



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 288 803**

② Número de solicitud: 200601946

⑤ Int. Cl.:
C07D 275/04 (2006.01)
C07D 275/06 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **07.07.2006**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.01.2008**

Fecha de la concesión: **06.11.2008**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **16.12.2008**

⑯ Fecha de publicación del folleto de la patente:
16.12.2008

⑰ Titular/es: **Universidad de Granada
Hospital Real, Cuesta del Hospicio, s/n
18071 Granada, ES**

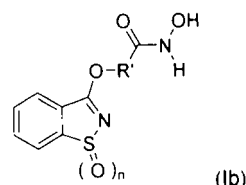
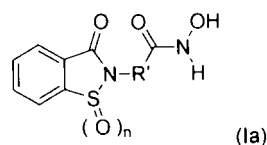
⑱ Inventor/es: **Gómez Vidal, José Antonio;
Domínguez Seglar, José Francisco y
Tabraue Chávez, Mavys**

⑳ Agente: **Carpintero López, Francisco**

㉑ Título: **Derivados de benzo[d]isotiazoles como inhibidores de las histonas desacetilasas.**

㉒ Resumen:

Derivados de benzo[d]isotiazoles como inhibidores de las histonas desacetilasas, seleccionados de entre los compuestos de fórmula general (Ia) y (Ib) o una de sus sales, en particular una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes. Estos compuestos son inhibidores de las enzimas histonas desacetilasas y son adecuados como agentes farmacológicamente activos en un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de trastornos o enfermedades asociados a las histonas desacetilasas. La invención describe asimismo un procedimiento de obtención de los citados compuestos y las composiciones farmacéuticas que los contienen.



ES 2 288 803 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Derivados de benzo[d]isotiazoles como inhibidores de las histonas desacetilasas.

5 **Campo de la técnica**

La presente invención se refiere a nuevos compuestos inhibidores de las histonas desacetilasas, a nuevas composiciones farmacéuticas que los comprenden, y a procedimientos para su obtención. Estos compuestos son adecuados como agentes farmacológicamente activos en un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades relacionadas con las histonas desacetilasas.

Antecedentes de la invención

El genoma humano se localiza dentro del núcleo celular en la cromatina, que es un complejo macromolecular dinámico formado por nucleosomas. Un único nucleosoma se compone de un fragmento de ADN (146 pares de bases) enrollado alrededor de un octámero de histona. Las histonas son pequeñas proteínas básicas ricas en los aminoácidos lisina y arginina. Los cuatro tipos de histonas nucleosómicas contienen dos dominios: el dominio C-terminal, localizado dentro del nucleosoma y el dominio N-terminal con residuos lisina extendidos fuera del mismo. La acetilación de residuos de lisina en estas secuencias N-terminales está mediada por las enzimas denominadas histona acetiltransferasas (HAT). Los grupos acetilo son eliminados de las ϵ -N-acetil-lisinas por la actividad de las histonas desacetilasas (HDAC). Las actividades de las HAT y las HDAC se asocian a los genes diana a través de complejos constituidos por factores de transcripción específicos para ciertas secuencias y sus respectivos cofactores. El balance entre las actividades opuestas de las HAT y las HDAC regula el estado de acetilación de las histonas [Marks, P. A.; Richon, V. M.; Rifkind, R. A. Histone deacetylase inhibitors: inducers of differentiation or apoptosis of transformed cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000, 92, 1210-1216]. Este tipo de modificaciones regulan en la célula procesos fundamentales clave en respuesta a señales extracelulares [a) Marks, P. A.; Rifkind, R. A.; Richon, V. M.; Breslow, R.; Miller, T.; Kelly, W. K. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nature Reviews Cancer* 2001, 1(3), 194-202; b) Workman, P. Scoring a bull's-eye against cancer genome targets. *Curr. Op. Pharmacol.* 2001, 1, 342-352].

En general, altos niveles de acetilación (hiperacetilación) se asocian a un incremento de la actividad transcripcional, mientras que bajos niveles de acetilación (hipoacetilación) se asocian a la represión de la expresión genética.

La familia de las HDAC en mamíferos incluye tres subclases [Gray, S. G. Ekström, T. J. The human histone deacetylase family. *Exp. Cell Res.* 2001, 262, 75-83]. La clase I engloba las isoformas HDAC1, HDAC2, HDAC3 y HDAC8. Dentro de la clase II se encuentran las isoenzimas HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9 y HDAC10. Por último, la clase III es homóloga a la proteína de levadura sir2 e incluye las isoenzimas SIRT1-7 NAD⁺ dependientes y se conocen como sirtuinas. También ha sido identificada HDAC11 como un nuevo miembro de la familia de las HDAC, pero dada la poca similitud secuencial con el resto, no se clasifica dentro de las clases anteriores. El gran número de isoenzimas HDAC y de proteínas que interactúan, permite modular la especificidad del sustrato e incluso modificar la selectividad hacia dianas de tipo no histona.

Se conocen en el estado de la técnica inhibidores de las enzimas histonas desacetilasas que pueden reactivar la expresión genética e inhibir el crecimiento de las células tumorales, por lo que se investiga su uso en el tratamiento frente al cáncer.

Así, algunos inhibidores de las histonas desacetilasas, de primera generación se están estudiando en ensayos clínicos en fase I y II [a) Minucci, S.; Pelicci, P. G. Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. *Nature Reviews Cancer* 2006, 6(1), 38-51; b) Johnstone, R. W. Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer. *Nature Reviews Drug Discovery* 2002, 1(4), 287-299; c) Mai, A.; Massa, S.; Rotili, D.; Cerbara, II.; Valente, S.; Pezzi, R.; Simeoni, S.; Ragno, R. Histone deacetylation in epigenetics: An attractive target for anticancer therapy. *Medicinal Research Reviews* 2005, 25(3), 261-309]. Debido a que los inhibidores más recientemente descritos de las HDAC parecen superar muchos de los aspectos más negativos de los inhibidores de primera generación en uso clínico, se puede establecer el valor terapéutico derivado de la inhibición de las HDAC en leucemias y otras enfermedades, incluyendo tumores sólidos y dependientes de señales hormonales alteradas [Krämer, O. H.; Göttlicher, M.; Heinzl, T. Histone deacetylase as a therapeutic target. *Trends Endocrinol. Metabol.* 2001, 12, 294-300].

Aunque este tipo de inhibidores se desarrolló inicialmente para el tratamiento del cáncer, se ha propuesto su uso en otro tipo de enfermedades de tipo proliferativo, como es la psoriasis [McLaughlin, F.; La Thangue, N. B. Histone deacetylase inhibitors in psoriasis therapy. *Current Drug Targets: Inflammation & Allergy* 2004, 3(2), 213-219].

También se ha descrito el uso de este tipo de inhibidores en el tratamiento de enfermedades de tipo inflamatorio [Blanchard, F.; Chipoy, C. Histone deacetylase inhibitors: new drugs for the treatment of inflammatory diseases? *Drug Discovery Today* 2005, 10(3), 197-204].

Recientemente se ha propuesto una terapia combinada con los inhibidores de las histonas desacetilasas en el tratamiento frente las HIV [Imai, K.; Okamoto, T. Transcriptional Repression of Human Immunodeficiency Virus Type 1 by AP-4. *Journal of Biological Chemistry* 2006, 281(18), 12495-12505].

Los inhibidores de las histonas desacetilasas también son de utilidad para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y la demencia [Beglopoulos, V.; Shen, J. Regulation of CRE-dependent transcription by presenilins: prospects for therapy of Alzheimer's disease. Trends in Pharmacological Sciences 2006, 27(1), 33-40].

5 Por tanto sería deseable identificar nuevos compuestos inhibidores de las enzimas histonas desacetilasas para su utilización en el tratamiento o profilaxis de enfermedades en las que la inhibición de dichas enzimas HDAC está implicada.

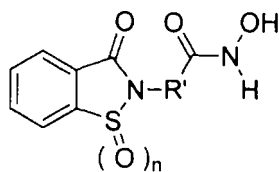
10 La presente invención se enfrenta con el problema de proporcionar inhibidores de las histonas desacetilasas alternativos a los existentes en el estado de la técnica. De manera sorprendente se ha descubierto que los compuestos derivados del ácido hidroxámico de fórmula general (Ia) o (Ib) presentados más adelante presentan buena afinidad por las histonas desacetilasas provocando su inhibición. Por tanto, estos compuestos son particularmente adecuados como agentes farmacológicamente activos en un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de trastornos o enfermeda-

15

Objeto de la invención

En un aspecto la presente invención proporciona compuestos inhibidores de las histonas desacetilasas seleccionados de entre los compuestos de fórmula general (Ia) y (Ib)

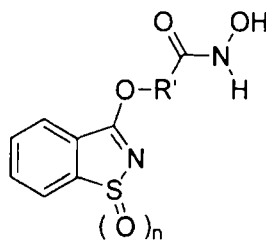
20



25

(Ia)

30



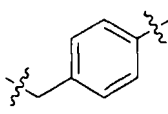
35

40

(Ib)

45 donde

50

R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 4, 5 ó 6, o un radical  y n es 0 ó 2,

opcionalmente en forma de una de sus sales, en particular una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes.

55

Los compuestos inhibidores de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) presentan afinidad por las enzimas histonas desacetilasas y son inhibidores de las mismas. Son útiles en la elaboración de medicamentos que son adecuados para el tratamiento y/o profilaxis de trastornos o enfermedades sensibles a la inhibición de las histonas desacetilasas.

60

Por tanto, en otro aspecto adicional la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes.

65

Asimismo, la presente invención proporciona un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades sensibles a la inhibición de histonas desacetilasas en un mamífero, incluido el hombre.

ES 2 288 803 B1

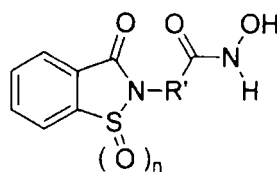
En un aspecto adicional la presente invención proporciona un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes para el tratamiento y/o profilaxis del cáncer, enfermedades de tipo inflamatorio, psoriasis, enfermedad de Alzheimer, demencia senil o la infección causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) en un mamífero, incluido el hombre.

En otro aspecto la presente invención proporciona el empleo de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades sensibles a la inhibición de histonas desacetilasas. En un aspecto adicional la presente invención proporciona el empleo de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de el cáncer, enfermedades de tipo inflamatorio, psoriasis, enfermedad de Alzheimer, demencia senil o la infección causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) en un mamífero, incluido el hombre.

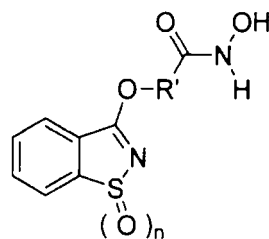
En un último aspecto la presente invención proporciona procedimientos para la preparación de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) como se ha descrito anteriormente.

Descripción de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas seleccionado de entre los compuestos de fórmula general (Ia) y (Ib)

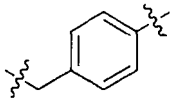


(Ia)



(Ib)

donde

R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 4, 5 ó 6, o un radical , y n es 0 ó 2,

opcionalmente en forma de una de sus sales, en particular una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes.

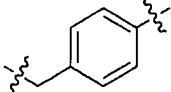
Por tanto, comprendido dentro de este primer aspecto de la invención se incluyen las sales de los compuestos inhibidores de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib), en particular las sales farmacéuticamente aceptables y los solvatos de los compuestos inhibidores de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) y de las sales de los mismos, en particular de las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los compuestos inhibidores de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib), en adelante compuestos de la invención, presentan afinidad por las enzimas histonas desacetilasas y son inhibidores de las mismas. Son útiles por tanto en la elaboración de medicamentos adecuados para el tratamiento y/o profilaxis de trastornos o enfermedades sensibles a la inhibición de histonas desacetilasas. En el contexto de la presente invención, trastornos o enfermedades sensibles a la inhibición de histonas desacetilasas se refieren a aquellos trastornos o enfermedades en los que la

ES 2 288 803 B1

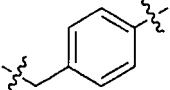
inhibición de las histonas desacetilasas previene la aparición de dicho trastorno o enfermedad o bien consigue que un mamífero, incluido el hombre, recupere o mejore su estado de salud, desde un estado patológico. Entre dichos trastornos o enfermedades pueden citarse entre otros, enfermedades de tipo proliferativo como el cáncer, en particular la leucemia, tumores sólidos y dependientes de señales hormonales alteradas y la psoriasis, enfermedades de tipo inflamatorio, la infección causada por HIV, la enfermedad de Alzheimer y la demencia senil.

En una realización particular de los compuestos de la invención, en los compuestos de fórmula (Ia), R' representa

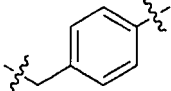
un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 5 ó 6, o un radical , y n es 0 ó 2.

En otra realización preferida de los compuestos de la invención, en los compuestos de fórmula (Ia), R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 5 ó 6 y n es 0 ó 2. En una realización aún más preferida, en los compuestos de fórmula (Ia), R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 5 ó 6 y n es 2.

En otra realización preferida de los compuestos de la invención, en los compuestos de fórmula (Ia), R' representa

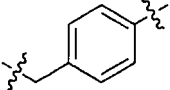
un radical , y n es 0 ó 2.

En otra realización particular de los compuestos de la invención, en los compuestos de fórmula (Ib), R' representa

un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 4 ó 5, o un radical , y n es 0 ó 2.

En otra realización preferida de los compuestos de la invención, en los compuestos de fórmula (Ib), R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 4 ó 5 y n es 0 ó 2. En una realización aún más preferida, en los compuestos de fórmula (Ib), R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 4 ó 5 y n es 0.

En otra realización preferida de los compuestos de la invención, en los compuestos de fórmula (Ib), R' representa

un radical , y n es 0 ó 2.

En otra realización particular, los compuestos de la invención se seleccionan del grupo siguiente:

[1] 6-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxihexanamida (MTC-97)

[2] 7-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxihexanamida (MTC-124)

[3] 4-[(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)metil]-N-hidroxibenzamida (MTC-128)

[4] 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxihexanamida (MTC-136)

[5] 6-[(benzo[d]isotiazol-3-il)oxa]-N-hidroxihexanamida (MTC-144).

En otro aspecto adicional la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos inhibidores de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes. Adicionalmente la composición farmacéutica de la presente invención comprende uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su administración, tales como agentes de relleno, disolventes, diluyentes, agentes colorantes, agentes de recubrimiento, aglutinantes. La elección de los excipientes convencionales así como la cantidad de los mismos dependen de la vía de administración pretendida y pueden ser determinados fácilmente por el experto en la materia. La composición farmacéutica puede administrarse entre otras vías por vía rectal, parenteral, oral, bucal, tópica, o inhalatoria. Las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención incluyen, por ejemplo, comprimidos, grageas, cápsulas o multiparticulados como pellets o gránulos, soluciones, suspensiones o líquidos adecuados, preparaciones secas reconstituibles, y también preparaciones para pulverización. Asimismo, dichas composiciones pueden ser de liberación retardada generalmente conocidos en el estado de la técnica o comprender un recubrimiento entérico.

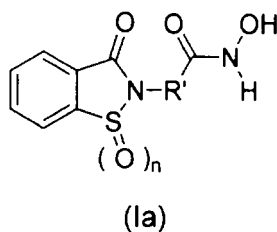
Asimismo, la presente invención proporciona un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades sensibles a la inhibición de las histonas desacetilasas en un mamífero, incluido el hombre.

ES 2 288 803 B1

En un aspecto adicional la presente invención proporciona un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes, para el tratamiento y/o profilaxis del cáncer, en particular la leucemia, tumores sólidos y dependientes de señales hormonales alteradas y la psoriasis, enfermedades de tipo inflamatorio, la infección causada por HIV, la enfermedad de Alzheimer y la demencia senil, en un mamífero incluido el hombre.

En otro aspecto la presente invención proporciona el empleo de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades sensibles a la inhibición de las histonas desacetilasas. En un aspecto adicional la presente invención proporciona el empleo de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis del cáncer, en particular la leucemia, tumores sólidos y dependientes de señales hormonales alteradas y la psoriasis, enfermedades de tipo inflamatorio, la infección causada por HIV, la enfermedad de Alzheimer y la demencia senil, en un mamífero, incluido el hombre.

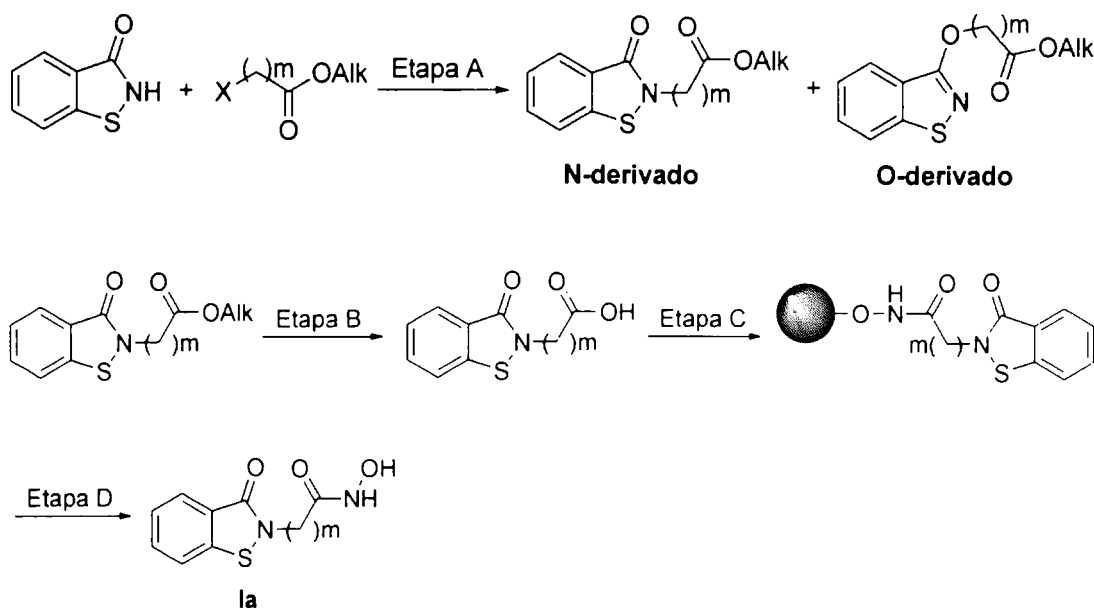
En un último aspecto la presente invención proporciona un procedimiento, que se representa en el siguiente Esquema 1, para la preparación de un compuesto de fórmula general (Ia),



donde

R' es un radical $-(CH_2)_m-$, n es 0 y m es 5 ó 6

Esquema 1



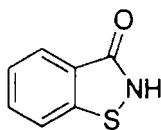
Dicho procedimiento comprende las siguientes etapas A, B, C y D de reacción que se describen a continuación.

ES 2 288 803 B1

Etapa A

Comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,

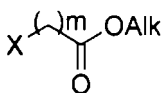
5



10

con un compuesto de fórmula

15



20 donde

m es 5 ó 6;

25

X representa un grupo saliente, como por ejemplo, Br, Cl, -OSO₂CH₃ o un -OSO₂Ph(pCH₃); y

Alk representa un grupo alquilo como por ejemplo un etilo, metilo o t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

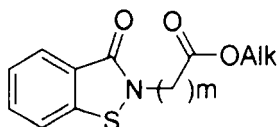
30

en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte.

Etapa B

Comprende la hidrólisis del éster derivado obtenido en la etapa A de fórmula:

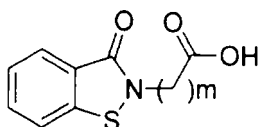
35



40

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida, para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula:

45



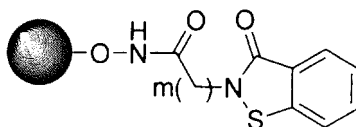
50

Etapa C

55

Comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DIPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula:

60

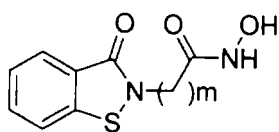


65

y

Etapa D

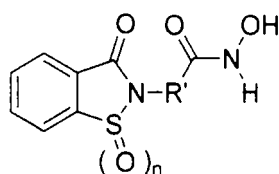
Comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ia)



(Ia)

donde m tiene el significado anteriormente definido.

La invención también se refiere a otro procedimiento, que se representa en el siguiente Esquema 2, para la preparación de un compuesto de fórmula general (Ia),

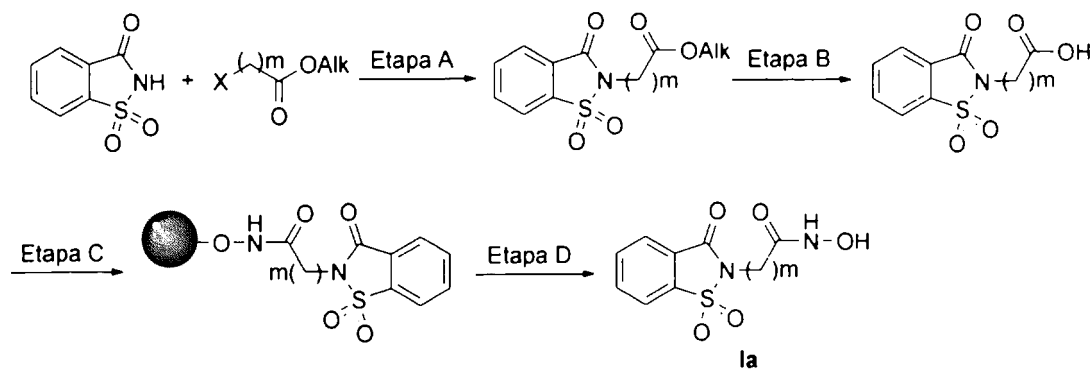


(Ia)

donde

R' es un radical-(CH₂)_m-, n es 2 y m es 5 ó 6.

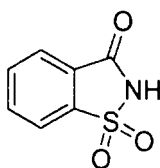
Esquema 2



Dicho procedimiento comprende las siguientes etapas A, B, C y D de reacción que se describen a continuación.

Etapa A

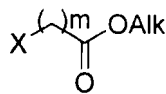
Comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,



ES 2 288 803 B1

con un compuesto de fórmula

5



10 donde

m es 5 ó 6;

X representa un grupo saliente, como por ejemplo, Br, Cl, -OSO₂CH₃ o un -OSO₂Ph(pCH₃); y

15

Alk representa un grupo alquilo como por ejemplo un etilo, metilo o t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

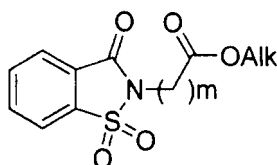
en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte.

20

Etapa B

Comprende la hidrólisis del éster derivado obtenido en la etapa A de fórmula:

25

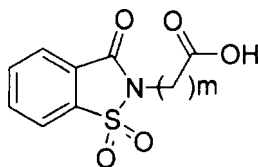


30

35

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida, para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula:

40



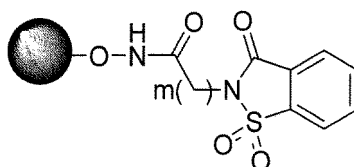
45

Etapa C

50

Comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula:

55



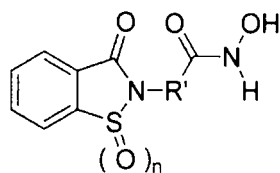
60

y

65

Etapa D

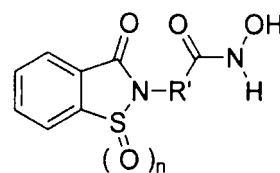
Comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ia)



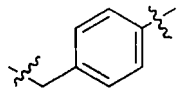
(Ia)

donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

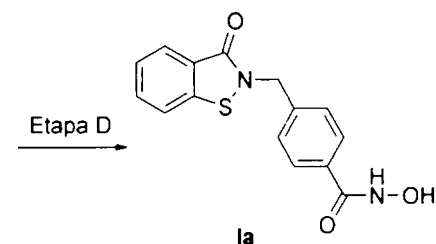
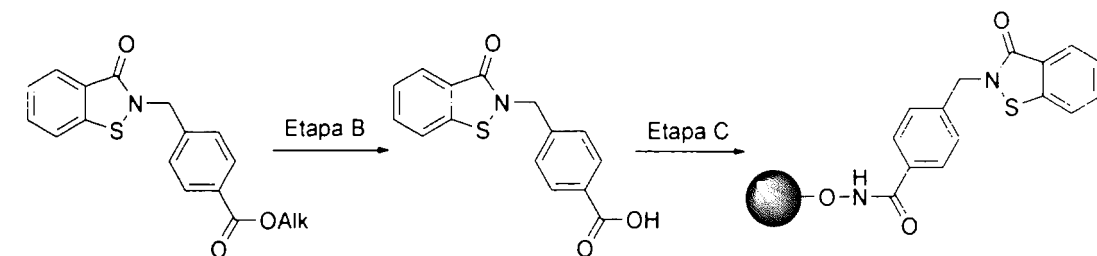
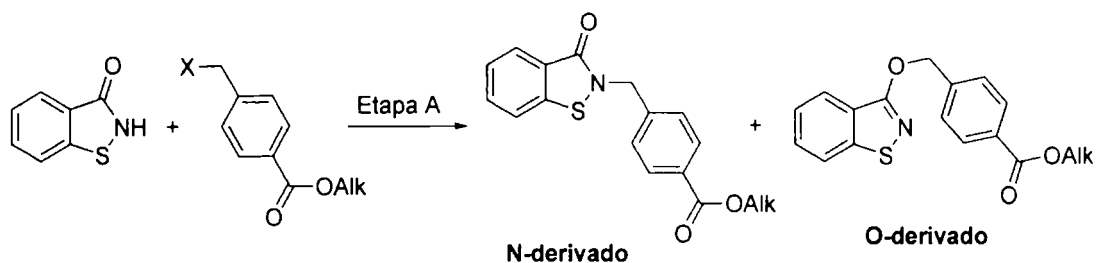
La invención también se refiere a otro procedimiento, que se representa en el siguiente Esquema 3, para la preparación de un compuesto de fórmula general (Ia),



(Ia)

donde R' es un radical , y n es 0.

Esquema 3



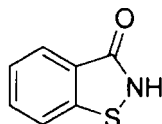
ES 2 288 803 B1

Dicho procedimiento comprende las siguientes etapas A, B, C y D de reacción que se describen a continuación.

Etapas A

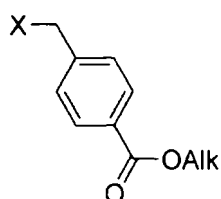
5 Comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,

10



15 con un compuesto de fórmula:

20



25

donde

X representa un grupo saliente, como por ejemplo, Br, Cl, $-\text{OSO}_2\text{CH}_3$ o un $-\text{OSO}_2\text{Ph}(\text{pCH}_3)$; y

30

Alk representa un grupo alquilo como por ejemplo, etilo, metilo o t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

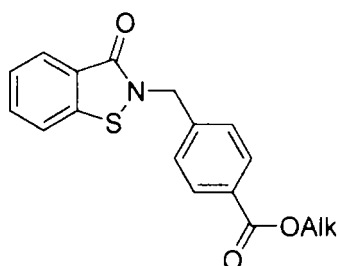
en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte.

35

Etapas B

Comprende la hidrólisis del éster derivado obtenido en la etapa A de fórmula:

40

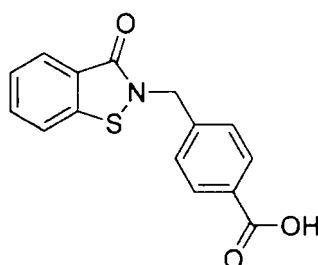


45

50

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula:

55



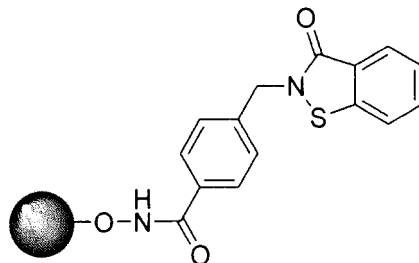
60

65

ES 2 288 803 B1

Etapa C

Comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula:



10

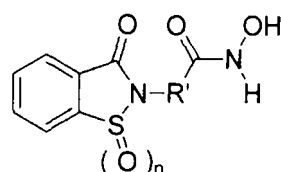
15

20 y

Etapa D

Comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ia)

25



30

35

(Ia)

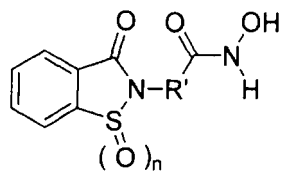
donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

40

En los procedimientos definidos anteriormente para la preparación de los compuestos de fórmula general (Ia) de la invención, las condiciones de reacción de las Etapas A, B, C y D son comunes.

La invención también se refiere a otro procedimiento, que se representa en el siguiente Esquema 4, para la preparación de un compuesto de fórmula general (Ia),

45

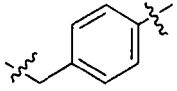


50

55

(Ia)

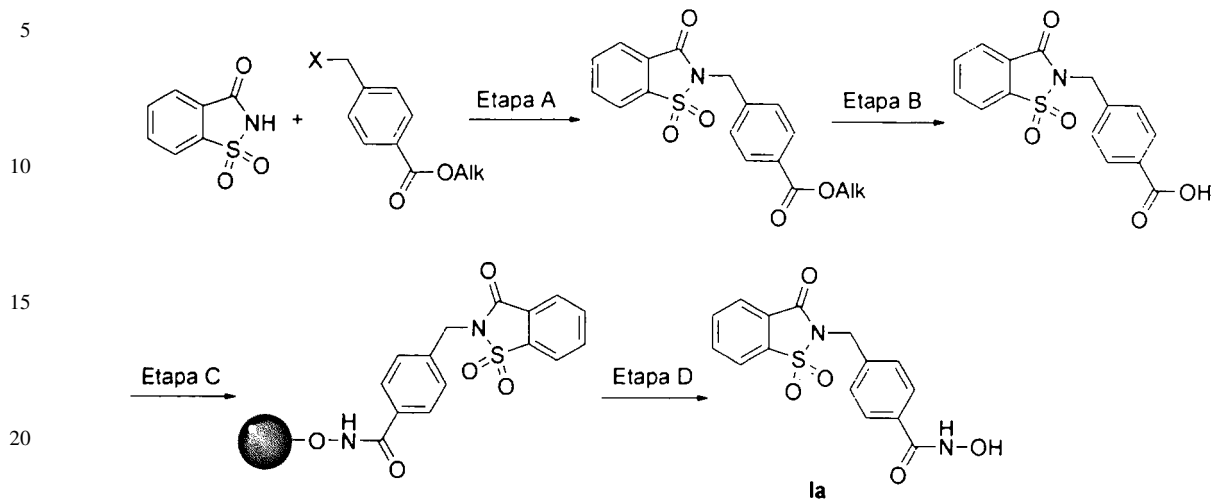
60

donde R' es un radical , y n es 2.

65

ES 2 288 803 B1

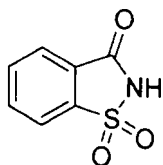
Esquema 4



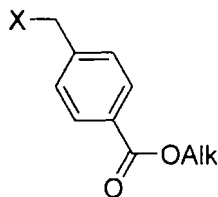
Dicho procedimiento comprende las siguientes etapas A, B, C y D de reacción que se describen a continuación.

Etapa A

Comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,



con un compuesto de fórmula:



donde

X representa un grupo saliente, como por ejemplo, Br, Cl, $-\text{OSO}_2\text{CH}_3$ o un $-\text{OSO}_2\text{Ph}(\text{pCH}_3)$; y

Alk representa un grupo alquilo como por ejemplo, etilo, metilo o t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte.

65

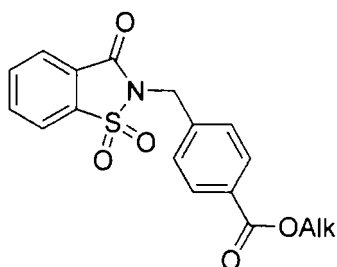
ES 2 288 803 B1

Etapa B

Comprende la hidrólisis del éster derivado obtenido en la etapa A de fórmula:

5

10

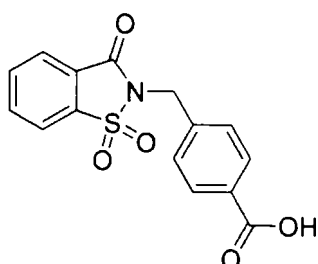


15

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula:

20

25



30

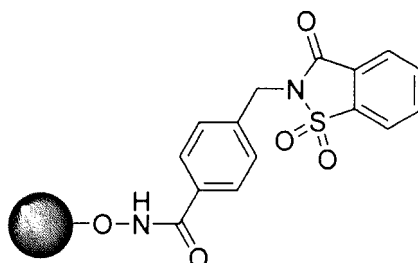
Etapa C

Comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula:

35

40

45



y

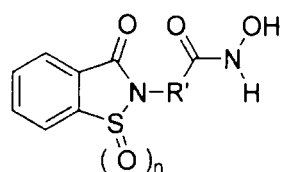
50

Etapa D

Comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ia)

55

60



(Ia)

65

donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

ES 2 288 803 B1

En los procedimientos definidos anteriormente para la preparación de los compuestos de fórmula general (Ia) de la invención, las condiciones de reacción de las Etapas A, B, C y D son comunes.

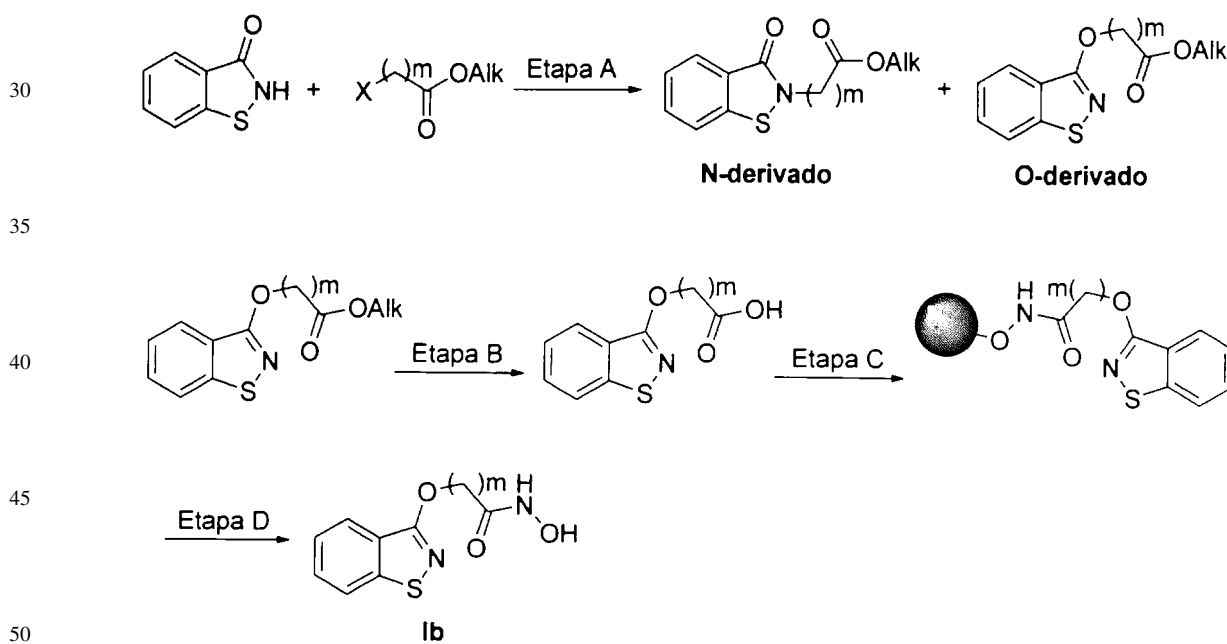
La invención también se refiere a otro procedimiento, que se representa en el siguiente Esquema 5, para la preparación de un compuesto de fórmula general (Ib),



donde

R' es un radical $-(CH_2)_m-$, m es 4 ó 5, y n es 0.

Esquema 5

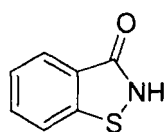


Dicho procedimiento comprende las siguientes etapas A, B, C y D de reacción que se describen a continuación.

55 Etapa A

Comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,

60

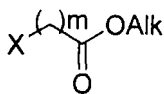


65

ES 2 288 803 B1

con un compuesto de fórmula

5



10 donde

m es 4 ó 5;

X representa un grupo saliente, como por ejemplo, Br, Cl, -OSO₂CH₃ o un -OSO₂Ph(pCH₃); y

15

Alk representa un grupo alquilo como por ejemplo un etilo, metilo o t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

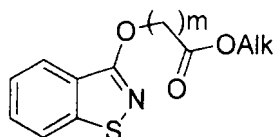
en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte.

20

Etapa B

Comprende la hidrólisis del éster derivado obtenido en la etapa A de fórmula:

25



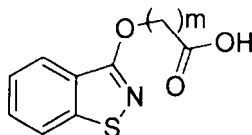
30

donde Alk y m tienen el significado anteriormente mencionado,

35

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida, para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula:

40



45

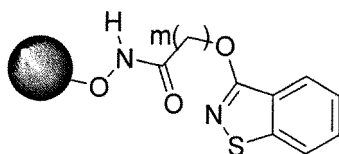
donde m tiene el significado anteriormente mencionado.

Etapa C

50

Comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de general:

55



60

donde m tiene el significado anteriormente mencionado; y

65

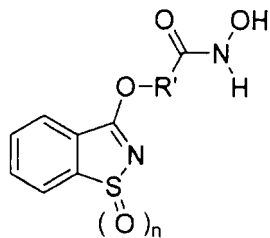
Etapa D

Comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ib)

5

10

15



(Ib)

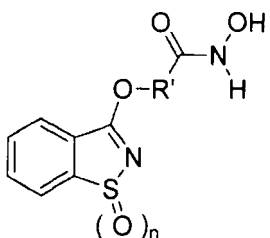
donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

20

La invención también se refiere a otro procedimiento, que se representa en el siguiente Esquema 6, para la preparación de un compuesto de fórmula general (Ib),

25

30



(Ib)

35

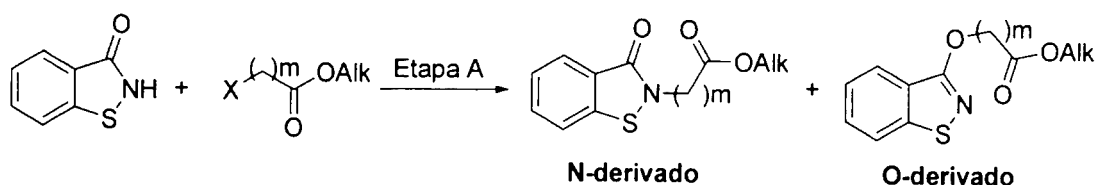
donde

R' es un radical $-(CH_2)_m-$, m es 4 ó 5, y n es 2.

40

Esquema 6

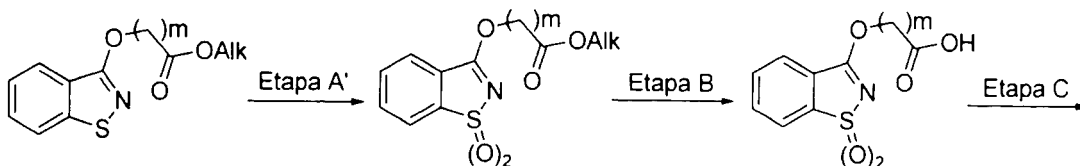
45



N-derivado

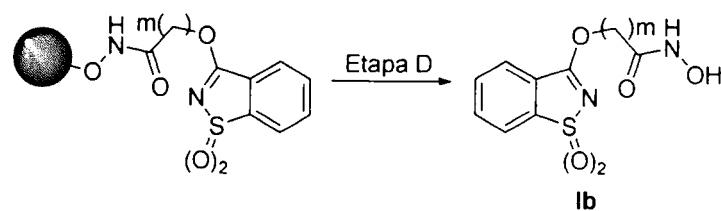
O-derivado

50



55

60



Ib

65

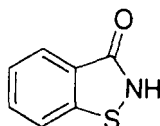
ES 2 288 803 B1

Dicho procedimiento comprende las siguientes etapas A, A', B, C y D de reacción que se describen a continuación.

Etapas A

5 Comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,

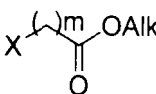
10



15

con un compuesto de fórmula

20



donde

25

m es 4 ó 5;

X representa un grupo saliente, como por ejemplo, Br, Cl, -OSO₂CH₃ o un -OSO₂Ph(pCH₃); y

30

Alk representa un grupo alquilo como por ejemplo un etilo, metilo o t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

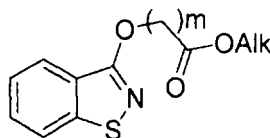
en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte.

Etapas A'

35

Comprende la oxidación del éster obtenido en la etapa A, o alternativamente el producto con la función ácida protegida, de fórmula general

40



45

donde m y Alk tienen el significado anteriormente mencionado,

en presencia de una solución de H₅IO₆ y CrO₃ en acetonitrilo y a -35°C.

50

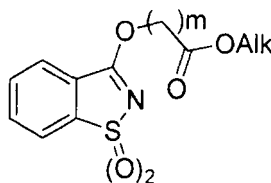
La adición de la solución de H₅IO₆ y CrO₃ en acetonitrilo a -35°C, a una solución en acetato de etilo del éster anterior se efectúa según el procedimiento publicado de Xu *et al.* [Xu, L.; Cheng, J.; Trudell, M. L. Chromonium (VI) oxide catalyzed oxidation of sulfides to sulfones with periodic acid. *Journal of Organic Chemistry* 2003, 68, 5388-5391].

55

Etapas B

Comprende la hidrólisis del éster oxidado derivado obtenido en la etapa A' de fórmula general

60



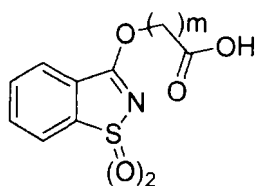
65

donde Alk y m tienen el significado anteriormente mencionado,

ES 2 288 803 B1

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula general:

5



10

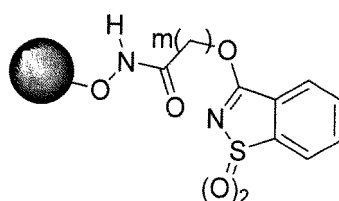
donde m tiene el significado anteriormente mencionado.

Etapa C

15

Comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula general:

20



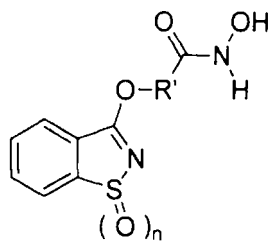
25

donde m tiene el significado anteriormente mencionado; y

Etapa D

Comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ib)

35



40

45

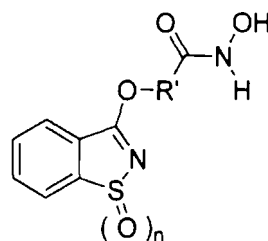
(Ib)

donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

50

La invención también se refiere a otro procedimiento, que se representa en el siguiente Esquema 7, para la preparación de un compuesto de fórmula general (Ib),

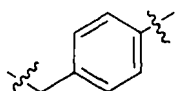
55



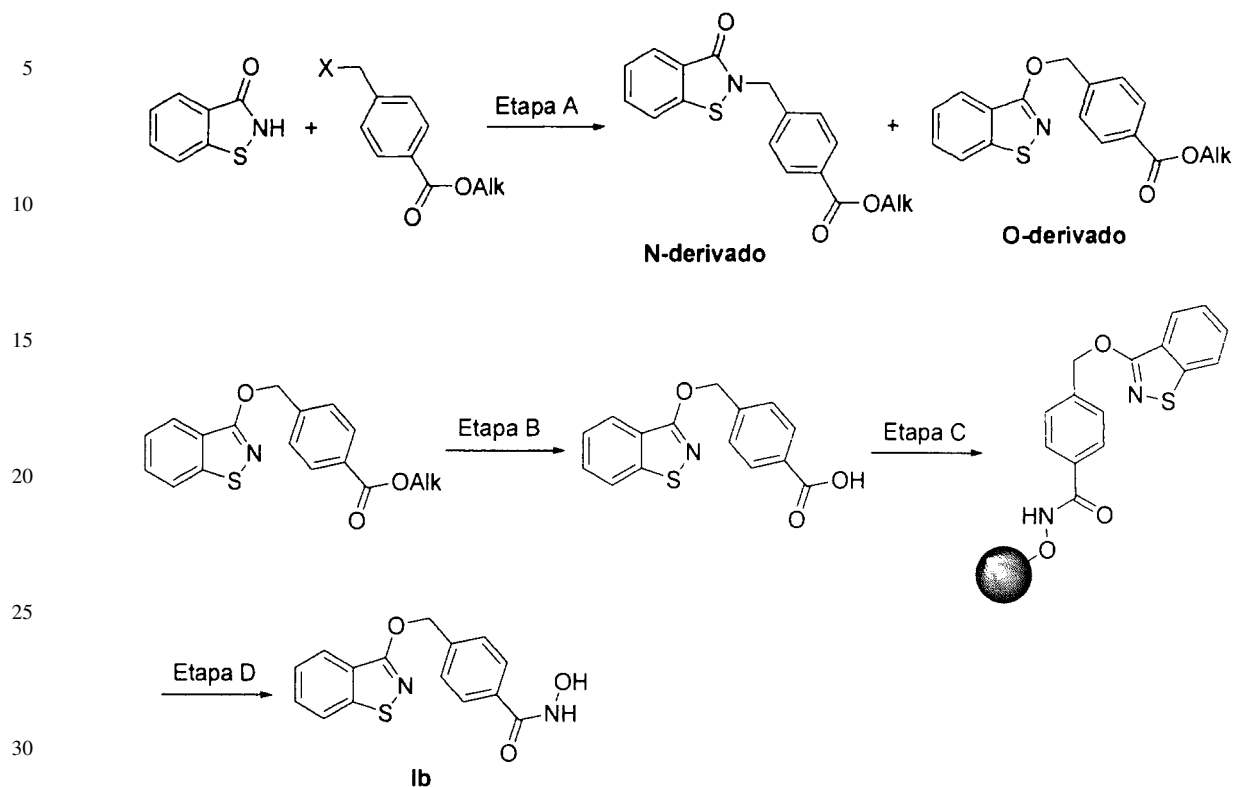
60

(Ib)

65

donde R' es un radical , y n es 0.

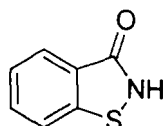
Esquema 7



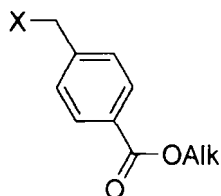
Dicho procedimiento comprende las siguientes etapas A, B, C y D de reacción que se describen a continuación.

Etapa A

Comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,



con un compuesto de fórmula:



donde

X representa un grupo saliente, como por ejemplo, Br, Cl, -OSO₂CH₃ o un -OSO₂Ph(pCH₃); y

Alk representa un grupo alquilo como por ejemplo, etilo, metilo o t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

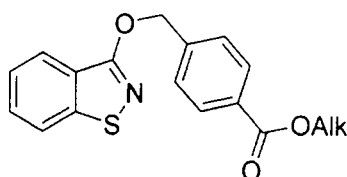
en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte.

ES 2 288 803 B1

Etapa B

Comprende la hidrólisis del éster derivado obtenido en la etapa A de fórmula general

5



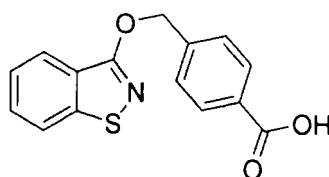
10

donde Alk tiene el significado anteriormente mencionado

15

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula general:

20



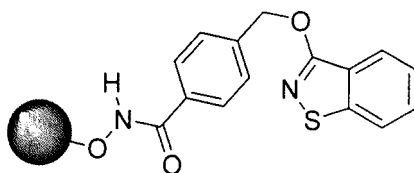
25

Etapa C

30

Comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DIPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula general:

35



40

y

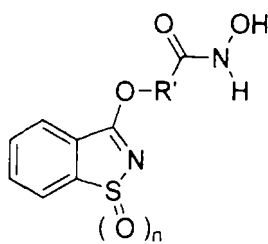
45

Etapa D

50

Comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ib)

55



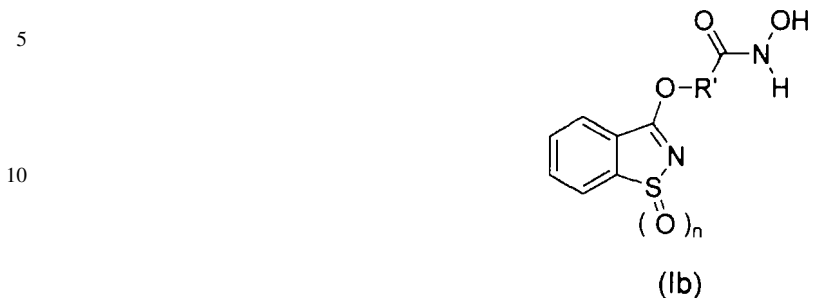
60

(Ib)

65

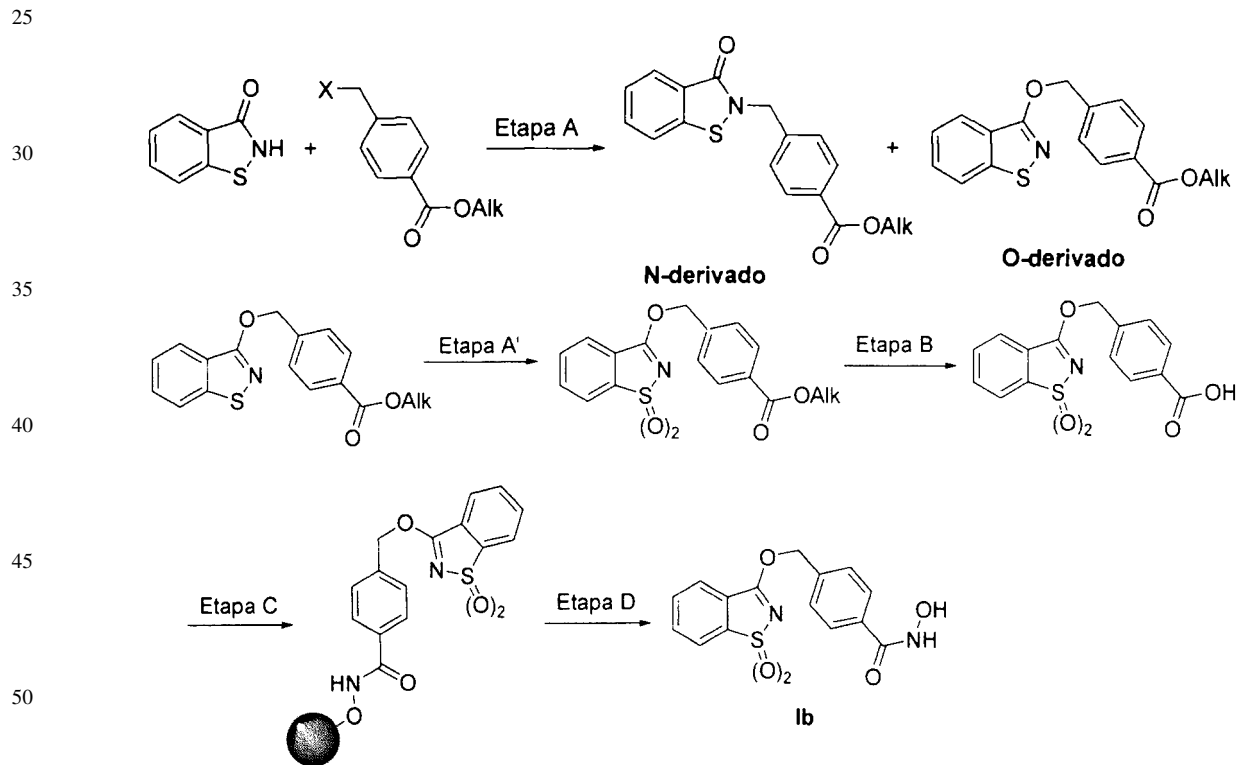
donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

La invención también se refiere a otro procedimiento, que se representa en el siguiente Esquema 8, para la preparación de un compuesto de fórmula general (Ib),



donde R' es un radical , y n es 2.

Esquema 8



55 Dicho procedimiento comprende las siguientes etapas A, A', B, C y D de reacción que se describen a continuación.

Etapa A

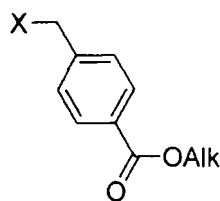
60 Comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,



ES 2 288 803 B1

con un compuesto de fórmula:

5



10

donde

X representa un grupo saliente, como por ejemplo, Br, Cl, -OSO₂CH₃ o un -OSO₂Ph(pCH₃); y

15

Alk representa un grupo alquilo como por ejemplo, etilo, metilo o t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

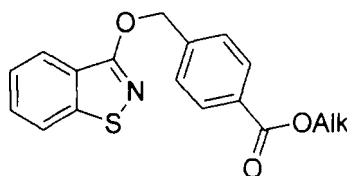
en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte.

20

Etapa A'

Comprende oxidación del éster obtenido en la etapa A, o alternativamente el producto con la función ácida protegida, de fórmula general

25



30

donde m y Alk tienen el significado anteriormente mencionado,

35

en presencia de una solución de H₅IO₆ y CrO₃ en acetonitrilo y a -35°C.

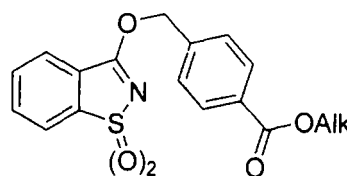
La adición de la solución de H₅IO₆ y CrO₃ en acetonitrilo a -35°C, a una solución en acetato de etilo del éster anterior se efectúa según el procedimiento publicado de Xu *et al.* [Xu, L.; Cheng, J.; Trudell, M. L. Chromonium (VI) oxide catalyzed oxidation of sulfides to sulfones with periodic acid. *Journal of Organic Chemistry* 2003, 68, 5388-5391].

40

Etapa B

Comprende la hidrólisis del éster oxidado derivado obtenido en la etapa A' de fórmula general

45



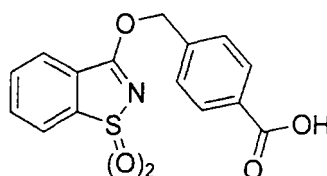
50

55

donde Alk tiene el significado anteriormente mencionado

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula general:

60



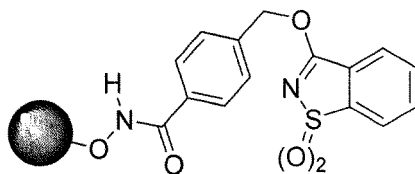
65

ES 2 288 803 B1

Comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang fórmula general:

5

10



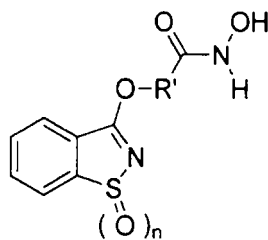
15 y

Etapa D

20

Comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ib)

25



30

(Ib)

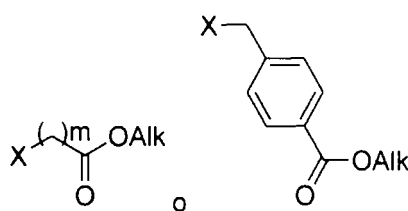
35 donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

En los procedimientos definidos anteriormente para la preparación de los compuestos de fórmula general (Ib) de la invención, las condiciones de reacción de las Etapas A, A', B, C y D son comunes.

40

Los compuestos de partida para la etapa A:

45



50

donde X, m y Alk tienen los significados mencionados anteriormente son comerciales o pueden prepararse fácilmente por un experto en la materia mediante procedimientos convencionales.

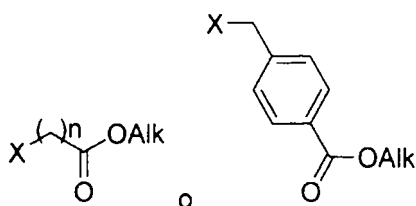
55

Los derivados de benzo[d]isotiazol de partida, benzo[d]isotiazol-3(2H)-ona y 1,1- dióxido-3-oxo-2H-benzo[d] isotiazol, son comercializados por la empresa Sigma-Aldrich.

Con respecto a los compuestos de partida de fórmulas generales:

60

65



ES 2 288 803 B1

Alk, como se mencionó anteriormente, puede ser un grupo protector de la función ácida. Dicho grupo protector puede ser cualquier grupo protector convencional conocido para un experto en la materia como por ejemplo un grupo protector alilo para formar ésteres de alilo. Su desprotección se puede llevar a cabo, mediante métodos convencionales, por ejemplo, en presencia de paladio (0), trifenilfosfina y fenilsilano. Dependiendo de su naturaleza las condiciones para su desprotección en la etapa B del procedimiento también son conocidas para un experto en la materia.

La etapa A de los procedimientos anteriormente descritos se lleva a cabo en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte. En una realización particular dicha base inorgánica, es un carbonato, como por ejemplo carbonato potásico. En una realización particular dicho disolvente inerte es dimetilformamida (DMF). La reacción entre los productos de partida se lleva a cabo por calentamiento de la mezcla de reacción a una temperatura adecuada en función del disolvente, típicamente en torno a 120°C y durante un tiempo que puede ser variable dependiendo de los productos de partida, y condiciones de reacción, típicamente es de 24 h. El producto intermedio de reacción obtenido en la etapa A puede precipitarse por adición de agua-hielo, se filtra, y se obtiene en forma de un sólido que puede secarse a vacío. Alternativamente los productos intermedios de reacción obtenidos en la etapa A que no precipitan en las condiciones anteriores se pueden extraer con un disolvente orgánico adecuado, como por ejemplo acetato de etilo. La fase orgánica se seca, se filtra y se concentra en el rotavapor. El producto obtenido puede opcionalmente purificarse mediante cromatografía flash utilizando mezclas de disolventes adecuados como por ejemplo acetato de etilo/hexano.

La etapa A' se realiza cuando en el compuesto a obtener con estructura (Ib), n toma valor 2. Para ello, sobre una solución del O-derivado (obtenido en la etapa A) en acetato de etilo, se adiciona gota a gota una solución de H₅IO₆ y CrO₃ en acetonitrilo, a -35°C, según el procedimiento descrito por Xu *et al.* [Xu, L.; Cheng, J.; Trudell, M. L. Chromonium (VI) oxide catalyzed oxidation of sulfides to sulfones with periodic acid. *Journal of Organic Chemistry* 2003, 68, 5388-5391].

En la etapa B se lleva a cabo la hidrólisis del producto obtenido en la etapa A. En el caso de que dicho derivado sea un éster derivado, la hidrólisis del mismo se lleva a cabo típicamente en presencia de un ácido por calentamiento. En una realización particular se utiliza ácido clorhídrico concentrado. El producto intermedio obtenido se precipita por adición de agua, se filtra y opcionalmente se purifica mediante cromatografía flash utilizando mezclas de disolventes adecuados como por ejemplo diclorometano/metanol.

En la etapa C la resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina es un producto comercial. Se acondiciona con un disolvente inerte polar aprótico, típicamente diclorometano. A continuación se filtra, y se lava con un disolvente inerte típicamente dimetilformamida. Se adiciona HOAt, DIPCDI y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B en un disolvente adecuado, en particular DMF. Finalizada la reacción entre el derivado de ácido carboxílico y la resina funcionalizada, ésta se filtra, se lava típicamente con DMF y se acondiciona con diclorometano.

En la etapa D el derivado de ácido hidroxámico unido a la resina se libera por adición de un ácido en un disolvente. En una realización particular se utiliza TFA en DCM. El derivado resultante de fórmula general (Ia) o (Ib) se puede purificar y/o aislar conforme a procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica. En una realización particular se lleva a cabo mediante cromatografía flash y se caracteriza por resonancia magnética nuclear (RMN) y espectrometría de masas (EM), particularmente espectrometría de masas de iones líquidos secundarios de alta resolución (HR LSIMS).

Durante una o más etapas de los procedimientos de síntesis descritos antes y representados en los Esquemas 1 a 8, puede ser necesario y/o deseable proteger grupos sensibles o reactivos en algunas de las moléculas empleadas. Esto se puede realizar por medio de grupos protectores convencionales tales como los descritos en la bibliografía [a) T. W. Greene & P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, John Wiley & Sons, 3ª edición, **1999**; b) Philip J. Kocienski, *Protecting Groups*, Thieme, 3ª edición, **2004**]. Los grupos protectores se pueden eliminar en una etapa posterior adecuada por procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. Las respectivas descripciones bibliográficas se incorporan en la presente memoria como referencia y forman parte de la descripción.

Las sales farmacológicamente aceptables de los compuestos inhibidores de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) se pueden preparar por procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica, que comprenden la reacción con una base para formar la correspondiente sal de adición, por ejemplo, las sales amónicas, alcalinas, o alcalino-térricas, en particular de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio o una sal con una base orgánica tal como benzatina, N-metil-D-glucamina, o con aminoácidos como lisina o arginina.

Los solvatos fisiológicamente aceptables, en particular hidratos y alcoholatos de los derivados de fórmula general (Ia) o (Ib) o de sus sales fisiológicamente aceptables correspondientes se pueden preparar por procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica.

ES 2 288 803 B1

Ejemplos

Ejemplo 1

5 Síntesis del inhibidor 6-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxi hexanamida (MTC-97)

La síntesis comprendió las siguientes etapas:

10 1.1 Síntesis de 6-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) hexanoato de etilo (Etapa A)

Se partió de 1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol (400 mg, 1.95 mmol) y 6-bromohexanoato de etilo (0.35 ml, 1.95 mmol), en 1 ml de DMF. La purificación se realizó mediante extracción con acetato de etilo (3x 5 ml), tras adición de hielo-agua. Las fases orgánicas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron en el rotavapor. Se obtuvo un líquido amarillo (633 mg, rendimiento cuantitativo).

¹H-RMN (CDCl₃): δ 8.05 - 8.02 (m, 1H, H_{arom}); 7.97 - 7.78 (m, 3H, H_{arom}); 4.11 (c, 2H, O-CH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 3.76 (t, 2H, N-CH₂, J = 7.5 Hz); 2.30 (t, 2H, CH₂-CO, J = 7.5 Hz); 1.86 (q, 2H, CH₂); 1.69 (q, 2H, CH₂); 1.49 - 1.39 (m, 2H, CH₂); 1.23 (t, 3H, CH₃, J = 7.4 Hz).

¹³C-RMN (CDCl₃): 173.5 (COOEt); 159.0 (CON); 137.9 (C_{arom}); 134.8 (CH_{arom}); 134.4 (CH_{arom}); 127.5 (C_{arom}); 125.2 (CH_{arom}); 121.0 (CH_{arom}); 60.3 (O-CH₂CH₃); 39.3 (N-CH₂); 34.2 (CH₂-CO); 28.2 (CH₂); 26.4 (CH₂); 24.5 (CH₂); 14.3 (CH₃).

25 HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₉NO₅SNa (M+Na)⁺ 348.0882; encontrado 348.0875.

1.2 Síntesis del ácido 6-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) hexanoico (Etapa B)

30 Se partió del éster 6-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) hexanoato de etilo obtenido en la etapa anterior (625 mg, 1.92 mmol) y de 6 ml de HCl concentrado. Se obtuvo un sólido blanco (387.6 mg) con p.f. = 98-100°C (Rendimiento: 68%).

¹H-RMN (C₃D₆O): δ 10.45 (sa, 1H, COOH); 8.15 - 7.97 (m, 4H, H_{arom}); 3.76 (t, 2H, N-CH₂, J = 7.3 Hz); 2.31 (t, 2H, CH₂-CO, J = 7.4 Hz); 1.84 (q, 2H, CH₂); 1.66 (q, 2H, CH₂); 1.52 - 1.42 (m, 2H, CH₂).

¹³C-RMN (C₃D₆O): 173.6 (COOH); 158.8 (CON); 138.0 (C_{arom}); 135.4 (CH_{arom}); 134.9 (CH_{arom}); 127.3 (C_{arom}); 125.0 (CH_{arom}); 121.1 (CH_{arom}); 38.8 (N-CH₂); 33.2 (CH₂-CO); 28.1 (CH₂); 26.1 (CH₂); 24.3 (CH₂).

40 HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₅NO₅SNa (M+Na)⁺ 320.0569; encontrado 320.0571.

1.3 Síntesis de 6-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxi hexanamida (MTC-97) (Etapas C y D)

45 Una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina (0.14 mmol) se acondicionó en diclorometano (DCM) durante 6 h. A continuación se lavó con dimetilformamida (DMF, 2x4 ml) y se adicionó una solución de HOAt (73.50 mg, 0.54 mmol), DIPCDI (0.08 ml, 0.54 mmol), y el ácido 6-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) hexanoico obtenido en la etapa anterior (160.42 mg, 0.54 mmol). Transcurridas 24 h. de reacción, la resina se lavó con DMF (3x4 ml), y se acondicionó con DCM (3x4 ml). El derivado de ácido hidroxámico unido a la resina se liberó de la resina mediante la adición de 10 ml de una solución de ácido trifluoroacético (TFA) en DCM al 50% durante 30 min. Por último, la resina se lavó con DCM y las fases orgánicas se concentraron en el rotavapor. El crudo de reacción obtenido se purificó por cromatografía flash usando como eluyente DCM:MeOH (10:0.1). Se obtuvo un sólido beige con p.f. 139-141°C.

55 ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 10.31 (s, 1H, NHOH); 8.65 (s, 1H, OH); 8.28 (d, 1 H, H_{arom}, J = 7.2 Hz); 8.10 - 7.95 (m, 3H, H_{arom}); 3.67 (t, 2H, N-CH₂, J = 7.3 Hz); 1.92 (t, 2H, CH₂-CO, J = 7.3 Hz); 1.70 (q, 2H, CH₂); 1.50 (q, 2H, CH₂); 1.34 - 1.27 (m, 2H, CH₂).

¹³C-RMN (DMSO-d₆): 168.8 (CONHOH); 158.4 (CO); 136.7 (C_{arom}); 135.6 (CH_{arom}); 135.1 (CH_{arom}); 126.2 (C_{arom}); 124.9 (CH_{arom}); 121.3 (CH_{arom}); 38.4 (N-CH₂); 31.9 (CH₂-CO); 27.5 (CH₂); 25.6 (CH₂); 24.4 (CH₂).

60 HR LSIMS: Calculado para C₁₃H₁₆N₂O₅SNa (M+Na)⁺ 335.0677; encontrado 335.0676.

65

ES 2 288 803 B1

Ejemplo 2

Síntesis del inhibidor 7-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxiheptanamida (MTC-124)

5 La síntesis comprendió las siguientes etapas:

2.1 Síntesis de 7-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) heptanoato de etilo (Etapa A)

10 Se partió de 1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol (400 mg, 1.95 mmol) y 7-bromoheptanoato de etilo (0.38 ml, 1.95 mmol), en 1 ml de DMF. Se purificó mediante extracción con acetato de etilo (3x5 ml), tras adición de hielo-agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró, y se concentró en el rotavapor. Se obtuvo un líquido amarillo (600 mg, rendimiento = 91%).

15 ¹H-RMN (CDCl₃): δ 8.04 (dd, 1 H, H_{arom}, J = 2.2 Hz, J = 6.5 Hz) 7.92 - 7.78 (m, 3H, H_{arom}); 4.12 (c, 2H, O-CH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 3.75 (t, 2H, N-CH₂, J = 7.5 Hz); 2.28 (t, 2H, CH₂-CO, J = 7.5 Hz); 1.84 (q, 2H, CH₂); 1.63 (q, 2H, CH₂); 1.44 - 1.36 (m, 4H, CH₂); 1.23 (t, 3H, CH₃, J = 7.2 Hz).

20 ¹³C-RMN (CDCl₃): 173.7 (COOEt); 159.1 (CON); 137.9 (C_{arom}); 134.7 (CH_{arom}); 134.3 (CH_{arom}); 127.6 (C_{arom}); 125.2 (CH_{arom}); 121.0 (CH_{arom}); 60.3 (O-CH₂CH₃); 39.4 (N-CH₂); 34.3 (CH₂-CO); 28.6 (CH₂); 28.3 (CH₂); 26.5 (CH₂); 24.9 (CH₂); 14.3 (CH₃).

HR LSIMS: Calculado para C₁₆H₂₁NO₅SNa (M+Na)⁺ 362.1038; encontrado 362.1031.

25

2.2 Síntesis del ácido 7-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)heptanoico (Etapa B)

30 Se partió del éster 7-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) heptanoato de etilo obtenido en la etapa anterior (590 mg, 1.74 mmol) y de 6 ml de HCl concentrado. Se obtuvo un sólido blanco (509 mg) con p.f. = 100-102°C (rendimiento = 94%).

¹H-RMN (C₃D₆O): δ 8.15 - 7.95 (m, 4H, H_{arom}); 3.75 (t, 2H, N-CH₂, J = 7.4 Hz); 2.28 (t, 2H, CH₂-CO, J = 7.4 Hz); 1.81 (q, 2H, CH₂, J = 7.3 Hz); 1.60 (q, 2H, CH₂, J = 7.3 Hz); 1.47 - 1.38 (m, 4H, CH₂).

35 ¹³C-RMN (C₃D₆O): 173.7 (COOH); 158.8 (CON); 138.0 (C_{arom}); 135.4 (CH_{arom}); 134.9 (CH_{arom}); 127.2 (C_{arom}); 125.0 (CH_{arom}); 121.0 (CH_{arom}); 38.9 (N-CH₂); 33.2 (CH₂-CO); 28.4 (CH₂); 28.2 (CH₂); 26.3 (CH₂); 24.6 (CH₂).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₇NO₅SNa (M+Na)⁺ 334.0725; encontrado 334.0728.

40

2.3 Síntesis de 7-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxiheptanamida (MTC-124) (Etapas C y D)

45 Una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina (0.14 mmol) se acondicionó en diclorometano (DCM) durante 6 h. A continuación se lavó con dimetilformamida (DMF, 2x4 ml) y se adicionó una solución de HOAt (73.50 mg, 0.54 mmol), DPCDI (0.08 ml, 0.54 mmol) y el ácido 7-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) heptanoico obtenido en la etapa anterior (167.98 mg, 0.54 mmol). Transcurridas 24 h. de reacción, la resina se lavó con DMF (3x4 ml), y se acondicionó con DCM (3x4 ml). El derivado de ácido hidroxámico unido a la resina se liberó de la resina mediante la adición de 10 ml de una solución de ácido trifluoroacético (TFA) en DCM al 50% durante 30 min. Por último, la resina se lavó con DCM y las fases orgánicas se concentraron en el rotavapor. El crudo obtenido se purificó por cromatografía flash utilizando como eluyente DCM:MeOH (10:0.1). Se obtuvo un sirupo marrón claro (25 mg, rendimiento = 42%).

50 ¹H-RMN (CDCl₃): δ 8.04 (dd, 1H, H_{arom}, J = 2.1 Hz, J = 6.6 Hz); 7.92 - 7.79 (m, 3H, H_{arom}); 3.75 (t, 2H, N-CH₂, J = 7.3 Hz); 2.14 (m, 2H, CH₂); 2.14 (m, 2H, CH₂); 1.82 (m, 2H, CH₂); 1.63 (m, 2H, CH₂); 1.40 (m, 2H, CH₂).

55

¹³C-RMN (CDCl₃): 159.2 (CONHOH); 137.7 (CO); 134.8 (C_{arom}); 134.8 (CH_{arom}); 134.4 (CH_{arom}); 127.4 (C_{arom}); 125.2 (CH_{arom}); 121.0 (CH_{arom}); 39.3 (N-CH₂); 29.8 (CH₂-CO); 28.3 (CH₂); 28.1 (CH₂); 26.2 (CH₂); 25.0 (CH₂).

HR LSIMS: Calculado para C₁₄H₁₈SN₂O₅SNa (M+Na)⁺ 349.0834; encontrado 349.0830.

60

65

ES 2 288 803 B1

Ejemplo 3

Síntesis del inhibidor 4-[(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)metil]-N-hidroxibenzamida (MTC-128)

5 La síntesis comprendió las siguientes etapas:

3.1 Síntesis de 4-[(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)metil] benzoato de etilo (Etapa A)

10 Se partió de 1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol (400 mg, 1.95 mmol) y 4-bromometilbenzoato de etilo (474 mg, 1.95 mmol), en 1 ml de DMF. Se purificó mediante extracción con acetato de etilo (3x5 ml), tras adición de hielo-agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró, y se concentró en el rotavapor. El producto obtenido se utilizó en la siguiente reacción sin una mayor purificación.

3.2 Síntesis del ácido 4-[(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)metil] benzoico (Etapa B)

15 Se partió del éster 4-[(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)metil] benzoato de etilo obtenido en la etapa anterior (663 mg, 1.92 mmol) y de 6 ml de HCl concentrado. El producto se purificó por cromatografía flash utilizando una mezcla de DCM/hexano y se utilizó en la siguiente reacción sin una mayor purificación.

3.3 Síntesis de 4-[(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)metil]-N-hidroxibenzamida (MTC-128) (Etapas C y D)

25 Una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina (0.14 mmol) se acondicionó en diclorometano (DCM) durante 6 h. A continuación se lavó con dimetilformamida (DMF, 2x4 ml) y se adicionó una solución de HOAt (74 mg, 0.54 mmol), DIPCDI (0.08 ml, 0.54 mmol) y el ácido 4-[(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)metil] benzoico obtenido en la etapa anterior (171 mg, 0.54 mmol). Transcurridas 24 h. de reacción, la resina se lavó con DMF (3x4 ml), y se acondicionó con DCM (3x4 ml). El derivado de ácido hidroxámico unido a la resina se liberó de la resina mediante la adición de 10 ml de una solución de ácido trifluoroacético (TFA) en DCM al 50% durante 30 min. Por último, la resina se lavó con DCM y las fases orgánicas se concentraron en el rotavapor. El producto obtenido tras la hidrólisis de la resina se recristalizó de una mezcla de DCM/hexano. Se obtuvo un sólido beige.

35 ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 11.20 (s, 1H, NHOH); 9.01 (s, 1H, OH); 8.33 (d, 1H, H_{arom}, J = 6.0 Hz); 8.13 - 7.98 (m, 3H, H_{arom}); 7.71 (d, 1H, H_{arom}, J = 8.4 Hz); 7.47 (d, 1H, H_{arom}, J = 8.4 Hz); 4.95 (s, 1H, CH₂).

HR LSIMS: Calculado para C₁₅H₁₂N₂O₅S (M)⁺ 332.0467; encontrado 332.0468.

40 Ejemplo 4

Síntesis del inhibidor 6-[(benzo[d]isotiazol-3-il)oxa]-N-hidroxihexanamida (MTC-144)

45 La síntesis comprendió las siguientes etapas:

4.1 Síntesis de 6-[(benzo[d]isotiazol-3-il)oxa] hexanoato de etilo y 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) hexanoato de etilo (Etapa A)

50 Se partió de una disolución de benzo-[d]-isotiazol-3-(2H)-ona (400 mg, 2.65 mmol) y K₂CO₃ (366 mg, 2.65 mmol) en acetonitrilo (7 ml), a la que se adicionó 6- bromohexanoato de etilo (0.47 ml, 2.65 mmol). Se llevó a ebullición durante 24 horas. Se concentró en el rotavapor, se diluyó en agua, y se hizo una extracción con acetato de etilo (3x5 ml). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró en el rotavapor. Los dos productos formados se purificaron mediante cromatografía flash usando como eluyente hexano:acetato de etilo (3:1). Se obtuvieron dos líquidos amarillos: 6-[(benzo[d]isotiazol-3-il)oxa] hexanoato de etilo (rendimiento: 426 mg, 55%) y 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) hexanoato de etilo (rendimiento: 245 mg, 32%).

Datos espectroscópicos del 6-[(benzo[d]isotiazol-3-il)oxa] hexanoato de etilo:

60 ¹H-RMN (CDCl₃): δ 7.89 (d, 1H, H_{arom}, J = 8.0 Hz); 7.75 (d, 1H, H_{arom}, J = 8.2 Hz); 7.49 (ddd, 1H, H_{arom}, J = 1.1 Hz, J = 7.0 Hz); 7.36 (ddd, 1H, H_{arom}, J = 0.8 Hz, J = 7.1 Hz); 4.53 (t, 2H, O-CH₂, J = 6.6 Hz); 4.12 (c, 2H, O-CH₂CH₃, J = 7.1 Hz); 2.34 (t, 2H, CH₂-CO, J = 7.5 Hz); 1.90 (q, 2H, CH₂); 1.78 - 1.51 (m, 4H, CH₂); 1.24 (t, 3H, CH₃, J = 7.2 Hz).

65 ¹³C-RMN (CDCl₃): 173.7 (COOEt); 163.3 (CO); 151.6 (C_{arom}); 128.7 (CH_{arom}); 125.6 (C_{arom}); 124.4 (CH_{arom}); 123.2 (CH_{arom}); 120.2 (CH_{arom}); 68.6 (O-CH₂); 60.3 (O-CH₂CH₃); 34.4 (CH₂-CO); 28.8 (CH₂); 25.7 (CH₂); 24.8 (CH₂); 14.3 (CH₃).

ES 2 288 803 B1

HR LSIMS: Calculado para $C_{15}H_{19}NO_3SNa$ ($M+Na$)⁺ 316.0983; encontrado 316.0979.

Datos espectroscópicos del 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) hexanoato de etilo:

5 1H -RMN ($CDCl_3$): δ 8.01 (d, 1H, H_{arom} , $J = 7.9$ Hz); 7.61 - 7.51 (m, 2H, H_{arom}); 7.38 (m, 1H, H_{arom}); 4.09 (c, 2H, $O-CH_2CH_3$, $J = 7.2$ Hz); 3.88 (t, 2H, $N-CH_2$, $J = 7.2$ Hz); 2.28 (t, 2H, CH_2-CO , $J = 7.4$ Hz); 1.82 - 1.62 (m, 4H, CH_2); 1.45 - 1.37 (m, 2H, CH_2); 1.21 (t, 3H, CH_3 , $J = 7.2$ Hz).

10 ^{13}C -RMN ($CDCl_3$): 173.5 ($COOEt$); 165.4 (CO); 140.2 (C_{arom}); 131.7 (CH_{arom}); 126.7 (CH_{arom}); 125.5 (CH_{arom}); 124.8 (C_{arom}); 120.4 (CH_{arom}); 60.3 ($O-CH_2CH_3$); 43.8 ($N-CH_2$); 34.2 (CH_2-CO); 29.3 (CH_2); 26.2 (CH_2); 24.6 (CH_2); 14.3 (CH_3).

HR LSIMS: Calculado para $C_{15}H_{19}NO_3SNa$ ($M+Na$)⁺ 316.0983; encontrado 316.0986.

15

4.2 Síntesis del ácido 6-[(benzo[d]isotiazol-3-il)oxa] hexanoico (Etapa B)

Se partió de 6-[(benzo[d]isotiazol-3-il)oxa] hexanoato de etilo obtenido en la etapa anterior (405 mg, 1.38 mmol) y 3.5 ml de HCl concentrado a reflujo. Se concentró en el rotavapor, se adicionó agua, y se realizó una extracción con acetato de etilo (3x5 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se filtró, y se concentró en el rotavapor. Se purificó mediante cromatografía flash usando como eluyente hexano:acetato de etilo (3:1). El producto (187 mg) se aisló con un rendimiento = 51%.

25 1H -RMN ($CDCl_3$): δ 7.90 (d, 1H, H_{arom} , $J = 8.0$ Hz); 7.75 (d, 1H, H_{arom} , $J = 8.2$ Hz); 7.50 (t, 1H, H_{arom}); 7.36 (t, 1H, H_{arom} , $J = 7.5$ Hz); 4.53 (t, 2H, $O-CH_2$, $J = 6.5$ Hz); 2.41 (t, 2H, CH_2-CO , $J = 7.4$ Hz); 1.95 - 1.86 (m, 2H, CH_2); 1.82 - 1.70 (m, 2H, CH_2); 1.61-1.52 (m, 2H, CH_2).

30 ^{13}C -RMN ($CDCl_3$): 179.4 ($COOH$); 163.3 (CO); 151.6 (C_{arom}); 128.7 (CH_{arom}); 125.5 (C_{arom}); 124.4 (CH_{arom}); 123.2 (CH_{arom}); 120.2 (CH_{arom}); 68.5 ($O-CH_2$); 39.9 (CH_2-CO); 28.8 (CH_2); 25.7 (CH_2); 24.5 (CH_2).

4.3 Síntesis de 6-[(benzo[d]isotiazol-3-il)oxa]-N-hidroxihexanamida (MTC-144) (Etapas C y D)

35 Una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina (0.09 mmol) se acondicionó en diclorometano (DCM) durante 6 h. A continuación se lavó con dimetilformamida (DMF, 2x4 ml) y se adicionó una solución de HOAt (49 mg, 0.36 mmol), DIPCDI (0.06 ml, 0.36 mmol) y el ácido 6-[(benzo[d]isotiazol-3-il)oxa] hexanoico obtenido en la etapa anterior (95 mg, 0.36 mmol). Transcurridas 24 h. de reacción, la resina se lavó con DMF (3x4 ml), y se acondicionó con DCM (3x4 ml). El derivado de ácido hidroxámico unido a la resina se liberó de la resina mediante la adición de 10 ml de una solución de ácido trifluoroacético (TFA) en DCM al 50% durante 30 min. Por 40 último, la resina se lavó con DCM y las fases orgánicas se concentraron en el rotavapor. El crudo se purificó mediante cromatografía flash usando como eluyente DCM:MeOH (10:0.3), obteniéndose un sólido blanco (12 mg, rendimiento = 24%).

45 1H -RMN ($DMSO-d_6$): δ 10.32 (s, 1H, $NHOH$); 8.65 (s, 1H, OH); 8.04 (d, 1H, H_{arom} , $J = 8.2$ Hz); 7.87 (d, 1H, H_{arom} , $J = 8.0$ Hz); 7.59 (dt, 1H, H_{arom} , $J = 1.1$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 8.1$ Hz); 7.44 (dt, 1H, H_{arom} , $J = 0.8$ Hz, $J = 7.6$ Hz, $J = 8.1$ Hz); 4.45 (t, 2H, $O-CH_2$, $J = 6.6$ Hz); 1.95 (t, 2H, CH_2-CO , $J = 7.2$ Hz); 1.79 (q, 2H, CH_2); 1.55 (q, 2H, CH_2); 1.44-1.34 (m, 2H, CH_2).

50 ^{13}C -RMN ($DMSO-d_6$): 168.9 ($CONHOH$); 162.4 (CO); 150.9 (C_{arom}); 128.9 (CH_{arom}); 124.8 (CH_{arom}); 124.5 (C_{arom}); 122.4 (CH_{arom}); 120.9 (CH_{arom}); 68.3 ($O-CH_2$); 32.0 (CH_2-CO); 28.0 (CH_2); 25.0 (CH_2); 24.7 (CH_2).

HR LSIMS: Calculado para $C_{13}H_{17}N_2O_3S$ ($M+H$)⁺ 281.0960; encontrado 281.0967.

55 Ejemplo 5

Síntesis del inhibidor 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxihexanamida (MTC-136)

La síntesis comprendió las siguientes etapas:

60

5.1. Síntesis de 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) hexanoato de etilo (Etapa A)

Se efectuó tal y como se indica en el apartado 4.1 anterior.

65

ES 2 288 803 B1

5.2. Síntesis de ácido 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)hexanoico (Etapa B)

Se partió del éster 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) hexanoato de etilo obtenido en la etapa anterior (234 mg, 0.80 mmol) se trató con 3.5 ml de HCl concentrado a reflujo. Transcurrido el tiempo de reacción se diluyó con agua y el producto final precipitado se filtró, y se obtuvo un sólido blanco con p.f. = 59-61°C. Rendimiento: 177 mg (83%).

¹H-RMN (C₃D₆O): δ 10.47 (d, 1H, COOH); 7.87 (c, 2H, H_{arom}); 7.67 (ddd, 1H, H_{arom}); 7.44 (ddd, 1H, H_{arom}); 3.87 (t, 2H, N-CH₂, J = 7.1 Hz); 2.29 (t, 2H, CH₂-CO, J = 7.4 Hz); 1.81 - 1.59 (m, 4H, CH₂); 1.43-1.35 (m, 2H, CH₂).

¹³C-RMN (C₃D₆O): 174.5 (COOH); 165.5 (CO); 141.4 (C_{arom}); 132.6 (CH_{arom}); 126.8 (CH_{arom}); 126.3 (CH_{arom}); 125.6 (C_{arom}); 122.0 (CH_{arom}); 43.9 (N-CH₂); 34.0 (CH₂-CO); 29.9 (CH₂); 26.7 (CH₂); 25.2 (CH₂).

5.3. Síntesis de 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxihexanamida (MTC-136) (Etapas C y D)

Una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina (0.09 mmol) se acondicionó en diclorometano (DCM) durante 6 h. A continuación se lavó con dimetilformamida (DMF, 2x4 ml) y se adicionó una solución de HOAt (49 mg, 0.36 mmol), DIPCDI (0.06 ml, 0.36 mmol) y el ácido 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il) hexanoico obtenido en la etapa anterior (105 mg, 0.36 mmol). Transcurridas 24 h. de reacción, la resina se lavó con DMF (3x4 ml), y se acondicionó con DCM (3x4 ml). El derivado de ácido hidroxámico unido a la resina se liberó de la resina mediante la adición de 10 ml de una solución de ácido trifluoroacético (TFA) en DCM al 50% durante 30 min. Por último, la resina se lavó con DCM y las fases orgánicas se concentraron en el rotavapor. Se recristalizó de DCM. Se obtuvo un sólido blanco con p.f. = 153-155°C. Rendimiento: 22 mg (44%).

¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 10.30 (s, 1H, NHOH); 7.94 (d, 1H, H_{arom}, J = 8.1 Hz); 7.83 (d, 1H, H_{arom}, J = 7.8 Hz); 7.65 (t, 1H, H_{arom}, J = 7.2 Hz); 7.41 (t, 1H, H_{arom}, J = 7.4 Hz); 3.78 (t, 2H, N-CH₂, J = 7.0 Hz); 1.90 (t, 2H, CH₂-CO, J = 7.3 Hz); 1.68 - 1.44 (m, 4H, CH₂); 1.28 - 1.20 (m, 2H, CH₂).

¹³C-RMN (DMSO-d₆): 168.8 (CONHOH); 164.2 (CO); 140.2 (C_{arom}); 131.6 (CH_{arom}); 125.5 (CH_{arom}); 125.4 (CH_{arom}); 124.1 (C_{arom}); 121.8 (CH_{arom}); 42.7 (N-CH₂); 32.0 (CH₂-CO); 28.6 (CH₂); 25.5 (CH₂); 24.6 (CH₂).

Ejemplo 6

Se evaluó la actividad inhibidora de los compuestos obtenidos en los Ejemplos 1, 2, 3 y 5 anteriores, para lo cual se utilizó el kit de valoración colorimétrico para inhibición de HDAC AK-501, suministrado por Biomol, siguiendo el protocolo indicado.

El procedimiento del ensayo se realizó en dos pasos. En el primero, el sustrato Color de Lys[®], que contiene un grupo lisina acetilado, se incubó con una muestra de extracto nuclear de HeLa (línea celular de cáncer cervical humano), rico en actividad HDAC. En el segundo paso la mezcla anterior, se trató con el revelador Color de Lys[®], lo que causó un incremento en la intensidad del color cuantificable a 405 nm. Existe una correlación lineal entre la absorción y la desacetilación de la lisina dentro de los límites instrumentales. La adición de un inhibidor de HDAC da lugar a una menor desacetilación del sustrato Color de Lys[®] y a una disminución de la intensidad a 405 nm.

El procedimiento de trabajo fue el siguiente:

1. Se añadió el buffer, el TSA (Trichostatin A) diluido (250 nM) y el inhibidor a ensayar a las concentraciones deseadas en los pozos apropiados de la placa (Véase Tabla siguiente).
2. Se añadió el extracto de Hela, excepto al control sin enzima.
3. La placa y el sustrato Color de Lys[®] se termostataron a 37°C.
4. Se iniciaron las reacciones adicionando el sustrato 0.4 mM (concentración final del sustrato 0.2 mM) en cada pozo y se agitó.
5. Se dejó un tiempo de reacción de 20 minutos a 37°C.
6. Se añadió el revelador Color de Lys[®], preparado aproximadamente 30 minutos antes de su utilización (se utilizó el revelador diluido 20 veces con una cantidad de TSA que resultó en una concentración final de 1 μM en el ensayo). Se dejó reaccionar 15 minutos a 37°C.
7. Se realizó la lectura a 405 nm.

ES 2 288 803 B1

TABLA

Pozos	Buffer	HeLa	Inhibidor (x5)	Sustrato (x2)	Revelador
Blanco	25 μ l	0	0	25 μ l	50 μ l
Control	20 μ l	5 μ l	0	25 μ l	50 μ l
TSA	10 μ l	5 μ l	10 μ l	25 μ l	50 μ l
Inhibidor	10 μ l	5 μ l	10 μ l	25 μ l	50 μ l

(x5) y (x2) indican los factores de dilución.

El resultado de la lectura utilizando 5 diferentes concentraciones tomadas entre 0.1-2.0 μ M de cada inhibidor permitió obtener una línea recta de concentraciones frente a actividad enzimática. A partir de la ecuación de dicha línea se calculó la concentración necesaria para deducir la actividad enzimática al 50% (CI_{50}). Los compuestos con valores de CI_{50} inferiores a 10 μ M se consideraron significativos desde el punto de vista biológico.

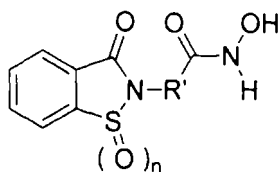
Compuesto	Referencia	CI_{50}
1	MTC-97	1.5 μ M
2	MTC-124	0.25 μ M
3	MTC-128	1.15 μ M
5	MTC-144	0.21 μ M

Los resultados obtenidos de CI_{50} para los cuatro compuestos reflejados en la tabla anterior demuestran que los derivados de benzo[d]isotiazol son útiles como inhibidores de las HDAC.

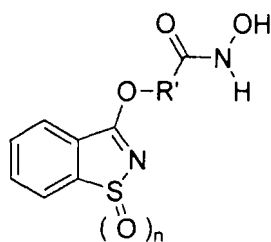
No se ha descrito con anterioridad ningún derivado de esta naturaleza como inhibidor de las HDAC. Además, la actividad se ve modulada: a) por la naturaleza del espaciador entre el fragmento de benzo[d]isotiazol y la función ácido hidroxámico, y b) por el grado de oxidación del azufre en el anillo de benzo[d]isotiazol y la posición del espaciador sobre el anillo de benzo[d]isotiazol (N-derivados y O-derivados).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas seleccionado de entre los compuestos de fórmula general (Ia) y (Ib)

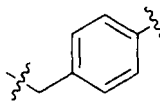


(Ia)



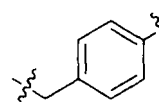
(Ib)

donde

R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 4, 5 ó 6, o un radical , y n es 0 ó 2,

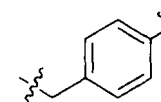
opcionalmente en forma de una de sus sales, en particular una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes.

2. Un compuesto según la reivindicación 1 de fórmula (Ia), en el que R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m

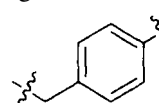
es 5 ó 6, o un radical , y n es 0 ó 2.

3. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 5 ó 6 y n es 0 ó 2.

4. Un compuesto según la reivindicación 3, en el que R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 5 ó 6 y n es 2.

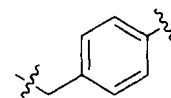
5. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que R' representa un radical , y n es 0 ó 2.

6. Un compuesto según la reivindicación 1 de fórmula (Ib), en el que R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m

es 4 ó 5, o un radical , y n es 0 ó 2.

7. Un compuesto según la reivindicación 6, en el que R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 4 ó 5 y n es 0 ó 2.

8. Un compuesto según la reivindicación 7, en el que R' representa un radical $-(CH_2)_m-$, donde m es 4 ó 5 y n es 0.



9. Un compuesto según la reivindicación 6, en el que R' representa un radical , y n es 0 ó 2.

10. Un compuesto según la reivindicación 1 seleccionado del grupo siguiente:

[1] 6-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxihexanamida (MTC-97)

[2] 7-(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxiheptanamida (MTC-124)

[3] 4-[(1,1-dióxido-3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)metil]-N-hidroxi benzamida (MTC-128)

[4] 6-(3-oxo-2H-benzo[d]isotiazol-2-il)-N-hidroxihexanamida (MTC-136)

[5] 6-[(benzo[d]isotiazol-3-il)oxa]-N-hidroxihexanamida (MTC-144).

11. Una composición farmacéutica que contiene uno o más compuestos inhibidores de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes según cualquiera de las reivindicaciones anteriores y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

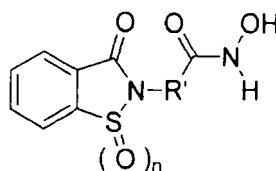
12. Un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades sensibles a la inhibición de las histonas desacetilasas en un mamífero, incluido el hombre.

13. Un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para el tratamiento y/o profilaxis del cáncer, en particular la leucemia, tumores sólidos y dependientes de señales hormonales alteradas, la psoriasis, enfermedades de tipo inflamatorio, la infección causada por HIV, la enfermedad de Alzheimer y la demencia senil en un mamífero, incluido el hombre.

14. Empleo de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades sensibles a la inhibición de las histonas desacetilasas, en un mamífero, incluido el hombre.

15. Empleo de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia) o (Ib) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o uno de sus solvatos correspondientes según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis del cáncer, en particular la leucemia, tumores sólidos y dependientes de señales hormonales alteradas, la psoriasis, enfermedades de tipo inflamatorio, la infección causada por HIV, la enfermedad de Alzheimer y la demencia senil, en un mamífero, incluido el hombre.

16. Procedimiento para la preparación de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia)



(Ia)

donde

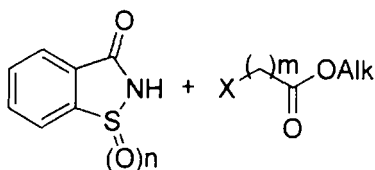
R' representa un radical $-(CH_2)_m-$ donde m es 5 ó 6; y n es 0 ó 2

que comprende las siguientes etapas de reacción:

ES 2 288 803 B1

la etapa A:

5



10

que comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol donde n es 0 ó 2, con un compuesto derivado de éster donde

15

m es 5 ó 6;

X representa un grupo saliente, seleccionado entre Br, Cl, $-\text{OSO}_2\text{CH}_3$ y $-\text{OSO}_2\text{Ph}(\text{pCH}_3)$; y

20

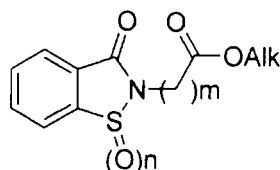
Alk representa un grupo alquilo seleccionado entre etilo, metilo y t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte;

25

la etapa B que comprende la hidrólisis del éster derivado obtenido en la etapa A de fórmula general

30

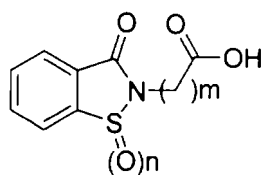


35

donde n, Alk y m tienen el significado anteriormente mencionado,

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula general:

40



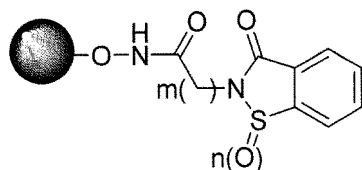
45

50

donde n y m tienen el significado anteriormente mencionado,

la etapa C que comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula general:

55



60

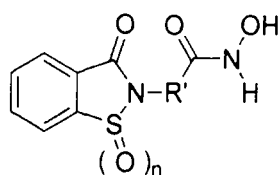
65

donde n y m tienen el significado anteriormente mencionado; y

ES 2 288 803 B1

la etapa D que comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ia)

5



10

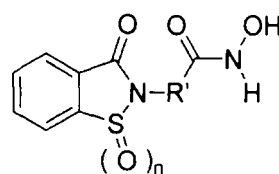
(Ia)

15

donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

17. Procedimiento para la preparación de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ia)

20

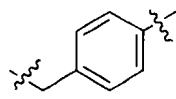


25

(Ia)

30

35

donde R' es un radical  y

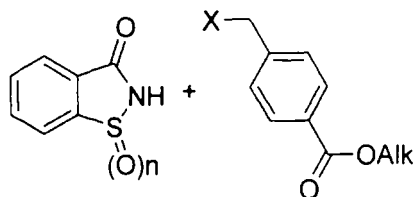
n es 0 ó 2,

40

que comprende las siguientes etapas de reacción:

la etapa A:

45



50

55

que comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol, donde n es 0 ó 2,

con un compuesto derivado de éster donde

60

X representa un grupo saliente seleccionado entre Br, Cl, -OSO₂CH₃ y -OSO₂Ph(pCH₃); y

Alk representa un grupo alquilo seleccionado entre etilo, metilo y t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

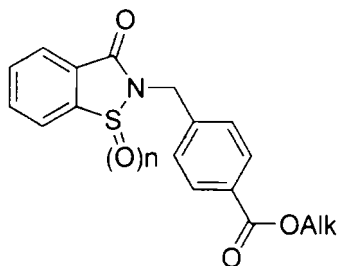
65

en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte;

ES 2 288 803 B1

la etapa B que comprende la hidrólisis del éster derivado obtenido en la etapa A de fórmula general:

5

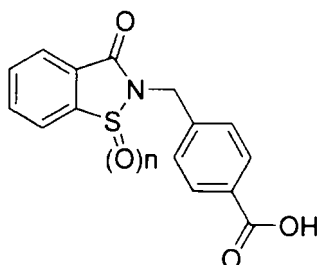


10

15 donde n y Alk tienen el significado anteriormente mencionado,

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula general:

20



25

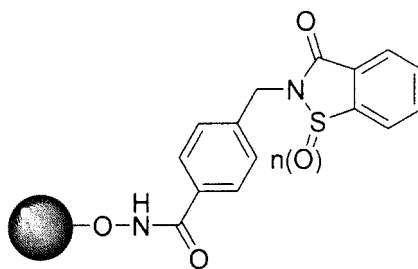
30

donde n tiene el significado anteriormente mencionado,

la etapa C que comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula general:

35

40

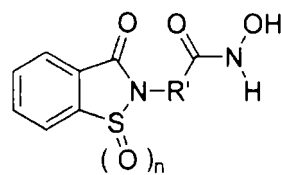


45

50 donde R tiene el significado anteriormente mencionado; y

la etapa D que comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ia)

55



60

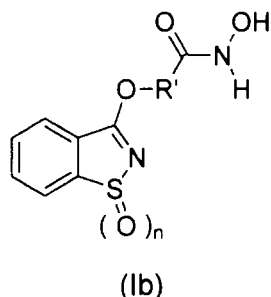
(Ia)

65

donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

ES 2 288 803 B1

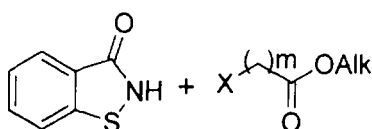
18. Procedimiento para la preparación de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ib)



15 donde

R' representa un radical $-(CH_2)_m-$ donde m es 4 ó 5; y n es 0,
que comprende las siguientes etapas de reacción:

la etapa A:



que comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,

con un compuesto derivado de éster donde

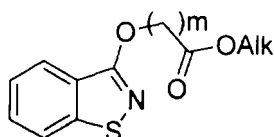
m es 4 ó 5;

X representa un grupo saliente, seleccionado entre Br, Cl, $-OSO_2CH_3$ y $-OSO_2Ph(pCH_3)$; y

Alk representa un grupo alquilo seleccionado entre etilo, metilo y t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

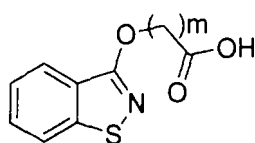
en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte;

la etapa B que comprende la hidrólisis del éster derivado obtenido en la etapa A de fórmula general



55 donde Alk y m tienen el significado anteriormente mencionado

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula general:

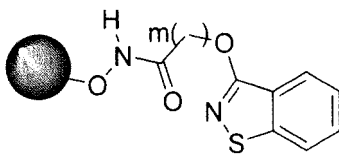


donde m tiene el significado anteriormente mencionado,

ES 2 288 803 B1

la etapa C que comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula general:

5



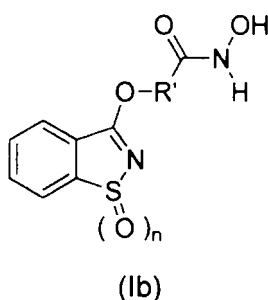
10

donde m tiene el significado anteriormente mencionado; y

15

la etapa D que comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ib)

20



25

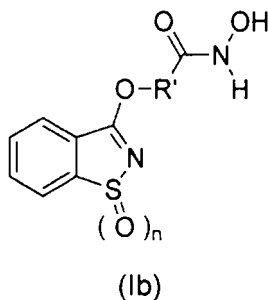
30

donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

35

19. Procedimiento para la preparación de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ib)

40



45

50

donde

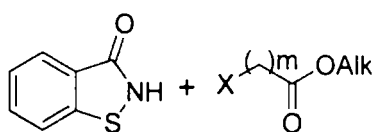
R' representa un radical $-(CH_2)_m-$ donde m es 4 ó 5; y n es 2,

55

que comprende las siguientes etapas de reacción:

la etapa A:

60



65

que comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,

ES 2 288 803 B1

con un compuesto derivado de éster donde

m es 4 ó 5;

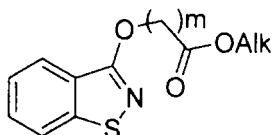
5 X representa un grupo saliente, seleccionado entre Br, Cl, $-\text{OSO}_2\text{CH}_3$ y $-\text{OSO}_2\text{Ph}(\text{pCH}_3)$; y

Alk representa un grupo alquilo seleccionado entre etilo, metilo y t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

10 en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte

la etapa A' que comprende la oxidación del éster obtenido en la etapa A, o alternativamente el producto con la función ácida protegida, de fórmula general

15



20

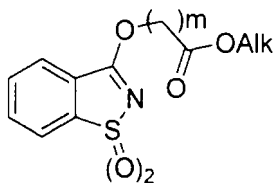
donde m y Alk tienen el significado anteriormente mencionado,

en presencia de una solución de H_5IO_6 y CrO_3 en acetonitrilo y a -35°C ,

25

la etapa B que comprende la hidrólisis del éster oxidado derivado obtenido en la etapa A' de fórmula general

30

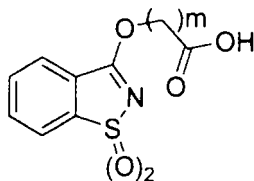


35

donde Alk y m tienen el significado anteriormente mencionado

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula general:

40



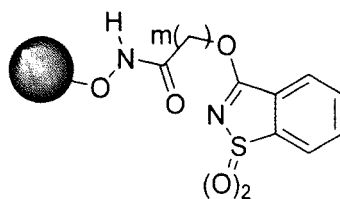
45

donde m tiene el significado anteriormente mencionado,

50

la etapa C que comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula general:

55



60

65

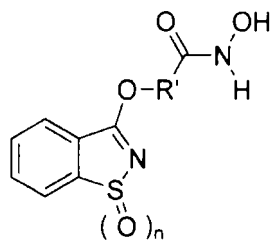
donde m tiene el significado anteriormente mencionado; y

ES 2 288 803 B1

la etapa D que comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ib)

5

10



15

(Ib)

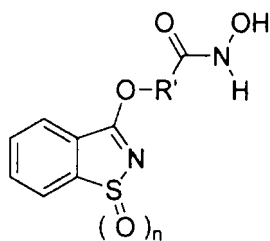
donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

20

20. Procedimiento para la preparación de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ib)

25

30

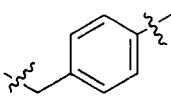


35

(Ib)

donde

40

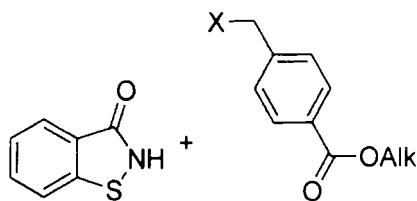
R' representa un radical  y n es 0,

que comprende las siguientes etapas de reacción:

45

la etapa A:

50



55

que comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,

60

con un compuesto derivado de éster donde

X representa un grupo saliente seleccionado entre Br , Cl , $-OSO_2CH_3$ y $-OSO_2Ph(pCH_3)$; y

Alk representa un grupo alquilo seleccionado entre etilo, metilo y t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

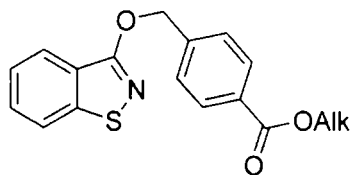
65

en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte;

ES 2 288 803 B1

la etapa B que comprende la hidrólisis del éster derivado obtenido en la etapa A de fórmula general

5



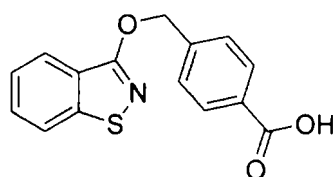
10

donde Alk tiene el significado anteriormente mencionado

15

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula general:

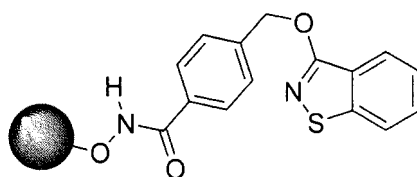
20



25

la etapa C que comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula general:

30



35

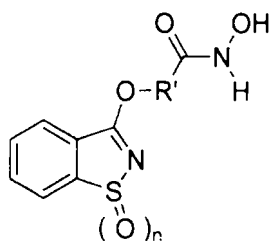
40

y

45

la etapa D que comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ib)

50



55

(Ib)

60

donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

65

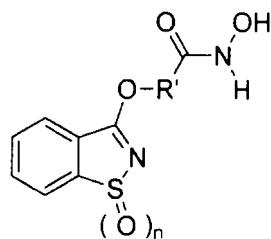
ES 2 288 803 B1

21. Procedimiento para la preparación de un compuesto inhibidor de las histonas desacetilasas de fórmula general (Ib)

5

10

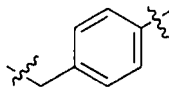
15



(Ib)

donde

20

R' representa un radical  y n es 2,

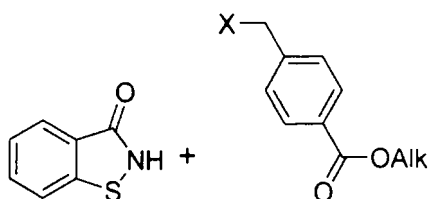
25

que comprende las siguientes etapas de reacción:

la etapa A:

30

35



que comprende hacer reaccionar un derivado de benzo[d]isotiazol,

40

con un compuesto derivado de éster donde

X representa un grupo saliente, seleccionado entre Br, Cl, -OSO₂CH₃ y -OSO₂Ph(pCH₃); y

45

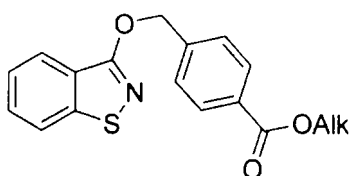
Alk representa un grupo alquilo seleccionado entre etilo, metilo y t-butilo, o un grupo protector de una función ácida;

en presencia de una base inorgánica y en un disolvente inerte

50

la etapa A' que comprende la oxidación del éster obtenido en la etapa A, o alternativamente el producto con la función ácida protegida, de fórmula general

55



60

donde Alk tiene el significado anteriormente mencionado,

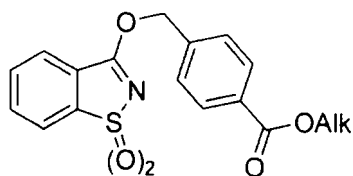
en presencia de una solución de H₃IO₆ y CrO₃ en acetonitrilo y a -35°C,

65

ES 2 288 803 B1

la etapa B que comprende la hidrólisis del éster oxidado derivado obtenido en la etapa A' de fórmula general

5

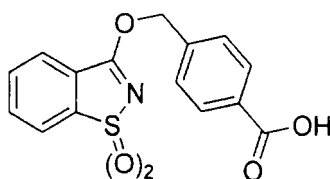


10

donde Alk tiene el significado anteriormente mencionado

o alternativamente, la eliminación del grupo protector de la función ácida para obtener el correspondiente derivado de ácido carboxílico de fórmula general:

15

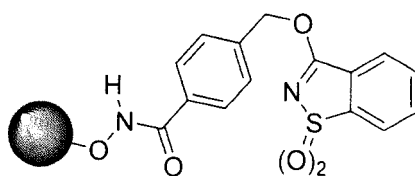


20

la etapa C que comprende poner en contacto una resina de Wang funcionalizada con hidroxilamina, con hidroxiazabenzotriazol (HOAt), diisopropilcarbodiimida (DPICDI) y el derivado de ácido carboxílico obtenido en la etapa B para obtener el correspondiente derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang de fórmula general:

25

30



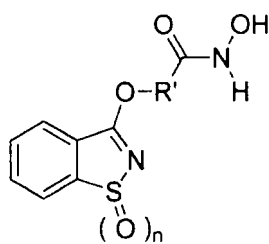
35

y

la etapa D que comprende la liberación del derivado de ácido hidroxámico unido a la resina de Wang obtenido en la etapa C para obtener un compuesto de fórmula general (Ib)

40

45



50

(Ib)

55

donde R' y n tienen el significado anteriormente definido.

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 288 803

② Nº de solicitud: 200601946

③ Fecha de presentación de la solicitud: 07.07.2006

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: C07D 275/04 (2006.01)
C07D 275/06 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO 02062773 A1 (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) 15.08.2002, todo el documento.	1-21
A	WO 02085883 A1 (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) 31.10.2002, todo el documento.	1-21
A	KEEN, J.C. et al.: "A novel histone deacetylase inhibitor, Scriptaid, enhances expression of funcional estrogen receptor alfa (ER) in ER negative human breast cancer cells in combination with 5-aza 2 -deoxycytidine". Breast Cancer Research and Treatment, 2003, vol. 81, páginas 177-186, todo el documento.	1-21
A	CAO, H. et al.: "Induction of human gamma globin gene expression by histone deacetylase inhibitors". Blood, 2004, vol. 15, páginas 701-709, todo el documento.	1-21

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
25.10.2007

Examinador
H. Aylagas Cancio

Página
1/1