el ácido en forma de un sólido blanco (0.118 g, 93%). ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 255

(2-((E)-3-(1-cinamil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)-5-fluorofenil)carbamato de *tert*-butilo

Se disolvió el ácido (E)-3-(1-cinamil-1*H*-pirazol-4-il)acrílico (0.110 g, 0.43 mmol) en DCM (25 ml). Se añadieron HATU (0.246 g, 0.65 mmol), DIPEA (0.278 g, 2.15 mmol) y 2-amino-5-fluorofenilcarbamato de *tert*-butilo (0.147 g, 0.65 mmol) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Los disolventes se evaporaron y el residuo se recogió en EtOAc (40 ml). Después se lavó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó a vacío para dar el producto bruto. El producto se purificó por cromatografía en gel de sílice usando un gradiente de EtOAc en hexanos al 0-70% para dar el (2-((E)-3-(1-cinamil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)-5-fluorofenil)carbamato de *tert*-butilo 5 (0.138 g, 76%) en forma de un sólido blanquecino. ES<sup>+</sup> (M+Na)<sup>+</sup> 485.

Sal de hidrocloreto de la (E)-*N*-(2-amino-4-fluorofenil)-3-(1-cinamil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida

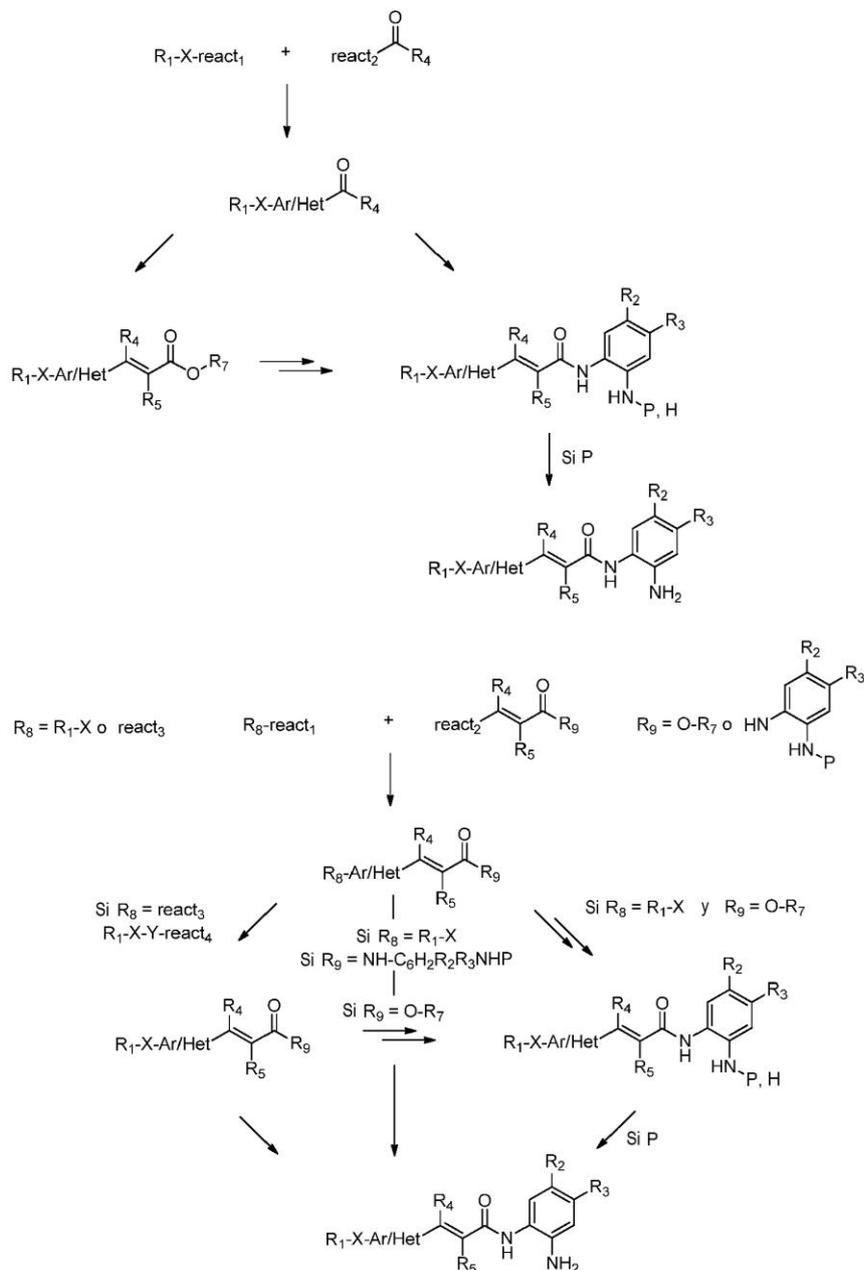
Una solución de HCl en dioxano 4 M (4 ml) se mezcló en atmósfera de nitrógeno con una solución de (2-((E)-3-(1-cinamil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamido)-5-fluorofenil)carbamato de *tert*-butilo (0.138 g, 0.30 mmol) en dioxano (12 ml). La mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Se observó la precipitación de la sal. La mezcla heterogénea se diluyó con EtOAc (12 ml) y el precipitado se filtró, se lavó con disolvente y se secó durante la noche a vacío para dar la sal de hidrocloreto de la (E)-*N*-(2-amino-4-fluorofenil)-3-(1-cinamil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida pura (0.110 g, 92%) en forma de un sólido blanquecino. RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ: 8.08 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.71 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 7.37 - 7.46 (m, 2H), 7.21 - 7.37 (m, 4H), 6.63 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 6.56 - 6.71 (m, 1H), 6.43 (dt, J = 15.8, 6.2 Hz, 1H), 4.96 (dd, J = 6.3, 1.1 Hz, 2H); ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 363

Compuesto	Estructura	reactivo de acoplamiento R1-X	diamina	MS	RMN
D1				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 345	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.98 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.56 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 7.36 - 7.46 (m, 2H), 7.20 - 7.36 (m, 3H), 7.17 (dd, J = 8.1, 1.1 Hz, 1H), 7.03 (td, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 1H), 6.73 (td, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 6.62 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 6.59 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 6.42 (dt, J = 15.8, 6.2 Hz, 1H), 4.93 (d, J = 6.2 Hz, 2H)
D2				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 363	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) - sal de HCl - δ: 8.08 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.71 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 7.37 - 7.46 (m, 2H), 7.21 - 7.37 (m, 4H), 6.63 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 6.56 - 6.71 (m, 1H), 6.43 (dt, J = 15.8, 6.2 Hz, 1H), 4.96 (dd, J = 6.3, 1.1 Hz, 2H)
D3 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 349	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.01 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.55 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 7.21 - 7.31 (m, 2H), 7.17 (dd, J = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 7.03 (td, J = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 6.81 - 6.97 (m, 4H), 6.73 (td, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.53 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 4.34 (t, J = 5.0 Hz, 2H)
D4 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 319	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.98 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.55 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.21 - 7.41 (m, 5H), 7.17 (dd, J = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.03 (ddd, J = 8.0, 7.8, 1.1 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.73 (td, J = 7.7, 1.1 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 5.35 (s, 2H)
D5 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 337	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.99 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.54 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.24 - 7.38 (m, 2H), 7.17 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.99 - 7.13 (m, 2H), 7.03 (td, J = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.73 (td, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 5.33 (s, 2H)
D6 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 333	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 8.07 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.68 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.18 (dd, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H), 7.04 (td, J = 7.7, 1.8 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 8.1, 1.4 Hz, 2H), 6.91 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.74 (td, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 6.60 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 2.53 (s, 3H)

Compuesto	Estructura	reactivo de acoplamiento R1-X	diamina	MS	RMN
D7 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 333	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.80 (s, 1H), 7.62 - 7.71 (m, 1H), 7.47 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.13 - 7.26 (m, 4H), 7.07 - 7.13 (m, 2H), 7.03 (td, J = 7.7, 1.5 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 6.73 (td, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.38 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.14 (t, J = 7.0 Hz, 2H)
D8 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 347	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.92 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.55 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.23 - 7.35 (m, 2H), 7.12 - 7.22 (m, 4H), 7.04 (td, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.74 (td, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.16 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 2.60 (t, J = 7.7 Hz, 3H), 2.18 (tt, J = 7.7, 7.0 Hz, 3H)
D9 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 361	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.90 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.54 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.20 - 7.31 (m, 2H), 7.09 - 7.20 (m, 4H), 7.03 (td, J = 7.5, 1.4 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 6.74 (td, J = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.17 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.63 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.88 (quin, J = 7.0 Hz, 2H), 1.59 (tt, J = 7.6, 7.0 Hz, 2H)
D10 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 369	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.85 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.5 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.46 - 7.40 (m, 5H), 7.17 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 7.04 (td, J = 7.2, 1.5 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 6.73 (td, J = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 4.84 (t, J = 13.5 Hz, 2H)
D11				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 359	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.94 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.53 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.21 - 7.39 (m, 4H), 7.11 - 7.21 (m, 2H), 7.03 (td, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 8.0, 1.2 Hz, 1H), 6.73 (td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 6.39 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 6.18 (dt, J = 15.9, 7.0 Hz, 1H), 4.30 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.75 (q, J = 6.8 Hz, 2H)
D12 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 378	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.90 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.55 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.09 - 7.23 (m, 3H), 7.03 (td, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 6.74 (td, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H), 6.61 - 6.70 (m, 3H), 6.57 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 4.21 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 3.33 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 2.89 (s, 3H), 2.13 (quin, J = 7.1 Hz, 2H)

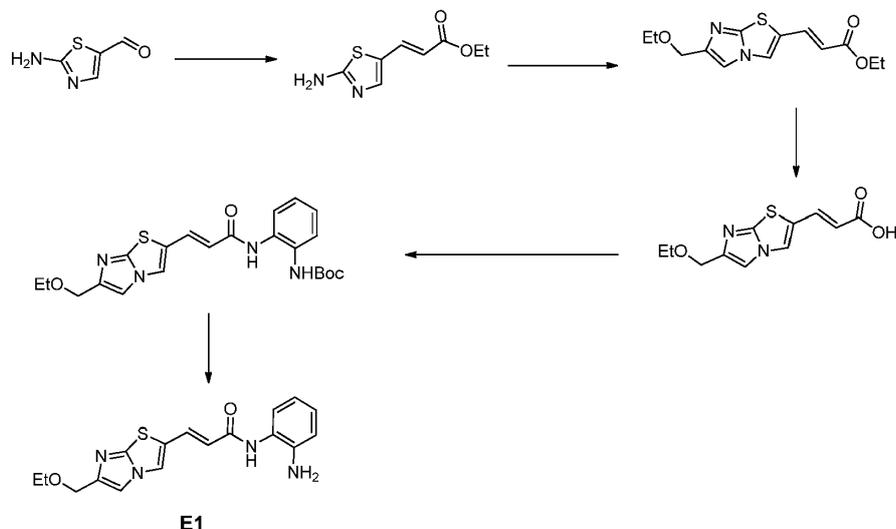
Compuesto	Estructura	reactivo de acoplamiento R1-X	diamina	MS	RMN
D13 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 372	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.81 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.48 (d ancho, J = 7.7 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.32 (d ancho, J = 8.2 Hz, 1H), 7.16 (dd, J = 7.9, 1.3 Hz, 1H), 7.08 (m, 3H), 6.88 (s, 1H), 6.86 (dd, J = 8.1, 1.4 Hz, 1H), 6.73 (td, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 6.49 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 4.42 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.29 (t, J = 7.0 Hz, 2H)
D14 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 363	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.94 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.56 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.12 - 7.35 (m, 6H), 7.04 (td, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 6.74 (td, J = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.34 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 3.82 (t, J = 5.1 Hz, 2H)
D15 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 363	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.96 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.62 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.08 - 7.37 (m, 6H), 6.81 - 6.99 (m, 3H), 6.57 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 4.38 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.95 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.32 (quin, J = 6.4 Hz, 2H)
D16 (compuesto de referencia)					

## Método E



Los compuestos descritos en la presente memoria, donde R1, X, R2, R3, R4, R5 son como se definen en otra parte en la presente memoria, se pueden preparar por formación del anillo de heterociclo usando métodos bien conocidos para los expertos en la técnica, de los cuales se pueden encontrar ejemplos, por ejemplo, en Joule JA y Mills K, *Heterocyclic Chemistry*, Quinta Edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU. Esta metodología permite la síntesis de sistemas heterocíclicos tanto monocíclicos como bicíclicos. En comparación con métodos previos descritos en esta invención, el método 5 consiste en construir un sistema mono o bicíclico que lleva R1-X y/o C(R4)=C(R5)-CONH(C6H2R2R3(NH2)) o un precursor sintético protegido o no protegido (véanse los esquemas anteriores para ejemplos genéricos). Por lo tanto, se acoplan reactivos adecuadamente sustituidos para formar sistemas de anillo heterocíclico usando métodos tales como la síntesis de tiazoles de Hantzsch, la síntesis de indoles de Fisher, la síntesis de oxazoles de Davidson o Robinson-Gabriel, así como otras reacciones de anelación que usan reactivos bifuncionales complementarios para llevar a cabo el cierre de anillo y la aromatización. Se pueden usar técnicas similares para preparar heterociclos bicíclicos por expansión de análogos monocíclicos. Por ejemplo, los triazolotiazoles y triazolooxazoles con puente aza se pueden obtener por métodos descritos, por ejemplo, en Pilla M et al, *Bioorg Med Chem Lett* 20 (2010) 7521; las pirazolopiridinas se pueden preparar como se detalla, por ejemplo, en Riether D et al, *J Med Chem* 53 (2010) 6681. La síntesis de indolazinas sustituidas también está detallada en muchos artículos.

Ejemplo de referencia 9: (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrilamida E1



(*E*)-3-(2-aminotiazol-5-il)acrilato de etilo

5 Se disolvió 2-aminotiazol-5-carbaldehído (0.25 g, 2 mmol) en THF anhidro (20 ml). Se añadió (etoxicarbonilmetil)trifenilfosforano (0.790 g, 2.2 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calentó durante la noche a 65°C. Después la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice usando un gradiente de EtOAc en Hexanos al 50-80% para proporcionar el (*E*)-3-(2-aminotiazol-5-il)acrilato de etilo puro (0.24 g) en forma de un sólido blanco.  $ES^+$  (M+H)<sup>+</sup> 199.

(*E*)-3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrilato de etilo

10 Se añadió 1,3-dicloroacetona (0.252 g, 2 mmol) a una solución de (*E*)-3-(2-aminotiazol-5-il)acrilato de etilo (0.199 g, 1 mmol) en EtOH (5 ml). La solución se calentó a 80°C durante la noche en un vial cerrado. Después la mezcla de reacción se evaporó y el residuo se trató con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (20 ml). Se extrajo con EtOAc (30 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y evaporó. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente de EtOAc en Hexanos al 50-100%) para proporcionar el (*E*)-3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrilato de etilo puro (0.080 g) en forma de un sólido marrón claro.  $ES^+$  (M+H)<sup>+</sup> 281.

Ácido (*E*)-3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrílico

20 Una solución de (*E*)-3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrilato de etilo (0.080 g, 0.28 mmol) en EtOH (5 ml) se trató con una solución acuosa de KOH 1 M (1 ml). La mezcla se calentó a 50°C durante 6 h. Después la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y se añadió agua (10 ml) al residuo. Esta solución se acidificó con cuidado a pH 4 con solución acuosa de HCl 3 M. Puesto que el producto era soluble en agua, la solución acidificada se evaporó a vacío para dar el ácido (*E*)-3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrílico en forma de una sal de HCl junto con sólidos inorgánicos, el cual se usó en la siguiente etapa sin más purificación.  $ES^+$  (M+H)<sup>+</sup> 253.

(*E*)-(2-(3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo

25 La sal de HCl del ácido (*E*)-3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrílico bruta (0.080 g, 0.28 mmol, basado en el (*E*)-3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrilato de etilo) se suspendió en DCM (10 ml). Se añadieron DIPEA (0.22 g, 1.68 mmol), 2-aminofenilcarbamato de *tert*-butilo (0.087 g, 0.42 mmol) y HATU (0.160 g, 0.42 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Después de completarse la reacción indicado por HPLC, la mezcla de reacción se lavó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera.

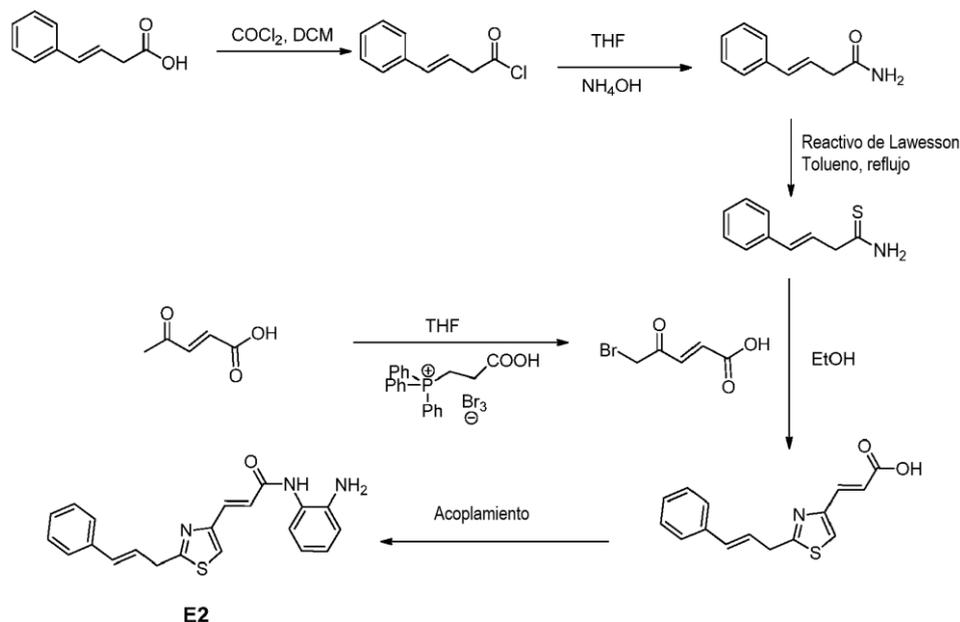
30 Después la capa orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó a presión reducida. El producto bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice usando un gradiente de MeOH en DCM de 0 a 8% para proporcionar el (*E*)-(2-(3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo puro (0.033 g) en forma de un sólido marrón claro.  $ES^+$  (M+Na)<sup>+</sup> 465.

(*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrilamida

35 El (*E*)-(2-(3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-il)acrilamido)fenil)carbamato de *tert*-butilo (0.033 g, 0.071 mmol) se disolvió en dioxano (2 ml). Después se añadió una solución de HCl en dioxano 4 M (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se observó la precipitación de la sal. Después la mezcla de reacción se filtró y se lavó con DCM (3 ml). El sólido blanco se trató con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> para neutralizar el ácido. Después de lavar con agua y secar a vacío, se obtuvo la (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(6-(etoximetil)imidazo[2,1-*b*]tiazol-2-

il)acrilamida pura (14 mg) en forma de un sólido marrón claro.  $ES^+ (M+H)^+$  343.

Ejemplo 10: (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(2-cinamiltiazol-4-il)acrilamida, E2



(*E*)-4-fenilbut-3-enamida

- 5 Una solución de ácido (*E*)-4-fenilbut-3-enoico (1.5 g, 9.25 mmol) en diclorometano (100 ml) se enfrió a 0°C. Después se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (1.76 g, 13.86 mmol). Después de la adición de tres gotas de DMF anhidra, la mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. El diclorometano se evaporó a vacío. El residuo bruto se disolvió en tolueno (25 ml) y se concentró a vacío. Esta operación se repitió dos veces para dar el cloruro de ácido, que se disolvió en THF (30 ml) y se trató con solución acuosa de hidróxido amónico (30%) (20 ml) para dar la correspondiente amida. La purificación por cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de EtOAc en hexano al 20-100% dio la (*E*)-4-fenilbut-3-enamida pura (1.3 g) en forma de un sólido blanco.

(*E*)-4-fenilbut-3-entioamida

- 15 Se añadió reactivo de Lawesson (1.88 g, 4.65 mmol) a la (*E*)-4-fenilbut-3-enamida (500 mg, 3.10 mmol) en tolueno (25 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 24 h y después se enfrió a temperatura ambiente. Después el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo bruto se purificó dos veces por cromatografía en columna para dar > 90% de (*E*)-4-fenilbut-3-entioamida pura (320 mg).

Ácido (*E*)-3-(2-cinamiltiazol-4-il)acrílico

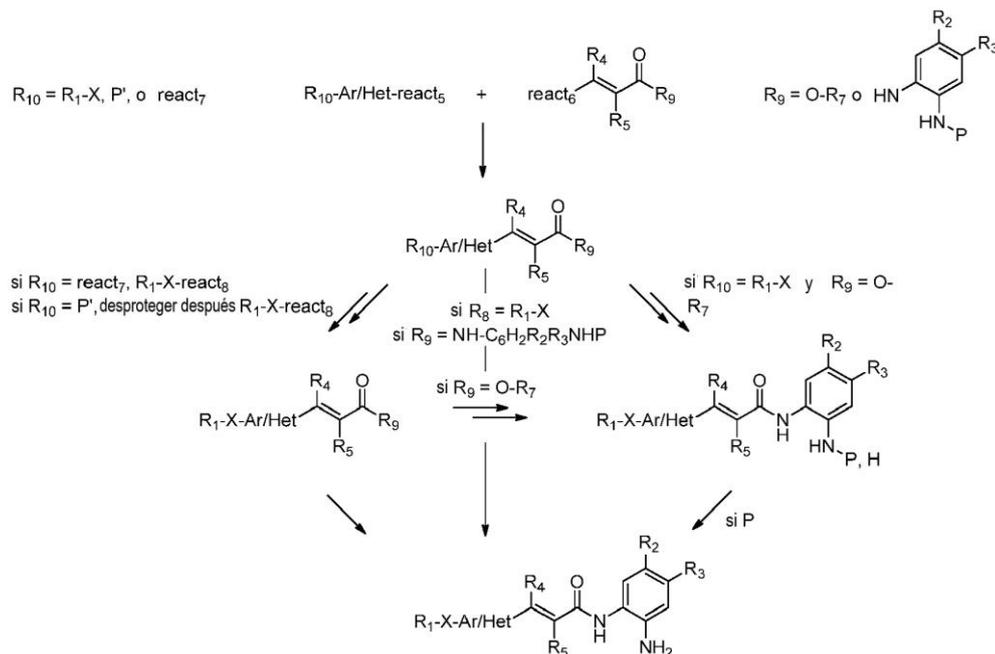
- 20 Se disolvió la (*E*)-4-fenilbut-3-entioamida (120 mg, 0.68 mmol) en etanol (20 ml). Después se añadió ácido (*E*)-5-bromo-4-oxopent-2-enoico (290 mg, 1.50 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h. La solución se concentró y el residuo bruto se purificó por cromatografía en columna para dar el ácido (*E*)-3-(2-cinamiltiazol-4-il)acrílico (90 mg).  $ES^+ (M+H)^+$  272.

[Nota: El ácido (*E*)-5-bromo-4-oxopent-2-enoico se sintetizó a partir del ácido (*E*)-4-oxopent-2-enoico disponible en el comercio usando tribromuro de (2-carboxietil)trifenilfosfonio en THF]

(*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(2-cinamiltiazol-4-il)acrilamida

- 25 Se añadieron DIPEA (0.21 g, 0.54 mmol), *o*-fenilendiamina (39 mg, 0.36 mmol) y HATU (89 mg, 0.23 mmol) a una solución de ácido (*E*)-3-(2-cinamiltiazol-4-il)acrílico (50 mg, 0.18 mmol) en DCM (20 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Después de completarse la reacción indicado por HPLC, la mezcla de reacción se lavó con solución saturada de  $NaHCO_3$  y salmuera. Después la capa orgánica se secó ( $Na_2SO_4$ ) y se evaporó para dar el producto bruto. La cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de 0-10% de MeOH, que contenía  $NH_3$  al 0,1% en DCM dio la (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(2-cinamiltiazol-4-il)acrilamida pura (26 mg) en forma de un sólido de color marrón claro.  $ES^+ (M+H)^+$  362. RMN  $^1H$  ( $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.66 (s, 1H), 7.60 (d,  $J = 15.4$  Hz, 1H), 7.39 - 7.45 (m, 2H), 7.27 - 7.35 (m, 2H), 7.20 (dd,  $J = 8.0, 1.4$  Hz, 1H), 7.17 - 7.26 (m, 1H), 7.04 (ddd,  $J = 8.0, 7.7, 1.4$  Hz, 1H), 7.05 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 6.87 (dd,  $J = 8.0, 1.4$  Hz, 1H), 6.74 (td,  $J = 7.7, 1.4$  Hz, 1H), 6.66 (dt,  $J = 15.9, 1.1$  Hz, 1H), 6.47 (dt,  $J = 15.9, 6.9$  Hz, 1H), 3.95 (dd,  $J = 6.9, 1.1$  Hz, 2H)

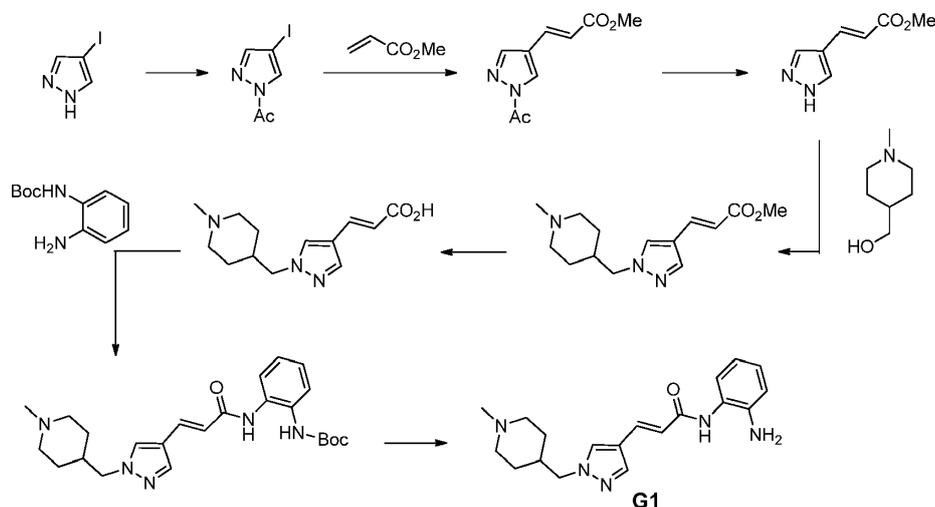
## Método G



Los compuestos descritos en la presente memoria, donde R1, X, R2, R3, R4, R5 y Ar/Het se definen como se han definido en cualquier parte en la presente memoria, se pueden preparar por reacciones de acoplamiento cruzado bien conocidas para los expertos en la técnica, tales como la reacción de Mizoroki-Heck, el acoplamiento de Suzuki-Miyaura, el acoplamiento de Negishi, y otros métodos similares como se describe, por ejemplo, en Alonso DA y Najera C, *Science of Synthesis*, 47 (2010), 439-482 y presentadas en el esquema genérico anterior, donde react<sub>i</sub> (i = 5-8) son restos de reactivos seleccionados según sea adecuado para las diferentes estrategias de acoplamiento mencionadas antes, y donde P y P' son grupos protectores adecuados que se pueden introducir usando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica y que se describen, por ejemplo, en P.G.M. Wuts y T.W. Greene, 2006, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, Cuarta edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU. Por ejemplo, se pueden preparar compuestos de la invención usando la reacción de Mizoroki-Heck de un heterociclo halogenado mono o bicíclico, o un triflato de heterociclo mono o bicíclico (react<sub>5</sub> = halógeno, OTf, donde Tf representa trifluorometilsulfonilo o triflilo), que se puede preparar por métodos bien conocidos para los expertos en la técnica y detallados, por ejemplo, en Joule JA y Mills K, *Heterocyclic Chemistry*, Quinta edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU., con un alqueno activado, es decir, éster acrílico sustituido o no sustituido (react<sub>6</sub> = H), para dar el correspondiente éster de  $\gamma$ -(heterociclo)acrilato Ar/Het-CR<sub>4</sub>=CR<sub>5</sub>-COOR<sub>7</sub>, usando grupos protectores en el heterociclo cuando sea necesario. Después se puede añadir el resto R1-X a este compuesto intermedio por métodos de síntesis bien conocidos para los expertos en la técnica, que incluyen, pero no se limitan al acoplamiento de Heck, reacción de Suzuki, alquilación, acilación. Alternativamente, el sustituyente R1-X se puede acoplar al heterociclo mono o bicíclico antes de la reacción de Heck para dar el mismo éster intermedio. En todos los casos el resto R1-X se puede construir en el armazón en varias etapas usando metodologías de química sintética bien conocidas para los expertos en la técnica. Después el éster se puede hidrolizar y hacer reaccionar el ácido con una o-fenilendiamina sustituida o no sustituida, protegida o no protegida, para dar los compuestos de la invención después de desprotección, si es necesario, usando métodos bien conocidos para los expertos en la técnica y que se describen, por ejemplo, en P.G.M. Wuts y T.W. Greene, 2006, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, Cuarta edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, EE.UU. Alternativamente, el éster del éster de  $\gamma$ -(heterociclo)acrilato intermedio protegido o no protegido Ar/Het-CR<sub>4</sub>=CR<sub>5</sub>-COOR<sub>7</sub> descrito antes, se podría hidrolizar y después hacer reaccionar el ácido con una o-fenilendiamina sustituida o no sustituida, protegida o no protegida, para dar compuestos de la invención después de desprotección si es necesario, usando métodos bien conocidos para los expertos en la técnica. Finalmente, el acoplamiento de Heck del heterociclo mono o bicíclico halogenado, protegido o no protegido, o triflato de heterociclo mono o bicíclico, se podría llevar a cabo usando una acrilamida sustituida o no sustituida preparada por reacción del correspondiente ácido acrílico sustituido o no sustituido, preparado por métodos bien conocidos por los expertos en la técnica, con una o-fenilendiamina sustituida o no sustituida protegida. Después se puede añadir el resto R1-X a la amida intermedia Ar/Het-CR<sub>4</sub>=CR<sub>5</sub>-CONH(o-N(R<sub>8</sub>R<sub>9</sub>)C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>R<sub>2</sub>R<sub>3</sub>), después de desprotección de Ar/Het cuando sea necesario, por métodos sintéticos bien conocidos para los expertos en la técnica, que incluyen, pero no se limitan al acoplamiento de Heck, reacción de Suzuki, alquilación, acilación. Alternativamente, el sustituyente R1-X se puede acoplar con el heterociclo mono o bicíclico antes de la reacción de Heck. Como se ha mencionado antes, el resto R1-X se puede construir en la molécula en varias etapas usando metodologías de química sintética bien conocidas para los expertos en la técnica y que incluyen, pero no se limitan a oxidación, reducción, acoplamiento, protección y desprotección. Los compuestos de la invención se pueden obtener por desprotección de la orto-amina en la amida usando métodos bien conocidos

para los expertos en la técnica.

Ejemplo de referencia 12: (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-((1-metilpiperidin-4-il)metil)-1*H* pirazol-4-il)acrilamida G1



1-(4-Yodo-1*H*-pirazol-1-il)etanona

- 5 Se añadieron cloruro de acetilo (38.2 ml, 1.07 equiv) y trietilamina (86 ml, 1.2 equiv) a 0°C a una solución de 4-yodo-1*H*-pirazol (100 g, 0.515 mol) en diclorometano (1 litro). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en agua. La capa acuosa se extrajo con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico anhidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se filtraron. El residuo obtenido por concentración se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc de 20:1
- 10 a 1:1) para dar el *N*-acetil-4-yodo-1*H*-pirazol en forma de un sólido (110 g, 91%).

(*E*)-3-(1-acetil-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo

- Un matraz de múltiples bocas de 5 litros se equipó con un agitador mecánico, un adaptador de entrada de gas y un termómetro, y se enfrió en un baño de sal-hielo a entre -10 y -15°C. El sistema se purgó con nitrógeno seco durante unos minutos. Se añadió una solución de 1-(4-yodo-1*H*-pirazol-1-il)etanona (100 g, 0.425 mol) 1.2 litros de *N,N*-dimetilformamida (DMF) seguido de acrilato de metilo (110 g, 1.275 mol), trietilamina (64 ml, 0.458 mol), fosfito de trimetilo (5.27 g, 42.5 mmol), y acetato de paladio (4.76 g, 21.25 mmol). Después la mezcla se calentó a 110°C en atmósfera de nitrógeno seco y se agitó durante 1 hora. El análisis por LC/MS de una parte alícuota mostró solo 10%
- 15 de formación de producto. Después se añadieron fosfito de trimetilo (5.27 g, 42.5 mmol) y acetato de paladio (4.76 g, 21.25 mmol) a la mezcla de reacción. La reacción se completó después de otras 1,5 h seguido por LC/MS. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y se separó la DMF a presión reducida. El residuo se agitó con 1,5 litros de cloruro de metileno, y la suspensión se filtró a través de un tampón de gel de sílice. Después el filtrado se recogió y se lavó con 1 litro de ácido clorhídrico al 3%, 1 litro de agua y 1 litro de salmuera saturada. La solución se secó sobre sulfato magnésico y se filtró. El disolvente se separó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc de 10:1 a 1:1) para dar el (*E*)-3-(1-acetil-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo en forma de un sólido (70 g, 84%).
- 20
- 25

(*E*)-3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo

- Se añadió hidrogenocarbonato sódico, NaHCO<sub>3</sub> (32 g, 1.15 equiv), a una suspensión del compuesto protegido, (*E*)-3-(1-acetil-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo (65 g, 0.33 mol), en MeOH (600 ml). La mezcla se agitó durante 7 h a temperatura ambiente. Después los sólidos se filtraron y se lavaron con diclorometano. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hexano/EtOAc de 8:1 a 1:2) para dar el compuesto del título en forma de un sólido (47g, 92%).
- 30

(*E*)-3-(1-((1-metilpiperidin-4-il)metil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo

- Se añadieron trifenilfosfina (393 mg, 1.5 mmol) y (*E*)-3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo, preparado como se ha descrito antes, (12 mg, 1 mmol) a una solución de *N*-metil-4-hidroximetil-piperidina (165 mg, 1.25 mmol) en tetrahidrofurano (THF, 2 ml). Después de añadir azodicarboxilato de di-*tert*-butilo (345 mg, 1.5 mmol), la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Los disolventes se evaporaron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice usando gradiente de Hexano en EtOAc de 1:1 a 0:100 v/v. Las fracciones que contenían producto se combinaron y se evaporaron para dar 220 mg de material puro (0.84 mmol, 84%).
- 35

Ácido (*E*)-3-(1-((1-metilpiperidin-4-il)metil)-1*H*-pirazol-4-il)acrílico

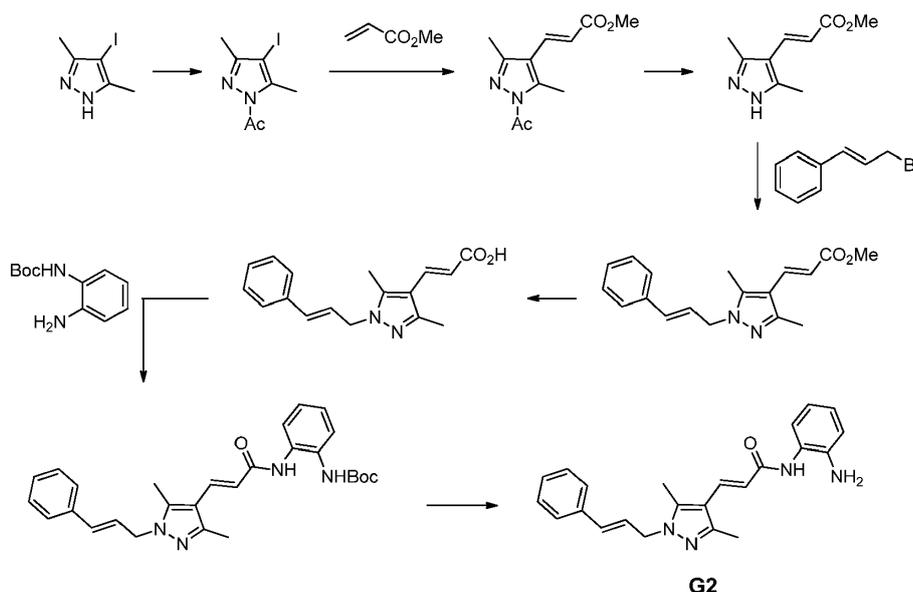
Se añadió una solución acuosa de hidróxido sódico 3 N (2 ml) a una solución de (*E*)-3-(1-((1-metilpiperidin-4-il)metil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo (220 mg) en MeOH (5 ml) y se añadió THF (3 ml) y NaOH ac. (3 N, 2 ml) para saponificar el éster de metilo. El tratamiento se llevó a cabo como se describe en el ejemplo 12 para generar 209 mg de producto puro (0.84 mmol, 100%).

*(E)*-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-((1-metilpiperidin-4-il)metil)-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida **G1**

Una solución del ácido acrílico preparado antes (130 mg, 0.52 mmol) en DMF (2 ml) se trató con (2-aminofenil)carbamato de *tert*-butilo (114 mg, 0.55 mmol), HATU (262 mg, 1.2 eq), y diisopropiletilamina (DIPEA, 0.34 ml) a 0°C. La solución se dejó calentar. Después de agitar 16 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se inactivó con solución acuosa de cloruro amónico. La mezcla se diluyó con agua, se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub>, y salmuera. Se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar el *tert*-butiloxicarbonilo **G1** puro (56 mg, 0.13 mmol, 25%).

La desprotección del grupo amino se logró como se ha descrito antes por tratamiento durante la noche de una solución en dioxano (1 ml) y MeOH (1 ml) con HCl en dioxano 4 M (0.5 ml). La purificación por HPLC preparativa dio el compuesto **G1** en forma de una sal de HCl. Este producto se neutralizó con una solución de NaHCO<sub>3</sub> y se volvió a purificar por HPLC preparativa para dar **G1** puro (18 mg, 0.053 mmol, 41%).

RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.97 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.55 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.17 (dd, J = 8.0, 4.5 Hz, 1H), 7.05 (dt, 1H), 6.88 (dd, J = 8.0, 4.5 Hz, 1H), 6.75 (dt, 1H), 6.60 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 4.14 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 3.6-3.4 (ancho, 2H), 3.1-2.9 (ancho, 2H), 2.84 (s, 3H); 2.22 (ancho, 1H), 1.95-1.80 (ancho, 2H), 1.7-1.45 (ancho, 2H); ES<sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 340.

Ejemplo 13: (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-cinamil-3,5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida **G2***(E)*-3-(3,5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo

La preparación del acrilato de dimetilpirazolilo se llevó a cabo usando un protocolo similar al descrito para la síntesis del (*E*)-3-(1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo (ejemplo 12).

Por lo tanto, a partir de 1.1 g de 4-yodo-3,5-dimetil-1*H*pirazol (5 mmol), se aislaron 440 mg de (*E*)-3-(3,5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo (2.44 mmol, 49% en 3 etapas).

*(E)*-3-(1-cinamil-3,5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo

Se disolvió el (*E*)-3-(3,5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)acrilato de metilo (360 mg, 2 mmol) en DMF (6 ml). Se añadió hidruro sódico, (dispersión de NaH al 60%, 80 mg, 1 equiv) en pequeñas porciones mientras se mantenía la temperatura a 0°C. Después la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió bromuro de cinamilo (394 mg, 1 equiv). Después la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se inactivó con solución acuosa de cloruro amónico, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando un gradiente de hexano/EtOAc (de 10:1 a 0:100 v/v). Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y los disolventes se separaron a presión reducida para dar el (*E*)-3-(1-cinamil-3,5-dimetil-1*H*-pirazol-

4-il)acrilato de metilo (401 mg, 68%).

Ácido (*E*)-3-(1-cinamil-3,5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)acrílico

El ácido se obtuvo como se ha descrito antes en los ejemplos 12 y 13. Por lo tanto, se obtuvieron 44 mg de ácido puro (0.16 mmol) por hidrólisis básica de 124 mg (0.42 mmol) para un rendimiento de 38%.

5 (*E*)-*N*-(2-aminofenil)-3-(1-cinamil-3, 5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)acrilamida G2

El compuesto del título **G2** se obtuvo en dos etapas como se ha descrito antes por acoplamiento del ácido (44 mg, 0.16 mmol) con (2-aminofenil)carbamato de *tert*-butilo por desprotección con ácido. La purificación por HPLC preparativa de la sal de hidrocloreuro neutralizada dio **G2** puro (25 mg, 0.065 mmol, 42%).

10 RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.65 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.38 (d ancho, J = 8.4 Hz, 2H), 7.29 (dt ancho, J = 8.4, 1.5 Hz, 2H), 7.25-7.23 (m, 1H), 7.17 (dd, J = 8.0, 4.5 Hz, 1H), 7.04 (dt, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 6.88 (dd, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 6.75 (dt, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 6.53 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 6.4-6.3 (2 multipletes, 2H), 4.80 (d, J = 4.2 Hz, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.41 (s, 3H); ES<sup>+</sup>(M+H)<sup>+</sup> 373.

Compuesto	Estructura	acoplamiento	R1-X-Y-reacto	MS	RMN
G1 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 340	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.97 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.55 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.17 (dd, J = 8.0, 4.5 Hz, 1H), 7.05 (dt, 1H), 6.88 (dd, J = 8.0, 4.5 Hz, 1H), 6.75 (dt, 1H), 6.60 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 4.14 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 3.6-3.4 (ancho, 2H), 3.1-2.9 (ancho, 2H), 2.84 (s, 3H); 2.22 (ancho, 1H), 1.95-1.80 (ancho, 2H), 1.7-1.45 (ancho, 2H)
G2				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 373	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) δ: 7.65 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.38 (d ancho, J = 8.4 Hz, 2H), 7.29 (dt ancho, J = 8.4, 1.5 Hz, 2H), 7.25-7.23 (m, 1H), 7.17 (dd, J = 8.0, 4.5 Hz, 1H), 7.04 (dt, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 6.88 (dd, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 6.75 (dt, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 6.53 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 6.4-6.3 (2 multipletes, 2H), 4.80 (d, J = 4.2 Hz, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.41 (s, 3H)
G3 = D10 (compuesto de referencia)				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 369	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) - sal de HCl - δ: 7.94 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.67 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.56 - 7.42 (m, 8H), 7.41 - 7.36 (m, 1H), 6.63 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 4.90 (t, J = 13.5 Hz, 2H)
G4 = D2				ES <sup>+</sup> (M+H) <sup>+</sup> 363	RMN <sup>1</sup> H (CD <sub>3</sub> OD) - sal de HCl - δ: 8.08 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.71 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 7.37 - 7.46 (m, 2H), 7.21 - 7.37 (m, 4H), 6.63 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 6.56 - 6.71 (m, 1H), 6.43 (dt, J = 15.8, 6.2 Hz, 1H), 4.96 (dd, J = 6.3, 1.1 Hz, 2H)

## Métodos

## Inhibición de la enzima HDAC

El ensayo de inhibición de la actividad de HDAC se llevó a cabo para determinar la capacidad de un compuesto de ensayo para inhibir la actividad enzimática de HDAC. Se prepararon diluciones seriadas de inhibidores de HDAC en tampón de ensayo de HDAC (Tris/HCl 25 mM, pH 8.0, NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, pH 8) en placas de ensayo de 96 pocillos (Fisher scientific, nº 07-200-309) y se preincubaron durante 2 horas a temperatura ambiente en presencia de BSA 125 µg/ml y HDAC1 purificada (BPS Bioscience, San Diego, CA, nº 50051), HDAC2 (BPS Bioscience, nº 50053), o HDAC3/NcoR2 (BPS Bioscience, nº 50003) en concentraciones 1.25, 1.32, y 0.167 µg/ml, respectivamente. Después de la preincubación, se añadió el sustrato Fluor-de-Lys™ (Enzo Life Sciences, Plymouth Meeting, PA, B ml-KI104-0050) a una concentración final 10 µM y las placas se incubaron más durante 30 minutos a temperatura ambiente. La reacción enzimática se detuvo por adición de Tricostatina A (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, nº T8552, concentración final: 100 nM) y tripsina (MP Biomedicals, Solon, OH, nº 02101179) para alcanzar una concentración final de 100 µg/ml. Después de 15 minutos de incubación a temperatura ambiente, se registró la fluorescencia usando un fluorómetro Spectramax M2 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) con excitación a 365 nm y emisión a 460 nm. Se calcularon los valores de CI50 usando una ecuación de dosis-respuesta sigmoidea (pendiente variable) en GraphPad Prism® 5 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA). Los resultados para compuestos seleccionados de la invención en el ensayo de inhibición de la actividad de HDAC se presentan en la tabla 1: (Intervalos de CI50: IA > 20 µM, A < 1 µM, 1 < B < 5 µM, 5 < C < 10 µM, 10 < D < 20 µM, ND: no determinado)

Tabla 1: CI50 para la inhibición de las isoformas HDAC1, 2 y 3

Compuesto	HDAC1	HDAC2	HDAC3
D1	A	A	A
D2	B	B	A
D3 (compuesto de referencia)	A	A	A
D9 (compuesto de referencia)	A	A	A
B6 (compuesto de referencia)	A	A	A
B2	A	B	A
B4 (compuesto de referencia)	A	B	A
B3 (compuesto de referencia)	A	A	A
D16 (compuesto de referencia)	B	B	A
B5 (compuesto de referencia)	A	A	A
A12(compuesto de referencia)	B	C	A
D4 (compuesto de referencia)	A	B	A
D7 (compuesto de referencia)	A	B	A
D8 (compuesto de referencia)	A	A	A
D14 (compuesto de referencia)	A	A	A
D11	A	A	A
D5 (compuesto de referencia)	A	B	A
D12 (compuesto de referencia)	A	A	A
D13 (compuesto de referencia)	A	A	A
D15 (compuesto de referencia)	A	A	A
D10 (compuesto de referencia)	A	B	A
D6 (compuesto de referencia)	B	B	A
A6 (compuesto de referencia)	C	C	A
A8 (compuesto de referencia)	A	B	A
A9 (compuesto de referencia)	B	B	A
A10 (compuesto de referencia)	B	B	A

Compuesto	HDAC1	HDAC2	HDAC3
E1 (compuesto de referencia)	B	C	A
A2 (compuesto de referencia)	C	D	A
A7 (compuesto de referencia)	B	B	A
C2 (compuesto de referencia)	IA	IA	B
C3 (compuesto de referencia)	B	B	A
A11 (compuesto de referencia)	B	B	A
C1 (compuesto de referencia)	B	B	A
B1 (compuesto de referencia)	B	C	A
A1 (compuesto de referencia)	B	C	A
A3 (compuesto de referencia)	C	C	A
A4 (compuesto de referencia)	IA	IA	B
A5 (compuesto de referencia)	D	D	A
E2	A	B	A
G1 (compuesto de referencia)	B	B	A
G2	B	B	A

#### Determinación de la estabilidad en ácido

Se preparó una solución 100  $\mu$ M del compuesto de ensayo por dilución de una solución madre en DMSO 10 mM en una solución 0.01 M de HCl en agua desionizada. Inmediatamente después de mezclar, se tomó una muestra de una parte alícuota (100  $\mu$ l) y se analizó por HPLC/UV. Se determinó el área bajo el pico del compuesto y se usó como punto de referencia de tiempo cero. El resto de la muestra ácida se incubó a 50°C y se tomaron muestras después de 2, 4 y 24 horas de incubación. En algunas ocasiones, se tomaron muestras a las 30 en lugar de 24 horas. Estas se analizaron por el mismo método de HPLC/UV y se midió el área del pico correspondiente al compuesto de ensayo. Después se calculó el porcentaje que quedaba en un tiempo de medición dado, como la relación del área bajo el pico después de incubación a la del tiempo cero por 100. En los casos en los que se registró un tiempo de medición de 30 horas, el porcentaje que quedaba a las 24 horas se obtuvo por interpolación de la curva del porcentaje que queda frente al tiempo, suponiendo un proceso unimolecular, es decir, un decrecimiento monoexponencial. Los porcentajes que quedan después de 24 horas de incubación se presentan en la tabla 2 más adelante, donde A corresponde a más de 60%, B es entre 40 y 60%, C cubre de 20 a 40% y D significa menos de 20%.

#### Estudios de penetración en el cerebro

Los compuestos de ensayo se prepararon en 0.5 mg/ml o 5 mg/ml en hidroxipropil-P-ciclodextrina al 30%, acetato sódico 100 mM pH 5.5, DMSO al 5%. Se administraron a ratones C57/BL6/J por vía s.c. 5 mg/kg o 50 mg/kg, o vía i.v. 5 mg/kg. Los animales se sacrificaron antes de la dosis, a los 5, 15, 30 min, 1, 2 y 4 horas después de la dosis y se obtuvo el plasma y cerebro. Se usaron tres animales por dosis por tiempo de medición. Los niveles de compuesto en el plasma y cerebro se determinaron por métodos de LC/MS/MS convencionales. La relación cerebro/plasma (BPR) se calculó como la relación de  $C_{m\acute{a}x}(\text{cerebro})/C_{m\acute{a}x}(\text{plasma})$ . Los resultados se muestran en la tabla 2, donde IA corresponde a una BPR menor de 0.1, D es entre 0.1 y 0.2, C es de 0.2 a 0.5, B comprende de 0.5 a 1 y A es mayor que 1.

#### Ensayo de inhibición de desacetilasa en célula (ensayo de DAC)

Se sembraron células GM 15850 (línea de células linfoblastoides) en placas de 96 pocillos en una densidad adecuada (100000 células/pocillo) en 90  $\mu$ l de medio RPMI1640 que contenía suero bovino fetal al 10% en v/v (FBS), penicilina/estreptomicina al 1% en v/v, y L-glutamina al 1% en v/v. Se hicieron diluciones del compuesto en DMSO al 100% seguido de dilución paralela en medio con DMSO al 2%. Se añadieron 10  $\mu$ l de las diluciones del compuesto a las células para lograr las concentraciones deseadas. La concentración final de DMSO en cada pocillo era 0.2%. Las células se incubaron durante 4 h a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub>. Después de incubación, las células se centrifugaron y se separó el líquido sobrenadante. Los sedimentos celulares se lavaron con 100  $\mu$ l de solución salina tamponada con fosfato (PBS) y después se lisaron con 45  $\mu$ l de tampón de lisis (tampón de ensayo de HDAC a pH 8.0 (Tris/HCl 25 mM, NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM) + Igepal CA-630 al 1% en v/v). Para iniciar la reacción, se añadió el sustrato de HDAC KI-104 (Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY) en una concentración final

50  $\mu\text{M}$ . La reacción se detuvo después de 30 min de incubación por adición de 50  $\mu\text{l}$  de revelador (tripsina 6 mg/ml en tampón de ensayo de HDAC). La reacción se dejó revelar durante 30 min a temperatura ambiente y se detectó la señal de fluorescencia usando un fluorómetro (Spectramax M2, Molecular Devices, Sunnyvale, CA) con longitudes de onda de excitación y emisión de 360 nm y 470 nm respectivamente. Los datos se ajustaron a una ecuación de dosis-respuesta sigmoidea con pendiente variable en GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA) para determinar la CI50. La curva inferior y superior se fijaron a la respuesta de fluorescencia media de los pocillos de control sin células y con células pero sin compuesto, respectivamente. Las CI50 se dan en la tabla 2, donde A representa CI50 menor de 1  $\mu\text{M}$ , B entre 1 y 5  $\mu\text{M}$ , C de 5 a 10  $\mu\text{M}$ , D de 10 a 20  $\mu\text{M}$ , y IA la CI50 superior a 20  $\mu\text{M}$ .

#### Ensayo de proliferación celular

10 Células HCT116 (5000 células/pocillo) en 80  $\mu\text{l}$  de medio McCoy's 5A que contenía FBS al 10% v/v, penicilina/estreptomina al 1% v/v y L-glutamina al 1% v/v, se incubaron en placas de 96 pocillos con compuestos en diferentes concentraciones durante 72 h a 37°C en una atmósfera con 5% de CO<sub>2</sub>. Las diluciones de compuesto se hicieron en DMSO al 100% seguido de diluciones paralelas en medio. La concentración final de DMSO en cada pocillo era 0.05%. Después de 72 h, se añadieron 20  $\mu\text{l}$  de Cell titer 96 Aqueous One Solution (Promega Corporation, Madison, WI) a las células y la placa se incubó a 37°C durante otras 4 h. Después se registró la absorbancia a 490 nm en un lector de placa de 96 pocillos (Spectramax M2, Molecular Devices, Sunnyvale, CA). El análisis de datos se llevó a cabo en Microsoft Excel (Microsoft Corp, Redmond, WA). Se representó gráficamente ((O.D. muestra - O.D. media control positivo)/(O.D. media control negativo - O.D. media control positivo))\*100, donde O.D. es la absorbancia medida, O.D. control positivo es la absorbancia de las células incubadas con tricostatina A 5  $\mu\text{M}$  y O.D. control negativo es la absorbancia medida de las células incubadas sin ningún compuesto, frente a la concentración de compuesto y se determinó una CI50 por interpolación gráfica de la concentración necesaria para 50% de inhibición del crecimiento celular. Las CI50 se presentan en la tabla 2, donde A representa la CI50 menor de 5  $\mu\text{M}$ , B cubre el intervalo entre 5 y 10  $\mu\text{M}$ , C es de 10 a 20  $\mu\text{M}$ , y IA es usa para CI50 mayor de 20  $\mu\text{M}$ .

#### Efecto de los inhibidores de HDAC en la expresión del ARNm de la frataxina (FXN)

25 Se recoge sangre de donantes pacientes de ataxia de Friedreich en tubos que contienen el anticoagulante EDTA. Se aíslan linfocitos primarios usando medio de separación de linfocitos (MP Biomedicals, Solon, OH) siguiendo las instrucciones del fabricante e incluyendo algunas modificaciones hechas por Repligen. Después de un lavado final en solución salina tamponada con fosfato (PBS), las células se distribuyen en una placa de cultivo celular de 6 pocillos en medio de crecimiento. Se añade el compuesto inhibidor de HDAC de ensayo a las células en una dosis de forma creciente (normalmente concentraciones en el intervalo de 1 a 10  $\mu\text{M}$ ) y se añade DMSO al 0.1% a un pocillo de células como un control sin tratamiento. Las células se incuban durante 48 horas a 37°C en un incubador de CO<sub>2</sub>; se hacen recuentos de células usando un contador de células automático Countess (Invitrogen, Carlsbad, CA). Se sedimentan números equivalentes de células para todas las condiciones de tratamiento por centrifugación, y se vuelven a suspender en tampón de lisis celular. Se aísla el ARN total de aproximadamente  $1 \times 10^6$  linfocitos primarios usando un RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA), siguiendo las instrucciones del fabricante e incluyendo una etapa opcional de digestión con DNasa en columna. El aislamiento se lleva a cabo bien manualmente o usando el QIAcube (Qiagen, Valencia, CA), un instrumento que automatiza gran parte del procedimiento de aislamiento. El rendimiento y concentración de ARN se determinan usando un espectrofotómetro Nanodrop (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) y dependiendo de la concentración de ARN, se usa uno de dos protocolos para medir los niveles transcritos de frataxina (FXN). Para muestras que contienen al menos 15 ng/ $\mu\text{l}$  de ARN se usa un método de qRT-PCR basado en sonda TaqMan® (Applied Biosystems, Carlsbad, CA), mientras que para muestras que contienen menos de 15 ng/ $\mu\text{l}$  de ARN se usa un método de qRT-PCR de SYBR Green. En el método basado en sonda TaqMan® en cada reacción se multiplexan parejas de cebador/sonda específicas para FXN y GAPDH. En el método de SYBR Green la FXN y GAPDH se amplifican en reacciones separadas. En ambos métodos, cada muestra de ARN se analiza por triplicado (preferiblemente) o duplicado (como mínimo) usando una mezcla primaria de qRT-PCR de una etapa que contiene todos los componentes necesarios para la síntesis de ADNc y amplificación por PCR en una sola reacción continua. Después de completar los ciclos, se usa el programa MxPro (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) para analizar los datos recogidos y determinar la cantidad relativa de ARNm de FXN en comparación con una muestra de control. Se usa un método de valor inicial adaptable para la corrección del valor inicial de modo que un algoritmo selecciona automáticamente los ciclos de valores iniciales adecuados para cada pocillo y cada colorante. Se establece un umbral basado en amplificación y se obtiene el correspondiente ciclo umbral, o Ct, para calcular la concentración objetivo. Los valores de Ct para cada gen objetivo (FXN y GAPDH) para cada serie de repeticiones se promedian. Se determina la cantidad de FXN (o GAPDH) en la muestra como la cantidad relativa respecto al calibrador donde a la muestra de calibrador se le asigna una cantidad arbitraria de 1. Se usa la siguiente ecuación: Cantidad relativa respecto al calibrador =  $2^{-\Delta\text{Ct}}$  donde  $\Delta\text{Ct} = (\text{Ct}_{\text{gen}})_{\text{desconocido}} - (\text{Ct}_{\text{gen}})_{\text{calibrador}}$ , el gen es de FXN o GAPDH, el calibrador es una muestra de control de DMSO, y desconocido es una muestra tratada con HDACi. La cantidad relativa de FXN se normaliza respecto al número de células y entrada de ARN. Los datos se dan en la tabla 2 a continuación, donde la concentración requerida para un aumento de 2 veces en el ARNm de la FXN se da como A si es menor de 5  $\mu\text{M}$ , B si es entre 5 y 10  $\mu\text{M}$ , C si es mayor de 10  $\mu\text{M}$ .

60

## ES 2 712 803 T3

Tabla 2: Resultados de los ensayos de estabilidad en ácido, inhibición de la desacetilasa celular, antiproliferación, expresión de ARNm de frataxina y distribución tisular

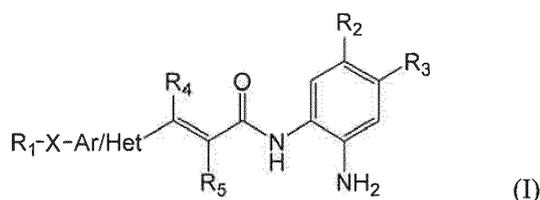
Compuesto	Estabilidad en ácido	850 DAC	Hct-116	FXN 2x	BPR
A1 (compuesto de referencia)		IA			B
A2 (compuesto de referencia)	B	D	IA		B
A3 (compuesto de referencia)		IA			
A5 (compuesto de referencia)	B				C
D1	A	B	B	A	B
D2		IA	IA	C	C
D3 (compuesto de referencia)	A	B	A	B	C
D10 (compuesto de referencia)		C	IA	C	B
D4 (compuesto de referencia)	A	C	IA	C	C
D7 (compuesto de referencia)	B	C	A	B	B
D9 (compuesto de referencia)	A	B	B	A	B
D8 (compuesto de referencia)		B	A	C	C
D5 (compuesto de referencia)		C	IA		D
D6 (compuesto de referencia)		D	IA	C	IA
A6 (compuesto de referencia)		IA	C		D
E2	A	D	IA		A
A7 (compuesto de referencia)		IA			B
A8 (compuesto de referencia)	B	D			B
A9 (compuesto de referencia)		IA			
G1 (compuesto de referencia)		B	IA		
D14 (compuesto de referencia)	B	C		B	
D11		B		B	A
D12 (compuesto de referencia)	A	B			B
D13 (compuesto de referencia)		B			IA
A10 (compuesto de referencia)		D			C
A11 (compuesto de referencia)	A				A
C1 (compuesto de referencia)		IA			B
E1 (compuesto de referencia)		IA			
D15 (compuesto de referencia)		B			
B1 (compuesto de referencia)		D			
C3 (compuesto de referencia)		IA			
B6 (compuesto de referencia)		C			
B2		C			
B4 (compuesto de referencia)		D			C
B3 (compuesto de referencia)		B			C
D16 (compuesto de referencia)		D			
G2		D	IA		
B5 (compuesto de referencia)		C			C
A12(compuesto de referencia)		IA			

## Efecto de los compuestos en la memoria a largo plazo para el reconocimiento de objetos

- 5 Ratones macho C57BL/6J se manipularon 1-2 min durante 5 días y se habituaron al aparato experimental 5 min al día durante 4 días consecutivos en ausencia de objetos. Durante la prueba de entrenamiento, los ratones se pusieron en el aparato experimental con dos objetos idénticos y se les dejó explorar estos objetos durante 3 min, lo cual no da como resultado memoria a corto o largo plazo (Stefanko et al., 2009). Inmediatamente después del entrenamiento, los ratones recibieron inyecciones subcutáneas de vehículo (glicerol al 20%, PEG 400 al 20%, propilenglicol al 20% y acetato sódico 100 mM, pH 5.4), compuesto de referencia 1, RGFP109, inhibidor de HDAC de clase I, (3, 10, 30 mg/kg), compuesto de referencia 2, RGFP136 (3, 10, 30 mg/kg), o compuesto **D2** (3, 10, 30 mg/kg). 24 horas más tarde se ensayó en los ratones la retención de memoria (5 min) usando la tarea de memoria de reconocimiento de objetos (ORM), en la que un objeto familiar se sustituía por uno nuevo. Todas las pruebas de entrenamiento y ensayo se grabaron en video y las analizaron individuos que desconocían las condiciones de tratamiento y el genotipo de los sujetos. Se puntuaba un ratón como que exploraba un objeto cuando su cabeza se orientaba hacia el objeto en una distancia de 1 cm o cuando la nariz tocaba el objeto. Se registró el tiempo de exploración relativo y se expresó por un índice de discriminación [ $DI = (t_{nuevo} - t_{familiar}) / (t_{nuevo} + t_{familiar}) \times 100$ ].
- 10
- 15 Todas las dosis de los compuestos mejoraron significativamente la formación de memoria a largo plazo en comparación con los ratones tratados con vehículo (figura 1). Los efectos dependientes de la dosis se vieron con RGFP 109 y 136, pero no había efecto de la dosis para **D2**. La falta de un efecto de la dosis observado para **D2** es probable que se deba a su mayor penetración en el cerebro, de modo que 3 mg/kg es suficiente para producir el efecto de comportamiento completo. Véase la figura 1.
- 20 Otras realizaciones
- Se han descrito una serie de realizaciones de la invención. No obstante, se entenderá que se pueden hacer diferentes modificaciones. Por consiguiente, otras realizaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



en donde:

5 **Ar/Het** es un heteroarilo de 5 miembros seleccionado del grupo que consiste en pirazolilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, isoxazolilo, 3,5-dimetilpirazolilo e isotiazolilo;

**X** es  $-Y-[C(R^a)_2]_a[C(R^b)_2]_b$ ;

en donde:

**Y** es  $CR^c=CR^d$ ;

10 **a** es 1-3;

**b** es 0-3;

cada caso de **R<sup>a</sup>** y **R<sup>b</sup>** se selecciona independientemente de H, F y alquilo C1-C6:

cada uno de **R<sup>c</sup>** y **R<sup>d</sup>** es H;

cada uno de **R<sup>4</sup>** y **R<sup>5</sup>** se selecciona independientemente de H, alquilo C1-C6 y F;

15 **R<sup>1</sup>** es:

(i) arilo C6-C10, que está opcionalmente sustituido con 1-3 **R<sup>0</sup>**; o

(ii) heteroarilo monocíclico o bicíclico que incluye 5-10 átomos en el anillo, que está opcionalmente sustituido con 1-3 **R<sup>0</sup>**; en donde 1-4 de los átomos en el anillo es/son un heteroátomo independientemente seleccionado de O, N, N-H, N-R<sup>0</sup> y S; o

20 (iii) heterociclilo que incluye 4-10 átomos en el anillo, que está opcionalmente sustituido con 1-3 **R<sup>0</sup>**; en donde 1-4 de los átomos en el anillo es/son un heteroátomo independientemente seleccionado de O, N, N-H, N-R<sup>0</sup> y S;

cada caso de **R<sup>0</sup>** se selecciona independientemente del grupo que consiste en:

- halógeno;
- 25 • alquilo C1-C6; fluoroalquilo (C1-C6);
- hidroxilo;
- hidroxialquilo (C1-C4);
- alcoxi C1-C6; fluoroalcoxi (C1-C6);
- (alquil C1-C6)C(O)-;
- 30 • (alquil C1-C6)NH-; (alquil C1-C6)<sub>2</sub>N-;
- formilo; formil-alquilo(C1-C4); ciano; ciano-alquilo(C1-C4);
- SO<sub>2</sub>-alquilo(C1-C6); SO-alquilo(C1-C6); y
- nitro;

**R<sup>2</sup>** es H; y

35 **R<sup>3</sup>** es H, F o Cl;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. El compuesto o sal según la reivindicación 1, en donde cada caso de  $R^a$  y  $R^b$  (cuando está presente) es H.

3. El compuesto o sal de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde cada  $R_4$  y  $R_5$  es H.

4. El compuesto o sal de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde  $R_3$  es H.

5 5. El compuesto o sal de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde  $R_3$  es F o Cl.

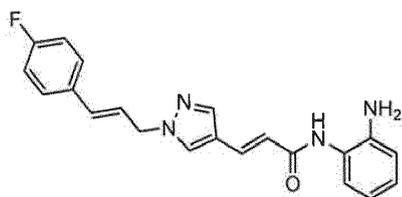
6. El compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde Ar/Het se selecciona de pirazolilo e imidazolilo.

7. El compuesto o sal de la reivindicación 6, en donde Ar/Het es pirazolilo.

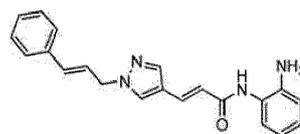
10 8. El compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde X es  $-CH=CH-CH_2-$  o  $-CH=CHCH_2CH_2-$ .

9. El compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde  $R_1$  es fenilo, el cual está opcionalmente sustituido con 1-3  $R^o$ .

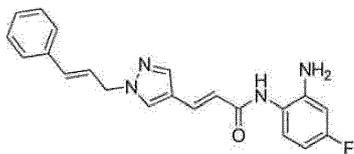
10. El compuesto o sal de la reivindicación 1, que tiene una estructura seleccionada de



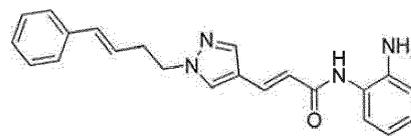
(B2),



(D1),

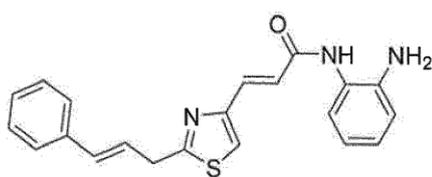


(D2),

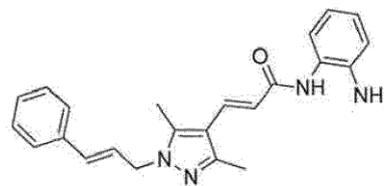


(D11),

15



(E2), y



(G2).

11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto, o su sal farmacéuticamente aceptable, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 12. Un compuesto, o su sal farmacéuticamente aceptable, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para usar en medicina.

25 13. Un compuesto, o su sal farmacéuticamente aceptable, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para usar en el tratamiento de un trastorno neurológico tal como ataxia de Friedreich, distrofia miotónica, atrofia muscular espinal, síndrome del X frágil, enfermedad de Huntington, ataxia espinocerebelosa, enfermedad de Kennedy, esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular espinal y bulbar y enfermedad de Alzheimer; un cáncer; una enfermedad inflamatoria; una afección de deterioro de la memoria; o una drogadicción.

14. El compuesto de la reivindicación 13, en donde el trastorno es la ataxia de Friedreich.

FIG. 1

