

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 399 288**

51 Int. Cl.:

**C07B 31/00** (2006.01)

**A61K 31/045** (2006.01)

**A61K 31/12** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 31/396** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.12.2006 E 06831498 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2012 EP 1951213**

54 Título: **Uso de compuestos de alfa-hidroxicarbonilo como agentes reductores**

30 Prioridad:

**29.12.2005 GB 0526552**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**27.03.2013**

73 Titular/es:

**MORVUS TECHNOLOGY LTD. (100.0%)**

**TY MYDDFAI LLANARTHNE**

**CARMARTHEN SA32 8HZ, GB**

72 Inventor/es:

**KNOX, RICHARD, JOHN**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 399 288 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Uso de compuestos de alfa-hidroxicarbonilo como agentes reductores

La presente invención se refiere al uso de determinados compuestos como agentes reductores. En particular, se refiere al uso de aquellos compuestos para reducir un profármaco activado mediante reducción, lo que da lugar a sustancias activas que pueden utilizarse para combatir la enfermedad. La sustancia activa puede ser, en particular, un agente de reticulación del ADN, que se puede emplear para combatir el crecimiento o la proliferación celular indeseables.

La relación o discusión de un documento publicado anteriormente en esta memoria no debe tomarse necesariamente como un reconocimiento de que el documento es parte del estado de la técnica o que es un conocimiento general común.

Los compuestos de  $\alpha$ -hidroxicarbonilo, si bien son moléculas capaces de oxidarse, no están reconocidos por ser útiles como agentes reductores en condiciones de baja alcalinidad ( $\text{pH} < 11$ ).

Se mencionan algunos compuestos de  $\alpha$ -hidroxicarbonilo (aciloínas) en los documentos US 5.831.097 y EP 0 364 752 como útiles como agentes reductores en la industria de tinción. Sin embargo, las condiciones especificadas en el documento EP 0 364 752 requieren un pH mínimo de 13 para la consecución del efecto reductor. De forma similar, el documento US 4.950.306 da a conocer que se pueden utilizar algunos compuestos (que incluyen compuestos de  $\alpha$ -hidroxicarbonilo) como agentes reductores en los procedimientos de tinción, pero solo si se añade suficiente álcali al medio de reacción para establecer un pH de al menos 11.

Además, aunque otros documentos (por ejemplo, los documentos US 3.208.999 y Textil-Praxis 20(11), 916-20 (1965)) mencionan el uso de algunos compuestos de  $\alpha$ -hidroxicarbonilo (por ejemplo, monohidroxiacetona y dihidroxiacetona) por ser útiles como agentes reductores de determinados compuestos (almidones cianoetilados y colorantes a la cuba), las condiciones de reacción mencionadas en estos documentos son muy alcalinas (es decir, requieren el uso de cantidades significativas de soluciones concentradas tanto de hidróxido de amonio como de hidróxido de sodio, dando como resultado valores de pH de reacción de aproximadamente 13).

Biochem Pharmacol, 46, 797-803, publicado en 1993, se titula "Identification, synthesis and properties of 5-(aziridin-1-yl)-2-nitro-4-nitrosobenzamide, a novel DNA crosslinking agent derived from CB1954".

El documento DE 41 03 639 A1 se publicó el 13 de agosto de 1992 y se titula "Verfahren zum Färben von textilen Materialien aus Cellulosefasern".

Además, ninguno de los documentos anteriormente mencionados da a conocer (en relación con las redacciones que utilizan compuestos de  $\alpha$ -hidroxicarbonilo) el uso de sistemas solventes que comprenden más de un 10 % en peso de un solvente orgánico.

El inventor ha descubierto ahora de forma inesperada que algunos compuestos de  $\alpha$ -hidroxicarbonilo poseen una útil capacidad reductora a valores de pH relativamente bajos, y por tanto pueden emplearse en condiciones suaves (y/o en presencia de cantidades sustanciales de solventes no acuosos (orgánicos), para reducir diversos restos, que incluyen un amplio intervalo de compuestos orgánicos.

De esta manera, un primer aspecto de la presente invención proporciona un uso tal como se define en la Reivindicación 1 adjunta.

A no ser que se especifique otra cosa, los grupos alquilo y los grupos alcoxilo tal como se definen en el presente documento puede ser de cadena lineal o, cuando existe un número suficiente (es decir, un mínimo de tres) átomos de carbono, ser de cadena ramificada, y/o cíclica. Además, cuando existe un número suficiente (es decir, un mínimo de cuatro) átomos de carbono, dichos grupos alquilo y alcoxilo pueden ser en parte cíclicos/acíclicos. Dichos grupos alquilo y alcoxilo pueden estar saturados o, cuando existe un número suficiente (es decir, un mínimo de dos) átomos de carbono, estar insaturados y/o interrumpirse por uno o más átomos de oxígeno y/o azufre. A no ser que se especifique otra cosa, los grupos alquilo y alcoxilo pueden sustituirse por uno o más átomos de halo, y especialmente flúor.

Ejemplos de grupos arilo que pueden mencionarse incluyen fenilo, naftilo, y similares.

Los grupos heterocíclicos, (Het) pueden estar completamente saturados, parcialmente insaturados, completamente aromáticos o parcialmente aromáticos. Los valores de grupos heterocíclicos (het) que pueden mencionarse incluyen 1-azabicyclo[2.2.2]octanilo, bencimidazolilo, benzo[c]isoxazolidinilo, bencisoxazolilo, benzodioxanilo, benzodioxepanilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzofurazanilo, benzomorfolinilo, 2,1,3-benzoxadiazolilo, benzoxazolidinilo, benzoxazolilo, benzopirazolilo, benzo[e]pirimidina, 2,1,3-benzotiadiazolilo, benzotiazolilo, benzotienilo, benzotriazolilo, cromanilo, cromenilo, cinnolinilo, 2,3-dihidrobenzimidazolilo, 2,3-dihidrobenczo[b]furanilo, 1,3-dihidrobenczo-[c]furanilo, 1,3-dihidro-2,1-bencisoxazolilo, 2,3-dihidropirrolilo [2,3-b]piridinilo, dioxanilo, furanilo, hexahidropirimidinilo, hidantoinilo, imidazolilo, imidazo[1,2-a]piridinilo, imidazo[2,3-b]tiazolilo, indolilo, isoquinolinilo,

isoxazolidinilo, isoxazolilo, maleimido, morfolinilo, nafto[1,2-b]furanilo, oxadiazolilo, 1,2- o 1,3-oxazinanilo, oxazolilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolilo, piridinilo, pirimidinilo, pirrolidinonilo, pirrolidinilo, pirrolino, pirrolo[2,3-b]piridinilo, pirrolo[5,1-b]piridinilo, pirrolo[2,3-c]piridinilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, sulfolanilo, 3-sulfolenilo, 4,5,6,7-tetrahidrobencimidazolilo, 4,5,6,7-tetrahidrobenzopirazolilo, 5,6,7,8-tetrahidro-benzo[e]pirimidina, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, 3,4,5,6 tetrahidro-piridinilo, 1,2,3,4-tetrahidropirimidinilo, 3,4,5,6-tetrahidropirimidinilo, tiadiazolilo, tiazolidinilo, tiazolilo, tienilo, tieno[5,1-c]piridinilo, tiocromanilo, triazolilo, 1,3,4-triazolo [2,3-b]pirimidinilo, xantenilo y similares.

Los sustituyentes de grupos heterocíclicos (Het) pueden, cuando es apropiado, localizarse en cualquier átomo del sistema del anillo incluyendo un heteroátomo. El punto de unión de los grupos heterocíclicos (Het) puede ser mediante cualquier átomo en el sistema del anillo incluyendo (cuando es apropiado) un heteroátomo, o un átomo en cualquier anillo carbocíclico fusionado que puede estar presente como parte del sistema del anillo.

El término “halo” cuando se usa en el presente documento, incluye, flúor, cloro, bromo y yodo.

Los compuestos de fórmula I que se pueden mencionar (en relación con todos los aspectos de la presente invención) incluyen aquellos en los cuales:

- (1)  $R^1$  es diferente de H;
- (2)  $R^1$  representa H o, particularmente,  $CH_2OH$ ;
- (3)  $R^2$  representa alquilo  $C_{1-4}$  sustituido con uno o más grupos OH (por ejemplo,  $CH_2OH$  o  $CH(OH)CH_2OH$ ) o, particularmente, H.

Además, los compuestos específicos de fórmula I que se pueden mencionar (en relación con todos los aspectos de la presente invención) incluyen dihidroxiacetona (DHA, denominada alternativamente como 1,3-dihidroxi-2-propanona), glicolaldehído, gliceraldehído, eritrosa, xilulosa, y sus dímeros. Otros compuestos específicos de fórmula I que se pueden mencionar incluyen eritrolulosa y 3-hidroxi-2-butanona. En una realización particular de la presente invención (todos sus aspectos), el compuesto de fórmula I es DHA o uno de sus dímeros.

Para evitar la duda, puesto que los compuestos de fórmula I pueden existir en formas diméricas y monoméricas, las referencias en el presente documento a los compuestos de fórmula I incluyen referencias a los compuestos en cualquier forma (a no ser que el contexto indique otra cosa). Además, la capacidad de los compuestos de fórmula I para existir en forma de un dímero cíclico de fórmula Ia es inherente a la estructura de dichos compuestos. De esta manera, las referencias en el presente documento a los compuestos de fórmula I genérica o específicamente definidos, todos los cuales compuestos son capaces de formar un dímero cíclico de fórmula Ia, incluyen referencias a dichos compuestos (genérica o específicamente definidos) como tales (es decir, sin el rasgo caracterizador anteriormente descrito que se refiere a la formación de un dímero cíclico). Que un compuesto de fórmula I sea capaz de formar un dímero cíclico se puede determinar estudiando, por ejemplo la propensión del compuesto aislado a formar dicho dímero cíclico tanto en estado sólido como en solución (por ejemplo, solución acuosa o solución orgánica).

En una realización particular del primer aspecto de la presente invención, el uso del compuesto de fórmula I como un agente para reducir un grupo reducible en un compuesto orgánico comprende el uso de dicho compuesto como un agente reductor de un compuesto diferente de una enzima.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la reducción del compuesto reducible tiene lugar en un sistema solvente no acuoso. Cuando se usa en el presente documento, el término “sistema solvente no acuoso” incluye referencias a hidrocarburos clorados (tales como diclorometano), hidrocarburos (por ejemplo, hexano), hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno o xileno), solventes apróticos dipolares (por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, dimetilsulfóxido o *N*-metilpirrolidina), acetonitrilo, ésteres (por ejemplo, acetato de etilo) o, particularmente, alcoholes de alquilo ( $C_{1-4}$ ) inferior (tales como isopropanol, etanol o metanol): El término “sistema solvente no acuoso” incluye también referencias a las mezclas de dichos solventes.

Se ha encontrado que la reducción por los compuestos de fórmula I se puede promover mediante la adición de una base. De esta manera, una realización particular del primer aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula I, como se ha definido anteriormente en el presente documento, y una base para reducir un grupo reducible en un compuesto orgánico que contiene uno o más de dichos grupos.

Tal como se describe en la Reivindicación 1 adjunta, la reducción del primer aspecto de la presente invención:

- (i) se efectúa a un pH de entre 7 y 11, o
- (ii) se lleva a cabo en presencia que es una sal de carbonato o bicarbonato.

En la realización anterior, la base puede ser orgánica o inorgánica. Por ejemplo, la base puede ser una amina (por ejemplo, una amina primaria, secundaria o, particularmente, una amina terciaria, tal como trietilamina, trimetilamina o dietilisopropilamina), un heterociclo basado en nitrógeno (por ejemplo, *N*-metilmorfolina o piridina), un alcóxido (por ejemplo, un alcóxido de metal alcalino, tal como etóxido de sodio), una sal de hidróxido (por ejemplo, un hidróxido de amonio o de metal alcalino, tal como hidróxido de sodio o de potasio) o, particularmente, una sal de carbonato o

bicarbonato (por ejemplo, una sal de carbonato o bicarbonato alcalinotérreo o, particularmente, de metal alcalino).

La cantidad de base empleada puede variar, dependiendo de factores tales como el compuesto particular de fórmula I seleccionado, la identidad del compuesto que se va a reducir, la velocidad de reacción que se desea, etc. Sin embargo, en determinadas realizaciones del primer aspecto de la presente invención, la cantidad de base empleada puede ser, por ejemplo, de cuatro (por ejemplo, tres, dos o uno) o unos pocos equivalentes con respecto al compuesto de fórmula I, tal como una cantidad catalítica de base (por ejemplo, 0,1 equivalentes o menos). De forma alternativa, la base puede proporcionar a la mezcla de reacción un determinado nivel de pH. De esta manera, en otras realizaciones del primer aspecto de la presente invención, el compuesto de fórmula I se utiliza como un agente reductor que efectúa la reducción a un pH (por ejemplo, en solución acuosa) de entre 7 y 11 (por ejemplo, un pH de 7,1 (tal como 7,2, 7,3, 7,4 o 7,5) a 10,9 (tal como 10,8, 10,7, 10,6, 10,5, 10,4, 10,3, 10,2, 10,1 o 10,0)).

Cuando se usa en el presente documento, el término “*solución acuosa*” se refiere a soluciones de sustancias en las cuales el sistema solvente comprende agua, y comprende opcionalmente además uno o más solventes diferentes, tales como solventes orgánicos miscibles con el agua (por ejemplo, un alcohol de alquilo (C<sub>1-4</sub>) inferior, tal como etanol, isopropanol o, particularmente, metanol). Además, cuando los valores del pH se refieren al presente documento, se pueden determinar aquellos valores mediante los procedimientos conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, mediante medidas potenciométricas que utilizan un electrodo de trabajo y un electrodo de referencia), por ejemplo, a temperatura ambiente (tal como a 25 °C).

El compuesto de fórmula I también se puede emplear en un procedimiento para reducir un compuesto reducible. De esta manera, de acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento para reducir un grupo reducible en un compuesto orgánico tal como se define en la reivindicación 2 adjunta.

En una realización particular del segundo aspecto de la presente invención, el procedimiento es para reducir un compuesto diferente de una enzima.

En otra realización del segundo aspecto de la presente invención, el procedimiento comprende poner en contacto el compuesto reducible con un compuesto de fórmula I en presencia de un sistema solvente no acuoso, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento. En una realización particular, la reducción tiene lugar en dicho sistema solvente no acuoso.

En otra realización particular del segundo aspecto de la presente invención, el procedimiento se lleva a cabo en presencia de una base, tal como una base como se define con respecto al primer aspecto de la presente invención. La cantidad de base empleada puede ser, por ejemplo, de uno o pocos equivalentes con respecto al compuesto de fórmula I, tal como una cantidad catalítica de base (por ejemplo, 0,1 equivalentes o menos).

En otra realización particular del segundo aspecto de la presente invención, el procedimiento comprende poner en contacto el compuesto reducible con un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente, en presencia de una solución (por ejemplo, una solución acuosa) o una suspensión que tiene un pH de entre 7 y 11 (por ejemplo, un pH de 7,1 (tal como 7,2, 7,3, 7,4 o 7,5) a 10,9 (tal como 10,8, 10,7, 10,6, 10,5, 10,4, 10,3, 10,2, 10,1 o 10,0)). De forma alternativa, el procedimiento comprende poner en contacto el compuesto reducible con un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, en presencia de una solución o suspensión (en un determinado volumen de un sistema solvente sustancialmente no acuoso, tal como se define a continuación), de una cantidad de base que, si se disuelve o suspende en el volumen equivalente de agua, podría dar lugar a un pH de entre 7 y 11 (por ejemplo, un pH de 7,1 (tal como de 7,2, 7,3, 7,4 o 7,5) a 10,9 (tal como de 10,8, 10,7, 10,6, 10,5, 10,4, 10,3, 10,2, 10,1 o 10,0)).

En el primer y segundo aspecto de la presente invención, el grupo que se reduce es un grupo nitro, un grupo oxo (por ejemplo, un grupo ceto, tal como una quinona carbonilo), un grupo imino, un grupo azo, un grupo N-óxido o un grupo piridinio. En particular, el grupo que se reduce puede ser, por ejemplo un grupo nitro o piridinio.

Tal como se ha mencionado anteriormente en el presente documento, se ha descubierto de forma sorprendente que las reducciones que utilizan compuestos de  $\alpha$ -hidroxicarbonilo se pueden llevar a cabo en presencia de cantidades sustanciales de (o exclusivamente en) solventes no acuosos (orgánicos).

De esta manera, se describe también en el presente documento el uso de un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, como un agente reductor en un sistema solvente sustancialmente no acuoso.

Cuando se usa en el presente documento, la expresión “*sistema solvente sustancialmente no acuoso*” incluye referencias a sistemas solventes que comprenden como máximo de un 80 % (por ejemplo, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 1 o 0,1 %) en peso de agua. En estos sistemas solventes, el resto de solvente (es decir, el al menos un 20 % en peso) es un solvente orgánico. Los solventes orgánicos que se pueden mencionar al respecto incluyen los mencionados anteriormente en relación con la expresión “*sistema solvente no acuoso*”. La expresión “*sistema solvente sustancialmente no acuoso*” incluye también referencias a sistemas solventes completamente no acuosos (por ejemplo, sistemas solventes que comprenden exclusivamente solventes orgánicos).

En particular, se describe el uso de un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, y una base tal como un agente reductor en un sistema solvente sustancialmente no acuoso.

En usos tales como los descritos, el compuesto de fórmula I se puede usar para reducir un compuesto tanto orgánico como inorgánico (por ejemplo, un compuesto orgánico como se describe más adelante).

5 Se describe además un procedimiento de reducción correspondiente que utiliza un compuesto de fórmula I y sistemas solventes sustancialmente no acuosos. De esta manera, en un procedimiento adicional para reducir un compuesto reducible, el procedimiento comprende poner en contacto dicho compuesto reducible con un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, y un sistema solvente sustancialmente no acuoso.

10 En particular, este procedimiento comprende poner en contacto el compuesto reducible con un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, y una base.

El producto de la reducción puede ser una sustancia biológicamente activa. De esta manera, se describe también en el presente documento

15 (i) el uso de un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, como un agente de activación para la conversión de un profármaco activado mediante reducción con una sustancia activa correspondiente, y

(ii) Un procedimiento para reducir un profármaco activado mediante reducción, comprendiendo el procedimiento poner en contacto el profármaco activado mediante reducción con un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento.

20 En particular, se describe el uso como agente de activación para la conversión de un profármaco activado mediante reducción a la sustancia activa correspondiente de un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, y una base. La identidad y la cantidad de la base empleada, así como el pH al cual el compuesto de fórmula I efectúa la activación (mediante la reducción) del profármaco se pueden definir con respecto al uso del primer aspecto de la presente invención.

25 De forma correspondiente, el procedimiento que se describe puede, en particular, llevarse a cabo en presencia de una base, tal como una base tal como se ha definido con respecto al primer aspecto de la presente invención. La identidad y la cantidad de la base empleada se pueden definir con respecto al uso del primer aspecto de la presente invención. Además, el procedimiento puede comprender poner en contacto el profármaco activado mediante reducción con un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, en presencia de una solución (por ejemplo, una solución acuosa) o suspensión que tiene un pH de entre 7 y 11 (por ejemplo, un pH de 7,1 (tal como de 7,2, 7,3, 7,4 o 7,5) a 10,9 (tal como de 10,8, 10,7, 10,6, 10,5, 10,4, 10,3, 10,2, 10,1 o 10,0)). De forma alternativa, el procedimiento puede comprender poner en contacto el profármaco activado mediante reducción con un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, en presencia de una solución o suspensión (en un determinado volumen de un sistema solvente sustancialmente no acuoso, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento) de una cantidad de una base que, si se disuelve o suspende en un volumen equivalente de agua, podría dar lugar a un pH de entre 7 y 11 (por ejemplo, un pH de 7,1 (tal como de 7,2, 7,3, 7,4 o 7,5) a 10,9 (tal como de 10,8, 10,7, 10,6, 10,5, 10,4, 10,3, 10,2, 10,1 o 10,0)).

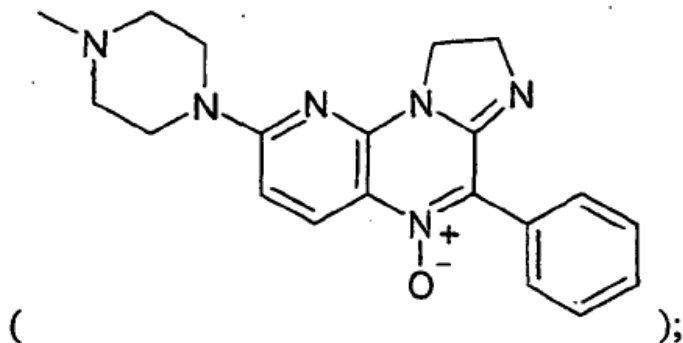
40 Los expertos en la técnica entenderán bien el término “profármaco”. Para evitar la duda, sin embargo, se usa en el presente documento la expresión “profármaco activado mediante reducción” para incluir referencias a compuestos que pueden poseer o no una actividad farmacológica como tales, pero que se pueden convertir, mediante un procedimiento que implica una etapa de reducción, en una sustancia (es decir, una “sustancia activa correspondiente”) que tiene actividad farmacológica, o al menos una actividad farmacológica apreciablemente mayor que el resto “profármaco”.

45 Cuando se usa en el presente documento, el término “agente de activación” incluye referencias a los compuestos de fórmula I que actúan, mediante un procedimiento de conversión, para convertir, o para iniciar la conversión del profármaco en una sustancia biológicamente activa correspondiente.

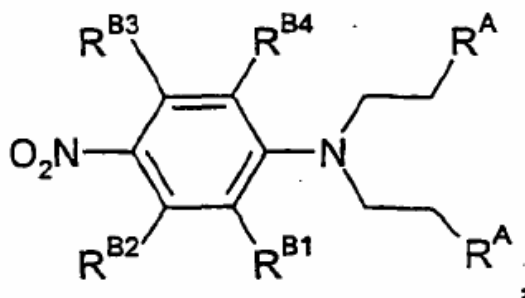
Los profármacos activados mediante reducción que se pueden mencionar a este respecto (y en relación con todos los aspectos relevantes de la presente invención) incluyen:

- 50 (a) Metronidazol (2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-etanol);  
 (b) Cloranfenicol (2,2-dicloro-N-[( $\alpha$ R, $\beta$ R)- $\beta$ -hidroxi- $\alpha$ -hidroximetil-4-nitrofenetil]acetamida);  
 (c) Nitrofurazona (2-[(5-nitro-2-furanil)metilen]hidrazinacarboxamida); Metronidazol, Cloranfenicol y Nitrofurazona son citotóxicos para las células de mamíferos si se activan (Bailey y col (1996)).  
 (d) E09 (3-[5-aziridinil-4,7-dioxo-3-hidroximetil-1-metil-1H-indol-2-il]-prop- $\beta$ -eno- $\alpha$ -ol);  
 55 (e) SR-4233 (“tirapazamina”, 3-amino-1,2,4-benzotriazina-1,4-dióxido);  
 (f) RSU-1069 (1-(1-aziridinil)-3-(2-nitro-1-imidazolil)-2-propanol);  
 (g) RB-6145 (1-[3-(2-bromoetilamino)-2-hidroxipropil]-2-nitroimidazolo);

- (h) AQ4N (1,4-bis([2-(dimetilamino-N-óxido)etil]amino)5,8-dihidroxi-antraceno-9,10-diona);  
 (i) RB90003X



- (j) Mitomicina C;  
 (k) Mitoseno;  
 (l) Ciclopropamitoseno;  
 (m) Dinemicina A;  
 (n) un compuesto de la fórmula



en la que

cada  $R^A$  representa de forma independiente cloro, bromo, yodo u  $-OS(O)_2R^C$ ,

$R^C$  representa alquilo  $C_{1-8}$  (opcionalmente sustituido con uno o más átomos de flúor) o fenilo (opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre halo, alquilo  $C_{1-4}$  y alcoxilo  $C_{1-4}$ ),

$R^{B1}$  a  $R^{B4}$  representan de forma independiente H, CN,  $C(O)N(R^D)R^E$ ,  $C(S)N(R^D)R^E$ ,  $C(O)OH$ ,  $S(O)_2NHR^F$ ,  
 o  $R^{B1}$  puede adicionalmente representar  $NO_2$ ,

$R^D$  y  $R^E$  representan de forma independiente H o alquilo  $C_{1-4}$  (dicho último grupo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre OH, N(H)-alquilo  $C_{1-2}$ , N(alquilo  $C_{1-2}$ )<sub>2</sub>, 4-morfolinilo y  $C(O)OH$ ),

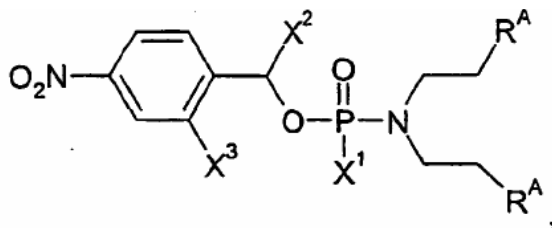
o  $R^D$  y  $R^E$ , junto con el átomo de N al cual están unidos, representan 4-morfolinilo, y

$R^F$  representa H o  $S(O)_2CH_3$ ,

con la condición de que  $R^{B2}$  sea H cuando  $R^{B1}$  sea diferente de H,

por ejemplo, uno cualquiera de los compuestos de la anterior fórmula dada a conocer en Anlezark y col., 1992 y 1995, tal como en los documentos SN 23163, SN 23849, SN 23777, SN 23428, SN 23759, SN 24927, SN 24928, SN 24926, SN 25402, SN 25079, SN 24939, SN 24935, SN 25923, SN 25313, SN 23856, SN 25066, SN 23816, SN 25015, SN 24971, SN 25260, SN 25261, SN 25263, SN 25084, SN 25188, SN 25507 o, de forma particular, el documento SN 23862 (5-{N,N-bis[2-cloroetil]amina}-2,4-dinitrobenzamida);

- (o) un compuesto de fórmula



en la que

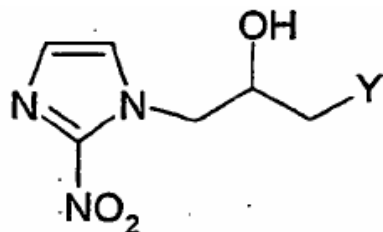
$R^A$  es tal como se ha definido anteriormente (por ejemplo, Cl) y cualquier

$X^1$  representa  $NH_2$  y  $X^2$  y  $X^3$  representan ambos H,

$-X^1-X^2-$  representa  $-NH-CH_2CH_2-$  y  $X^3$  representa H o

$-X^1-X^3-$  representa  $-NH-$  y  $X^2$  representa H;

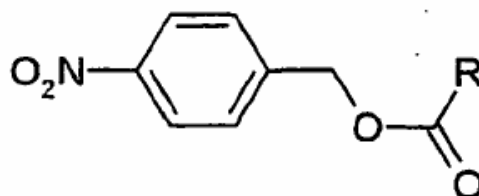
(p) un compuesto de fórmula



en la que Y representa

5 1-aziridinil (opcionalmente sustituido en la posición 2 con metilo), metoxilo (formando de esta manera el compuesto misonidazol) o N(H)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Br (formando de esta manera el compuesto RB6145);

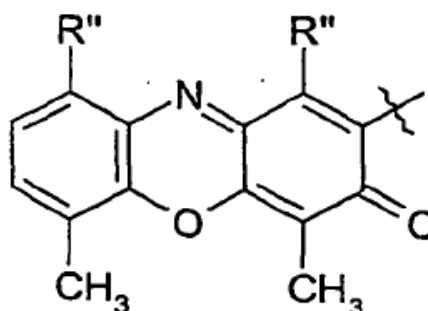
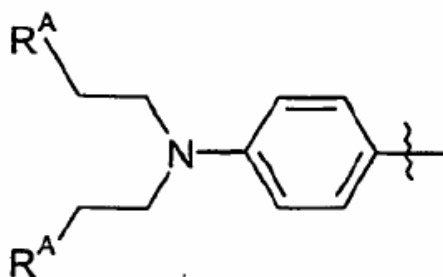
(q) un profármaco autodestructivo de la fórmula



en la que

R representa -O-R' o -NH-R',

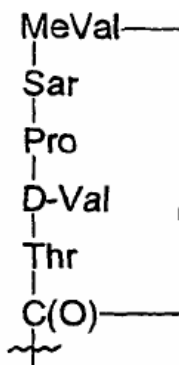
R' representa



en la que la línea ondulada indica la posición de la unión de los fragmentos,

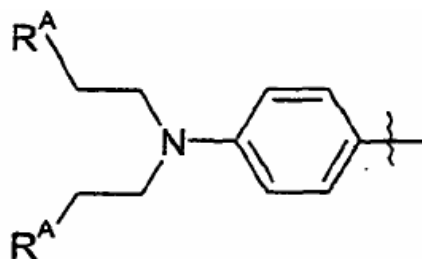
R<sup>A</sup> es tal como se ha definido anteriormente (por ejemplo, Cl) y

R'' representa la siguiente lactona peptídica

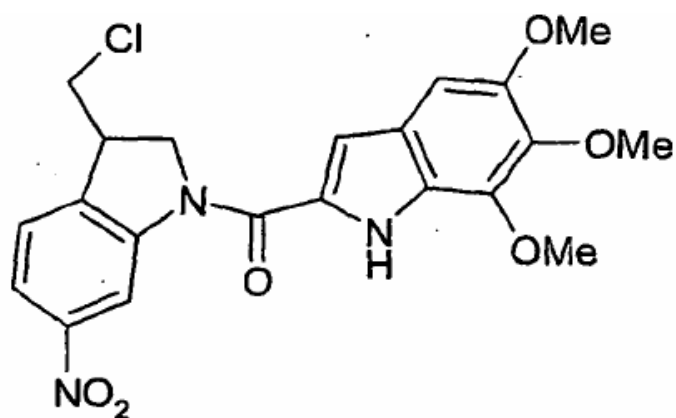


en la que la línea ondulada indica la posición de la unión del fragmento,

por ejemplo, los compuestos de la fórmula anterior en los que R representa -NH-R', o en los que R representa -O-R' y R' representa



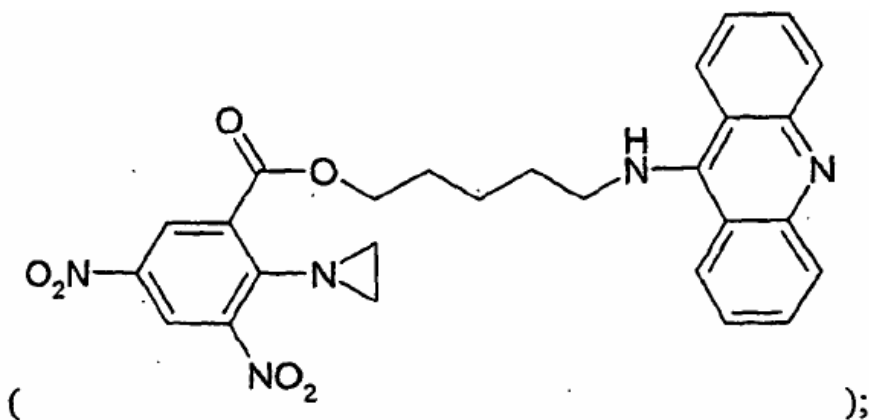
en la que  $R^A$  es tal como se ha definido anteriormente (por ejemplo, Cl);  
Se describen profármacos autodestructivos en Hu y col, 2003; Li y col, 2003 y Manger y col, 1994.  
(r) un compuesto de nitroindol de la fórmula



;

5

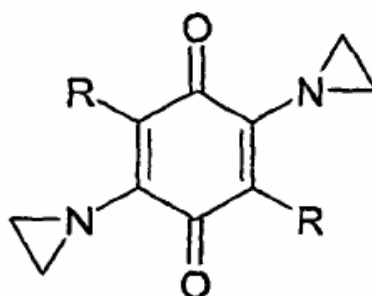
(s) acridina-CB 1954



);

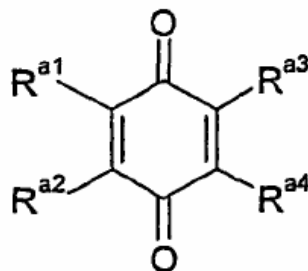
(t) tretazicar (5-(aziridin-1-il)-2,4-dinitrobenzamida);

(u) una benzoquinona, naftoquinona o antraquinona para uso en quimioterapia anticancerosa o tratamiento de la enfermedad, en la que la eficacia es dependiente de la reducción de la función quinona, tal como una 2,5-bis(1-aziridinil)-1,4-benzoquinona de la fórmula



en la que cada R representa de forma independiente H o  $\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{OR}''$  y en la que R' representa H o alquilo  $\text{C}_{1-4}$  y R'' representa alquilo  $\text{C}_{1-4}$  (por ejemplo, cada R representa  $\text{NHC}(\text{O})\text{OC}_2\text{H}_5$ , formando de esta manera la diazicuona ("AZQ"), o cada R representa H, formando de esta manera la 2,5-bis(1-aziridinil)-1,4-benzoquinona ("DZQ")), la mostaza de benzoquinona (2-(N,N-bis[2-cloroetil]amino)-1,4-benzoquinona), adriamicina o una mitomicina;

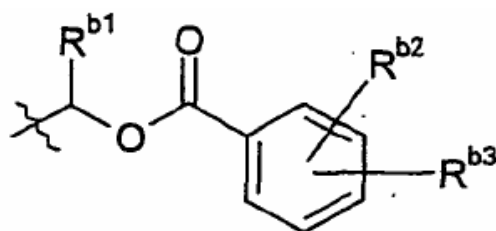
(v) profármacos conjugados que contienen un resto quinonoide que libera un agente citotóxico tras la activación reductora (por ejemplo, tal como se describe en el documento WO 99/61409), tal como un compuesto de la fórmula



en la que  $\text{R}^{\text{a}1}$  representa metilo,  $\text{N}(\text{alquilo } \text{C}_{1-2})_2$  o, junto con  $\text{R}^{\text{a}2}$  representa un anillo de pirrol o furano fusionado (cuyo anillo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre metilo e hidroximetilo),

$\text{R}^{\text{a}2}$  representa metilo o, junto con  $\text{R}^{\text{a}1}$  representa un anillo de pirrol o furano fusionado (cuyo anillo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre metilo e hidroximetilo),

$\text{R}^{\text{a}3}$  representa un fragmento estructural de la fórmula



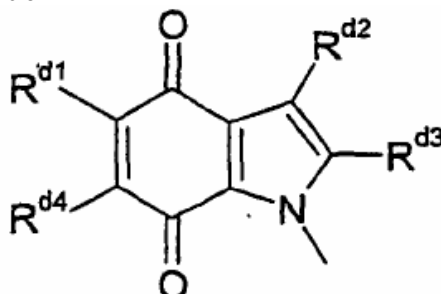
en la que la línea ondulada representa el punto de unión del fragmento,

$\text{R}^{\text{b}1}$  representa H o metilo,

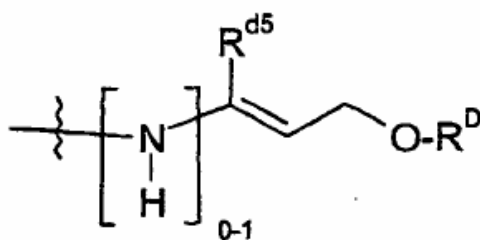
$\text{R}^{\text{b}2}$  representa  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$  (por ejemplo, en la posición 3 o 4) y

$\text{R}^{\text{b}3}$  representa metilo (por ejemplo, en la posición 4) u  $\text{OR}^{\text{c}1}$  (por ejemplo, en la posición 3, en la que  $\text{R}^{\text{c}1}$  representa alquilo  $\text{C}_{1-6}$  (tal como *n*-butilo) o cicloalquilmetilo  $\text{C}_{3-6}$  (tal como ciclopropilmetilo o ciclobutilmetilo);

(w) una benzoquinona, naftoquinona, antraquinona o indoloquinona reducible utilizada como plataforma no citotóxica para conjugados de profármacos en donde la quinona actúa como un componente estimulador para la liberación del fármaco (por ejemplo, tal como se describe en los documentos WO 97/23456 o WO 98/35701), tal como un compuesto de la fórmula



en la que  $\text{R}^{\text{d}1}$  representa alcoxilo  $\text{C}_{1-4}$ , aziridin-1-ilo (opcionalmente sustituido con uno o dos grupos metilo),  $-\text{N}(\text{H})\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$  o un fragmento estructural de la fórmula



en la que la línea ondulada representa el punto de unión del fragmento,

$R^{d5}$  representa H o metilo y  $R^D$  representa un resto de fármaco,

$R^{d2}$  representa metilo,  $-C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$  u  $-OCH_2OR^{e1}$ ,

$R^{e1}$  representa un resto de fármaco, H,  $R^{e2} -C(O)OR^{e3}$  o  $-C(O)NH_2$ ,

$R^{e2}$  y  $R^{e3}$  representan de forma independiente fenilo, bencilo o ciclohexilo, en los que los tres últimos grupos están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre halo, nitro, aciloxilo y -SH

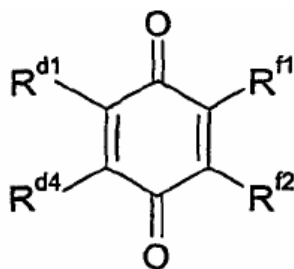
$R^{d3}$  representa alquilo  $C_{1-3}$  opcionalmente sustituido con OH (por ejemplo, metilo, isopropilo o 2-hidroxietilo) o cicloalquilo  $C_{3-6}$  (por ejemplo ciclopropilo o ciclohexilo),

$R^{d4}$  representa H, alquilo  $C_{1-4}$ ,  $N(R^{e4})R^{e5}$  o  $N(R^{e6})C(O)OR^{e7}$ ,

$R^{e4}$  a  $R^{e6}$  representan de forma independiente H o alquilo  $C_{1-4}$  y

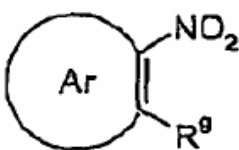
$R^{e7}$  representa alquilo  $C_{1-4}$

o un compuesto de la fórmula



en la que  $R^{f1}$  y  $R^{f2}$  representan de forma independiente H, alquilo  $C_{1-4}$  o  $R^{f1}$  y  $R^{f2}$  juntos representan un anillo de benceno fusionado (cuyo anillo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre metilo y metoxilo) y  $R^{d1}$  y  $R^{d4}$  son tal como se ha definido anteriormente; y

un compuesto nitroaromático o nitroheterocíclico para uso como plataforma estimuladora de profármaco mediante "autoalquilación" tras activación reductora en un sistema de administración de fármaco (por ejemplo, tal como se describe en el documento WO 00/10611), tal como un compuesto de la fórmula.



en la que Ar representa un anillo aromático (por ejemplo, fenilo, naftilo o antraceniilo) o un anillo heteroaromático (por ejemplo, pirrolilo, imidazolilo, (benzo)furanilo, (benzo)tienilo, (benz)oxazolilo, (benz)tiazolilo, piridinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolilo o (iso)quinolinilo), cuyo anillo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre alquilo  $C_{1-4}$ , alcóxilo  $C_{1-4}$ , OH, halo,  $N(R^{e4})R^{e5}$  y  $C(O)OR^{e6}$  (en el que  $R^{e4}$  a  $R^{e6}$  son tal como se ha definido anteriormente),

$R^g$  representa un fragmento estructural de la fórmula



en la que la línea ondulada representa el punto de unión del fragmento y cada  $R^{d5}$  y  $R^D$  es, de forma independiente en cada caso, tal como se ha definido anteriormente,

o una de sus sales y/o solvatos farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, un compuesto tal como se ha definido en (a) a (t) anteriormente).

Las realizaciones de la presente invención que se pueden mencionar incluyen aquellas en las que el profármaco activado mediante reducción se convierte en la correspondiente sustancia activa mediante la reducción de un grupo nitro.

Así, en una realización particular, los compuestos de fórmula I se utilizan para activar el profármaco tretazicar (5-(aziridin-1-il)-2,4-dinitrobenzamida, conocido también como CB 1954, véase la Figura 1 para su estructura).

Tretazicar es un ejemplo de un agente que se puede utilizar para combatir trastornos proliferativos. Existen muchos trastornos en los que es deseable evitar o reducir el crecimiento o la proliferación celular. Algunas de estas enfermedades, tales como el cáncer, son potencialmente fatales y otras, aunque no potencialmente fatales, son debilitantes (tales como la psoriasis) o irritantes y desagradables (tales como las verrugas). Una estrategia para combatir estas enfermedades, de forma notable el cáncer, es hacer uso de agentes químicos, es hacer uso de agentes químicos que sean capaces de efectuar la reticulación del ADN y que eviten o reduzcan el crecimiento o la proliferación celular. Tretazicar consigue esta reticulación, pero solo después que se ha reducido (en el grupo nitro) a la correspondiente hidroxilamina (que a continuación se activa adicionalmente tal como se describe a continuación).

Tretazicar ha sido objeto de un interés continuado durante 35 años. Fue sintetizado en primer lugar a finales de la década de los 60 del siglo XX como parte de una serie de potenciales compuestos anticancerosos que se habían estudiado desde principio de la década de los 50. Cuando se sintetizó y probó, tretazicar pareció representar la visión de la quimioterapia del cáncer – un compuesto pequeño de bajo peso molecular que podría curar tumores con mínimos efectos secundarios tóxicos. Como agente anticanceroso, representa uno de los escasos ejemplos de un compuesto que muestra una selectividad antitumoral real. Desafortunadamente para el tratamiento del cáncer humano, esta selectividad antitumoral se observó solo en algunos tumores de rata. La base de la selectividad antitumoral de tretazicar es que se trata de un profármaco que se activa enzimáticamente para generar un agente difuncional, que puede formar reticulaciones intercatenarias ADN-ADN. La bioactivación de tretazicar en células de rata implica la reducción aerobia de su grupo 4-nitro a una 4-hidroxilamina mediante la enzima NQO1 (DT-diaforasa) (Figura 2). La forma humana de NQO1 metaboliza tretazicar de forma mucho menos eficaz que la NQO1 de rata. por tanto, estas células y tumores humanos son insensibles a tretazicar.

Existe una enzima endógena reductora de tretazicar endógena adicional en las células de tumores humanos, y su actividad es mucho mayor que la atribuible a NQO1 (Knox y col, 2000) (Wu y col, 1997). Sin embargo, esta actividad es latente y solo detectable en presencia de la dihidronicotinamida ribósido (NRH) (Knox y col, 2000) y no en presencia de cualquiera de NADH o NADPH. La enzima responsable de esta actividad es la NAD(P)H quinona oxidoreductasa 2 humana (NQO2) (Knox y col, 2000) (Wu y col, 1997). En presencia de NRH, NQO2 puede catalizar la reducción de dos electrones de las quinonas y la nitrorreducción de cuatro electrones de tretazicar (Wu y col., 1997). Se puede considerar NQO2 como una nitrorreductasa humana dependiente de NRH.

5-(Aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida es muy citotóxica, incluso para aquellas células resistentes a tretazicar y puede formar reticulaciones intercatenarias en su ADN. Es la formación de este compuesto la que tiene importancia para la sensibilidad de las células cuando son capaces de activar tretazicar. Independientemente de la capacidad de activar biológicamente tretazicar, todos los tipos de células parecen tener una sensibilidad comparable hacia el derivado 4-hidroxilamino reducido (Boland y col, 1991). Aunque la 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida puede producir reticulaciones intercatenarias de ADN-ADN en las células, no puede formar estas lesiones en ADN inactivado genéticamente (Knox y col, 1991 a). Existe una etapa de activación adicional que convierte la 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida en la especie citotóxica proximal que reticula el ADN. Se propuso una esterificación y activación enzimáticas de la hidroxilamina, análoga a la formada por el metabolismo de la 4-nitroquinolina-N-óxido y del N-acetilaminofluoreno, (Knox y col, 1991a). De hecho, se puede activar la 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida de forma no enzimática, hasta una forma capaz de reaccionar con el ADN inactivado genéticamente para producir reticulaciones intercatenarias, mediante una reacción química directa con acetil-coenzima A y otros tioésteres (Knox y col, 1991a) (Figura 2). El derivado de ADN reactivo fundamental de tretazicar es probablemente la 4-(N-acetoxi)-5-(aziridin-1-il)-2-nitrobenzamida.

La activación biológica de tretazicar da como resultado un gran aumento en su citotoxicidad y la modificación de la dosis resultante puede ser de hasta 100.000 veces. Esto es más de lo que sería previsible incluso mediante la conversión de un agente monofuncional a un agente difuncional. Cuando están disponibles congéneres monofuncionales de agentes difuncionales, como con las semimostazas y los compuestos de platino monofuncionales, la modificación de la dosis por equitoxicidad se ve que es solo de alrededor de 50-200 veces (Knox y col, 1991b; Knox y col, 1987). Sin embargo, observaciones con respecto a la formación de reticulaciones intercatenarias de ADN y sus propiedades explican por qué existe dicho gran aumento en la citotoxicidad de tretazicar tras su activación.

(i) El tretazicar indujo la formación de reticulación intercatenaria con una frecuencia muy elevada y puede contribuir hasta en un 70 % de las lesiones totales (Friedlos y col, 1992). Esta frecuencia es mucho mayor que

la notificada para la mayoría de los diferentes agentes. Por ejemplo, las reticulaciones intercatenarias representan el 2 % o menos de las reacciones del ADN total de cisplatino o carboplatino (Knox *y col*, 1986). La reticulación intercatenaria es, en términos de eficacia molar, una lesión más intrínsecamente tóxica que los diaductos monocatenarios y las lesiones monofuncionales. Un agente que haya producido una proporción muy elevada de reticulaciones podría esperarse que sea más tóxico que uno que haya producido solo una frecuencia baja.

(ii) Las reticulaciones que se han reparado mal pueden provocar que sean incluso más intrínsecamente citotóxicas que las inducidas por otros agentes difuncionales (Friedlos *y col*, 1992).

(iii) Como consecuencia de la activación biológica del tretazicar, existe un aumento de 10 veces en la cantidad de fármaco unido a ADN en las células de Walker, en comparación con las células que no pueden reducir el tretazicar (Friedlos *y col*, 1992).

Estas propiedades poco usuales de la reticulación inducida por tretazicar sugieren que no son iguales a las formadas por otros agentes. La(s) lesión(es) de reticulaciones intercatenarias inducidas por tretazicar no se han identificado aun completamente. Sin embargo, la 4-hidroxiilamina, (tras activación como se ha detallado anteriormente) reacciona de forma predominante con la posición C8 de la desoxiguanosina. En el ADN, esto podría conducir a que la función aziridina esté lista para reaccionar con la hebra opuesta y formar las reticulaciones observadas. Los estudios de modelización molecular indican que esta segunda reacción en grupo será preferentemente en la posición O6 de la desoxiguanosina situada en la hebra opuesta del ADN (Knox *y col*, 2003; Knox *y col*, 1991a). Dicha reticulación intercatenaria de ADN C8-O6 sería única ya que no se ha producido por otros tipos de agentes de alquilación o platinación, y puede ser importante debido a las propiedades únicas de tretazicar.

Estas propiedades, vinculadas a la selectividad de la etapa de activación biológica, explican por qué tretazicar ha sido tan excepcionalmente eficaz como agente antitumoral en la rata y facilita los fundamentos para su uso en G(V)DEPT y la activación por NQO2 en seres humanos (Knox *y col*, 2003) (Burke *y* Knox, 1998).

Tretazicar se puede usar también para extirpación celular selectiva en animales transgénicos. La extirpación dirigida condicional de poblaciones celulares específicas en animales transgénicos vivos es una estrategia muy poderosa para determinar las funciones celulares *in vivo*. La extirpación dirigida se consigue construyendo un transgén que incorpora una nitrorreductasa bacteriana que puede activar tretazicar aeróbicamente (NTR) (Anlezark *y col*, 1992; Knox *y col*, 1992) y promotores adecuados específicos de tejido e inyectando este en los huevos fertilizados de los animales bajo estudio – normalmente ratones. Tras el nacimiento, se confirmó la integración genómica del transgén y los ratones antecesores para establecer las líneas transgénicas. Los animales se trataron con tretazicar en diversas etapas de su desarrollo para acceder a la afectación de la extirpación específica de la población celular que se estaba estudiando. La extirpación celular se produce muy rápidamente, comenzando desde tan pronto como 7 h después de la administración del profármaco y parece ser independiente de un p53 funcional (Cui *y col*, 1999). Los ejemplos del uso de este sistema incluyen las células de la luz de las glándulas mamarias de ratones transgénicos. El tratamiento de los animales que expresaban NTR dio como resultado una rápida y selectiva muerte de esta población de células mientras que las células mioepiteliales estrechamente asociadas no se vieron afectadas. Se han observado otros ejemplo de extirpación selectiva que utiliza este sistema en adipocitos (Felmer *y col*, 2002), astrocitos (Cui *y col*, 2001) y neuronas (Isles *y col*, 2001; Ma *y col*, 2002).

La ausencia de efectos en las poblaciones de células adyacentes es significativa. Se sabe que la hidroxiilamina es capaz de migrar distancias cortas y se podría esperar de esta manera que tenga un efecto sobre las células adyacentes (Bridgewater *y col*, 1997; Friedlos *y col*, 1998). En los anteriores experimentos, la diferencia fundamental es que la población de células diana está en división mientras que el tejido adyacente probablemente no. Se sabe que la activación de tretazicar es eficaz contra células que no están en división (sin ciclación) (Bridgewater *y col*, 1995). Sin embargo, este efecto puede solo medirse permitiendo que estas células entren en división. De esta manera, lo que parece suceder es que el tretazicar que indujo el daño del ADN (es decir, las reticulaciones intercatenarias de ADN) está induciéndose en poblaciones de células en división y que no están en división pero esto solo da como resultado citotoxicidad celular cuando una célula intenta experimentar la división mientras que su ADN sigue estando dañado. En contraste, los agentes específicos de la fase S, tales como antifolatos, afectan solo a las células que están experimentando la división mientras que el agente está presente.

En los experimentos de extirpación, el tejido que se va a extirpar se divide, pero los tejidos adyacentes probablemente no tendrán un resultado muy limpio. El daño del ADN no es permanente y se repara lentamente (Friedlos *y col*, 1992). El resultado es una ventana en la que los tejidos que no están en división pueden reparar el daño pero cualquier célula que entre en división morirá. La longitud de esta ventana dependerá de la cantidad de daño inicial del ADN inducido. En las líneas celulares, la reticulación inducida por tretazicar se reparó con una semivida de aproximadamente 55 horas (Friedlos *y col*, 1992). Esto es muy largo a diferencia otros agentes de reticulación del ADN (Friedlos *y col*, 1992) y, extrapolando esto a la situación *in vivo*, proporciona una ventana (10x semividas) de aproximadamente 3 semanas.

En el tratamiento del cáncer, existirá una situación similar y un tejido sin proliferación deberá ser resistente a los efectos de tretazicar activado a no ser que entre en división celular en el intervalo de tiempo comprendido dentro de

la ventana.

Se pueden hacer similares argumentos de otros agentes alquilantes difuncionales y agentes de platinación. Sin embargo, se administran sistémicamente y tienen como resultado un efecto tóxico sobre los tejidos hospedadores normales que se dividen más rápidamente tales como la médula ósea, la mucosa del intestino y el sistema linfático. Puesto que tretazicar es un profármaco, esto se evita por la favorable distribución de la enzima de activación (NQO2) o la ruta de administración del virus (G(V)DEPT). El derivado de 4-hidroxilamina activo tiene una semivida muy corta y no puede migrar muy lejos desde el sitio de activación, de tal manera que no existe efecto depósito. Además, la mayoría de cánceres sólidos no humanos no tienen una elevada proporción de células que son proliferantes en cualquier momento y la más amplia ventana de muerte, resultante de la reparación relativamente mala de la reticulación inducida por tretazicar, puede ser una ventaja.

Se han completado anteriormente un estudio en fase I y un estudio de farmacocinética (Chung-Faye y col, 2001) a partir de los cuales se puede concluir que tretazicar se puede administrar con seguridad en seres humanos hasta 24 mg/m<sup>2</sup> sin ninguna toxicidad significativa (se encontró que la MTD era de 37,5 mg/m<sup>2</sup>).

El uso de tretazicar en seres humanos está limitado tanto por la tecnología de practicabilidad de G(V)DEPT como por la distribución de NQO2. Sin embargo, tretazicar podría ser terapéuticamente beneficioso para tratar otros cánceres (u otras enfermedades de crecimiento o proliferación celular indeseable), si pudiera activarse en su proximidad. De esta manera, un sistema para activar tretazicar en, por ejemplo, el cuello del útero, vejiga, cerebro, tórax o por vía tópica podría aislar el sistema de activación de la circulación sistémica y permitiría que esto ocurriera. En teoría, esto se podría llevar a cabo utilizando una enzima y un cosustrato, aunque con dificultades prácticas. Sin embargo, existen procedimientos alternativos para reducir los grupos nitro. La reducción electrolítica no es realista *in vivo*, pero los grupos nitro se pueden reducir químicamente.

Se ha notificado que la reducción química de tretazicar a 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida utiliza tanto polvo de cinc como citrato de amonio en acetona con un rendimiento del 13 % (Knox y col, 1988) o bien que utiliza hidrato de hidrazina/Pd-C en tetrahidrofurano con un rendimiento del 28 % (Knox y col, 1993). Ninguna de estas rutas sintéticas podría considerarse para el uso *in vivo*.

Se aplican consideraciones similares a otros profármacos activados mediante reducción.

El inventor ha descubierto ahora de forma inesperada un novedoso sistema de reducción química que permite que un profármaco activado mediante reducción se reduzca a la sustancia activa correspondiente en, por ejemplo, soluciones acuosas y cremas. El descubrimiento permite nuevas terapias potenciales en las que es deseable aplicar el agente activo directamente al paciente (por ejemplo, para el tratamiento de algunos cánceres, estados precancerosos (por ejemplo, lentigo maligno o, de forma particular, queratosis actínica) y enfermedades de la piel tales como psoriasis, que es básicamente la producción en exceso de células de la piel).

Tal como se describe en detalle en los Ejemplos, el inventor ha encontrado que un compuesto de fórmula I, tal como DHA, se puede emplear para convertir un profármaco activado mediante reducción (tal como tretazicar) en una sustancia activa correspondiente (por ejemplo, en el caso de tretazicar, 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida).

De esta manera, se describe también en el presente documento una composición que comprende:

(a) un profármaco activado mediante reducción, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento; y

(b) un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento

Cuando el profármaco es tretazicar, por ejemplo, dicha composición, en las condiciones adecuadas que se describen a continuación, producirán en el tiempo 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida, que es capaz de efectuar la reticulación del ADN en las células tal como se ha descrito anteriormente.

Se apreciará que la composición anteriormente mencionada que comprende un profármaco activado mediante reducción y un compuesto de fórmula I se produce de forma conveniente mezclando una composición que comprende un profármaco activado mediante reducción y una composición que comprende un compuesto de fórmula I. De esta manera, se describe adicionalmente en el presente documento un kit en partes que comprende una primera parte que contiene un, profármaco activado mediante reducción, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, y una segunda parte que contiene un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento.

Normalmente, las dos partes del kit son composiciones que son compatibles entre sí (por ejemplo, tienen la misma forma física, tal como cremas, soluciones acuosas, y geles) y, cuando se mezclan, son capaces de producir un agente activo correspondiente (por ejemplo, en el caso de tretazicar, 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida) a partir de la reacción del profármaco activado mediante reducción y del compuesto de fórmula I (por ejemplo, DHA) en condiciones adecuadas.

Dicho kit de partes puede considerarse también como un sistema terapéutico que encuentra uso para combatir el crecimiento o la proliferación celular indeseables, tal como se ha descrito con detalle a continuación

De forma conveniente, el kit de partes o el sistema terapéutico contiene instrucciones sobre el uso del profármaco activado mediante reducción y del compuesto de fórmula I y, en particular, contienen instrucciones sobre la combinación de las partes que contienen un profármaco activado mediante reducción y un compuesto de fórmula I, incluyendo la sincronización de cuando se combinan antes del uso de la composición resultante que comprende el profármaco activado mediante reducción y el compuesto de fórmula I en el tratamiento (por ejemplo, para combatir el crecimiento y la proliferación celulares indeseables)

Normalmente, la composición que comprende un profármaco activado mediante reducción y un compuesto de fórmula I, y la composición de cada una de las partes del kit o de las partes descritas anteriormente, son composiciones farmacéuticas en las que la combinación de un profármaco activado mediante reducción y el compuesto de fórmula I, y, de forma separada, un profármaco activado mediante reducción y el compuesto de fórmula I en las partes del kit de partes, se combinan con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

De forma similar, se describe también en el presente documento una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, y un vehículo farmacéuticamente aceptable y una composición farmacéutica que comprende 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxi-amino-2-nitrobenzamida y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La naturaleza de las composiciones farmacéuticas dependerá de la manera en la que se usan en el tratamiento de un paciente y, en particular, dependerá de la ruta de administración al paciente.

Normalmente, para el tratamiento de los trastornos de la piel o de las membranas accesibles mediante digitación (tales como las membranas de la boca, vagina, cuello del útero, ano y recto), la composición, o la composición farmacéutica tal como se ha descrito anteriormente, o el kit de partes o el sistema terapéutico tal como se ha descrito anteriormente, es aquel que es adecuado para la administración tópica. Dichas composiciones farmacéuticas incluyen cremas, pomadas, lociones, pulverizaciones y geles.

Normalmente, para el tratamiento de los trastornos en el interior del cuerpo (y, en particular en el interior de las cavidades del cuerpo), la composición farmacéutica está en la forma de una solución o suspensión acuosa exenta de pirógenos. Normalmente, el compuesto de fórmula I puede estar en solución. Normalmente el profármaco activado mediante reducción puede formularse como una suspensión.

Los procedimientos para producir composiciones farmacéuticas tales como cremas, pomadas, lociones, pulverizaciones y soluciones o suspensiones acuosas estériles exentas de pirógenos son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, se pueden formular pomadas suspendiendo o disolviendo los componentes de la composición, el kit de partes o el sistema terapéutico en, por ejemplo, una mezcla con uno o más de los siguientes. Aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol. Compuesto de polioxietileno polioxipropileno, cera emulsionante y agua. También, para las lociones o cremas, los componentes de la composición, el kit de partes o el sistema terapéutico se pueden suspender o disolver en, por ejemplo, una mezcla de uno o más de los siguientes: aceite mineral, monoestearato de sorbitán, un polietilenglicol, lanolina, parafina líquida, parafina blanda blanca, polisorbato 60, ceras de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

En el presente caso, se prefiere que la composición o la composición farmacéutica tal como se ha descrito anteriormente sean ligeramente alcalinas. En relación con la composición que comprende una combinación de tretazicar y un compuesto de fórmula I, se prefiere particularmente que la composición sea ligeramente alcalina debido a que la alcalinidad débil favorece la producción de 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxi-amino-2-nitrobenzamida a partir de tretazicar y el compuesto de fórmula I, y la combinación de tretazicar y el compuesto de fórmula I podría ser no reactiva a pH neutro o ácido.

En relación con las composiciones o las composiciones farmacéuticas que representan los componentes del kit de partes o del sistema terapéutico (es decir, las composiciones que contienen, de forma separada, un profármaco activado mediante reducción y un compuesto de fórmula I), se prefiere particularmente que, cuando se combinan, la combinación resultante sea ligeramente alcalina.

Se prefiere que el compuesto separado del componente de fórmula I sea ligeramente ácido. Se prefiere que el componente de profármaco activado mediante reducción sea ligeramente alcalino (particularmente para compuestos tales como tretazicar, que es inestable a pH ácido). Se prefiere que el producto combinado sea ligeramente alcalino.

Por "ligeramente alcalino" los inventores incluyen el significado de que la composición tiene un pH de 8 a 10,5, de forma más preferible de 9 a 10.

Se apreciará que cuando la composición farmacéutica es una solución acuosa, su alcalinidad (pH) pueda medirse directamente utilizando, por ejemplo, papeles o soluciones indicadoras de pH, o utilizando un electrodo de pH. En relación con la evaluación de la alcalinidad (pH) de otras composiciones tales como cremas, la composición puede mezclarse o extraerse con agua y puede medirse el pH de la solución acuosa producido a partir de la mezcla o

extracción.

Por ejemplo, en relación con una crema, el pH de la crema se mide fácilmente sometiendo a vortización 0,2 mg de la crema, con 1 ml de agua durante 10 segundos. La suspensión se clarifica mediante centrifugación y se mide el pH del agua.

- 5 La alcalinidad de la composición puede controlarse mediante el uso de tampones como se conoce bien en la técnica. Los tampones que son fisiológicamente aceptables y están homologados para el uso en medicamento son también bien conocidos en la técnica.

Un sistema tampón preferido es la combinación de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) y carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Este tampón es particularmente adecuado para uso en una crema.

- 10 El inventor ha encontrado que variando las concentraciones iniciales del tampón, se puede controlar la duración y la extensión de la reacción entre los profármacos activados mediante reducción (por ejemplo, tretazicar) y los compuestos de fórmula I (por ejemplo, DHA). El pH afecta a la velocidad de la reacción y de esta manera a la extensión de la reacción durante un periodo de tiempo dado. La duración de la reacción se puede controlar mediante la fuerza del tampón. Parecen formarse protones debido a la reacción y estos agotarán el tampón. Cuando el  
15 tampón se agota el pH disminuirá y la reacción se agotará eficazmente. Variando la fuerza del tampón (concentración) se puede alterar el tiempo al cual esta se produce. Preferiblemente, un sistema tampón se escoge de tal manera que cuando el profármaco activado mediante reducción y el compuesto de fórmula I se mezclan, el 50 % de la reacción se completa en 60 minutos.

- 20 Se prefiere que la composición que comprende un profármaco activado mediante reducción y un compuesto de fórmula I contenga un exceso molar del compuesto de fórmula I sobre el profármaco activado mediante reducción. De forma similar, se prefiere que, en el kit de partes o el sistema terapéutico, cuando las partes se combinan exista un exceso molar del compuesto de fórmula I sobre el profármaco activado mediante reducción. Preferiblemente, el exceso molar del compuesto de fórmula I sobre el profármaco activado mediante reducción es mayor que 4:1, tal como > 5:1 (compuesto de fórmula I profármaco activado mediante reducción, por ejemplo DHA : tretazicar), de  
25 forma más preferible > 10:1.

En la composición o composición farmacéutica que se ha descrito anteriormente o el kit de partes o el sistema terapéutico que se ha descrito anteriormente, se prefiere que:

- 30 (a) la concentración del profármaco activado mediante reducción (por ejemplo, tretazicar) en la composición que contiene dicho componente esté en la región del 0,5 al 5 % en p/p (por ejemplo, del 0,5 al 1 % en p/p) de la composición (por ejemplo, 5 a 10 mg por gramo de la composición); y  
(b) la concentración del compuesto de fórmula I (por ejemplo, DHA) en la composición que contiene dicho componente esté en la región del 2,5 % al 10 % en p/p (por ejemplo, 5 a 105 en p/p) de la composición (por ejemplo, 50 a 100 mg por gramo de la composición).

- 35 Hasta en lo que el inventor es consciente, nadie ha propuesto utilizar tretazicar para la administración tópica, por ejemplo, en una crema o loción o pomada, anteriormente. De esta manera, se describe también en el presente documento una composición para la administración tópica que comprende tretazicar, preferiblemente, la composición farmacéutica. La composición puede estar en la forma de una crema o loción o pomada.

- 40 El uso de determinados compuestos de fórmula I (DHA y gliceraldehído) en tratamientos médicos (el tratamiento de infecciones microbianas o la eliminación de células cancerosas) se da a conocer en el documento WO 2006/003492, Naturwissenschaften 51, 217-218 (1964) y en Cancer Chemother. Rep. (Part 1) 52(7), 687-696 (1968). Sin embargo, hasta donde el inventor es consciente, nadie ha propuesto anteriormente que un compuesto de fórmula I diferente de DHA o gliceraldehído se pueda utilizar en medicina. De esta manera, se describe también en el presente documento un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, para uso en medicina, con la condición de que el compuesto no sea DHA o gliceraldehído. El compuesto de fórmula I se  
45 envasa y presenta para uso en medicina.

- Se describe adicionalmente una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, con la condición de que el compuesto no sea DHA o gliceraldehído. En particular, la composición farmacéutica no es una crema o loción o pomada o pulverización. Se prefiere si la composición farmacéutica que comprende el compuesto de  
50 fórmula I es una solución acuosa inyectable no pirógena estéril.

- Aunque se sabe que 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxi-amino-2-nitrobenzamida es el producto de la nitrorreducción de tretazicar, hasta donde el inventor es consciente, nadie ha propuesto que una composición, tal como una composición farmacéutica tal como se ha descrito anteriormente, que lo contiene, podría usarse en medicina. De esta manera, se describe además en el presente documento 5-(Aziridinil-1-il)-4-hidroxi-amino-2-nitrobenzamida para  
55 uso en medicina.

Tal como se ha descrito anteriormente, un procedimiento para reducir un profármaco activado mediante reducción

comprende poner en contacto el profármaco activado mediante reducción con un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento. Normalmente, el profármaco activado mediante reducción y el compuesto de fórmula I se ponen en contacto en una solución acuosa adecuada. Preferiblemente, la solución es ligeramente alcalina tal como se ha descrito anteriormente.

El inventor ha descubierto que, cuando este procedimiento se efectúa con tretazicar y DHA llevando a cabo la reacción a pH 9, se consigue una velocidad de reducción más rápida que a pH 10 y proporciona en su mayoría el producto de 4-hidroxilamina preferido (en comparación con el producto de 2-hidroxilamina) con un rendimiento muy elevado. Preferible también en estos procedimientos, existe un exceso molar del compuesto de fórmula I sobre el profármaco activado mediante reducción y el intervalo y el exceso molar preferido es tal como se ha descrito anteriormente. Cuando se aplica a la reacción de tretazicar con los compuestos de fórmula I, los procedimientos pueden contener también la etapa adicional de purificar el producto de 5-(azindin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobanzamida procedente de la mezcla de reacción, utilizando, por ejemplo un procedimiento de separación adecuado tal como HPLC.

Es significativo que los grupos nitro en los compuestos tales como tretazicar se reducen únicamente a un grupo hidroxilamina (y no a otro grupo, tal como un grupo nitroso o amina).

De esta manera, se describe también el uso de un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, para la reducción selectiva de un compuesto nitro orgánico a la correspondiente hidroxilamina. En particular, el uso es de un compuesto de fórmula I y una base. La identidad y la cantidad de la base empleada, así como el pH al cual el compuesto de fórmula I efectúa la reducción del compuesto nitro, pueden ser como se ha definido con respecto al uso del primer aspecto de la presente invención.

De forma similar, la presente invención proporciona también un procedimiento para reducir de forma selectiva un compuesto nitro orgánico con la hidroxilamina correspondiente, comprendiendo dicho procedimiento poner en contacto dicho compuesto nitro orgánico con un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento. En una realización particular, el procedimiento comprende poner en contacto el compuesto nitro orgánico con un compuesto de fórmula I y una base. La identidad y la cantidad de la base empleada pueden ser como se ha definido con respecto al uso del primer aspecto de la presente invención. Además, en otra realización particular, el procedimiento comprende poner en contacto el compuesto nitro orgánico con un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, en presencia de una solución (por ejemplo, una solución acuosa) o suspensión que tenga un pH de entre 7 y 11 (por ejemplo un pH de 7,1 (tal como 7,2, 7,3, 7,4 o 7,5) a 10,9 (tal como 10,8, 10,7, 10,6, 10,5, 10,4, 10,3, 10,2, 10,1 o 10,0)).

El compuesto nitro orgánico puede ser, por ejemplo, cualquiera de los compuestos nitro descritos anteriormente en el presente documento. De forma particular, sin embargo, el compuesto nitro orgánico es un compuesto nitro aromático o heteroaromático.

Cuando se usa en el presente documento, la expresión "*compuesto nitro aromático*" incluye referencias a los compuestos que comprenden un grupo aromático carbocíclico C<sub>6-14</sub> (por ejemplo, un grupo fenilo, naftilo, antraceno o fenantrenilo) cuyo grupo aromático soporta un sustituyente nitro. Además de soportar un sustituyente nitro, el grupo aromático se sustituye opcionalmente además por uno o más sustituyentes seleccionados entre alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub> (en los que los últimos dos grupos están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre halo, alcoxilo C<sub>1-4</sub>, Het y arilo), OH, halo (tal como flúor, cloro, bromo o yodo), ciano, nitro CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, C(O)NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, S(O)<sub>1-2</sub>R<sup>d</sup>, S(O)<sub>2</sub>NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, N(R<sup>b</sup>)R<sup>c</sup>, Het, aziridinilo y arilo, en el que R<sup>a</sup> a R<sup>d</sup> representan de forma independiente alquilo C<sub>1-6</sub>, (opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alcoxilo C<sub>1-4</sub>, Het y arilo), Het o arilo, o R<sup>a</sup> a R<sup>c</sup> pueden representar de forma alternativa (y de manera independiente) H, y en el que het y arilo son como se ha definido anteriormente en el presente documento.

En realizaciones concretas, el grupo aromático carbocíclico soporta al menos un sustituyente adicional electroatrayente, por ejemplo uno o más (por ejemplo, uno o dos) sustituyentes seleccionados entre halo (tales como flúor, cloro, bromo o yodo), ciano, nitro, CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, C(O)NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, S(O)<sub>1-2</sub>R<sup>d</sup> y S(O)<sub>2</sub>NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, en el que R<sup>a</sup> a R<sup>d</sup> son tal como se ha definido anteriormente en el presente documento. Como apreciarán los expertos en la técnica, el modelo de sustitución de un grupo aromático carbocíclico gobernará la potencial reducción de un resto nitro unido a este grupo. Generalmente, la adición de sustituyentes que pierden electrones a este grupo podría esperarse que aumentara (es decir, hiciera menos negativa) la potencial reducción (E<sup>2</sup> o E<sup>0</sup>), tal como se ha medido, por ejemplo, mediante polarografía. En una realización aún más particular, el grupo aromático carbocíclico soporta al menos un sustituyente nitro adicional.

Cuando se usa en el presente documento, la expresión "*compuesto nitro heteroaromático*" incluye referencias a los compuestos que comprenden un grupo heteroaromático de 5 a 14 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y/o azufre, cuyo grupo heteroaromático puede comprender uno, dos o tres anillos y cuyo grupo heteroaromático soporta un sustituyente nitro. El grupo heteroaromático soporta opcionalmente uno o más sustituyentes seleccionados entre alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub> (cuyos últimos dos grupos están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre halo, OH, alcoxilo C<sub>1-4</sub>, Het y arilo), OH, oxo, halo (tal como flúor, cloro, bromo o yodo), ciano, nitro, CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, C(O)NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, S(O)<sub>1-2</sub>R<sup>d</sup>, S(O)<sub>2</sub>NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, N(R<sup>b</sup>)R<sup>c</sup>, Het, y en el que het y arilo son como se ha definido anteriormente en el presente documento.

Het, aziridinilo y arilo, en el que R<sup>a</sup> a R<sup>d</sup> son tal como se ha definido anteriormente en el presente documento. Para evitar la duda, la expresión “*compuesto nitro heteroaromático*” incluye referencias a grupos heterocíclicos aromáticos en parte que comprenden dos o tres anillos, en los que al menos un anillo (pero no todos los anillos) es aromático. En estos sistemas de anillos, se prefiere que el grupo nitro esté unido al anillo aromático.

- 5    Sistemas de anillos heteroaromáticos particulares que se pueden mencionar vinculados a la expresión “*compuesto nitro aromático*” incluyen bencimidazolilo, benzo[c]isoxazolidinilo, bencisoxazolilo, benzofuranilo, benzofurazanilo, 2,1,3-benzoxadiazolilo, benzoxazolilo, benzopirazolilo, benzo[e]pirimidina, 2,1,3-benzotiadiazdilo, benzotiazolilo, benzotienilo, benzotriazolilo, cinnolinilo, furanilo, imidazolilo, imidazo[1,2-a]piridinilo, imidazo[2,3-b]tiazolilo, indolilo, isoquinolinilo, isoxazolilo, nafto[1,2-b]furanilo, oxadiazolilo, oxazolilo, ftalazinilo, purinilo, pirazinilo, pirazolilo, piridinilo, pirimidinilo, pirrolo[2,3-b]piridinilo, pirrolo[5,1-b]piridinilo, pirrolo[2,3-c]piridinilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, tiadiazolilo, tiazolilo, tienilo, tieno[5,1-c]piridinilo, triazolilo, 1,3,4-triazolo-[2,3-b]pirimidinilo, xantenilo, benzodioxanilo, benzodioxepanilo, benzodioxolilo, benzomorfolinilo, benzoxazolidinilo, cromanilo, cromenilo, 2,3-dihidrobencimidazolilo, 2,3-dihidrobenczo[b]furanilo, 1,3-dihidrobenczo[c]furanilo, 1,3-dihidro-2,1-benzisoxazolilo, 2,3-dihidropirrolo-[2,3-b]piridinilo, 4,5,6,7-tetrahidrobencimidazolilo, 4,5,6,7-tetrahidrobenzopirazolilo, 5,6,7,8-tetrahidrobenczo[e]pirimidina, tiocromanilo y similares.

El inventor ha encontrado, de forma sorprendente que la reducción de los compuestos reducibles (por ejemplo, compuestos orgánicos reducibles tales como compuestos nitro orgánicos o profármacos activados mediante reducción) por un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, puede llevarse a cabo eficazmente añadiendo el compuesto de fórmula I a una mezcla preformada (por ejemplo solución o suspensión) del compuesto reducible y una base.

De esta manera, un procedimiento para reducir un compuesto reducible comprende añadir un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, a una mezcla de dicho compuesto reducible y una base, en el que la base es tal como se ha definido anteriormente en el presente documento con respecto al primer aspecto de la presente invención.

El compuesto reducible puede ser un compuesto orgánico reducible, tal como un compuesto nitro orgánico o un profármaco activado mediante reducción, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento (por ejemplo, tretazicar). El compuesto de fórmula I puede ser, en concreto, DHA.

Las mezclas del compuesto reducible y la base pueden ser, por ejemplo, una solución o suspensión en un sistema solvente acuoso o, particularmente, un sistema solvente orgánico. Los sistemas solventes particulares que se pueden mencionar a este respecto incluyen alcoholes de alquilo (C<sub>1-4</sub>) inferior tales como isopropanol, etanol o metanol), hidrocarburos clorados (tales como diclorometano), agua y sus mezclas (mezclas tanto mono como bifásicas). Bases particulares que se pueden mencionar incluyen bicarbonatos de metales alcalinos (por ejemplo, sodio o potasio) o, particularmente, carbonatos (por ejemplo, carbonato de potasio, tal como carbonato de potasio anhidro).

La reducción puede llevarse a cabo, por ejemplo, a temperatura ambiente o superior. En realizaciones particulares de la presente invención, la reacción se lleva a cabo a elevada temperatura (por ejemplo, por encima de 25 °C, tal como a entre 30 y 100 °C (por ejemplo, de 40 a 70 °C, tal como a aproximadamente 60 °C). La reducción puede también llevarse a cabo en sustancial ausencia de agentes oxidantes, tales como oxígeno atmosférico. De esta manera, la reacción puede llevarse a cabo en una atmósfera inerte (por ejemplo, una atmósfera de nitrógeno o de argón) y/o utilizando solventes y/o reactivos desoxigenados (o desgasificados).

En particular, el compuesto reducible puede mantenerse en un exceso estequiométrico en comparación con el número calculado de moles del compuesto de fórmula I requeridos para efectuar la reducción deseada. A este respecto, y sin pretender quedar vinculado por teoría alguna, se cree que los compuestos de fórmula I proporcionan un mol de equivalente de hidruro por mol de dímero de fórmula Ia (es decir, un mol de equivalente de hidruro por dos moles de compuesto de fórmula I). De esta manera, por ejemplo, para la reducción de nitro a hidroxilamina (una reducción de dos electrones que requiere el suministro de dos equivalentes de hidruro), el número de moles del compuesto de fórmula I requeridos para efectuar la reducción deseada es de cuatro moles por mol de compuesto nitro.

Los compuestos de fórmula I se pueden añadir en cualquier tasa a la mezcla del compuesto reducible y la base. Sin embargo, en particular, el compuesto de fórmula I se puede añadir a la mezcla lentamente, tal como no más de 2 equivalentes molares (con respecto al compuesto reducible) por minuto (por ejemplo, no más de 1,75, 1,5, 1,25, 1,0, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3 o, particularmente, 0,2 o 0,15 equivalentes molares por minuto).

Tal como se ha mencionado anteriormente, el compuesto reducible puede ser tretazicar. De esta manera, un procedimiento para preparar 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida (o 5-(aziridin-1-il)-2-hidroxilamino-4-nitrobenzamida) comprende:

- (a) proporcionar una mezcla de tretazicar y una base, y
- (b) añadir no más de cuatro equivalentes molares de un compuesto de fórmula I (o, de forma alternativa, como máximo dos equivalentes molares de la forma dimérica de un compuesto de fórmula a I (es decir, un compuesta

de fórmula Ia).

El compuesto de fórmula I puede ser, en particular, DHA.

Esta reacción se puede llevar a cabo en las condiciones (y utilizando la base y/o los solventes) descritas anteriormente en relación con el procedimiento para reducir un compuesto reducible. Además, el procedimiento puede comprender la etapa adicional de separar el producto 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida del producto simultáneo 5-(aziridin-1-il)-2-hidroxilamino-4-nitrobenzamida, si se produce. La separación se puede efectuar mediante técnicas conocidas por los expertos en la técnica (por ejemplo, cristalización fraccionada, recristalización, cromatografía, extracción con solvente, sublimación a vacío, etc).

Los compuestos de fórmula I y los profármacos activados mediante reducción de agentes antiproliferativos se pueden utilizar en un procedimiento para combatir el crecimiento o la proliferación indeseables de células en un sitio en un individuo, el procedimiento comprende proporcionar un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo (por ejemplo, tretazicar) y un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, en el mencionado sitio en el individuo.

Cuando se usa en el presente documento, la expresión “*profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo*” incluye referencias, en particular, a los profármacos activados mediante reducción identificados anteriormente en el presente documento, tales como Mitomicina C, E09, RSU-1069, RB-6145 y, particularmente, tretazicar.

El profármaco activado mediante reducción y el compuesto de fórmula I se pueden combinar antes de la administración al individuo o se pueden administrar secuencialmente.

Por ejemplo, en relación con la administración tópica, es conveniente combinar una composición que contenga el profármaco activado mediante reducción y una composición que contenga el compuesto de fórmula I (siendo en ambos casos la composición una que sea adecuada para la administración tópica) antes de la administración al individuo. Esto se describe con más detalle (con referencia a la combinación de tretazicar y DHA) en el caso en el que la composición para la administración tópica es una crema en los Ejemplos 2 y 3 siguientes.

De forma similar, en relación con la administración en una cavidad corporal, de forma conveniente, una composición que contiene el profármaco activado mediante reducción y la composición que contiene el compuesto de fórmula I (siendo en ambos casos la composición una que sea adecuada para la administración en una cavidad corporal (por ejemplo, soluciones o suspensiones estériles separadas del profármaco activado mediante reducción y del compuesto de fórmula I se podrían administrar en la cavidad corporal y el contacto inicial del profármaco activado mediante reducción y del compuesto de fórmula I podría suceder en la cavidad corporal. En particular, el profármaco activado mediante reducción y el compuesto de fórmula I podrían administrarse simultáneamente en, por ejemplo, condiciones neutras y una administración adicional de un agente (tal como un tampón) realizada para conformar el ambiente en la cavidad corporal ligeramente alcalino. Normalmente, sin embargo, el profármaco activado mediante reducción (o su combinación con el compuesto de fórmula I) está presente en un medio alcalino.

Se apreciará que cuando el profármaco activado mediante reducción y el compuesto de fórmula I se combinan en condiciones adecuadas antes de la administración al individuo, se produce una sustancia activa correspondiente (por ejemplo, en el caso de tretazicar, 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida) que a continuación, se administra al individuo. De esta manera, el combate del crecimiento o la proliferación indeseables de células en un sitio en un individuo se puede efectuar administrando o proporcionando una composición que contenga 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida en el mencionado sitio del individuo.

Se describe también en el presente documento:

(i) el uso de una combinación de un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, y un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, en la fabricación de un medicamento para combatir el crecimiento o la proliferación indeseables de células en un individuo; y

(ii) el uso de 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida en la fabricación de un medicamento para combatir el crecimiento o la proliferación indeseable de células en un individuo.

Para uso en el tratamiento del crecimiento o la proliferación de células indeseables, dicho procedimiento comprende administrar a un paciente que necesita de dicho tratamiento, de una forma que se describe también en el presente documento:

(i) un producto de combinación que comprende un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo, o una sal y/o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, y un compuesto de fórmula I; o  
(ii) una cantidad eficaz de 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida.

El producto de combinación puede ser tanto un kit de partes como una preparación combinada. De esta manera, la

administración al paciente puede ser de:

(a) una composición que comprende

- 5 (I) un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo, o una sal y/o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable,  
 (II) un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento y, opcionalmente  
 (III) un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable; o

(b) un kit de partes que comprende

- 10 (I) una primera parte que contiene un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo, o una sal y/o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento.  
 (II) una segunda parte que contiene un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento.

15 Otros aspectos adicionales de la presente invención se refieren al producto de combinación (es decir, la composición o el kit de partes) *per se*, tal como se define en las reivindicaciones 19 a 21 adjuntas.

20 Normalmente, las dos partes del kit de partes son composiciones que son compatibles entre sí (por ejemplo, tienen la misma forma física tal como cremas, soluciones acuosas, y geles) y, cuando se mezclan, son capaces de producir un agente activo correspondiente (por ejemplo, en el caso de tretazicar, 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxi-amino-2-nitrobenzamida) procedente de la reacción del profármaco activado mediante reducción y del compuesto de fórmula I (por ejemplo, DHA) en las condiciones adecuadas.

Puede considerarse también que dicho kit de partes es un sistema terapéutico que encuentra uso para combatir el crecimiento o la proliferación celular indeseables.

25 De forma conveniente, el kit de partes o sistema terapéutico contiene instrucciones sobre el uso del profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo y un compuesto de fórmula I y, en particular, contienen instrucciones sobre la combinación de partes que contienen el profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo y un compuesto de fórmula I, incluyendo la sincronización de cuando se combinan antes del uso de la composición resultante que comprende el profármaco activado mediante reducción y el compuesto de fórmula I en el tratamiento (por ejemplo, para combatir el crecimiento y la proliferación celular indeseables).

30 Normalmente, la composición comprende un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo y un compuesto de fórmula I, y la composición de cada una de las partes del kit de partes, son composiciones farmacéuticas en las que la combinación de un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo y un compuesto de fórmula I, y separadamente, un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo y un compuesto de fórmula I en las partes del kit de partes, se combinan con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

35 En el tratamiento del crecimiento o la proliferación de células indeseables, el producto de combinación (composición combinada o kit de partes) o la 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxi-amino-2-nitrobenzamida se puede administrar como un único sistema o agente terapéutico o, de forma alternativa, se puede administrar junto con (es decir, tanto simultánea como secuencialmente) uno o más agentes activos adicionales (por ejemplo, agentes activos conocidos para tratar el trastorno particular en cuestión).

40 El crecimiento o la proliferación de células indeseables que se van a combatir puede ser cualquiera de dicho crecimiento o proliferación indeseables, particularmente aquellos que son susceptibles de reticulación de su ADN.

El crecimiento o la proliferación de células indeseables puede ser benigno tal como es el caso con verrugas o psoriasis comunes u otras dolencias de la piel que implican el crecimiento o la proliferación de células indeseables, o puede ser neoplásico, tal como en un tumor o su metástasis.

45 De esta manera, los medicamentos que se describen en el presente documento incluyen un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo, 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxi-amino-2-nitrobenzamida, o el uso de cualquiera que se puede usar en el tratamiento de verrugas y otras enfermedades de la piel tales como psoriasis. Otros crecimientos benignos, dolencias precancerosas y cáncer, incluyendo cáncer del cuello del útero, vejiga, cerebro, tórax y útero.

50 Se prefiere particularmente si los medicamentos se utilizan tópicamente para combatir la enfermedad.

Se prefiere también particularmente que los medicamentos se utilicen para combatir la enfermedad mediante la administración en las cavidades corporales tales como la vejiga o el peritoneo o el tórax. Con respecto a tretazicar, su derivado de 4-hidroxi-amino tiene una semivida muy corta tras la aplicación o la administración y no puede migrar muy lejos desde el sitio de activación, de tal manera que no existe efecto depósito y el fármaco activo no

penetra en la circulación y produce efectos sistémicos.

Las realizaciones particulares de la presente invención que se pueden mencionar incluyen por tanto:

- 5 (a) una composición tópica (por ejemplo, crema, loción o pomada) que comprende un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo (RSU-1069, RB-6145, Mitomicina C o, particularmente, tretazicar o E09), un compuesto de fórmula I (por ejemplo, DHA) y un adyuvante, diluyente o vehículo tópicamente aceptable (por ejemplo, una loción, crema o base de pomada);
- 10 (b) un aglomerado o un vehículo de administración sólida general que comprende un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo (RSU-1069, RB-6145, Mitomicina C o, particularmente, tretazicar o E09), un compuesto de fórmula I (por ejemplo, DHA) y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, y
- (c) una solución o suspensión que comprende un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo (RSU-1069, RB-6145, Mitomicina C o, particularmente, tretazicar o E09), un compuesto de fórmula I (por ejemplo, DHA) y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, un sistema solvente estéril, tal como un sistema solvente acuoso estéril).

- 15 En relación con (a) y (b) anterior, la composición particular puede comprender también una base (por ejemplo, una base tal como se ha definido anteriormente en relación con el primer aspecto de la presente invención) y/o un sistema tamponante del pH que, tras la aplicación de la composición, proporciona un pH local en el sitio de administración de entre 7 y 11 (por ejemplo: para las formulaciones que contienen tretazicar, entre pH 7,5, 8,0, 8,5 o 9,0 y 10,5 o, particularmente, 10; o formar formulaciones que contienen E09 entre pH 7,1 y 8,0, tal como
- 20 aproximadamente pH 7,5).

La composición tópica (o la crema, loción o pomada) de (a) anterior se puede emplear, por ejemplo, en el tratamiento del cáncer de piel, sin melanomas en la piel, cáncer de próstata, dolencias precancerosas (por ejemplo, lentigo maligno o, particularmente, queratosis actínica), verrugas o psoriasis. Dicha composición puede emplearse también como crema rectal en el tratamiento de dolencias tales como el cáncer de intestino.

- 25 El vehículo de administración sólida de (b) anterior puede, cuando comprende E09, ser particularmente adecuado para uso en el tratamiento del cáncer de próstata. Esto es debido a que se sabe que la glándula prostática es particularmente sensible a elevados niveles de pH, y el presente inventor ha encontrado que E09 se redujo más rápidamente a un pH relativamente bajo (por ejemplo, a aproximadamente pH 7,5) que los compuestos tales como tretazicar.

- 30 La solución o suspensión de (c) anterior, se puede aplicar mediante inyección, transcateterización u otro procedimiento de infusión en el interior de una cavidad o espacio corporal en la que existe un crecimiento o proliferación de células indeseables. Por ejemplo, la solución se puede introducir en la vejiga para tratar dolencias tales como cáncer de vejiga, poniéndose en contacto con el cuello del útero para tratar el cáncer cervical, inyectarse en el peritoneo para tratar, por ejemplo, el cáncer de ovario, o se puede inyectar en el cerebro para tratar el cáncer
- 35 de cerebro.

En una realización particular, una solución o suspensión que comprende un compuesto de fórmula I (por ejemplo, DHA) y un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo (por ejemplo, tretazicar o E09) se puede administrar mediante infusión intravesical a través de catéter urinario con el fin de tratar el cáncer de vejiga.

- 40 De esta manera, un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una solución o suspensión que comprende un compuesto de fórmula I (por ejemplo, DHA) y un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo (por ejemplo, tretazicar o E09) para uso en un procedimiento de tratamiento de un cáncer de vejiga, comprendiendo dicho procedimiento administrar, mediante infusión intravesical a través de catéter urinario, una cantidad eficaz de

- 45 La composición descrita anteriormente que comprende 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida que puede tomar también formas farmacéuticas particulares, tales como:

- (i) una composición tópica (por ejemplo, crema, loción o pomada) que comprende 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida, y un adyuvante, diluyente o vehículo tópicamente aceptable (por ejemplo, una loción, crema o base de pomada), y
- 50 (ii) una solución o suspensión que comprende 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, un sistema solvente estéril, tal como un sistema solvente acuoso estéril).

Las composiciones (i) y (ii) pueden tener los mismos usos en último extremo en relación a las composiciones (a) y (c) anteriores, respectivamente.

- 55 De forma alternativa, la solución o suspensión de (ii) anterior (así como la solución o suspensión de (c) anterior) se puede administrar por medio de un pulverizador a la boca, cavidad nasal, garganta, faringe, laringe, tráquea o pulmones con el fin de tratar una proliferación indeseable de células (por ejemplo, un cáncer) en una cualquiera de

aquellas localizaciones. De esta manera, se describe también una solución o suspensión pulverizable que comprende:

(A) un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo, un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable; o

(B) 5-(azaridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

La administración, por medio de un pulverizador, de 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida (o una mezcla que proporciona este compuesto) directamente a la boca, cavidad nasal, garganta, faringe, laringe, tráquea o pulmones soslaya la desactivación de la 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida por las proteínas del suero. Además, el mismo mecanismo de desactivación asegurará que la 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida no tendrá un efecto sistémico.

De esta manera, para uso en un procedimiento de tratamiento de un cáncer de la boca, cavidad nasal, garganta, faringe, laringe, tráquea o pulmones, se puede administrar una solución o suspensión por medio de un pulverizador, comprendiendo dicha solución o suspensión:

(A) un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo, un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable; o

(B) 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los dispositivos adecuados para administrar una solución o suspensión en la forma de un pulverizador son bien conocidos por los expertos en la técnica. Los dispositivos adecuados (que incluyen: pulverizadores mecánicos que bombean la solución o suspensión desde un depósito, y los dispositivos en aerosol que utilizan gases propelentes comprimidos para generar una pulverización a través de una boquilla) incluyen los descritos en, por ejemplo, el documento WO 2006/005845.

De esta manera, se describe también en el presente documento

(a) un pulverizador mecánico que tiene un depósito cargado con una solución o suspensión que comprende

un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo, un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, o

5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable; y

(b) un dispositivo de tipo aerosol que comprende una solución o suspensión que comprende uno o más gases propelentes y

un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo, un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, o

5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

El dispositivo descrito en (b) anterior puede ser, en particular, un dispositivo inhalador de dosis medida.

Como alternativa a un pulverizador líquido, se puede aerosolizar un polvo seco con el fin de administrar una composición farmacéutica a sitios tales como los pulmones. De esta manera, se describe también en el presente documento una composición para aerosol de polvo seco que comprende 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida.

Por la expresión "*composición para aerosol de polvo seco*", los inventores incluyen las referencias a las formulaciones en polvo seco que son capaces de administrarse mediante un dispositivo de inhalación a la boca, cavidad nasal, garganta, faringe, laringe, tráquea o pulmones. Como tal, el término incluye referencias a polvos secos que tienen un tamaño de partículas promedio de 100  $\mu\text{m}$  (por ejemplo, 50 o 10  $\mu\text{m}$ ) o menos. A este respecto, se puede determinar el tamaño de partículas mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, técnicas de dispersión de luz láser, tales como las que utilizan un dispositivo de análisis del tamaño de partículas tal como Mastersizer™).

Los dispositivos para la administración de aerosoles de polvo seco (por ejemplo, inhaladores de polvo seco) son bien conocidos de los expertos en la técnica y se describen, por ejemplo, en el documento WO 2004/110536. De esta manera, se describe un sistema terapéutico que comprende:

- (i) un dispositivo de inhalación de polvo seco, que contiene opcionalmente una fuente de gas propelente; y
- (ii) una o más dosis discretas de una composición para aerosol de polvo seco que comprende 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida.

El sistema terapéutico puede comprender el dispositivo y la(s) dosis de la composición como entidades físicamente separadas (es decir, eficazmente como un kit de partes). De forma alternativa, el dispositivo de inhalación puede estar precargado con la una o más dosis de la composición.

En el tratamiento del crecimiento o la proliferación de células indeseables, las composiciones anteriormente mencionadas (que incluyen composiciones tópicas, vehículos de administración sólida, soluciones o suspensiones, aerosoles de polvo seco, etc.) se pueden utilizar solas para el tratamiento de una dolencia concreta (un crecimiento o proliferación de células indeseables, tales como un cáncer de la vejiga, cuello del útero, peritoneo o cerebro, o un cáncer de la boca, cavidad nasal, garganta, faringe, laringe, tráquea o pulmones), es decir, administrarse como el único sistema o agente terapéutico. De forma alternativa, sin embargo, las composiciones pueden administrarse junto con (es decir, tanto simultánea como secuencialmente) uno o más agentes activos adicionales (por ejemplo, agentes activos conocidos para tratar el trastorno particular en cuestión).

A este respecto, los agentes activos conocidos para uso en el tratamiento del cáncer de vejiga incluyen cisplatino, doxorubicina y mitomicina C.

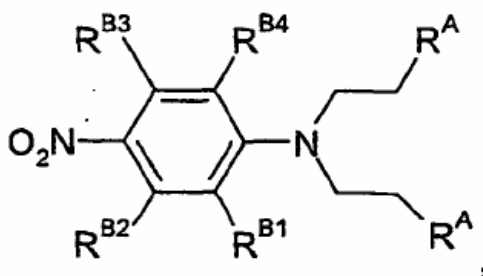
Las dosis adecuadas del profármaco activado mediante reducción (por ejemplo, tretazicar) para uso humano incluyen 10 a 30 mg/m<sup>2</sup>, normalmente 15 a 25 mg/m<sup>2</sup>, por ejemplo 24 mg/m<sup>2</sup>.

Los medicamentos de la presente invención se pueden usar para tratar animales (tales como mamíferos no humanos, en particular caballos, vacas, ovejas y similares, y gatos y perros) y seres humanos. Se prefiere si se utilizan para tratar seres humanos.

Se describe además un procedimiento de reticulación del ADN en una célula, comprendiendo el procedimiento administrar a la célula una combinación de un profármaco activado mediante reducción de un agente de reticulación del ADN (por ejemplo, tretazicar) y un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento (por ejemplo, DHA), o un procedimiento de reticulación del ADN en una célula, comprendiendo el procedimiento administrar a la célula una composición que incluye 5-(aziridinil-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida. En estos procedimientos, la célula es una célula en cultivo y el procedimiento es un procedimiento in vitro.

Cuando se usa en el presente documento, la expresión "profármaco activado mediante reducción de un agente de reticulación del ADN" incluye referencias, en particular, a compuestos tales como:

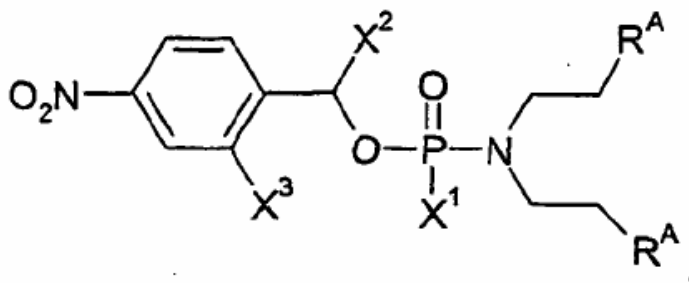
- (1) E09 (3-[5-aziridinil-4,7-dioxo-3-hidroxiimetyl-1-metil-1H-indol-2-il]-prop-β-eno-α-ol);
- (2) RSU-1069 (1-(1-aziridinil)-3-(2-nitro-1-imidazolil)-2-propanol);
- (3) RB-6145 (1-[3-(2-bromoetilamino)-2-hidroxipropil]-2-nitroimidazol);
- (4) Mitomicina C;
- (5) un compuesto de fórmula



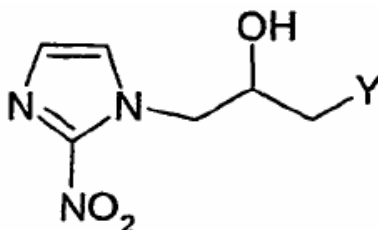
en la que

cada R<sup>A</sup> representa de forma independiente cloro, bromo, yodo u -OS(O)<sub>2</sub>R<sup>C</sup>,  
 R<sup>C</sup> representa alquilo C<sub>1-8</sub> (opcionalmente sustituido con uno o más átomos de flúor) o fenilo (opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre halo, nitro, alquilo C<sub>1-4</sub> y alcóxilo C<sub>1-4</sub>),  
 R<sup>B1</sup> a R<sup>B4</sup> representan de forma independiente H, CN, C(O)N(R<sup>D</sup>)R<sup>E</sup>, C(S)N(R<sup>D</sup>)R<sup>E</sup>, C(O)OH, S(O)<sub>2</sub>NHR<sup>F</sup>,  
 o R<sup>B1</sup> puede representar adicionalmente NO<sub>2</sub>,  
 R<sup>D</sup> y R<sup>E</sup>, representan de forma independiente H o alquilo C<sub>1-4</sub> (dicho último grupo está opcionalmente sustituido) con uno o más sustituyentes seleccionados entre OH, N(H)-alquilo C<sub>1-2</sub>, N(alquilo C<sub>1-2</sub>)<sub>2</sub>, 4-morfolinilo y C(O)OH),  
 o R<sup>D</sup> y R<sup>E</sup>, junto con el átomo de N al cual se unen, representa 4-morfolinilo, y  
 R<sup>F</sup> representa H o S(O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>,  
 con la condición de que R<sup>B2</sup> sea H cuando R<sup>B1</sup> es diferente de H  
 por ejemplo, uno cualquiera de los compuestos de la fórmula anterior dada a conocer en Anlezark y col., 1992 y

1995, tal como SN 23163, SN 23849, SN 23777, SN 23428, SN 23759, SN 24927, SN 24928, SN 24926, SN 25402, SN 25079, SN 24939, SN 24935, SN 25923, SN 25313, SN 23856, SN 25066, SN 23816, SN 25015, SN 24971, SN 25260, SN 25261, SN 25263, SN 25084, SN 25188, SN 25507 o, de forma particular, SN 23862 (5-{N,N-bis[2-cloroetil]amina}-2,4-dinitrobenzamida);  
(6) un compuesto de fórmula



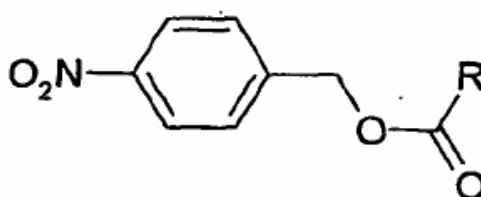
en la que  
RA es tal como se ha definido anteriormente (por ejemplo, Cl) y cualquiera de  
X1 representa NH2 y X2 y X3 representan H,  
-X1-X2- representa -NH-CH2CH2- y X3 representa H o  
-X1-X3- representa -NH- y X2 representa H;  
(7) un compuesto de fórmula



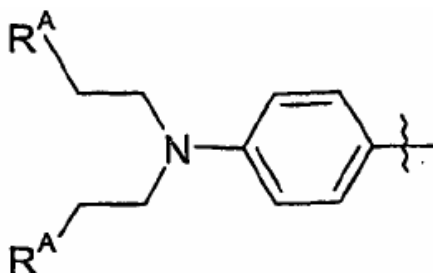
en la que Y representa

1-aziridinilo (opcionalmente sustituido en la posición 2-position con metilo), metoxilo o N(H)CH2CH2Br;

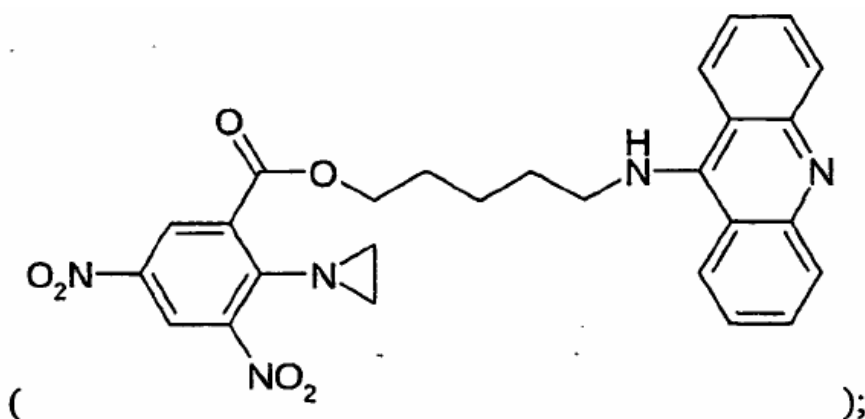
(8) un profármaco autodestructivo de la fórmula



en la que  
R representa -O-R' o -NH-R',  
R' representa



en la que la línea ondulada indica la posición de unión del fragmento y RA es tal como se ha definido anteriormente (por ejemplo, Cl);  
(9) acridina-CB 1954



y  
(10) tretazicar (5-(aziridin-1-il)-2,4-dinitrobenzamida),

o un sal y/o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable

- 5 Por tanto, la expresión “*profármaco activado mediante reducción de un agente de reticulación del ADN*” incluye referencias concretas a compuestos tales como E09, RSU-1069, RB-6145, Mitomicina C y, particularmente, tretazicar.

La presente invención se describirá ahora con más detalle por referencia a las siguientes Figuras y Ejemplos en los que

- 10 La Figura 1 muestra la estructura de tretazicar (5-(aziridin-1-il)-2,4-dinitrobenzamida).

La Figura 2 muestra la activación biológica de tretazicar.

La Figura 3 muestra la estructura de la dihidroxiacetona (DHA; N° de CAS: 62147-49-3, Beil. 8, 266, Índice Merck 13, 3166). La forma normal es el dímero, pero este revierte rápidamente al monómero en solución.

La Figura 4 muestra la reducción de tretazicar por DHA.

- 15 La Figura 5 muestra la reducción de tretazicar por DHA en una crema basada en E45 (tal como se describe en el siguiente Ejemplo 2). En cada uno de A, B y C de la Figura 5, la parte superior de las dos trazas es la medida a 325 nm, mientras que la parte inferior es la medida a 260 nm.

- La Figura 6 muestra la correspondencia espectral del pico observado con un tiempo de retención de 5,0 minutos en la Figura 5B, con la obtenida con un patrón sintético de 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida. La línea continua es el patrón y la línea punteada es la muestra. Los espectros se normalizaron para la absorbancia a 260 nm.
- 20

La Figura 7 muestra el porcentaje de supervivencia de las células V79 de hámster chino durante el curso de 2 horas a pH 7,5 y 37 °C en un tampón fosfato 10 mM que contenía NaCl 140 mM y lo siguiente:

- 25 A: control (es decir, sustancias no adicionales);  
B: DHA 10 mM;  
C: E09 10 µM;  
B+C: una combinación de DHA mM y E09 10 µM;  
D: E09 100 µM; y  
B+D: una combinación de DHA 10 mM y E09 100 µM.

- 30 Se determinó la supervivencia de las células V79 utilizando el siguiente procedimiento:

- Se incubaron volúmenes (1 ml,  $2 \times 10^5$  células/ml) de células V79 en tampón fosfato 10 mM (pH 7,5) que contenía NaCl 140 mM a 37 °C y se añadieron a continuación los reactivos (tal como se ha indicado anteriormente, a las concentraciones estipuladas) (excepto para el experimento del control). Después de 2 horas de incubación, se cosecharon las células mediante centrifugación, se diluyeron en serie ( $4 \times 10$  veces) y las células se plaquearon en medio de crecimiento y se evaluaron para su capacidad de formar colonias tras el crecimiento durante 1 semana en una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5 % humidificada.
- 35

Como demuestra el diagrama de la Figura 7, el efecto citotóxico de E09 está muy potenciado por la adición de DHA, que promueve la formación de la forma activa de E09.

En relación con los siguientes ejemplos, tretazicar está comercialmente disponible para fines de investigación de Morvus Technology Limited y Sigma Chemical Company.

### **Ejemplo 1: Activación química de Tretazicar**

Los procedimientos químicos notificados para producir el derivado de 4-hidroxilamino activo a partir de tretazicar utilizan condiciones de reducción rigurosas en solventes orgánicos con rendimientos menores del 30 % (Knox y col, 1993; Knox y col, 1988). El inventor ha descubierto que dihidroxiacetona (DHA) puede reducir tretazicar a la hidroxilamina requerida en solución acuosa en condiciones ligeramente alcalinas. A pH 9, el rendimiento es > del 85 % y el único producto diferente de la reducción del tretazicar detectado es 5-(aziridin-1-il)-2-hidroxilamino-4-nitrobenzamida.

Dihidroxiacetona (DHA; 1,3-dihidroxi-2-propanona; N° de CAS: 62147-49-3, Beil. 8, 266, Índice de Merck 13, 3166; Figura 3) es el principio activo en lociones de bronceado sin sol y autobronceado y ha obtenido la homologación de la FDA. DHA es un azúcar incoloro que oscurece la piel mediante tinción. Interactúa con las células superficiales muertas que se encuentran en la epidermis produciendo un cambio de color. A medida que las células muertas de la piel se desprenden, el color pierde gradualmente intensidad, normalmente, a los 5 a 7 días de la aplicación. Los productos de bronceado sin sol contienen concentraciones de dihidroxiacetona de hasta un 5 %. Cuanto mayor es la concentración, más oscuro será el bronceado posterior. Puesto que un agente de bronceado es estable en condiciones de pH de entre 4 y 6, demasiado álcali o demasiado ácido da como resultado la formación de compuestos marrones, reduciendo la eficacia de las soluciones como bronceador. La eritrolosa (1,3,4-trihidroxi-2-butanona) tiene una acción similar a DHA, pero no produce un bronceado tan intenso o rápido. DHA se preparó a través de la fermentación de la glicerina y es un azúcar sencillo de tres carbonos, no tóxico en la naturaleza y que se encuentra en la forma de un polvo de color blanco. La forma normal es el dímero ( $C_6H_{12}O_6$ ) pero este revierte rápidamente al monómero en solución. La FDA ha homologado DHA solo para uso externo, y recomienda a los usuarios tomar medidas protectoras para evitar el contacto con los ojos, nariz y membranas de las mucosas.

El único efecto adverso notificado es la dermatitis alérgica de contacto. Esta se ha notificado raramente y las mayores causas de sensibilidad en las cremas de bronceado son debidas a otros ingredientes tales como conservantes en la preparación. Véase el código de Regulaciones Federales, página 3 76:

## **TÍTULO 21 - ALIMENTOS Y FÁRMACOS**

### **CAPÍTULO I – ADMINISTRACIÓN DE ALIMENTOS Y FÁRMACOS, DEPARTAMENTO DE SALUD Y SERVICIOS HUMANOS**

#### **PARTE 73 – LISTADO DE ADITIVOS DE COLOR EXENTOS DE CERTIFICACIÓN – Tabla de Contenidos**

##### **Subparte C – Cosméticos**

##### **Sec. 73.2150 Dihidroxiacetona**

No se ha notificado nunca DHA como agente reductor. Se conocen los azúcares reductores, pero estos son aldosas y tienen un aldehído en un extremo. El aldehído se comporta como un agente reductor en presencia de un agente oxidante suave, tal como  $Cu^{2+}$  o  $Fe^{3+}$ , existe oxidación del aldehído a un ácido carboxílico. Tal como un cetol, no es posible una reacción equivalente con DHA. Sin embargo, dihidroxiacetona ha demostrado promover la formación de radicales hidroxilo en presencia de quelatos de hierro (III) (Malisza y Hasinoff, 1995). Este tipo de reacción puede estar relacionada con su capacidad reductora y su inestabilidad al álcali que da como resultado la formación de compuestos de color marrón.

En condiciones alcalinas y utilizando un exceso de ADN existe una velocidad lineal de reducción de tretazicar relacionada con el tiempo (Figura 4).

Se inició el ensayo mediante la adición de 100  $\mu$ l de DHA 100 mm en agua a una mezcla de tretazicar (100  $\mu$ M en tampón de bicarbonato de sodio 0,1 M, pH 9 a pH 10, para dar un volumen final de 1 ml. La mezcla se incubó a 37 °C y se tomaron alícuotas (10  $\mu$ l) cada 6 min y se valoraron mediante HPLC [Partisil 10 SCX (4,2 x 150 mm) (Whatman, Maidstone, Kent, Reino Unido) eluyendo isocráticamente con fosfato de sodio 0,13 M (pH 5) en 1,5 ml/min). Se determinó la concentración de tretazicar en cada muestra por referencia del área del pico correspondiente respecto de un patrón externo, cuantificado mediante absorbancia a 325 nm. Se calcularon las tasas iniciales ajustando la curva (FigP, Biosoft, Cambridge, Reino Unido). Se identificaron los productos de la reducción mediante el tiempo de retención con respecto a un patrón auténtico.

Solo se observaron dos productos de la reducción de tretazicar, los derivados 2-hidroxilamino y 4-hidroxilamino. La tasa de reducción de tretazicar y la proporción de los productos de hidroxilamina fueron dependientes del pH. La reducción a pH 10 (0,69 nmol/min) fue más lenta que a pH 9 (0,92 nmol/min). Después de 30 min, la relación de las 4 a las 2-hidroxilaminas fue de 2,7:1 a pH 10 y de 9,7:1 a pH 9. De esta manera, a pH 9, la reducción es más rápida y proporciona el producto de las 4-hidroxilaminas preferidas en mayor grado con un rendimiento muy elevado (Figura 4)

DHA o los productos asociados a DHA procedentes de la reacción no se detectaron con el anterior procedimiento de HPLC.

### **Ejemplo 2: Activación de Tretazicar en una crema formulada para la aplicación tópica**

Se han preparado dos cremas designadas A y B. Para uso, estas se mezclan en cantidades iguales. La crema A consiste en una base de E45 (parafina blanda blanca BP 14,5 % p/p, parafina líquida ligera Ph Eur 12,6 % p/p, lanolina anhidra hipoalergénica (Medilan 1,0 % p/p, Crookes Healthcare Ltd, Nottingham, Reino Unido) que contiene 10 mg de tretazicar, 10 mg de  $\text{NaHCO}_3$  y 90 mg de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  por g. La crema B contiene E45 con 100 mg del dímero DHA por g. la mezcla de los dos componentes, A y B, produjo una crema de color amarillo pálido. Esta volvió a ser de color marrón durante unas pocas horas y continuó oscureciéndose durante aproximadamente 24 horas. La suspensión de 200 µg de crema en 1 ml de agua con agitación vigorosa dio lugar a una solución con un pH de aproximadamente 10 tal como muestran los papeles indicadores de pH. Los experimentos preliminares con cremas que contenían un 10 % de las cantidades anteriores de sales de tampón proporcionaron una solución con el mismo pH inicial. Sin embargo, tras cuatro horas, una solución, preparada como anteriormente, y la crema no oscureció durante demasiado tiempo. Esto podría sugerir que variando las concentraciones iniciales de tampón se pueden controlar la duración y la extensión de la reacción.

Tras mezclar, y en diversos momentos, se extrajeron 200 µg de crema en 1 ml de DMSO. A continuación se diluyó el extracto 1/100 con tampón bicarbonato de amonio 50 mM (pH 10) y se analizó mediante HPLC en fase inversa. En el momento de inicio, el análisis del extracto a 325 nm mostró solo un único pico mayor y este correspondió a tretazicar tal como se muestra mediante el mismo tiempo de retención y la correspondencia espectral del espectro de absorbancia de UV con respecto a un patrón auténtico. Después de 4 horas, el análisis del extracto mostró muchos más picos en las trazas de los 260 nm y de los 325 nm (Figura 5).

La crema A (que consistía en una base de E45 (parafina blanda blanca BP 14,5 % p/p, parafina líquida ligera Ph Eur 12,6 % p/p, lanolina anhidra hipoalergénica (Medilan) 1,0 p/p, Crookes Healthcare Ltd, Nottingham, Reino Unido) que contenía 10 mg de tretazicar, 10 mg  $\text{NaHCO}_3$  y 90 mg de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  por g y la crema B (que contenía E45 con 100 mg del dímero DHA por g) se mezclaron en diversos momentos, se extrajeron 200 µg con 1 ml de DMSO con agitación vigorosa. El extracto se clarificó mediante centrifugación y a continuación se diluyó 1/100 con tampón bicarbonato de amonio 50 mM (pH 10) y se analizó mediante HPLC. Se inyectó una muestra (10 µl) en una columna Symmetry Shield RP18 de Waters (150 x 3,9 mm) y se eluyó con un gradiente lineal (1-40 % durante 30 minutos) de acetonitrilo en formiato de amonio 10 mM (pH 4,5). El eluato se controló de forma continua para la absorbancia UV entre 230 y 400 nm utilizando un detector de barrido UV3000 de TSP. A.) Un extracto preparado inmediatamente después de la mezcla de la crema. B.) un extracto preparado a partir de la crema 4 horas después de haberse mezclado. C.) Un patrón sintético de 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida. La línea azul (la línea inferior en cada par de trazas) es la traza obtenida a 260 nm y la línea roja (la línea superior en cada par de trazas), la traza obtenida a 325 nm. El pico a ~ 13 minutos es CB 1954 y el pico grande a 260 nm a ~ 19 minutos procede de E45. No es posible medir la eficacia del procedimiento de extracción.

Se detectó más tretazicar y se identificó un pico con un tiempo de retención de ~ 5,0 minutos como la 4-hidroxilamina de tretazicar tal como se indicó por el mismo tiempo de retención y la correspondencia espectral del espectro de absorbancia UV con respecto a un patrón auténtico (Figura 6). Los otros picos no corresponden a productos de reducción de tretazicar conocidos y pueden haber surgido de la oxidación de DHA o de la reacción de los productos de tretazicar reducidos tanto con crema como con DHA.

La forma activa de tretazicar, (5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida), se formó en la crema basada en E45.

### **Ejemplo 3: Aplicación tópica de una crema de Tretazicar**

Se mezcló una crema formulada como anteriormente y se aplicaron aproximadamente 0,1 g a una verruga (en crecimiento, domo de 1,5 mm de altura) localizada en el dedo de un voluntario humano sano y se cubrió con una tirita. Se notificó un calor moderado inicial procedente de la crema aplicada. Después de aproximadamente 4 horas se retiró la tirita y se encontró que la verruga se había desprendido y dejado un hoyito de ~ 1 mm de profundidad. El tejido próximo circundante tenía una coloración amarilla. Esta se fue volviendo gradualmente blanca al cabo de unos pocos días y no se notificó un recrecimiento de la verruga durante 6 semanas. No hubo efectos adversos aparentes o notificados.

La crema A (que consistía en una base de E45 (parafina blanda blanca BP 14,5 % p/p, parafina líquida ligera Ph Eur 12,6 % p/p, lanolina anhidra hipoalergénica (Medilan) 1,0 p/p, Crookes Healthcare Ltd, Nottingham, Reino Unido) que contenía 10 mg de tretazicar, 10 mg  $\text{NaHCO}_3$  y 90 mg de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  por g y la crema B (que contenía E45 con 100 mg del dímero DHA por g) se mezclaron y se aplicaron aproximadamente 0,1 g a una verruga (en crecimiento, domo de 1,5 mm de altura) localizada en el dedo de un voluntario humano sano y se cubrió con una tirita. Después de aproximadamente 4 horas se retiró la tirita y se encontró que la verruga se había desprendido y dejado un hoyito de ~ 1 mm de profundidad. El tejido próximo circundante tenía una coloración amarilla. Esta se fue volviendo gradualmente blanca al cabo de unos pocos días y no se notificó un recrecimiento de la verruga durante 6 semanas.

No hubo efectos adversos aparentes o notificados. La fotografía se tomó después de 1 semana.

La activación de tretazicar en una aplicación tópica tiene un marcado efecto sobre la verruga con efectos mínimos sobre el tejido normal que la rodea.

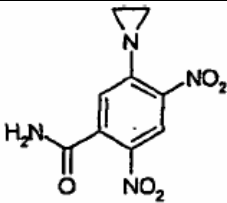
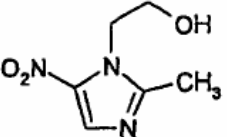
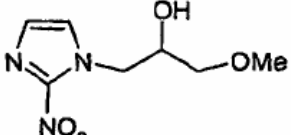
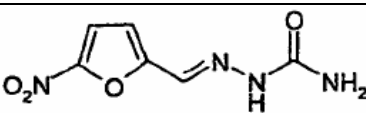
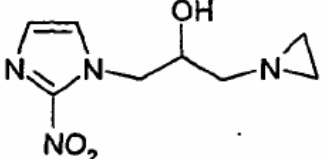
**Ejemplo 4: Tratamiento del cáncer de vejiga**

- 5 Se proporcionaron instilaciones de quimioterapia para la vejiga, o quimioterapia intravesical, a las personas que tienen cáncer superficial de vejiga rellenando la vejiga con medicación para luchar contra las células cancerosas. Aunque los cánceres superficiales de vejiga son una forma inicial de cáncer, muchos serán recurrentes tras una eliminación inicial. Sin embargo, utilizando el tratamiento que sitúa la medicación directamente en contacto con la pared de la vejiga, será posible evitar la recurrencia o alargar el tiempo hasta la recurrencia. La quimioterapia intravesical es un procedimiento breve. Se coloca un catéter en la vejiga a través de la uretra. Se instila tretazicar en tampón bicarbonato (pH 9) durante 2 a 3 minutos, seguido por una infusión de DHA en agua durante un tiempo similar. Se retiró el catéter y después de 2 horas se eliminó la medicación a través de la orina.

**Ejemplo 5: Reducción de DHA de profármacos a un pH próximo a neutro.**

Ensayo: HPLC

- 15 La mezcla de ensayo contenía el compuesto en ensayo (100  $\mu$ M) y DHA (10 mM) en un volumen final de reacción de 1 ml de tampón fosfato de sodio (del pH requerido). Se inició la reacción mediante la adición de DHA y se incubó la mezcla a 37 °C. Se tomaron alícuotas (10  $\mu$ l) cada 20 min y se evaluaron inmediatamente mediante HPLC en una columna Partisphere 5 C18 (4,2 x 150 mm) (Whatman, Maidstone, Kent, Reino Unido], eluida con un gradiente de acetonitrilo en agua (1-95 % durante 10 minutos) a 2,0 ml por minuto. El eluato se controló continuamente para la absorbancia utilizando un detector UV-VIS de matriz de fotodiodos. Se determinó la concentración del fármaco en cada muestra por referencia del área del pico correspondiente con un patrón externo y se cuantificó mediante la absorbancia a una longitud de onda adecuada determinada a partir del barrido de PDA. Se calcularon las tasas iniciales mediante el ajuste de la curva (software FigP).

| Compuesto        | Estructura                                                                          | TASA INICIAL (nmoles/min/ml)  |                             |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
|                  |                                                                                     | PO <sub>4</sub> 0,1 M, pH 7,5 | PO <sub>4</sub> 0,1 M, pH 8 |
| Tretazicar       |  | < 0,01                        | 0,158                       |
| Metronidazol     |  | 0,131                         | 0,369                       |
| Misonidazol      |  | 0,221                         | 1,922                       |
| Nitrofurazona    |  | 0,177                         | 0,203                       |
| RSU-1069/RB-1645 |  | < 0,01                        | 2,57                        |

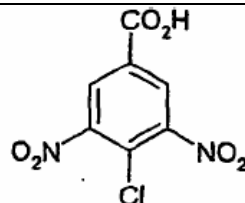
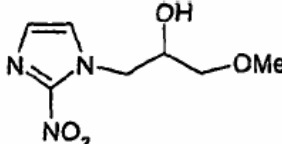
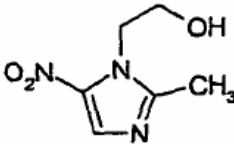
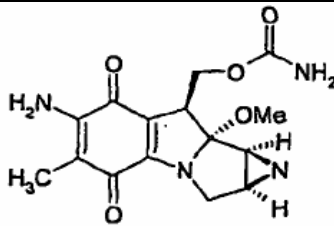
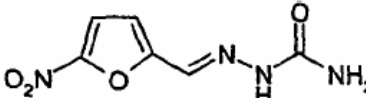
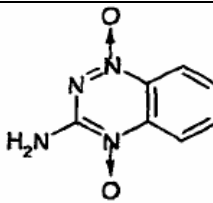
(continuación)

| Compuesto                                                            | Estructura | TASA INICIAL (nmoles/min/ml)  |                             |
|----------------------------------------------------------------------|------------|-------------------------------|-----------------------------|
|                                                                      |            | PO <sub>4</sub> 0,1 M, pH 7,5 | PO <sub>4</sub> 0,1 M, pH 8 |
| Tirapazamina                                                         |            | 0,523                         | 0,512                       |
| Mitomicina C                                                         |            | 1,524 (PBS)                   | 0,052 <sup>a</sup>          |
| E09                                                                  |            | 0,272                         | 0,605                       |
| <b>Notas</b><br><sup>a</sup> DHA 1 mM empleado (en vez de DHA 10 mM) |            |                               |                             |

**Ejemplo 6: Reducción de DHA de compuestos nitro y profármacos a diversos valores de pH**

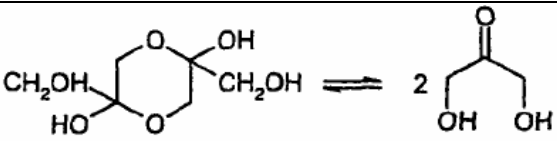
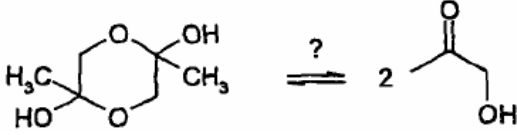
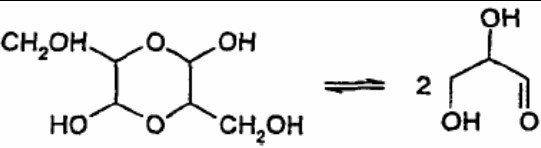
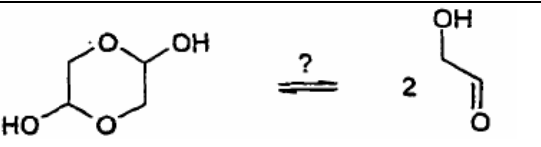
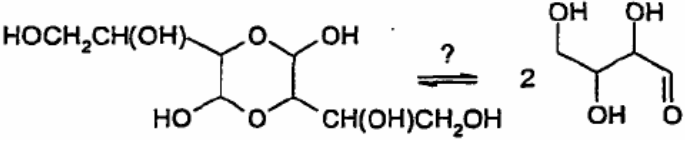
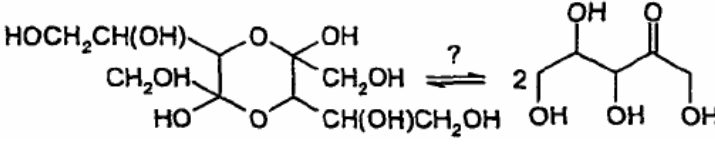
| Nombre                     | Estructura | pH   | Tasa Inicial (nmoles/min/ml) |
|----------------------------|------------|------|------------------------------|
| Tretazicar                 |            | 8    | 0,158                        |
|                            |            | 9    | 0,933                        |
|                            |            | 10   | 1,248                        |
|                            |            | 10,6 | 5,801                        |
| 5-cloro-2,4-dinitrotolueno |            | 8    | 0,132                        |
|                            |            | 9    | 0,499                        |
|                            |            | 10   | 0,690                        |
|                            |            | 10,6 | 1,703                        |
| Alcohol 4-nitrobencílico   |            | 8    | < 0,01                       |
|                            |            | 9    | < 0,01                       |
|                            |            | 10   | 0,105                        |
|                            |            | 10,6 | 0,087                        |

(continuación)

| Nombre                                                               | Estructura                                                                          | pH   | Tasa Inicial<br>(nmoles/min/ml) |
|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------|
| Ácido 4-cloro-3,5-dinitrobenzoico                                    |    | 8    | 0,195                           |
|                                                                      |                                                                                     | 9    | 1,293                           |
|                                                                      |                                                                                     | 10   | 1,727                           |
|                                                                      |                                                                                     | 10,6 | 2,442                           |
| Misonidazol                                                          |    | 8    | 1,922                           |
|                                                                      |                                                                                     | 9    | 1,851                           |
|                                                                      |                                                                                     | 10   | 3,180                           |
|                                                                      |                                                                                     | 10,6 | -                               |
| Metronidazol                                                         |    | 8    | 0,369                           |
|                                                                      |                                                                                     | 9    | 0,890                           |
|                                                                      |                                                                                     | 10   | 1,239                           |
|                                                                      |                                                                                     | 10,6 | 0,807                           |
| Mitomicina C                                                         |   | 7    | 1,019                           |
|                                                                      |                                                                                     | 8    | 0,052 <sup>a</sup>              |
|                                                                      |                                                                                     | 8,5  | 0,103 <sup>a</sup>              |
|                                                                      |                                                                                     | 9    | Demasiado rápido para medir     |
| Nitrofurazona                                                        |  | 7,5  | 0,177                           |
|                                                                      |                                                                                     | 8    | 0,203                           |
|                                                                      |                                                                                     | 8,5  | 0,260                           |
|                                                                      |                                                                                     | 9    | 2,390                           |
|                                                                      |                                                                                     | 10   | 3,789                           |
| Tirapazamina                                                         |  | 7,5  | 0,523                           |
|                                                                      |                                                                                     | 8    | 0,512                           |
|                                                                      |                                                                                     | 8,5  | 0,639                           |
|                                                                      |                                                                                     | 9    | 3,503                           |
|                                                                      |                                                                                     | 10   | 4,209                           |
| <b>Notas</b><br><sup>a</sup> DHA 1 mM empleado (en vez de DHA 10 mM) |                                                                                     |      |                                 |

**Ejemplo 7: Reducción de NADP<sup>+</sup> por compuestos de α-hidroxicarbonilo**

- 5 Se añadió una alícuota del compuesto de ensayo (a una concentración de 100 mM en agua) a una solución acuosa de NADP<sup>+</sup> 200 μM (aproximadamente 990 μl), tamponada a pH 10 (tampón de NaHCO<sub>3</sub> 1 mM). La concentración final del compuesto de ensayo en la solución de ensayo fue de 1 mM. A continuación se controló la reducción del NADP<sup>+</sup> midiendo el aumento, durante el curso de 2 minutos, de absorción a 350 nm en un espectrofotómetro. Se registraron las tasas iniciales como el cambio en A<sub>350</sub> por minuto.

| Compuesto                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Estructura                                                                           | Tasa  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Dihidroxiacetona (dímero) <sup>1</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    | 0,063 |
| Hidroxiacetona (acetol) <sup>1</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    | 0,003 |
| D,L-Gliceraldehído <sup>3</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |    | 0,015 |
| Glicolaldehído dímero <sup>4</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |    | 0,029 |
| D(-)-Eritrosa <sup>5</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |   | 0,004 |
| L-Xilulosa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |  | 0,003 |
| <p>Notas</p> <p>1. Se supone que forma monómero en solución.</p> <p>2. Calidad técnica (&gt; 90 %) utilizada. Demora de aproximadamente 60 s antes de cualquier aumento observado en la absorción a 350 nm.</p> <p>3. Concentración calculada para el monómero.</p> <p>4. Mezcla de estereoisómeros. No hay efecto sobre la tasa observada tras la adición de EDTA 1 mM a la mezcla de reacción</p> <p>5. Solo ~ un 50 % puro. Demora de aproximadamente 90 s antes de cualquier aumento observado en la absorción a 350 nm.</p> |                                                                                      |       |

Sin pretender quedar vinculados a teoría alguna, se cree que los compuestos que muestran actividad reductora en el anterior ensayo son compuestos de  $\alpha$ -hidroxicarbonilo que son capaces de formar dímeros cíclicos del tipo representado gráficamente en la Fórmula Ia.

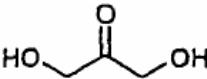
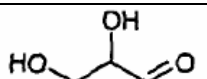
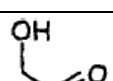
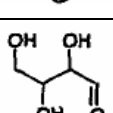
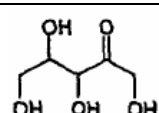
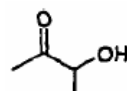
- 5 En contraste, los compuestos para los cuales se determinó que la tasa en el anterior ensayo estaba por debajo de 0,001 (es decir, para los cuales no se detectó actividad reductora) incluyen los siguientes:

- 10 glicerol;  
glioxal;  
D-glucosa;  
anhídrido diglicólico ;  
alcohol ( $\pm$ )-tetrahidrofurfúrico;  
1,4-dioxano-2,3-diol; y  
2-(hidroximetil)tetrahidropirano.

#### **Ejemplo 8: Reducción de Tretazicar por los compuestos de $\alpha$ -hidroxicarbonilo**

- 15 Se inició el ensayo mediante la adición de 100  $\mu$ l del compuesto de ensayo 100 mM (compuesto de fórmula I) en agua a una mezcla de tretazicar (100  $\mu$ M) en tampón bicarbonato de sodio 0,1 M, pH 9 o pH 10, para dar un

volumen final de 1 ml. Se incubó la mezcla a 37 °C y se tomaron alícuotas (10 µl) cada 6 min y se evaluaron inmediatamente mediante HPLC [Partisil 10 SCX (4,2 x 150 mm) (Whatman, Maidstone, Kent, Reino Unido)] eluyendo isocráticamente con fosfato de sodio 0,13 M (pH 5) a 1,5 ml/min). Se determinó la concentración de tretazicar en cada muestra por referencia del área del pico correspondiente con un patrón externo, se cuantificó mediante la absorbancia a 325 nm. Se calcularon las tasas iniciales mediante el ajuste de la curva (FigP, Biosoft, Cambridge, Reino Unido). Se identificaron los productos de la reducción mediante el tiempo de retención con respecto a un patrón auténtico.

| Compuesto                                                 | Estructura                                                                          | pH | Tasa Inicial (nmoles/min/ml) |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----|------------------------------|
| Dihidroxiacetona (utilizada en forma dimérica)            |    | 9  | 0,92                         |
|                                                           |                                                                                     | 10 | 0,69                         |
| D,L-Gliceraldehído <sup>3</sup>                           |    | 9  | 0,53                         |
|                                                           |                                                                                     | 10 | 0,62                         |
| Glicolaldehído (utilizado en forma dimérica) <sup>4</sup> |    | 9  | 0,18                         |
|                                                           |                                                                                     | 10 | 0,14                         |
| D(-)-Eritrosa <sup>5</sup>                                |    | 9  | < 0,01                       |
|                                                           |                                                                                     | 10 | 0,28                         |
| L-Xilulosa                                                |   | 9  | < 0,01                       |
|                                                           |                                                                                     | 10 | 0,28                         |
| 3-hidroxi-2-butanona                                      |  | 9  | 0,034                        |
|                                                           |                                                                                     | 10 | 0,184                        |

En contraste, los compuestos para los cuales se determinó que la tasa en el anterior ensayo estaba por debajo de 0,001 (es decir, para los cuales no se detectó actividad reductora) incluyen los siguientes:

glicerol;  
glioxal;  
D-glucosa;  
anhídrido diglicólico;  
alcohol (±)-tetrahidrofurfurílico;  
2-(hidroximetil)tetrahidropirano;  
4-hidroxi-2-butanona;  
dicloroacetona;  
1,4-dioxano-2,3-diol; y  
cloruro de dicloroacetilo.

#### **Ejemplo 9: Reducción a gran escala de Tretazicar a la correspondiente hidroxilamina**

Una solución de 5-(aziridin-1-il)-2,4-dinitrobenzamida ("CB 1954", 1,00 g, 3,97 mmol) en metanol (calidad 'AnalaR', 40 ml) se trató con un exceso de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidro en polvo (10,0 g, 72 mmol, aprox., 18 equiv) y la mezcla se calentó a 60 °C con agitación. La suspensión se agitó por debajo de 60 °C en atmósfera bajo una corriente circulante de N<sub>2</sub>. Se añadió una solución de 1,3-dihidroxiacetona (1.50 g como un dímero de DHA, 8,33 mmol; 2,1 equiv mol) en metanol (calidad 'AnalaR', 40 ml), desaireada anteriormente mediante lavado con gas N<sub>2</sub>, a continuación a la mezcla de reacción durante 15 min con agitación rápida, manteniendo a la vez la temperatura a 60 °C. Se observó una reacción rápida con un cambio de color desde amarillo pálido-naranja a marrón. La cromatografía en capa fina (TLC; Merck silica gel 60 GF254 sobre láminas de aluminio, 9:1 v/v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH) mostró la eliminación cuantitativa del material de partida CB 1954 (R<sub>f</sub> 0,73) y la formación de dos productos polares a R<sub>f</sub> 0,53 y R<sub>f</sub> 0,47. Los dos productos mostraron idéntico comportamiento en la TLC que las muestras de 5-(aziridin-1-il)-2-hidroxilamino-4-nitrobenzamida y 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida auténticas, respectivamente, preparadas mediante los procedimientos publicados [Knox, R.J., Friedlos, F., Jarman, M., Roberts, J.J. Biochemical Pharmacology 37, 4661-4669 (1988); Knox, R.J., Friedlos, F., Biggs, P.J., Flitter, W.D. Gaskell, M., Goddard, P., Davies, L., Jarman, M. Biochemical Pharmacology 46, 797-803 (1993)].

La mezcla de reacción se filtró mientras estaba caliente y el material insoluble se lavó con metanol frío (10 ml). El filtrado combinado se enfrió y se evaporó de forma rotatoria (30 °C, vacío elevado) para dar un aceite viscoso de color amarillo-marrón (1,02 g, > 100 %). El examen de la mediante TLC confirmó que estaban presentes dos productos principales. Fueron también evidentes manchas menores (< 1-2 % del total, Rf 0,62, 0,66) que correspondían a los productos de oxidación 2-nitroso y 4-nitroso resultantes de la oxidación O<sub>2</sub> en condiciones alcalinas durante la manipulación y el funcionamiento (Nota: debe minimizarse la exposición al aire lavando todos los aparatos con gas N<sub>2</sub> para evitar la oxidación de las hidroxilaminas a productos nitroso y subproductos coloreados no deseados). Se consideró que los productos de reacción 2-hidroxilamina (Rf 0,53) y 4-hidroxilamina (Rf 0,47) estaban formados en una relación de ~ 40:60. La separación cromatográfica de los isómeros está impedida por sus estrechas propiedades de elución utilizando los sistemas solventes disponibles. Sin embargo, la separación mediante cromatografía instantánea de una muestra de mezcla bruta (100 mg) (gel de sílice de Merck, malla de 60-200, 9:1 v/v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH) proporcionó la S-(aziridin-1-il)-2-hidroxilamino-4-nitrobenzamida (31 mg) y 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxilamino-2-nitrobenzamida (49 mg) tras la eliminación del solvente de las fracciones. Ambos productos proporcionaron espectros de RMN consistentes con las propiedades notificadas para las hidroxilaminas poliméricas y el comportamiento de la TLC que fueron indistinguibles con los compuestos auténticos [Knox, R.J., Friedlos, F., Jarman, M., Roberts, J.J. *Biochemical Pharmacology* 37, 4661-4669 (1988)].

#### Notas:

(1) El solvente de reacción preferido es metanol. El dímero de 1,3-dihidroxiacetona (DHA) tiene una limitada solubilidad en muchos solventes comunes, incluyendo la acetona y los alcoholes superiores.

(2) la reacción es casi instantánea a 60 °C, pero es más lenta a temperaturas inferiores. El uso de sistemas de reacción con temperaturas superiores puede tener un efecto adverso sobre el rendimiento relativo del producto.

El producto de hidroxilamina muestra mayor sensibilidad a la oxidación del aire en presencia de álcali; se recomienda, por tanto, que el reactivo de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> se retire de la mezcla de reacción tan pronto como sea posible. La separación cromatográfica de la mezcla que contiene los productos de la 2 y la 4-hidroxilamina requiere la minimización de cualquier exposición para el material disuelto con O<sub>2</sub> (aire) durante la manipulación.

#### Referencias

Anlezark, G.M., Melton, R.G., Sherwood, R.F., Coles, B., Friedlos, F. y Knox, R.J. (1992). The bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB1954) - I. Purification and properties of a nitroreductase enzyme from *Escherichia coli*- a potential enzyme for antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT). *Biochem Pharmacol*, 44, 2289-95.

Anlezark, G.M., Melton, R.G., Sherwood, R.F., Wilson, W.R., Denny, W.A., Palmer, B.D., Knox, R.J., Friedlos, F. y Williams, A. (1995). Bioactivation of dinitrobenzamide mustards by an *E. coli* B nitroreductase. *Biochem Pharmacol*, 50, 609-18.

Bailey, S.M., Knox, R.J., Hobbs, S.M., Jenkins, T.C., Mauger, A.B., Melton, R.G., Burke, P.J., Connors, T.A. y Hart, I.R. (1996). Investigation of alternative prodrugs for use with *E. coli* nitroreductase in 'suicide gene' approaches to cancer therapy. *Gene Ther*, 3, 1143-50.

Boland, M.P., Knox, R.J. y Roberts, J.J. (1991). The differences in kinetics of rat and human DT diaphorase result in a differential sensitivity of derived cell lines to CB 1954 (5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide). *Biochem Pharmacol*, 41, 867-75.

Bridgewater, J.A., Knox, R.J., Pitts, J.D., Collins, M.K. y Springer, C.J. (1997). The bystander effect of the nitroreductase/CB 1954 enzyme/prodrug system is due to a cell-permeable metabolite. *Hum Gene Ther*, 8, 709-17.

Bridgewater, J.A., Springer, C.J., Knox, R.J., Minton, N.P., Michael, N.P. y Collins, M.K. (1995). Expression of the bacterial nitroreductase enzyme in mammalian cells renders them selectively sensitive to killing by the prodrug CB 1954. *Eur J Cancer*, 31a, 2362-70.

Burke, P.J. & Knox, R.J. (1998). Therapeutic systems PCT/GB98/01731; WO 98/57662.

Chung-Faye, G., Palmer, D., Anderson, D., Clark, J., Downes, M., Baddeley, J., Hussain, S., Murray, Ph., Searle, P., Seymour, L., Harris, P.A., Ferry, D. y Kerr, D.J. (2001). Virus-directed, enzyme prodrug therapy with nitroimidazole reductase: a phase I and pharmacokinetic study of its prodrug, CB1954. *Clin Cancer Res*, 7, 2662-8.

Cobb, L.M. (1970). Toxicity of the selective antitumor agent 5-aziridino-2,4-dinitrobenzamide in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol*, 17, 231-238.

Connors, T.A. y Melzack, D.H. (1971). Studies on the mechanism of action of 5-aziridinyl-2,4-dinitrobenzamide (CB 1954), a selective inhibitor of the Walker tumour. *Int J Cancer*, 7, 86-92.

- Cui, W., Allen, N.D., Skynner, M., Gusterson, B. y Clark, A.J. (2001). Inducible ablation of astrocytes shows that these cells are required for neuronal survival in the adult brain. *Glia*, 34, 272-82.
- Cui, W., Gusterson, B. y Clark, A.J. (1999). Nitroreductase-mediated cell ablation is very rapid and mediated by a p53-independent apoptotic pathway. *Gene Ther*, 6, 764-70.
- 5 Felmer, R., Cui, W. y Clark, A.J. (2002). Inducible ablation of adipocytes in adult transgenic mice expressing the e. Coli nitroreductase gene. *J Endocrinol*, 175, 487-98.
- Friedlos, F., Court, S., Ford, M., Denny, W.A. y Springer, C. (1998). Gene-directed enzyme prodrug therapy - quantitative bystander cytotoxicity and DNA damage induced by CB 1954 in cells expressing bacterial nitroreductase. *Gene Therapy*, 5, 105-112.
- 10 Friedlos, F., Quinn, J., Knox, R.J. y Roberts, J.J. (1992). The properties of total adducts and interstrand crosslinks in the DNA of cells treated with CB 1954. Exceptional frequency and stability of the crosslink. *Biochem Pharmacol*, 43, 1249-54.
- Hu, L., Yu, C., Jiang, Y., Han, J., Li, Z., Browne, P., Race, P.R., Knox, R.J., Searle, P.F. y Hyde, E.I. (2003). Nitroaryl phosphoramides as novel prodrugs for E. coli nitroreductase activation in enzyme prodrug therapy. *J Med Chem*, 46, 4818-21.
- 15 Isles, A.R., Ma, D., Milsom, C., Skynner, M.J., Cui, W., Clark, J., Keverne, E.B. y Allen, N.D. (2001). Conditional ablation of neurones in transgenic mice. *J Neurobiol*, 47, 183-93.
- Knox, R.J., Burke, P.J., Chen, S. y Kerr, D.J. (2003). CB 1954: from the Walker tumor to NQO2 and VDEPT. *Curr Pharm Des*, 9, 2091-104.
- 20 Knox, R.J., Friedlos, F., Biggs, P.J., Flitter, W.D., Gaskell, M., Goddard, P., Davies, L. y Jarman, M. (1993). Identification, synthesis and properties of 5-(aziridin-1-yl)-2-nitro-4-nitrosobenzamide, a novel DNA crosslinking agent derived from CB 1954. *Biochem Pharmacol*, 46, 797-803.
- Knox, R.J., Friedlos, F., Jarman, M. y Roberts, J.J. (1988). A new cytotoxic, DNA interstrand crosslinking agent, 5-(aziridin-1-yl)-4-hydroxylamino-2-nitrobenzamide, is formed from 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB 1954) by a nitroreductase enzyme in Walker carcinoma cells. *Biochem Pharmacol*, 37, 4661-9.
- 25 Knox, R.J., Friedlos, F., Lydall, D.A. y Roberts, J.J. (1986). Mechanism of cytotoxicity of anticancer platinum drugs: evidence that cis-diamminedichloroplatinum (II) and cis-diammine-(1,1-cyclobutanedicarboxylato)platinum (II) Differ only in the kinetics of their interaction with DNA. *Cancer Res*, 46, 1972-9.
- Knox, R.J., Friedlos, F., Marchbank, T. y Roberts, J.J. (1991 a). Bioactivation of CB 1954: reaction of the active 4-hydroxylamino derivative with thioesters to form the ultimate DNA-DNA interstrand crosslinking species. *Biochem Pharmacol*, 42, 1691-7.
- 30 Knox, R.J., Friedlos, F., Sherwood, R.F., Melton, R.G. y Anlezark, G.M. (1992). The bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB1954) - II. A comparison of an Escherichia coli nitroreductase and Walker DT diaphorase. *Biochem Pharmacol*, 44, 2297-301.
- 35 Knox, R.J., Jenkins, T.C., Hobbs, S.M., Chen, S., Melton, R.G. y Burke, P.J. (2000). Bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB1954) by human NAD(P)H quinone oxidoreductase 2: a novel co-substrate-mediated antitumor prodrug therapy. *Cancer Res*, 60, 4179-86.
- Knox, R.J., Lydall, D.A., Friedlos, F., Basham, C., Rawlings, C.J. y Roberts, J.J. (1991b). The Walker 256 carcinoma: a cell type inherently sensitive only to those difunctional agents that can form DNA interstrand crosslinks. *Mutat Res*, 255, 227-40.
- 40 Knox, R.J., Lydall, D.A., Friedlos, F., Basham, C. y Roberts, J.J. (1987). The effect of monofunctional or difunctional platinum adducts and of various other associated DNA damage on the expression of transfected DNA in mammalian cell lines sensitive or resistant to difunctional agents. *Biochim Biophys Acta*, 908, 214-23.
- Li, Z., Han, J., Jiang, Y., Browne, P., Knox, R.J. y Hu, L. (2003). Nitrobenzocyclophosphamides as potential Prodrugs for bioreductive activation: synthesis, stability, enzymatic reduction, and antiproliferative activity in cell culture. *Bioorg Med Chem*, 11, 4171-8.
- 45 Ma, D., Allen, N.D., Van Bergen, Y.C., Jones, C.M., Baum, M.J., Keverne, E.B. y Brennan, P.A. (2002). Selective ablation of olfactory receptor neurons without functional impairment of vomeronasal receptor neurons in OMP-ntr transgenic mice. *Eur J Neurosci*, 16, 2317-23.
- 50 Maliszka, K.L. y Hasinoff, B.B. (1995). Doxorubicin reduces the iron (III) complexes of the hydrolysis products of the antioxidant cardioprotective agent dexrazoxane (ICRF-187) and produces hydroxyl radicals. *Arch Biochem*

Biophys, 316, 680-8.

Mauger, A.B., Burke, P.J., Somani, H.H., Friedlos, F. y Knox, R.J. (1994). Self-immolative prodrugs: candidates for antibody-directed enzyme prodrug therapy in conjunction with a nitroreductase enzyme. *J Med Chem*, 37, 3452-8.

- 5 Sheard, C.E., Double, J.A. y Berenbaum, M.C. (1971). The sensitivity to chemopherapeutic agents of a rat tumour grown in immunosuppressed mice. *Br J Cancer*, 25, 838-844.

Workman, P., Morgan, J.E., Talbot, K., Wright, K.A., Donaldson, J. y Twentyman, P.R. (1986a). CB 1954 revisited. II. Toxicity and antitumour activity. *Cancer Chemother Pharmacol*, 16, 9-14.

- 10 Workman, P., White, R.A. y Talbot, K. (1986b). CB 1954 revisited. I. Disposition kinetics and metabolism. *Cancer Chemother Pharmacol*, 16, 1-8.

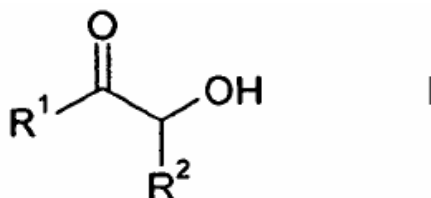
Wu, K., Knox, R., Sun, X.Z., Joseph, P., Jaiswal, A.K., Zhang, D., Deng, P.S. y Chen, S. (1997). Catalytic properties of NAD(P)H:quinone oxidoreductase-2 (NQO2) a dihydronicotinamide riboside dependent oxidoreductase. *Arch Biochem Biophys*, 347, 221-8.

## REIVINDICACIONES

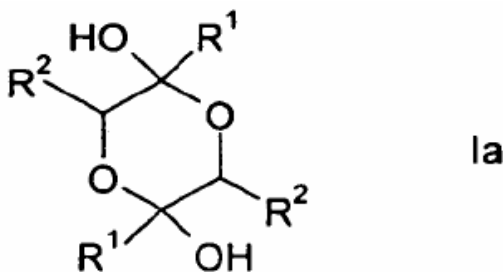
## 1. Uso de:

un compuesto de fórmula I, o un dímero de fórmula Ia, o  
3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros

- 5 como un agente para reducir un grupo nitro, oxo, imino, azo, N-óxido o piridinio en un compuesto orgánico que contiene uno o más de dichos grupos, en el que el compuesto de fórmula I tiene la estructura



y el dímero de fórmula Ia tiene la estructura



- 10 en la que  
R¹ representa H o alquilo C<sub>1</sub>, dicho último grupo está opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado entre OH, halo y alcoxilo C<sub>1-3</sub>,  
R² representa H o alquilo C<sub>1-4</sub>, dicho último grupo está sustituido con uno o más grupos OH,  
dicho compuesto de fórmula I está **caracterizado por que** es capaz de formar un dímero cíclico de fórmula Ia, en el  
15 que la reducción:

- (i) se efectúa a un pH de entre 7 y 11; o  
(ii) se lleva a cabo en presencia de una base que es una sal de carbonato o de bicarbonato.

2. Un procedimiento para reducir un grupo nitro, oxo, imino, azo, N-óxido o piridinio en un compuesto orgánico que  
20 contiene uno o más de dichos grupos, comprendiendo el procedimiento poner en contacto el compuesto orgánico con  
un compuesto de fórmula I, o un dímero de fórmula Ia, o  
3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros,  
en el que el compuesto de fórmula I, o el dímero de fórmula Ia, es tal como se ha definido en la Reivindicación 1,  
y en el que la reducción:

- 25 (i) se efectúa a un pH de entre 7 y 11; o  
(ii) se lleva a cabo en presencia de una base que es una sal de carbonato o de bicarbonato.

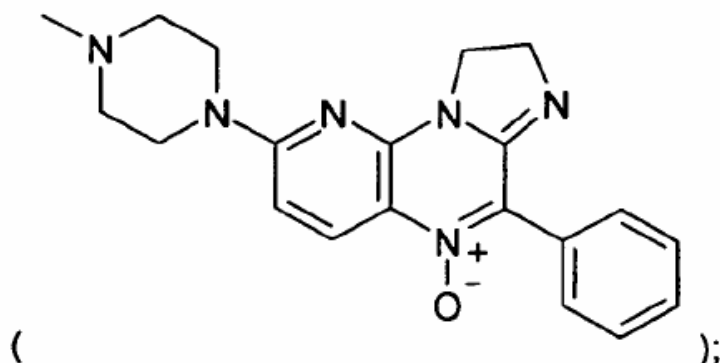
3. Uso tal como se reivindica en la Reivindicación 1 o el procedimiento tal como se reivindica en la Reivindicación 2,  
en el que:

- 30 R¹ representa H o CH<sub>2</sub>OH; y  
R² representa H, CH<sub>2</sub>OH o CH(OH)CH<sub>2</sub>OH.

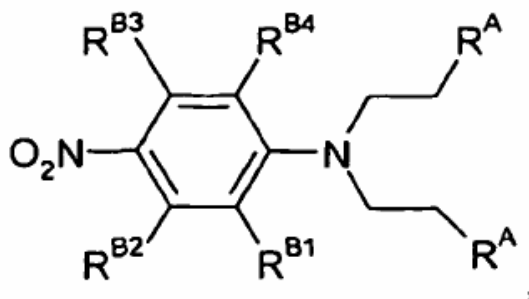
4. Uso tal como se reivindica en la Reivindicación 1 o la Reivindicación 3, o el procedimiento tal como se reivindica  
en la Reivindicación 2 o la Reivindicación 3, en el que el compuesto orgánico es un profármaco activado mediante  
reducción que es uno o más compuestos seleccionados entre:

- 35 (a) Metronidazol (2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-etanol);  
(b) Cloranfenicol (2,2-dicloro-N-[(αR,βR)-β-hidroxi-α-hidroximetil-4-nitrofenetil]acetamida);  
(c) Nitrofurazona (2-[(5-nitro-2-furanil)metilen]hidrazina carboxamida);  
(d) E09 (3-[5-aziridinil-4,7-dioxo-3-hidroximetil-1-metil-1H-indol-2-il]-prop-β-eno-α-ol);  
(e) SR-4233 (3-amino-1,2,4-benzotriazina-1,4-dióxido);  
(f) RSU-1069 (1-(1-aziridinil)-3-(2-nitro-1-imidazolil)-2-propanol);

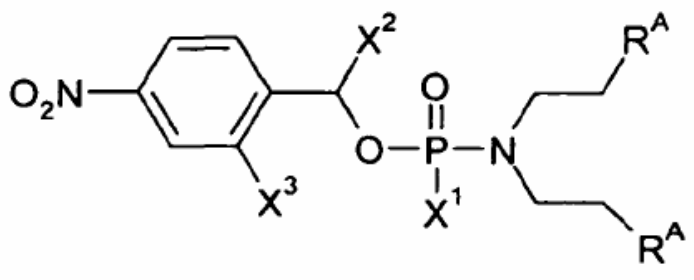
- (g) RB-6145 (1-[3-(2-bromoetilamino)-2-hidroxipropil]-2-nitroimidazol);  
 (h) AQ4N (1,4-bis([2-(dimetilamino)-N-óxido]etil)amino)5,8-dihidroxi-antraceno-9,10-diona);  
 (i) RB90003X



- 5 (j) Mitomicina C;  
 (k) Mitoseno;  
 (l) Ciclopropamitoseno;  
 (m) Dinemicina A;  
 (n) un compuesto de la fórmula

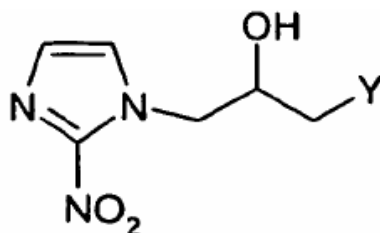


- 10 en la que  
 cada  $R^A$  representa de forma independiente cloro, bromo, yodo u  $-\text{OS}(\text{O})_2\text{R}^C$ ,  
 $\text{R}^C$  representa alquilo  $\text{C}_{1-8}$  (opcionalmente sustituido con uno o más átomos de flúor) o fenilo (opcionalmente  
 sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre halo, nitro, alquilo  $\text{C}_{1-4}$  y alcoxilo  $\text{C}_{1-4}$ ),  
 15  $\text{R}^{\text{B}1}$  a  $\text{R}^{\text{B}4}$  representan de forma independiente H, CN,  $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{D}})\text{R}^{\text{E}}$ ,  $\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}^{\text{D}})\text{R}^{\text{E}}$ ,  $\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ,  $\text{S}(\text{O})_2\text{NHR}^{\text{F}}$ ,  
 o  $\text{R}^{\text{B}1}$  puede representar de forma adicional  $\text{NO}_2$ ,  
 $\text{R}^{\text{D}}$  y  $\text{R}^{\text{E}}$  representan de forma independiente H o alquilo  $\text{C}_{1-4}$  (dicho último grupo está opcionalmente sustituido  
 con uno o más sustituyentes seleccionados entre OH, N(H)-alquilo  $\text{C}_{1-2}$ , N(alquilo  $\text{C}_{1-2}$ ), 4-morfolinilo y  $\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ),  
 o  $\text{R}^{\text{D}}$  y  $\text{R}^{\text{E}}$ , junto con el átomo de N al cual se unen, representan 4-morfolinilo, y  
 20  $\text{R}^{\text{F}}$  representa H o  $\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$   
 con la condición de que  $\text{R}^{\text{B}2}$  es H cuando  $\text{R}^{\text{B}1}$  es diferente de H; particularmente, SN 23862 (5-{N,N-bis[2-  
 cloroetil]amina}-2,4-dinitrobenzamida);  
 (o) un compuesto de la fórmula



- 25 en la que  
 $\text{R}^A$  es tal como se ha definido anteriormente y cualquiera de  
 $\text{X}^1$  representa  $\text{NH}_2$  y  $\text{X}^2$  y  $\text{X}^3$  representan H,  
 $-\text{X}^1-\text{X}^2-$  representa  $-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$  y  $\text{X}^3$  representa H o

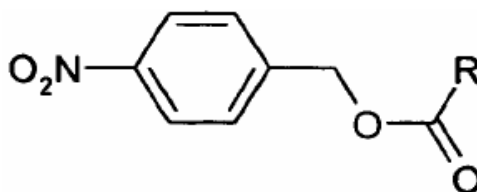
$-X^1-X^3-$  representa  $-NH-$  y  $X^2$  representa H;  
(p) un compuesto de la fórmula



en la que Y representa

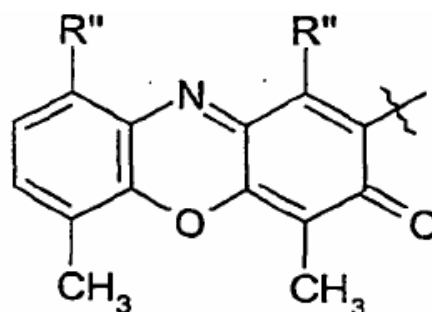
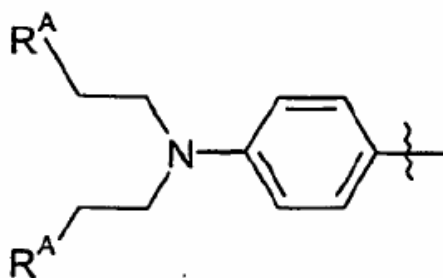
- 5 1-aziridinilo (opcionalmente sustituido en la posición 2 con metilo), metoxilo (formando de esta manera el compuesto misonidazol) o  $N(H)CH_2CH_2Br$  (formando de esta manera el compuesto RB6145);

(q) un profármaco autodestructivo de la fórmula



en la que  
R representa  $-O-R'$  o  $-NH-R'$ ,  
R' representa

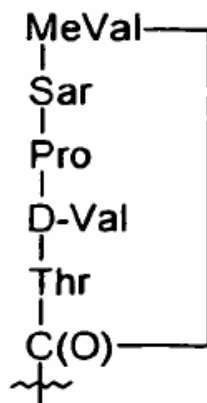
10



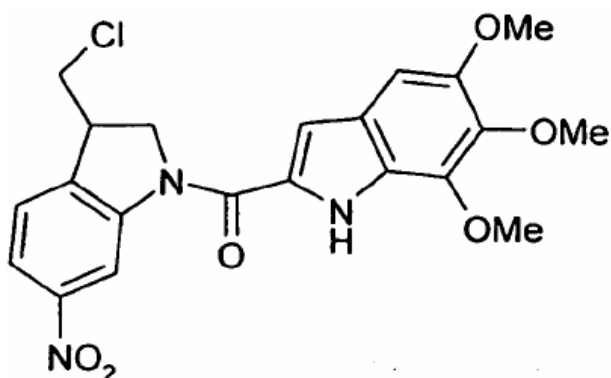
o

15

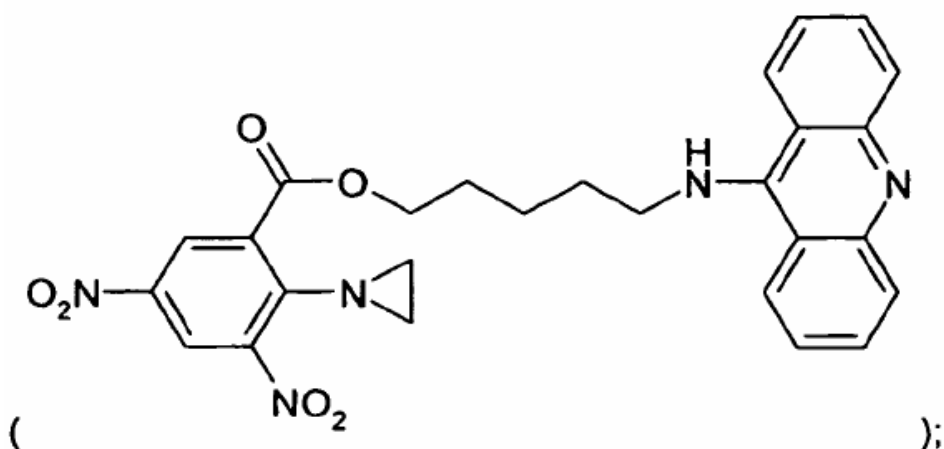
en la que la línea ondulada indica la posición de la unión de los fragmentos,  
 $R^A$  es tal como se ha definido anteriormente y  
 $R''$  representa la siguiente lactona peptídica



en la que la línea ondulada indica la posición de la unión del fragmento,  
(r) un compuesto de nitroindol de la fórmula



(s) acridina-CB 1954



(t) tretazicar (5-(aziridin-1-il)-2,4-dinitrobenzamida); y

(u) una benzoquinona, naftoquinona o antraquinona para uso en quimioterapia anticancerosa o en el tratamiento de la enfermedad, en la que la potencia es dependiente de la reducción de la función quinona;

o una sal y/o un solvato del mismo farmacéuticamente aceptables.

5. Uso o procedimiento tal como se reivindica en la Reivindicación 4, en el que el compuesto orgánico es un profármaco activado mediante reducción que se convierte en la correspondiente sustancia activa mediante la reducción de un grupo nitro.

6. Uso o procedimiento tal como se reivindica en la Reivindicación 4 o la Reivindicación 5, en el que el profármaco activado mediante reducción es tretazicar

7. Uso tal como se reivindica en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 y 3 a 6, o el procedimiento tal como se reivindica en una cualquiera de las Reivindicaciones 2 a 6, en el que el compuesto de fórmula I es dihidroxiacetona (DHA), glicolaldehído, gliceraldehído, eritrosa, xilulosa, eritrola o uno de sus dímeros.

8. Uso o procedimiento tal como se reivindica en la Reivindicación 7, en el que el compuesto de fórmula I es DHA, eritrola, o uno de sus dímeros.

9. Uso o procedimiento tal como se reivindica en la Reivindicación 8, en el que el compuesto orgánico es tretazicar y el compuesto de fórmula I es DHA, eritrola, o uno de sus dímeros.

10. Un procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 2, en el que dicho procedimiento comprende añadir, a una mezcla del compuesto orgánico y una base

un compuesto de fórmula I, o un dímero de fórmula Ia, o 3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros

11. Uso de acuerdo con la Reivindicación 1 o el procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 2, en el que la reducción del compuesto orgánico se lleva a cabo en un sistema solvente que comprende como máximo un 5 % en peso de agua

12. Uso o procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 11, en el que la reducción del compuesto orgánico se lleva a cabo en un sistema solvente que comprende como máximo un 1 % en peso de agua.

13. Un procedimiento para producir 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxi-amino-2-nitrobenzamida, comprendiendo el procedimiento poner en contacto tretazicar con

5 un compuesto de fórmula I, o un dímero de fórmula Ia, o 3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros

en el que el compuesto de fórmula I, o el dímero de fórmula Ia, es tal como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1, 7 y 8

10 14. Un procedimiento para reducir selectivamente un compuesto nitro orgánico a la correspondiente hidroxi-amino, comprendiendo dicho procedimiento poner en contacto dicho compuesto nitro orgánico con

un compuesto de fórmula I, o un dímero de fórmula Ia, o 3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros

en el que el compuesto de fórmula I, o el dímero de fórmula Ia, es tal como se ha definido en cualquiera de las Reivindicaciones 1, 7 y 8.

15 15. Un procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 14, en el que el procedimiento comprende poner en contacto el compuesto nitro orgánico con la base y

un compuesto de fórmula I, o un dímero de fórmula Ia, o 3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros

20 16. Un procedimiento para preparar 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxi-amino-2-nitrobenzamida (o 5-(aziridin-1-il)-2-hidroxi-amino-4-nitrobenzamida), comprendiendo dicho procedimiento:

(a) proporcionar una mezcla de tretazicar y base, y  
(b) añadir 3-hidroxi-2-butanona o un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido en cualquiera de las Reivindicaciones 1, 7 y 8, o una forma dimérica de dicha 3-hidroxi-2-butanona o compuesto de fórmula I:

17. Un procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 16, en el que el compuesto de fórmula I es DHA o eritrola.

25 18. Un procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 16 o 17, en el que el procedimiento comprende la etapa adicional de separar el producto 5-(aziridin-1-il)-4-hidroxi-amino-2-nitrobenzamida del coproducto 5-(aziridin-1-il)-2-hidroxi-amino-4-nitrobenzamida, si se produce.

19. Un producto de combinación que comprende un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo, o una sal y/o un solvato del mismo farmacéuticamente aceptables, y

30 un compuesto de fórmula I, o un dímero de fórmula Ia, o 3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros

en el que el compuesto de fórmula I, o el dímero de fórmula Ia, es tal como se ha definido en cualquiera de las Reivindicaciones 1, 7 y 8, y

35 en el que la reducción del profármaco activado de un agente antiproliferativo es Mitomicina C, E09, RSU-1069, RB-6145 o tretazicar.

20. El producto de combinación de acuerdo con la Reivindicación 19, en el que el producto de combinación es una composición que comprende:

40 (I) un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo tal como se ha definido en la Reivindicación 19, o una sal y/o un solvato del mismo farmacéuticamente aceptables:  
(II) un compuesto de fórmula I, un dímero de fórmula Ia o una 3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros, en el que el compuesto de fórmula I, o el dímero de fórmula Ia, es tal como se ha definido en cualquiera de las Reivindicaciones 1, 7 y 8; y, opcionalmente  
(III) un adyuvante, un diluyente o un vehículo farmacéuticamente aceptables.

45 21. El producto de combinación de acuerdo con la Reivindicación 19, en el que el producto de combinación es un kit de partes que comprende:

50 (I) una primera parte que contiene un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo tal como se ha definido en la Reivindicación 19, y una sal y/o un solvato del mismo farmacéuticamente aceptables; y  
(II) una segunda parte que contiene un compuesto de fórmula I, un dímero de fórmula Ia o una 3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros, en el que el compuesto de fórmula I, o el dímero de fórmula Ia, es tal como se

ha definido en cualquiera de las Reivindicaciones 1, 7 y 8.

22. Un producto de combinación tal como se ha definido en una cualquiera de las Reivindicaciones 19 a 21 para uso para combatir el crecimiento o la proliferación de células indeseables en un individuo, en el que el crecimiento o la proliferación de células indeseables es:

- 5            benigna, y está formada por verrugas o psoriasis comunes, o es neoplásica.

23. Un producto de combinación para uso de acuerdo con la Reivindicación 22, en el crecimiento o la proliferación de células indeseables es neoplásico.

- 10          24. Una composición de acuerdo con la Reivindicación 20, en la que la composición es una composición tópica que comprende  
un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo tal como se ha definido en la Reivindicación 19,  
un compuesto de fórmula I, un dímero de fórmula Ia o una 3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros, en el que el compuesto de fórmula I, o el dímero de fórmula Ia, es tal como se ha definido en cualquiera de las Reivindicaciones  
15          1, 7 y 8, y  
un adyuvante, un diluyente o un vehículo tópicamente aceptables.

- 20          25. Una composición de acuerdo con la Reivindicación 20, en la que la composición es una solución o una suspensión que comprende  
un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo tal como se ha definido en la Reivindicación 19,  
un compuesto de fórmula I, un dímero de fórmula Ia o una 3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros, en el que el compuesto de fórmula I, o el dímero de fórmula Ia, es tal como se ha definido en cualquiera de las Reivindicaciones  
1, 7 y 8, y  
un adyuvante, un diluyente o un vehículo farmacéuticamente aceptables.

- 25          26. Un producto de combinación para uso de acuerdo con la Reivindicación 22, en el que el producto de combinación es una solución o una suspensión tal como se ha definido en la Reivindicación 25, la solución o la suspensión se administra por medio de un pulverizador, y el crecimiento o la proliferación de células indeseables es un cáncer de boca, cavidad nasal, garganta, faringe, laringe, tráquea o pulmones.

- 30          27. Un pulverizador mecánico que tiene un depósito cargado con una solución o una suspensión tal como se ha definido en la Reivindicación 25.

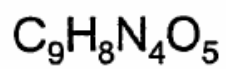
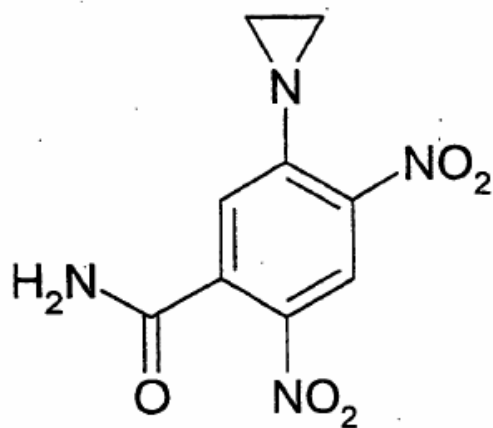
- 35          28. Un dispositivo de aerosol que comprende una solución o una suspensión que comprende uno o más gases propelentes,  
un profármaco activado mediante reducción de un agente antiproliferativo tal como se ha definido en la Reivindicación 19,  
un compuesto de fórmula I, un dímero de fórmula Ia o una 3-hidroxi-2-butanona, o uno de sus dímeros, en el que el compuesto de fórmula I, o dímero de fórmula Ia, es tal como se ha definido en cualquiera de las Reivindicaciones 1, 7 y 8, y  
un adyuvante, un diluyente o un vehículo farmacéuticamente aceptables.

- 40          29. Un procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 14, en el que la reducción se lleva a cabo a una temperatura entre la temperatura ambiente y 70 °C.

30. Un procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 29, en el que la reducción se lleva a cabo a una temperatura entre 40 y 70 °C.

31. Un procedimiento de acuerdo a una cualquiera de las Reivindicaciones 13 a 18, 30 y 31 en el que la reducción:

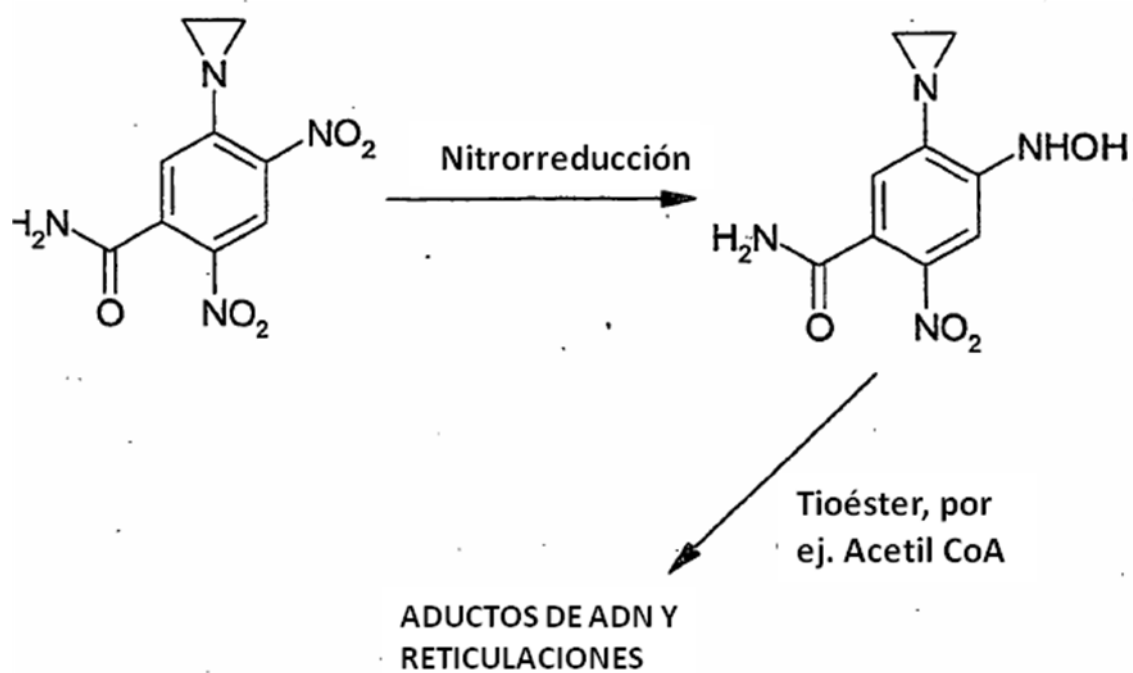
- 45            (i) se efectúa a un pH de entre 7 y 11, o  
(ii) se lleva a cabo en la presencia de una base que es una sal de carbonato o bicarbonato.

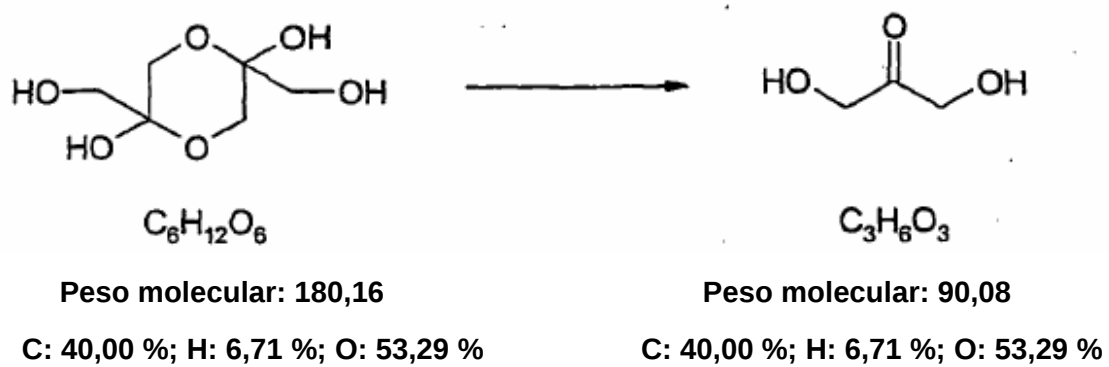


252,18

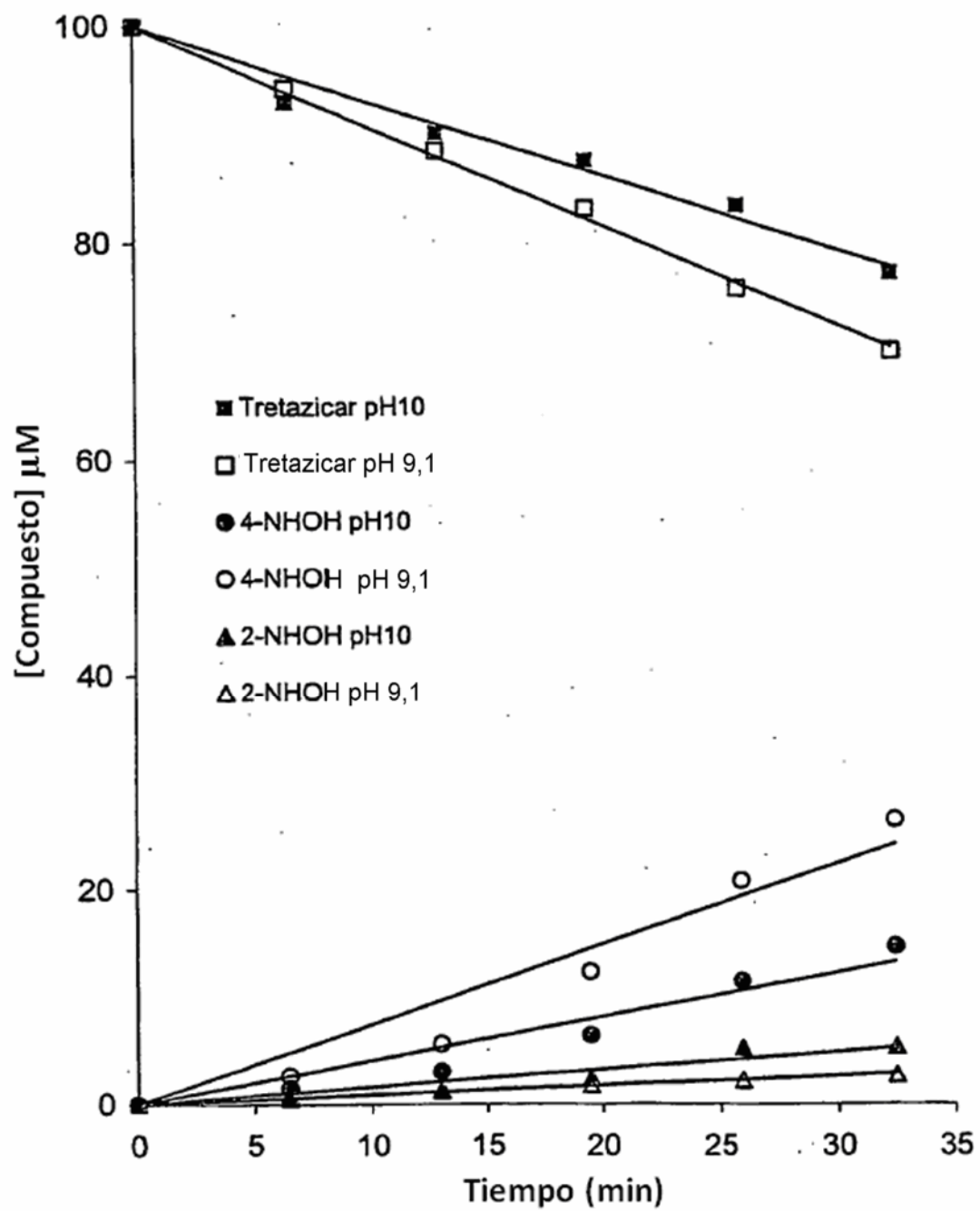
C 42,9 %; H 3,2 %; N 22,2 %; O 31,7 %

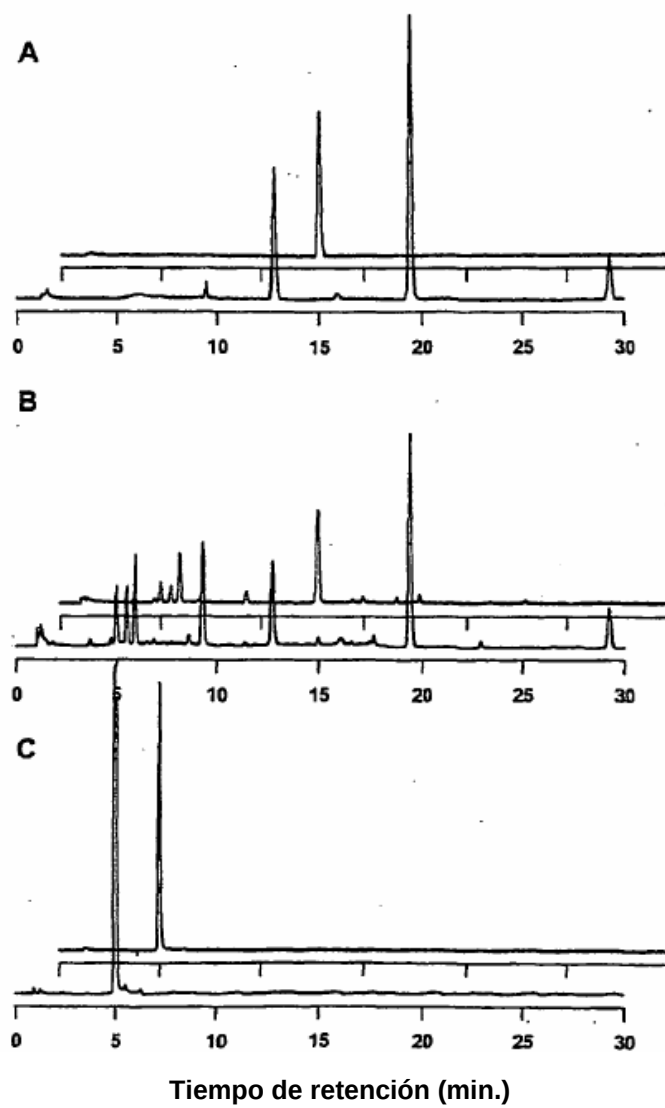
***Fig. 1***

**Fig. 2**

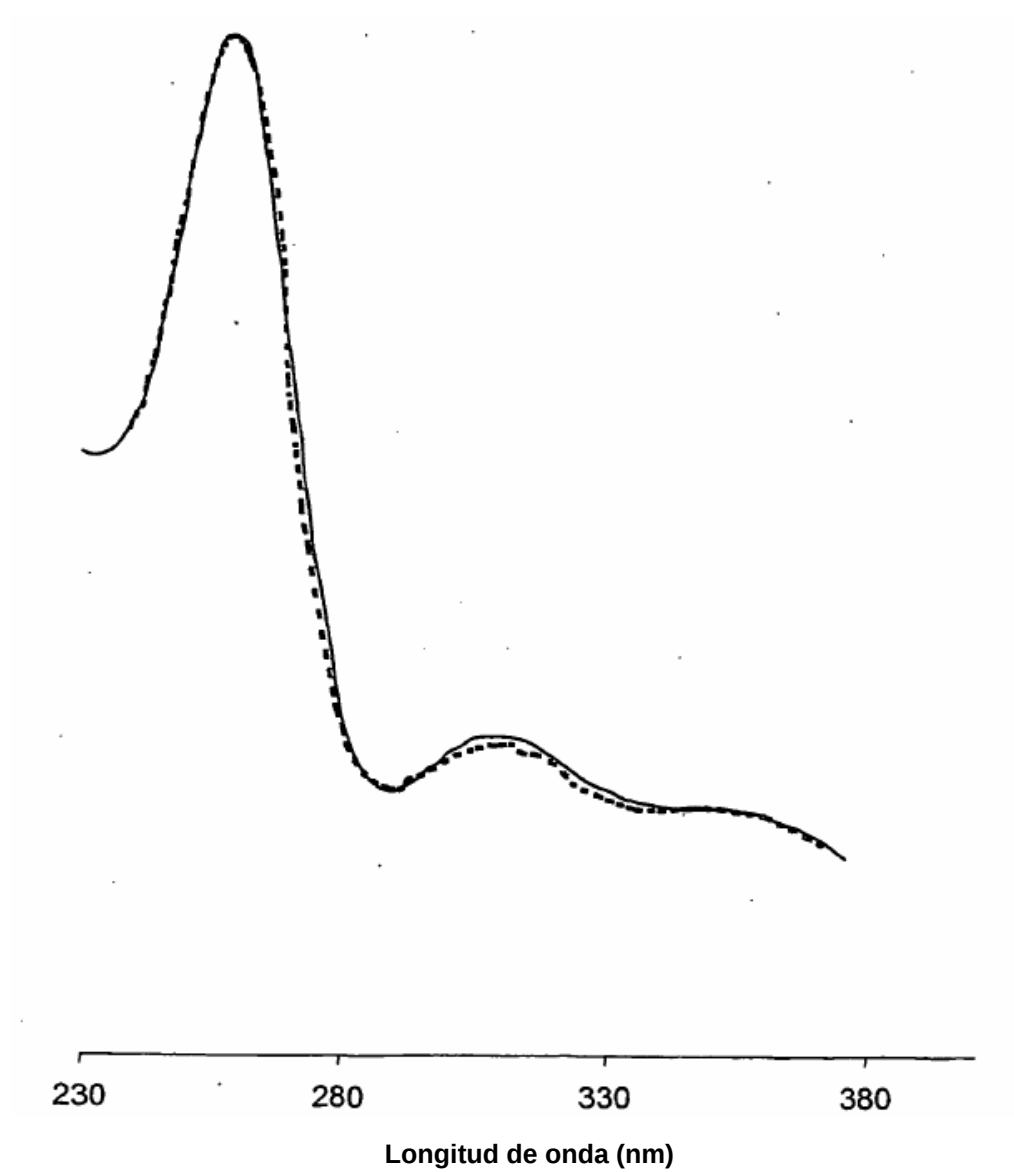


**Fig. 3**

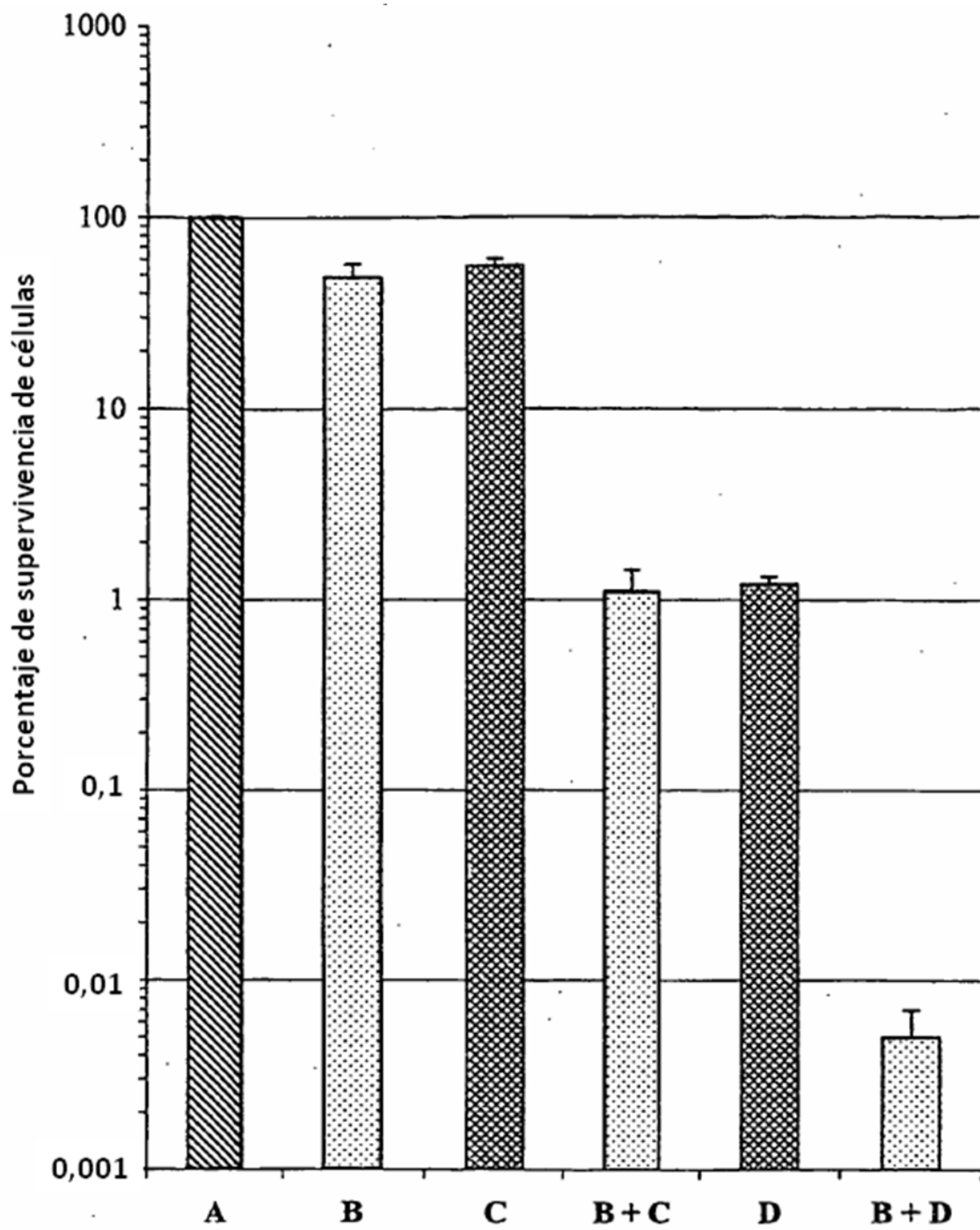
*Fig. 4*



***Fig. 5***



***Fig. 6***



*Fig. 7*