

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 589**

51 Int. Cl.:

**C07D 235/20** (2006.01)

**A61P 39/00** (2006.01)

**C07D 235/18** (2006.01)

**A61K 31/4184** (2006.01)

**A61P 39/06** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2007 E 07845428 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.07.2015 EP 2114896**

54 Título: **Compuestos radioprotectores y métodos relacionados**

30 Prioridad:

**21.12.2006 AU 2006907254**

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

**10.11.2015**

73 Titular/es:

**PETER MACCALLUM CANCER INSTITUTE  
(100.0%)  
SMORGON FAMILY BUILDING ST ANDREWS  
PLACE  
EAST MELBOURNE, VICTORIA 3002, AU**

72 Inventor/es:

**MARTIN, ROGER FRANCIS y  
WHITE, JONATHAN MICHAEL**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 550 589 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

## Compuestos radioprotectores y métodos relacionados

5 La invención se refiere a radioprotectores, a procesos para su preparación y su uso en la protección de materiales biológicos del daño por radiación. En radiología diagnóstica y terapéutica, en particular en la radioterapia del cáncer, se pueden utilizar radioprotectores para proteger ciertos tejidos o estructuras normales del daño por radiación. Los radioprotectores también se usan en la disminución de los efectos de la irradiación en escenarios no médicos, tanto civiles como militares. La invención se refiere en particular a compuestos radioprotectores sustituidos con flúor y/o cloro y, en relación con los compuestos radioprotectores conocidos, estos presentan actividad de citotoxicidad reducida.

## Antecedentes de la invención

15 Es generalmente aceptado que el ADN es el objetivo crucial en los efectos citotóxicos de la radiación ionizante. Existen considerables pruebas que respaldan la opinión de que las roturas en el ADN bicatenario son particularmente importantes. El daño en el ADN es el resultado la ionización directa en la molécula de ADN (efecto directo) y de los efectos indirectos mediados por los productos de radiólisis del agua. Se cree que los radicales con centros de carbono en el resto de desoxirribosa del ADN son importantes precursores de las roturas de la cadena. La radiación ionizante también induce daños en las bases del ADN. Si el nivel de daño en el ADN celular es suficiente, la consecuencia de la irradiación es la muerte de las células y la radiación ionizante se utiliza por lo tanto como un modo de terapia del cáncer. Para los tejidos normales irradiados, la muerte celular puede tener como resultado una alteración temporal o permanente de la función del órgano y del tejido. La magnitud de tales efectos es dependiente de la dosis de radiación y si es suficiente puede ser letal para el organismo. Para los seres humanos y otros animales, la hematopoyesis es el órgano/función más radiosensible, seguido de la mucosa gastrointestinal. Por último, aunque el daño en el ADN inducido por la radiación es subletal, las lesiones mutagénicas pueden tener graves consecuencias a largo plazo, incluyendo la carcinogénesis.

30 Las estrategias médicas o las contramedidas destinadas a reducir el alcance de los efectos inducidos por la radiación anteriores están ampliamente descritas como radioprotectores (que para ser efectivos, por lo general necesitan ser administrados antes de la exposición a la radiación), mitigantes/mitigadores (que pueden ser eficaces si se administran después la irradiación, pero antes de la aparición de los síntomas) y los tratamientos que se administran generalmente después de la aparición de los síntomas. Una subclase de los radioprotectores profilácticos son fármacos que reducen el alcance del daño en el ADN inducido por la radiación inicial y es esta subclase la que es el foco de atención principal de la presente invención.

40 El potencial comercial de los radioprotectores reside principalmente en dos escenarios distintos. Uno de ellos se refiere a la necesidad de proteger los tejidos normales en pacientes tratados con radioterapia del cáncer y el otro se refiere a la necesidad de mitigar las consecuencias de la irradiación no planificada asociada con escenarios civiles, como los accidentes con liberación de radiación y el terrorismo radiológico, así como la irradiación en contextos militares.

45 El tratamiento de tumores con radiación ionizante (denominado en lo sucesivo "radioterapia del cáncer") se utiliza ampliamente en la terapia del cáncer. El objetivo de dicho tratamiento es la destrucción de las células tumorales y la inhibición del crecimiento de las células tumorales presumiblemente a través de daño en el ADN, minimizando el daño a las células y tejidos no tumorales. El potencial de daño a las células no tumorales en las proximidades del tumor limita la dosis de radiación que se puede administrar, lo que a su vez a menudo limita la efectividad de la radioterapia contra ciertos tumores. Este es especialmente el caso en relación con los tumores cerebrales y tumores en la cavidad abdominal.

50 La radioterapia del cáncer es una actividad muy importante para la salud pública. Dada la incidencia de cáncer en la población y según los informes internacionales de que más del 50 % de los pacientes de cáncer se benefician de la inclusión de la radioterapia en el tratamiento, más del 10 % de la población tienen probabilidades de exponerse a la radioterapia del cáncer en su vida.

55 La consideración dominante en la prescripción de dosis de radiación para la radioterapia del cáncer es la evaluación de la tolerancia de los tejidos/órganos normales más radiosensibles en el campo de tratamiento. Esta evaluación, junto con la dosis de radiación esperada requerida para erradicar un tumor, a menudo determina si la estrategia de tratamiento está destinada a la curación o a la paliación. En muchos casos, las dosis máximas tolerables son insuficientes para erradicar el tumor. Este dilema se materializa en el concepto de relación terapéutica, que representa la proporción de probabilidades entre el control del tumor y la morbilidad para el tejido normal. Los enfoques para mejorar la relación terapéutica son:

- 65 (a) la optimización del sitio físico al que va dirigida la radiación al tumor;  
 (b) el fraccionamiento de la dosis de radiación y  
 (c) el uso de radiomodificadores.

Mejorar la administración física de la radiación ha tenido un impacto considerable en la práctica de la radioterapia. Por ejemplo, el aumento de la energía de los fotones de rayos X desde varios cientos de kilovoltios hasta los actuales haces de megavoltaje actuales permite ajustar la zona de la dosis de máxima de radiación a una profundidad de varios centímetros, mientras que con las máquinas más antiguas la dosis máxima era cercana a la superficie de la piel. Hay una serie de enfoques más sofisticados para “diseñar a medida” el tratamiento en las diversas etapas de desarrollo e implementación. La braquiterapia, el uso de fuentes radiactivas implantadas en lugar de haces externos, es un enfoque más para mejorar la distribución de la dosis física.

Casi sin excepción, la radioterapia de haz externo curativa implica fraccionamiento de la dosis de radiación. Un ejemplo de una pauta convencional sería un total de 60 Grays administrados en treinta fracciones de 2 Gray. Dado que las células tienen la capacidad de reparar el daño por radiación entre las fracciones, el tratamiento fraccionado tiene como resultado mucha menor destrucción celular que una dosis única de 60 Gray. Sin embargo, las células normales generalmente tienen una mayor capacidad de reparación que las células tumorales, por lo que el efecto “ahorrador” del fraccionamiento es más marcado para los tejidos normales. En resumen, el fraccionamiento mejora la relación terapéutica.

La exploración de radiomodificadores, tales como radioprotectores y radiosensibilizadores se ha centrado en sensibilizadores de células hipóxicas como metronidazol y misonidazol. Los radioprotectores han recibido mucha menos atención que los radiosensibilizadores a nivel clínico. La era nuclear dio lugar a un considerable esfuerzo en el desarrollo de radioprotectores habiéndose sintetizado y probado más de 4000 compuestos en el Instituto de Investigación Walter Reed del Ejército de los Estados Unidos de América en la década de los 60. Con la excepción de un compuesto que se llamó WR2728 (más tarde llamado etiol y ahora conocido como amifostina) ninguno de los compuestos han demostrado ser útiles para la radioterapia del cáncer, e incluso WR2728 se consideró demasiado tóxico para la administración en contextos ya sea militar o industrial (es decir, protección contra la irradiación corporal total).

Es importante señalar la interacción entre los tres enfoques (a)-(c), anterior, para mejorar la relación terapéutica. Una combinación del sitio físico al que va dirigida la radiación, el fraccionamiento y los radiomodificadores podría transformar la intención en algunas situaciones de radioterapia de paliativa a curativa. Para las pautas curativas, la aplicación con éxito de radiomodificadores relajaría el requisito para el fraccionamiento y, por lo tanto, reduciría los costos generales de tratamiento, que en gran medida es proporcional al número de fracciones de tratamiento por paciente.

Un papel particularmente importante para los radioprotectores ha surgido del reconocimiento de que la repoblación acelerada de las células tumorales durante la radioterapia puede comprometer seriamente la eficacia del tratamiento. Las principales consecuencias de esto han sido las siguientes:

- (i) El desarrollo de pautas de tratamiento aceleradas para reducir el tiempo total de tratamiento de radioterapia. En estas pautas aceleradas, las reacciones agudas son un problema particular, por ejemplo, la mucositis oral aguda en pacientes con cáncer de cabeza y cuello indica una clara necesidad de radioprotectores.
- (ii) El reconocimiento de que la interrupción del tratamiento de radioterapia debido a las reacciones del tejido normal reducirá la probabilidad de control del tumor. Por consiguiente, el uso de radioprotectores para evitar la interrupción del tratamiento inducida por toxicidad sería claramente beneficioso.

Los acontecimientos del 11 de septiembre 2001 impulsaron las evaluaciones de vulnerabilidad a muchos tipos de escenarios de terrorismo, entre los cuales está el denominado terrorismo radiológico. Un ejemplo es la denominada “bomba sucia” que implica la dispersión de alguna forma con una radiactividad con una explosión convencional. Mientras la atención se centra en el síndrome de radiación aguda (ARS, también conocida como “enfermedad de la radiación”), que describe las consecuencias de la exposición de todo el cuerpo a dosis de radiación superiores a 1 Gy, también existe preocupación sobre los efectos a largo plazo de dosis bajas, a saber, la mutagénesis y carcinogénesis inducidas por la radiación (1). Esta situación general y la aceptación de que no existen agentes profilácticos para proporcionar protección contra la exposición a las radiaciones ionizantes ha generado importantes investigaciones y actividad política.

La dosis letal media de radiación requerida para matar al 50 % de un ser humano 60 días después de la irradiación de todo el cuerpo ( $DL_{50/60}$ ) está entre 3,25 y 4Gy sin cuidados de apoyo y 6-7Gy cuando se administra antibióticos y soporte transfusional (1). La mortalidad se atribuye principalmente al síndrome hematopoyético, como consecuencia de la hipoplasia o aplasia de la médula ósea. Se desarrollan citopenias como resultado del desgaste normal o inducido por radiación de las células funcionales maduras, combinado con el fracaso de sustitución debido al agotamiento inducido por la radiación de las células madre hematopoyéticas y de las células progenitoras. El tiempo y el alcance de la citopenia generalmente se correlacionan con la dosis de radiación y el pronóstico, pero la cinética del agotamiento y recuperación de las células de la sangre también varía entre los linajes de la eritropoyesis, la mielopoyesis y la trombopoyesis, siendo la de la trombopoyesis la más lenta.

El síndrome gastrointestinal resulta de la ablación de las células madre en las criptas intestinales, lo que a su vez conduce a la denudación de la mucosa intestinal. Esta lesión se produce después de la irradiación de cuerpo entero

con dosis en el intervalo de 3-15 Gy y en roedores las dosis en el extremo superior de este intervalo tienen como resultado, por lo general la muerte 1 semana después de la irradiación.

Las contramedidas contra la irradiación no planificada incluyen una amplia gama de posibles intervenciones moleculares y celulares. Sin embargo, la simplicidad mecánica de la radioprotección química, esto es la reducción del daño en el ADN inducido por radiación, es atractiva debido a su potencial generalizado. En este contexto, la posible necesidad de protección de las personas en riesgo de exposición a bajas dosis de radiación, para minimizar así los efectos de la radiación a largo plazo, tales como la mutagénesis y la carcinogénesis, es particularmente importante. Tales personas incluirían personal de emergencia que participa en la respuesta a las exposiciones no planificadas, así como los que están sujetos a la exposición ocupacional a la radiación ionizante.

Otro grupo serían los pacientes expuestos a radiaciones ionizantes durante los procedimientos médicos de diagnóstico realizados en los departamentos de radiodiagnóstico y medicina nuclear de los hospitales y centros de atención ambulatoria.

Las propiedades radioprotectoras del ligando del ADN de unión al surco menor, Hoechst 33342, fueron descritas por primera vez por Smith, P.J. y Anderson, C.O. (2), que utilizaron ensayos de supervivencia clonogénicos de células cultivadas irradiadas. Young, S.D. y Hill, R.P. (3) describieron efectos similares en células cultivadas, pero ampliaron sus estudios a experimentos *in vivo*. Llegaron a la conclusión de que la falta de radioprotección en sus experimentos *in vivo* era debida a los niveles insuficientes de Hoechst 33342 que estaban siendo administrados a las células diana después de la inyección intravenosa. Los hallazgos de Hill y Young subrayan un requisito importante para los radioprotectores eficaces, es decir, la potencia. Si el radioprotector es más potente, entonces es más probable lograr las concentraciones necesarias en un contexto *in vivo*.

Hay otro aspecto a considerar, aparte de la potencia. La concentración requerida para la radioprotección debe ser no tóxica, independientemente de la potencia del radioprotector. Si el radioprotector se administra sistémicamente, entonces, este requisito de falta de toxicidad incluye no sólo las células y los tejidos a ser protegidos de la radiación, sino que se extiende a la toxicidad al sujeto como un todo. En el caso de Hoechst 33342 la toxicidad limita la medida en que es útil como un radioprotector.

También hay un problema conceptual sustancial en el uso de radioprotectores en la radioterapia del cáncer. En un intento de disminuir el efecto de la radiación sobre los tejidos normales mediante la aplicación de radioprotectores, existe el temor de que algunos de los radioprotectores alcancen el tumor, comprometiendo así la muerte de las células tumorales. Los radioprotectores existentes, por ejemplo, WR2727, son moléculas difundibles relativamente pequeñas, que no se unen ávidamente a los componentes del tejido y, por lo tanto, pueden penetrar eficazmente a través de capas de células, de modo que puedan alcanzar el tumor a través de la circulación.

Hay una necesidad de radioprotectores que tienen penetración limitada a través de las capas de células. Tal propiedad permite la aplicación de los radioprotectores localmente o por vía tópica a los tejidos normales radiosensibles críticos en la proximidad del tumor. La penetración limitada restringe la medida en la que el radioprotector alcanza el lecho capilar y se absorbe en la circulación alcanzando así el tumor mediante la administración sistémica en concentraciones suficientes para conferir radioprotección significativa al tumor.

La difusión limitada de ligandos de unión al ADN, tales como Hoechst 33342 a través de capas celulares es conocida y ha sido explotada en el mapeo de la localización de las células en esferoides multicelulares e *in vivo*, con respecto a la perfusión. De este modo la perfusión de Hoechst 33342 se considera un marcador indirecto de la perfusión de oxígeno. Además de restringir el acceso al tumor por la absorción sistémica tras la aplicación local o tópica a los tejidos normales, hay una ventaja adicional potencial de penetración limitada en el contexto de la radioterapia del cáncer. Esta ventaja se deriva de la opinión de que el sistema vascular, en particular, las células endoteliales, son los objetivos fundamentales que determinan los efectos dañinos de la radiación. Además, la mayoría de las células radiorresistentes en el tumor son aquellas células viables que son las más distantes de los capilares. La radiorresistencia de estas células es debido a su estado de hipoxia, lo que a su vez refleja su lejanía de los capilares.

En consecuencia, los radioprotectores que tienen difusión limitada, cuando se administran por vía intravenosa, serán administrados de manera más eficiente a las células radiosensibles críticas en los tejidos animales, que a la subpoblación de células en tumores (es decir, las células hipóxicas), lo cual limita la efectividad de la radioterapia en general. Por lo tanto, se esperaría que el uso de tales radioprotectores permitiese el uso de dosis de radiación más altas, con una mayor probabilidad de destruir a las células hipóxicas en el tumor.

Sin embargo, el potencial de la combinación de estas características radiobiológicas y las características de los radioprotectores de unión al ADN sólo puede ser útil en la radioterapia del cáncer con la condición de que exista un requisito imperioso y necesario de radioprotectores, a saber, que los radioprotectores sean lo suficientemente potentes como para conferir radioprotección demostrable a concentraciones no tóxicas, cuando se aplican por vía tópica o sistémica. Otro requisito práctico es que el alcance de la penetración limitada sea suficiente para prevenir la absorción sistémica significativa tras la aplicación tópica, pero no tan pronunciada como para evitar que

concentraciones suficientes alcancen las células que determinan la radiosensibilidad del tejido a ser protegido de los efectos de la radiación ionizante, por aplicación tópica o local.

5 El alcance de la radioprotección (en los contextos de la radioterapia del cáncer y la protección contra la exposición a la radiación no planificada) se describe generalmente en términos del factor de modificación de la dosis (FMD), que se define como la relación de las dosis de radiación requeridas para producir el efecto inducido por la radiación equivalente (criterio de valoración molecular, celular o *in vivo*) en presencia y ausencia del radioprotector. Cuando se observa el efecto radioprotector en base al criterio de valoración *in vivo*, pueden estar implicados mecanismos distintos a la modificación del daño inicial inducido por la radiación. Por ejemplo, tanto para el síndrome hematopoyético como para el síndrome gastrointestinal, la infección juega un papel importante en la mortalidad en última instancia, como consecuencia de la neutropenia y la ruptura de la barrera de la mucosa intestinal, respectivamente. Por lo tanto, algunos inmunoestimulantes tienen potencial como mitigadores de la respuesta de radiación. Los inmunoestimulantes también pueden ser eficaces después de la irradiación.

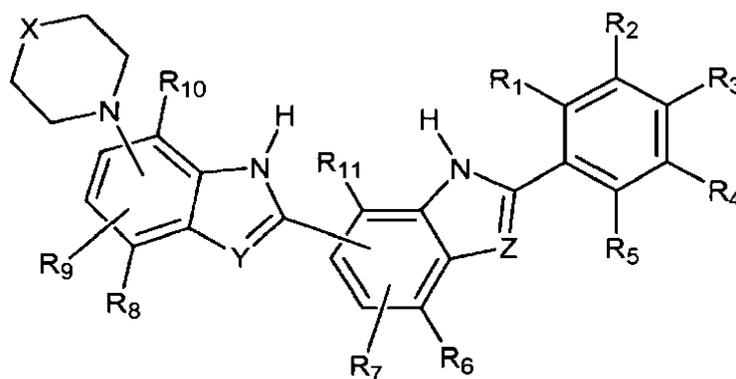
15 La publicación de patente internacional N° WO97/04776 y la posterior publicación de Martín *et al.* divulgan ciertos compuestos bibencimidazol que se caracterizan por la sustitución con impedimento estérico y grupos donantes de electrones. Aunque estos compuestos demuestran una fuerte actividad radioprotectora, existe la intención de reducir la citotoxicidad inherente de los compuestos de esta clase en general. El reto es, sin embargo, conservar y preferiblemente mejorar, la actividad radioprotectora (medida como factor de modificación de la dosis). Las divulgaciones de WO97/04776 se incluyen en la presente memoria en su totalidad a modo de referencia.

Tawar et al J. Med. Chem. 2003 46(18):3785-3792 describen la influencia de la disustitución del anillo fenilo sobre la citotoxicidad del radioprotector bisbencimidazol y terbenzimidazol.

25 Por consiguiente, existe un requisito para poder utilizar radioprotectores en la radioterapia del cáncer, en la protección del material biológico de efectos de la exposición a la radiación y/o en la protección de los seres humanos o los animales de los efectos de la irradiación no planificada, que demuestren citotoxicidad reducida pero que conserven la potencia radioprotectora y, preferiblemente, que penetren a través de las capas de células en una medida limitada. En particular, es deseable que tales compuestos puedan administrarse por vía tópica para proteger los tejidos tales como la piel, la mucosa oral, la mucosa esofágica, la mucosa rectal, la mucosa vaginal y el epitelio de la vejiga, así como por vía parenteral para proteger a los órganos tales como el pulmón y el cerebro.

Sumario de la invención

35 De acuerdo con una realización de la presente invención, se proporciona un compuesto radioprotector de fórmula (I)



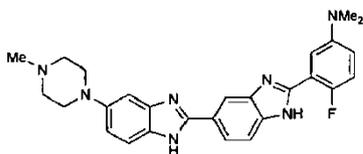
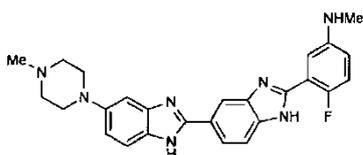
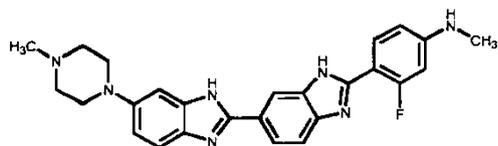
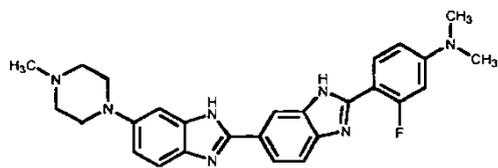
Fórmula (I)

en la que:

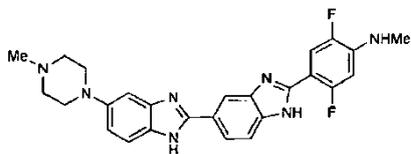
40 X es alquilamino;  
Y y Z son N;  
y R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan entre flúor, cloro, hidrógeno y un grupo donador de electrones, o dos cualesquiera de R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> y NH junto con los átomos de carbono a los que están unidos, puede formar un anillo opcionalmente sustituido que puede contener heteroátomos, siempre que al menos uno de R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> sea flúor o cloro; caracterizado además por que uno o ambos de R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son un grupo donador de electrones, en el que al menos uno de R<sub>1</sub> a R<sub>5</sub> (si no es un grupo donador de electrones) es flúor;  
45 en la que el grupo donador de electrones se selecciona de alquenilo opcionalmente sustituido, NHR', NR'<sub>2</sub>OR' o SR', en la que R' es hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido o alquenilo opcionalmente sustituido.  
50 y las sales y/o tautómeros del mismo.

De acuerdo con otra realización de la presente invención, se proporciona un compuesto radioprotector que se selecciona de

5



10



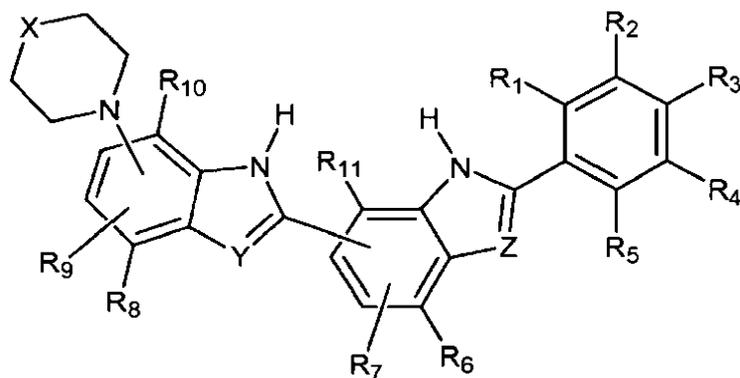
15 En otra realización de la invención, se proporciona un compuesto radioprotector como se mencionó anteriormente para su uso como un radioprotector.

En una realización adicional de la invención se proporciona el uso de un compuesto radioprotector como se mencionó anteriormente en la preparación de un medicamento para su uso como un radioprotector.

20 En una realización adicional de la invención se proporciona el uso de un compuesto radioprotector como se mencionó anteriormente en la preparación de un medicamento para su uso como un radioprotector junto con radioterapia del cáncer.

25 En una realización adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto radioprotector como se mencionó anteriormente y uno o más vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

De acuerdo con una realización de la presente invención, se proporciona un compuesto radioprotector de fórmula (I)



Fórmula (I)

30

en la que

X es alquilamino opcionalmente sustituido o alquilo opcionalmente sustituido;

Y y Z son iguales o diferentes y se seleccionan entre N y C (R') en la que R' es hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido o alquenilo opcionalmente sustituido;

y R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan entre flúor, cloro, hidrógeno y un grupo donador de electrones, o dos cualesquiera de R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> y NH junto con los átomos de carbono a los que están unidos, puede formar un anillo opcionalmente sustituido que puede contener heteroátomos, siempre que al menos uno de R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> sea flúor o cloro; en la que el grupo donador de electrones se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, NHR', NR'<sub>2</sub>, OR' o SR';

y sales y/o tautómeros del mismo;

para su uso como un radioprotector.

Breve descripción de las figuras

En los ejemplos, se hará referencia a las figuras adjuntas en las que:

La Figura 1 muestra un gráfico de la supervivencia clonogénica de células no irradiadas después de la incubación con concentraciones crecientes de radioprotector (μM). Los datos para la metilproamina (Fórmula I; X=MeN, Y=N, Z=N, R<sub>1</sub>=Me, R<sub>3</sub>=NMe<sub>2</sub>) están representados por los círculos en blanco. Los rombos rellenos muestran los datos para el compuesto del Ejemplo 1 (ortoFluoroProamina) (Fórmula I; X=MeN, Y=N, Z=N, R<sub>1</sub>=F, R<sub>3</sub>=NMe<sub>2</sub>).

La Figura 2 muestra un gráfico de la supervivencia clonogénica de células expuestas a una dosis de radiación de 12Gy frente a diversas concentraciones de radioprotector (μM). Los datos para la metilproamina (Fórmula I; X=MeN, Y=N, Z=N, R<sub>1</sub>=Me, R<sub>3</sub>=NMe<sub>2</sub>) están representados por los círculos en blanco y la línea continua. Los rombos rellenos y la línea de puntos muestran los datos para el compuesto del Ejemplo 1 (ortoFluoroProamina) (Fórmula I; X=MeN, Y=N, Z=N, R<sub>1</sub>=F, R<sub>3</sub>=NMe<sub>2</sub>).

Descripción detallada de la invención

El término "grupo donador de electrones" se utiliza en la presente memoria en su sentido más amplio y en general abarca a aquellos sustituyentes que tienen una constante del sustituyente de Hammett σ negativa, tal como se define por la ecuación de Hammett. La ecuación de Hammett es la siguiente:

$$\text{Log } k/k_0 = \sigma \rho$$

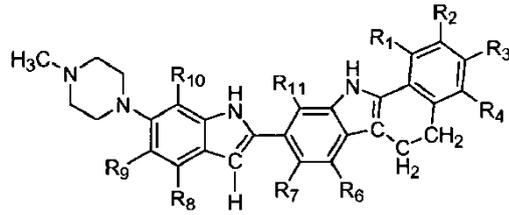
donde k es la constante de equilibrio o de velocidad para el compuesto sustituido, k<sub>0</sub> es la constante de equilibrio o velocidad para el compuesto no sustituido y ρ es una constante, cuyo valor depende del tipo de reacción y las condiciones (por ejemplo, disolvente). La mayoría de las constantes de sustituyentes de Hammett se derivan de las constantes de ionización de ácidos benzoicos sustituidos respecto a las del ácido benzoico no sustituido, habiéndose descrito compilaciones extensas (véase, por ejemplo, C. Hansch, A. Leo y R.W. Taft, Chemical Reviews 91, 165-195, 1991, cuya divulgación se incluye en la presente memoria en su totalidad a modo de referencia).

Grupos donantes de electrones incluyen, pero no se limitan a, alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, NHR', NR'<sub>2</sub>, OR' y SR', en la que R' es hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido o alquenilo opcionalmente sustituido. Preferiblemente, el grupo donador de electrones es NHR' o NR'<sub>2</sub>. Se postula que la presencia de al menos un grupo donador de electrones aumenta la actividad radioprotectora del compuesto en cuestión.

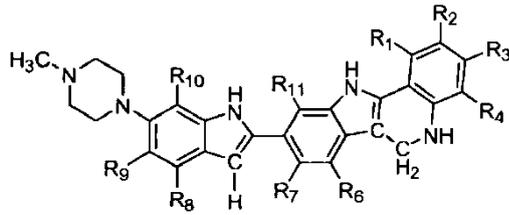
Aunque no se desea estar limitado por la teoría, se cree que la protección conferida por los compuestos de acuerdo con la invención se consigue mediante la donación de electrones (reducción) por el radioprotector de las especies oxidantes inducidas por la radiación transitoria en el ADN. Dado que los radioprotectores pueden contener grupos básicos, se esperaría que la protonación de estos grupos a pH fisiológico disminuyera sustancialmente esta capacidad donadora de electrones. Los inventores han especulado también que la inclusión de grupos aceptores de electrones tales como flúor y cloro puede reducir la basicidad del resto bencimidazol, reduciendo así la citotoxicidad, pero sin pérdida significativa de la actividad radioprotectora.

Ejemplos generales de compuestos de fórmula (I) que incluyen anillos opcionalmente sustituidos se proporcionan a continuación como estructuras generales A a J. Aparte de disminuir el cambio de entropía desfavorable tras la unión al ADN, se cree que los anillos saturados evitan la coplanaridad de los anillos adyacentes y, por lo tanto, el apilamiento intermolecular y la consiguiente agregación.

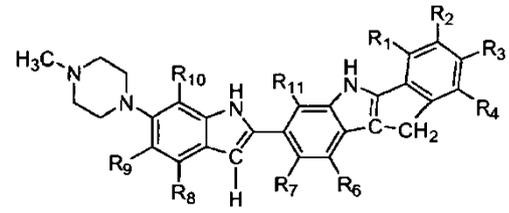
A



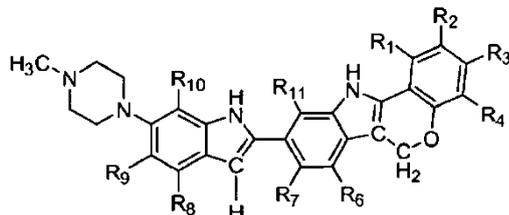
B



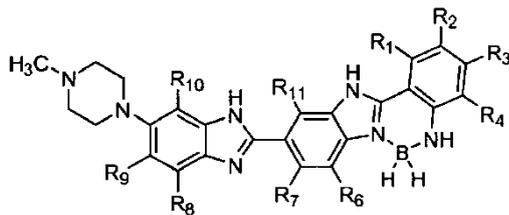
C



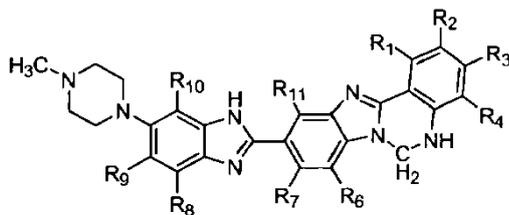
D



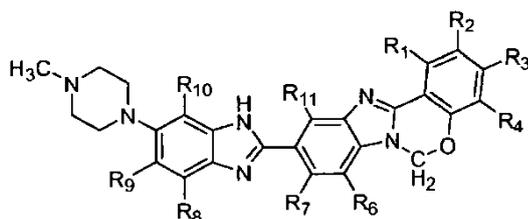
E



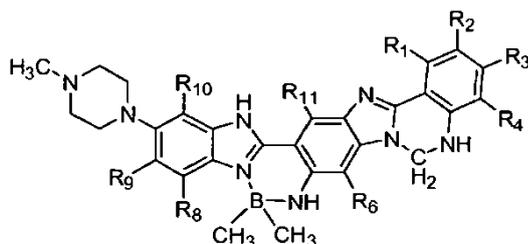
F



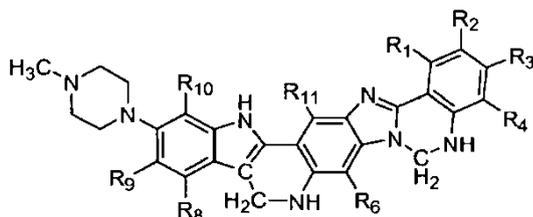
G



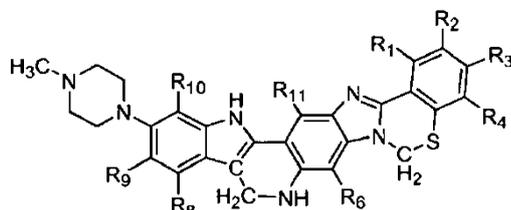
H



I



J



10 en la que R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub> y R<sub>6</sub> a R<sub>11</sub> son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno, flúor, cloro y un grupo donador de electrones y donde al menos uno de R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub> y R<sub>6</sub> a R<sub>11</sub> es F o Cl. Preferiblemente, al menos otro de R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub> y R<sub>6</sub> a R<sub>11</sub> es un grupo donador de electrones.

15 El término “alquilo” usado solo o en frases tales como “alquilo opcionalmente sustituido”, “alquilamino opcionalmente sustituido” o “alquilenos opcionalmente sustituido” pretende abarcar alquilo de cadena lineal, ramificada o mono- poli-  
 20 cíclico, el cual es preferiblemente alquilo o cicloalquilo C<sub>1</sub> a C<sub>30</sub>. Ejemplos de alquilo de cadena lineal y ramificada incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, amilo, isoamilo, sec-amilo, 1,2-dimetilpropilo, 1,1-dimetilpropilo, hexilo, 4-metilpentilo, 1-metilpentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 1,1-dimetilbutilo, 2,2-dimetilbutilo, 3,3-dimetilbutilo, 1,2-dimetilbutilo, 1,3-dimetilbutilo, 1,2,2-trimetilpropilo, 1,1,2-trimetilpropilo, heptilo, 5-metilhexilo, 1-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 3,3-dimetilpentilo, 4,4-dimetilpentilo, 1,2-dimetilpentilo, 1,3-dimetilpentilo, 1,4-dimetilpentilo, 1,2,3-trimetilbutilo, 1,1,2-trimetilbutilo, 1,1,3-trimetilbutilo, octilo, 6-metilheptilo, 1-metilheptilo, 1,1,3,3-tetrametilbutilo, nonilo, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- o 7-metiloctilo, 1-, 2-, 3-, 4- o 5-etilheptilo, 1-, 2- o 3-propilhexilo, decilo, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- y 8-metilnonilo, 1-, 2-, 3-, 4-, 5- o 6-etiloctilo, 1-, 2-, 3- o 4-propilheptilo, undecilo 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8- o 9-metildecilo, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- o 7-etilnonilo, 1-, 2-, 3-, 4- o 5-propiloctilo, 1-, 2- o 3-butilheptilo, 1-pentilhexilo, dodecilo, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9- o 10-metilundecilo, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- u 8-etildecilo, 1-, 2-, 3-, 4-, 5- o 6-propilnonilo, 1-, 2-, 3- o 4-butiloctilo, 1-2-pentilheptilo y similares. Ejemplos de alquilo cíclico incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclodecilo y similares.

30 El término “alqueno” utilizado ya sea solo o en frases compuestas tales como “alqueno opcionalmente sustituido” denota grupos formados a partir de alquenos de cadena lineal, ramificada o mono- o poli-cíclicos que incluye grupos alquilo o cicloalquilo etilénicamente mono- o poli-insaturados como se ha definido anteriormente, preferiblemente alqueno C<sub>2-30</sub>. Ejemplos de alqueno incluyen vinilo, alilo, 1-metilvinilo, butenilo, isobutenilo, 3-metil-2-butenilo, 1-

pentenilo, ciclopentenilo, 1-metil-ciclopentenilo, 1-hexenilo, 3-hexenilo, ciclohexenilo, 1-heptenilo, 3-heptenilo, 1-octenilo, ciclooctenilo, 1-nonenilo, 2-nonenilo, 3-nonenilo, 1-decenilo, 3-decenilo, 1,3-butadienilo, 1-4-pentadienilo, 1,3-ciclopentadienilo, 1,3-hexadienilo, 1,4-hexadienilo, 1,3-ciclohexadienilo, 1,4-ciclohexadienilo, 1,3-cicloheptadienilo, 1,3,5-cicloheptatrienilo, 1,3,5,7-cicloocta-tetraenilo y similares.

El término "anillo opcionalmente sustituido que puede contener heteroátomos" se usa en la presente memoria en su sentido más amplio para referirse a grupos cíclicos saturados o insaturados, homogéneos o heterogéneos, tales como, cicloalquilo, cicloalquenilo, cicloalquinilo, arilo o heterociclilo, los cuales pueden contener heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre. Los ejemplos de cicloalquilo y cicloalquenilo se han descrito anteriormente. Arilo adecuado incluye residuos individuales, polinucleares, conjugados y condensados de hidrocarburos aromáticos, tales como, fenilo, bifenilo, terfenilo, cuaterfenilo, fenoxifenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, antraceno, dihidroantraceno, benzantraceno, dibenzantraceno, fenantreno y similares. Los ejemplos de heterociclilo incluyen grupos heterocíclicos que contienen N, tales como, grupos heteromonocíclicos insaturados de 3 a 6 miembros que contienen de 1 a 4 átomos de nitrógeno, por ejemplo, pirrolilo, pirrolinilo, imidazolilo, pirazolilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, triazolilo o tetrazolilo; grupos heteromonocíclicos saturados de 3 a 6 miembros que contienen de 1 a 4 átomos de nitrógeno, tales como, pirrolidinilo, imidazolidinilo, piperidino o piperazinilo; grupos heterocíclicos condensados insaturados que contienen de 1 a 5 átomos de nitrógeno, tales como, indolilo, isoindolilo, indolizino, bencimidazolilo, quinolilo, isoquinolilo, indazolilo, benzotriazolilo o tetrazolopiridazinilo; grupo heteromonocíclico insaturado de 3 a 6 miembros que contiene un átomo de oxígeno, tal como piranilo o furilo; grupo heteromonocíclico insaturado de 3 a 6 miembros que contiene de 1 a 2 átomos de azufre, tal como, tienilo; grupo heteromonocíclico insaturado de 3 a 6 miembros que contiene de 1 a 2 átomos de oxígeno y de 1 a 3 átomos de nitrógeno, tales como, oxazolilo, isoxazolilo u oxadiazolilo; grupo heteromonocíclico saturado de 3 a 6 miembros que contiene de 1 a 2 átomos de oxígeno y de 1 a 3 átomos de nitrógeno, tales como, morfolinilo; grupo heterocíclico condensado insaturado que contiene 1 a 2 átomos de oxígeno y de 1 a 3 átomos de nitrógeno, tales como, benzoxazolilo o benzoxadiazolilo; grupo heteromonocíclico insaturado de 3 a 6 miembros que contiene de 1 a 2 átomos de azufre y de 1 a 3 átomos de nitrógeno, tales como, tiazolilo o tiadiazolilo; grupo heteromonocíclico saturado de 3 a 6 miembros que contiene de 1 a 2 átomos de azufre y de 1 a 3 átomos de nitrógeno, tales como, tiazolidinilo y grupo heterocíclico condensado insaturado que contiene de 1 a 2 átomos de azufre y de 1 a 3 átomos de nitrógeno, tales como, benzotiazolilo o benzotiadiazolilo.

En esta memoria descriptiva "opcionalmente sustituido" significa que un grupo puede o no puede estar sustituido adicionalmente con uno o más grupos seleccionados entre alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, halo, haloalquilo, haloalquenilo, haloalquinilo, haloarilo, hidroxilo, alcoxi, alquenilo, alquinilo, ariloxi, carboxi, benciloxi, haloalcoxi, haloalquenilo, haloalquinilo, haloariloxi, nitro, nitroalquilo, nitroalquenilo, nitroalquinilo, nitroarilo, nitroheterociclilo, azido, amino, alquilamino, alquenilamino, alquinilamino, arilamino, bencilamino, acilo, alquenilacilo, alquinilacilo, arilacilo, acilamino, aciloxi, aldehído, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilsulfonilamino, arilsulfonilamino, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heterociclilo, heterocicloxi, heterociclamino, halógenoheterociclilo, alquilsulfenilo, arilsulfenilo, carboalcoxi, carboariloxi, mercapto, alquiltio, ariltio, aciltio y similares.

Las sales del compuesto de fórmula (I) son preferiblemente farmacéuticamente aceptables, pero se apreciará que las sales no farmacéuticamente aceptables también entran dentro del alcance de la presente invención, puesto que éstas son útiles como intermedios en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de cationes farmacéuticamente aceptables tales como sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, amonio y alquilamonio; sales de adición de ácidos de ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácido clorhídrico, ortofosfórico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, carbónico, bórico, sulfámico y ácidos bromhídrico; o sales de ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables tales como los ácidos acético, propiónico, butírico, tartárico, maleico, hidroximaleico, fumárico, cítrico, láctico, mícico, glucónico, benzoico, succínico, oxálico, fenilacético, metanosulfónico, trihalometanosulfónico, toluenosulfónico, bencenosulfónico, salicílico, sulfanílico, aspártico, glutámico, edético, esteárico, palmítico, oleico, láurico, pantoténico, tánico, ascórbico y valérico.

Por "derivado farmacéuticamente aceptable" se entiende cualquier sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable o cualquier otro compuesto que, tras la administración al sujeto, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) un compuesto de fórmula (I) o un metabolito activo o residuo del mismo.

El término "profármaco" se utiliza en la presente memoria en su sentido más amplio para incluir esos compuestos que se convierten *in vivo* en compuestos de fórmula (I).

El término "tautómero" se usa en la presente memoria en su sentido más amplio para incluir compuestos de fórmula (I) que son capaces de existir en un estado de equilibrio entre dos formas isómeras. Tales compuestos pueden diferir en el enlace que conecta dos átomos o grupos y la posición de estos átomos o grupos en el compuesto. Este término, en particular abarca tautómeros ceto-enol.

Los compuestos de la invención pueden ser eléctricamente neutros o estar en la forma de policationes con aniones asociados para la neutralidad eléctrica. Aniones asociados adecuados incluyen sulfato, tartrato, citrato, cloruro, nitrato, nitrito, fosfato, perclorato, halosulfonato o trihalometilsulfonato.

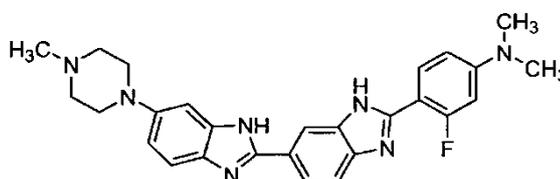
5 Los compuestos preferidos de fórmula (I) son aquellos en los que X es alquilamino, Y y Z son N y en los que uno o ambos de R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son un grupo donador de electrones, siendo al menos uno de R<sub>1</sub> a R<sub>5</sub> (si no es un grupo donador de electrones) F o Cl. Lo más preferiblemente al menos uno de R<sub>1</sub> a R<sub>5</sub> es F. Grupos donadores de electrones particularmente preferidos incluyen -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>3</sub>), -OCH<sub>3</sub> y -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>.

10 En una realización adicional particularmente preferida de la invención R<sub>1</sub> y/o R<sub>5</sub> es F o Cl (preferiblemente F) cuando R<sub>2</sub> o R<sub>3</sub> es un grupo donador de electrones.

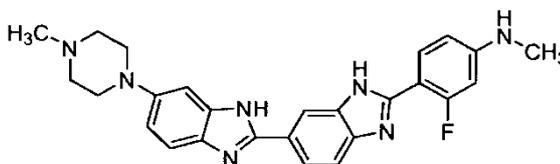
Las estructuras de algunos compuestos preferidos de acuerdo con la invención se proporcionan a continuación como estructuras K a W:

15

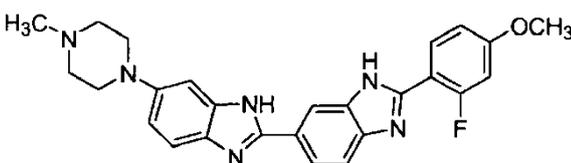
K



L

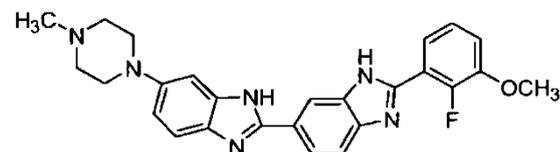


M

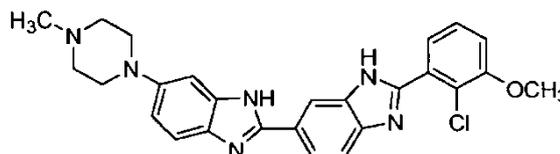


20

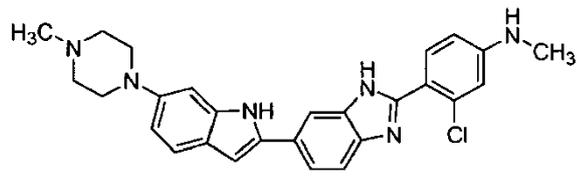
N



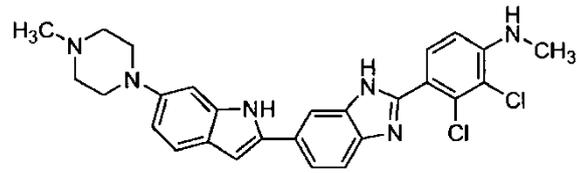
O



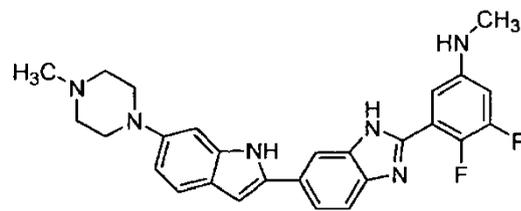
P



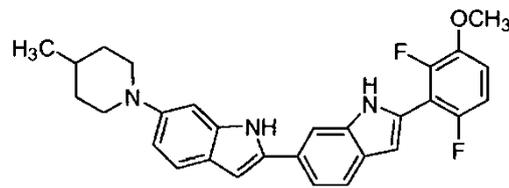
Q



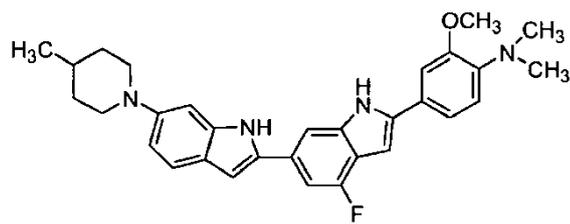
R



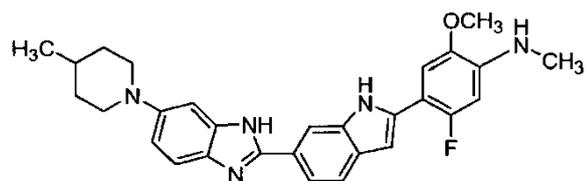
S



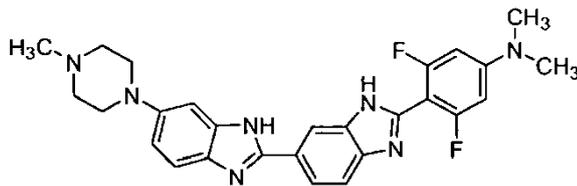
T



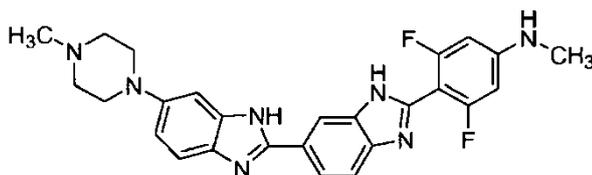
U



V



W



5 Se divulga en la presente memoria un método de protección de un sujeto o material biológico del daño por radiación, o de reducir el daño por radiación a un sujeto, que comprende administrar al sujeto, o exponer el material biológico a, una cantidad eficaz de un compuesto radioprotector de acuerdo con la invención, tal como que se incluye en la fórmula (I).

10 Con la frase protege de daños por radiación se da a entender que en relación con el daño que se espera incurrir en los tejidos o células en un sujeto o en un material biológico tras la exposición a una cantidad de radiación dada (por ejemplo radiación ionizante, infrarroja o ultravioleta) se evita, minimiza o reduce el daño debido a la presencia del compuesto radioprotector. El término "Factor de modificación de la dosis" (FMD) se refiere a la relación entre la dosis de radiación requerida para producir un efecto dado en presencia de protector y la requerida para producir el efecto equivalente en la ausencia de protector.

15 El daño por radiación puede ser el resultado de la exposición a una fuente de radiación como, por ejemplo, la radiación ionizante. El término "radiación ionizante", como se usa en la presente memoria, se refiere a los fotones que tienen energía suficiente para ionizar un enlace, tal como rayos  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  de núcleos radiactivos y radiografías.

20 El término "material biológico" se usa en la presente memoria en su sentido más amplio e incluye cualquier composición objeto que comprende al menos un componente derivado o derivable biológicamente. El material biológico contemplado por la presente invención incluye proteínas y otro material proteico incluyendo extractos de o incluyendo proteínas y proteínas modificadas químicamente o extractos de los mismos; fluidos tisulares, extractos de tejidos u órganos; tejido animal, vegetal o microbiológico, fluido o extractos incluyendo productos de los mismos; material no proteínico derivado biológicamente tal como, pero sin limitarse a, lípidos, carbohidratos, hormonas y vitaminas incluyendo extractos y derivados de los mismos; productos recombinantes que incluyen material genético, tales como material cromosómico, ADN genómico, ADNc, ARNm, ARNt, ribosomas y el material nuclear y el animal, planta enteros o células microbiológicos o extractos de los mismos.

30 Como se ha indicado el material biológico de la invención puede adoptar la forma de células, tejidos u órganos o de hecho de péptidos, proteínas o ácidos nucleicos (por ejemplo) derivadas de una fuente vegetal, animal o de microorganismos, así como los producidos sintéticamente que imitan o son similares a los materiales de origen natural. El compuesto radioprotector se puede utilizar para proteger del daño por radiación, por ejemplo, en sistemas experimentales, en organismos vivos o muertos enteros o en células *ex vivo*, tejidos u órganos que pueden ser devueltos al hospedador original o trasplantados en un nuevo hospedador, después de la terapia.

35 Por ejemplo, el material biológico puede adoptar la forma de un sujeto humano o animal, tal como un animal experimental (por ej., ratón, rata, cobaya, conejo), un animal de compañía (por ej., gato, perro), un animal agrícola (por ej., caballos, vacas, ovejas, burros, cabras, cerdos), un reptil, ave o animal salvaje cautivo. Preferiblemente, el sujeto es un mamífero y lo más preferiblemente el sujeto es un ser humano. Una aplicación significativa para los compuestos radioprotectores de la invención es para su uso en combinación con radioterapia en sujetos humanos. Sin embargo, los compuestos también se pueden utilizar para ofrecer protección contra la exposición a, o por la exposición continua a, la radiación no planificada tal como en un contexto de terrorismo, militar u ocupacional.

45 Preferiblemente, el material biológico (incluyendo al sujeto humano o animal) está expuesto al compuesto radioprotector durante un período de tiempo suficiente antes de la exposición prevista a la radiación o exposición continuada a la radiación, tal como entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 3 días, preferiblemente entre aproximadamente 10 minutos y aproximadamente 6 horas, más preferiblemente entre aproximadamente 20 minutos y aproximadamente 4 horas y más preferiblemente entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente

2 horas. Preferiblemente, el tiempo de administración del compuesto radioprotector antes de la exposición a la radiación es suficiente para permitir la asociación del compuesto con el ADN en el material biológico. Preferiblemente, el compuesto radioprotector se administra preferiblemente a células, tejidos u órganos que puedan estar expuestos a la radiación, pero que se pretenden que sean protegidos de tal exposición a la radiación. Por ejemplo, en el caso de la administración en conjunto con la radioterapia del cáncer, los compuestos se administran preferiblemente a tejidos o células normales (no tumorales) o a células que rodean un tumor o lesión que probablemente se vean expuestos a la radiación durante el transcurso de la radioterapia. La administración preferencial se puede lograr por medio de la aplicación directa al tumor o las células deseadas o, por ejemplo, mediante la utilización de un sistema para dirigir células o tejidos específicos.

Se divulga en la presente memoria un método de radioterapia del cáncer que comprende administrar a un sujeto en necesidad de dicha terapia una cantidad eficaz de un compuesto radioprotector de la invención y someter el locus del tumor a una fuente de radiación. El término "radioterapia del cáncer" se usa en la presente memoria en su sentido más amplio e incluye radioterapia que implica tumores o lesiones, que pueden ser benignos o malignos.

Los compuestos de la invención pueden usarse ventajosamente en la terapia en combinación con otros medicamentos, tales como agentes quimioterapéuticos, por ejemplo, agentes radiomiméticos que son agentes citotóxicos que dañan el ADN de tal manera que las lesiones producidas en el ADN son similares a las resultantes de la radiación ionizante. Ejemplos de agentes radiomiméticos que causan roturas de la cadena de ADN incluyen bleomicina, doxorubicina, adriamicina, 5FU, neocarzinostatina, agentes alquilantes y otros agentes que producen aductos de ADN. Se prevé que los radioprotectores de la presente invención protejan el ADN del daño causado por algunos de estos agentes, de la misma manera en que protegen contra los efectos de la radiación ionizante. En aplicaciones clínicas, es poco probable que el radioprotector se administre sistémicamente junto con el agente quimioterapéutico, ya que esto podría poner en peligro la acción de este agente sobre el tumor. Sin embargo, hay circunstancias en las que la aplicación tópica a los tejidos problema podría ser ventajosa. Por ejemplo, la mucositis oral es un efecto secundario problemático de los agentes citotóxicos, tales como, doxorubicina y la administración del presente radioprotector como un enjuague bucal antes de la administración del agente quimioterapéutico podría mejorar este efecto secundario sin comprometer la acción de este agente en un tumor no localizado en la cavidad oral. Del mismo modo, el tracto gastrointestinal puede protegerse mediante la administración oral, los pulmones por inhalación de aerosol o la vejiga mediante la administración intravesical, por ejemplo, a través de un catéter, del radioprotector. Por lo tanto en ciertos métodos divulgados, el compuesto de fórmula (I) se usa en combinación con otro medicamento como, por ejemplo, un agente radiomimético.

Como se mencionó anteriormente existe una aplicación *ex vivo* de los compuestos de la invención y un ejemplo es en el contexto del trasplante de médula ósea. El trasplante de médula ósea generalmente implica obtener y almacenar muestras de médula ósea de un sujeto en previsión de un deterioro de su trastorno. A continuación, se administra una forma bastante drástica de quimioterapia (es decir, una dosis alta). Esta quimioterapia es tal que normalmente sería letal debido a la destrucción de las células madre normales, pero el sujeto es salvado gracias a la administración de sus propias células madre hematopoyéticas. El problema que tiene este procedimiento es que probablemente la muestra inicial de las células madre esté contaminada con células tumorales y, por lo tanto, se usan diversos procedimientos para purgar las preparaciones de médula ósea de las células tumorales. Los radioprotectores conjugados, por ejemplo, a un factor de crecimiento hematopoyético, se pueden utilizar en este contexto añadiéndolos a una suspensión de células de médula ósea. La suspensión puede irradiarse a continuación con la esperanza de que las células normales de la médula ósea, pero no las células tumorales, estén protegidas preferiblemente de los efectos destructores de células de la radiación.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden administrar para terapia por cualquier vía adecuada, incluyendo la vía oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal, intravesical y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraesternal e intradérmica). Preferiblemente, la administración será por la vía rectal, tópica, vaginal o parenteral, sin embargo, se apreciará que la ruta preferida variará con el estado y la edad del sujeto, el tejido/tumor que se está tratando, su ubicación dentro del sujeto y el juicio del médico o veterinario. El compuesto de fórmula (I) se puede administrar directamente en los tejidos circundantes o cercanos a los tumores a irradiar.

La presente invención también describe una composición radioprotectora que comprende un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente en asociación con un vehículo farmacéutica o veterinariamente aceptable.

Las composiciones comprenden al menos un compuesto de fórmula (I) junto con uno o más vehículos, diluyentes, adyuvantes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros medicamentos. Cada vehículo, diluyente, adyuvante y/o excipiente debe ser farmacéuticamente "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros componentes de la composición y no perjudicial para el sujeto. Las composiciones incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal, intravesical o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica). Las composiciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica. Tales métodos incluyen la etapa de poner en asociación el principio activo con el vehículo, que constituye uno o más de los componentes auxiliares. En general, las composiciones se preparan

asociando uniforme e íntimamente el principio activo con vehículos, diluyentes, adyuvantes y/o excipientes líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y después si es necesario dando forma al producto. Más detalles de composiciones farmacéuticas convencionales se explican en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Edición, Mack Publishing Co., Easton, PA, EE.UU., cuya divulgación se incluye en su totalidad a modo de referencia.

Las composiciones adecuadas para la administración oral pueden presentarse como unidades discretas, tales como cápsulas, sobres o comprimidos conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del principio activo; como un polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El principio activo también puede presentarse como un bolo, electuario o pasta.

Un comprimido puede fabricarse por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más componentes auxiliares. Los comprimidos se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el principio activo en una forma fluida tal como un polvo o como gránulos, opcionalmente mezclarse con un aglutinante (por ej., povidona reticulada, carboximetilcelulosa sódica reticulada), diluyente inerte, conservante, disgregante (por ej., glicolato de almidón sódico), agente tensioactivo y/o un agente dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden fabricar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente recubiertos o ranurados y pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del principio activo en los mismos usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado. Los comprimidos pueden opcionalmente proporcionarse con un recubrimiento entérico, para proporcionar la liberación en partes del intestino distintas del estómago.

Las composiciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden el principio activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o goma de tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga y enjuagues bucales o pulverizaciones que comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.

Para la aplicación tópica a la piel, el principio activo puede estar en la forma de una crema, pomada, jalea, solución o suspensión.

Para la aplicación tópica en el ojo, el principio activo puede estar en la forma de una solución o suspensión en un vehículo acuoso o no acuoso estéril adecuado. También se pueden incluir aditivos, por ejemplo, tampones, conservantes incluyendo agentes bactericidas y fungicidas, tales como acetato o nitrato de fenilmercurio, cloruro de benzalconio o clorhexidina y agentes espesantes tales como hipromelosa.

Las composiciones para administración rectal se pueden presentar como un supositorio con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el principio activo. Tales excipientes incluyen manteca de cacao o un salicilato.

Las composiciones nasales se pueden presentar tópicamente como gotas nasales o pulverizaciones o sistémicamente en una forma adecuada para la absorción a través de la mucosa nasal y/o las células alveolares en los pulmones.

Las composiciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen además del principio activo, vehículos tales como los conocidos en la técnica como apropiados.

Las composiciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles isotónicas acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen la composición isotónica con la sangre del sujeto deseado y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en envases sellados monodosis o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que requiere sólo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito previamente.

Las composiciones de dosis unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis o unidad diaria, sub-dosis diaria, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria, o una fracción apropiada de la misma, de un principio activo. Los compuestos de la invención se pueden administrar por ejemplo en cantidades de entre aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal del sujeto por día (o preferiblemente por incidencia de la exposición a la radiación), preferiblemente entre aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 100 mg, más preferiblemente entre aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal del sujeto por día o por incidencia de la exposición a la radiación.

El compuesto de fórmula (I) también puede ser presentado para su uso en la forma de composiciones veterinarias, las cuales se pueden preparar, por ejemplo, por métodos que son convencionales en la técnica. Ejemplos de tales composiciones veterinarias incluyen aquellas adaptadas para:

- 5 (a) la administración oral, aplicación externa, por ejemplo, baños (por ej., soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas); comprimidos o bolos; polvos, gránulos o pellets para la mezcla con alimentos para animales; pastas para aplicación en la lengua;
- (b) la administración parenteral, por ejemplo, por inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa, por ejemplo, como una solución o suspensión estéril; o (cuando sea apropiado) por inyección intramamaria donde se
- 10 introduce una suspensión o solución en la ubre a través del pezón;
- (c) la aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, pomada o pulverización aplicado a la piel; o
- (d) intravaginal, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma.

15 Se debe entender que además de los componentes particularmente mencionados anteriormente, las composiciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de composición en cuestión, por ejemplo, las adecuadas para administración oral pueden incluir tales agentes adicionales como aglutinantes, edulcorantes, espesantes, agentes aromatizantes, agentes disgregantes, agentes de recubrimiento, conservantes, lubricantes y/o agentes de liberación retardada.

20 Los edulcorantes adecuados incluyen sacarosa, lactosa, glucosa, aspartamo o sacarina. Agentes disgregantes adecuados incluyen almidón de maíz, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, goma de xantano, bentonita, ácido algínico o agar. Agentes saborizantes adecuados incluyen aceite de menta, aceite de gaulteria, cereza, naranja o frambuesa. Agentes de recubrimiento adecuados incluyen polímeros o copolímeros de ácido acrílico y/o ácido metacrílico y/o sus ésteres, ceras, alcoholes grasos, zeína, goma laca o gluten. Los conservantes adecuados incluyen benzoato de

25 sodio, vitamina E, alfa-tocoferol, ácido ascórbico, metil parabeno, propil parabeno o bisulfito sódico. Los lubricantes adecuados incluyen estearato de magnesio, ácido estérico, oleato sódico, cloruro sódico o talco. Agentes de liberación retardada adecuados incluyen monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

30 Una aplicación importante de los radioprotectores es en la radioterapia del cáncer. Muchos de los tejidos normales que son un problema en radioterapia tales como la piel, mucosa oral, mucosa esofágica, mucosa rectal, mucosa vaginal y epitelio de la vejiga se pueden proteger por vía tópica mediante los radioprotectores de la presente invención.

35 Hay dos contextos distintos para tales radioprotectores tópicos. En primer lugar, existe el potencial de disminuir las reacciones agudas preocupantes que a menudo ocurren en los tejidos normales mencionados anteriormente. Aunque estas reacciones agudas pueden ser transitorias, su mejora, obviamente, será beneficiosa para un sujeto. Un contexto diferente es la situación en la que las reacciones agudas limitan la dosis de radiación que se puede administrar al tumor. Un ejemplo es en el régimen de fraccionamiento acelerado, en el que las reacciones agudas pueden ser limitantes de la dosis. Por lo tanto, la aplicación de radioprotectores puede permitir el uso de dosis más

40 altas de radiación y, por lo tanto, mejorar las perspectivas de curación.

Aparte de la aplicación tópica, las propiedades de distribución del fármaco de los radioprotectores de la presente invención ofrecen otras maneras de lograr una relación terapéutica mejorada. Los ejemplos incluyen los tumores en

45 el cerebro y pulmón.

En el caso del cerebro, las células endoteliales se cree que son un objetivo radiosensible importante en términos de los efectos perjudiciales de la radiación sobre el tejido cerebral normal. La administración del radioprotector protegería a las células endoteliales importantes en el cerebro normal. Las células correspondientes en el tumor también estarían protegidas, pero estas células están bien oxigenadas y, por lo tanto, son las células más radiosensibles en el tumor. Las células más distantes en el tumor, que son hipóxicas, estarían, por tanto, fuera del alcance del radioprotector, si se administra en un intervalo apropiado antes de la irradiación. Esto significa que las células endoteliales normales y las células óxicas (radiosensibles) del tumor estarían protegidas por igual. Esta radioprotección permitiría entonces usar una dosis mayor de irradiación, lo que aumentaría la probabilidad de destruir a las células hipóxicas en el tumor. El hecho de que las células endoteliales tanto del tumor como del tejido

50 normal se vean igualmente afectadas no tiene impacto en la relación terapéutica. Podría producirse un aumento en la relación terapéutica debido al aumento en la destrucción de las células tumorales hipóxicas, sin ninguna duda en términos de daño de tejido normal.

En el caso de los tumores en el pulmón, el radioprotector sería administrado a las células alveolares. Aunque las células endoteliales del tumor de pulmón también pueden estar protegidas, las células más distantes en el tumor no. Por otra parte, la circulación de algunos tumores pulmonares se realiza no por la arteria pulmonar, sino por la circulación bronquial, a la que no se puede acceder hasta el próximo paso del radioprotector en la circulación y, por lo tanto, expuesto a concentraciones más bajas.

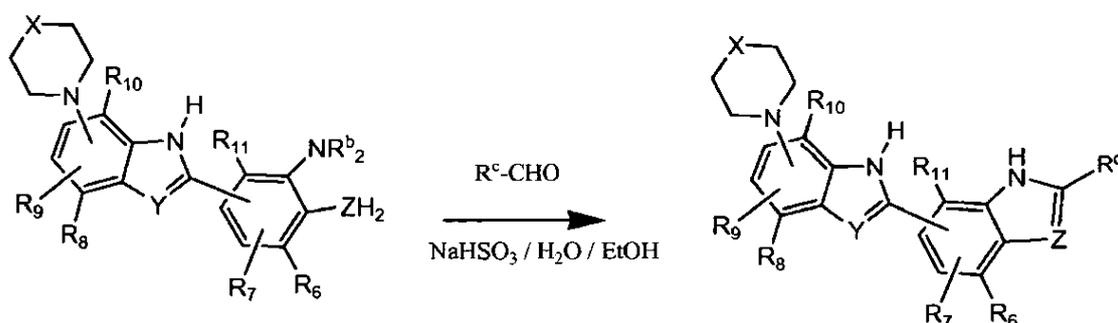
65 La administración dirigida de los radioprotectores también puede lograr mejores relaciones terapéuticas en radioterapia. Un ejemplo adecuado es la conjugación del radioprotector al factor de crecimiento hematopoyético para

lograr la radioprotección preferencial de las células madre hematopoyéticas en el contexto de la irradiación corporal total y el trasplante de médula ósea.

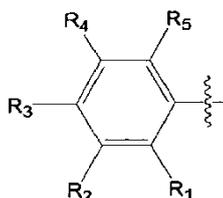
5 Fuera del contexto de la radioterapia del cáncer, los radioprotectores pueden utilizarse profilácticamente en situaciones de radiación de alto riesgo. Por ejemplo, el conjugado del factor de crecimiento hematopoyético descrito anteriormente se puede administrar para este propósito. Más en general, los radioprotectores representados por la fórmula (I) se pueden utilizar profilácticamente en situaciones donde existe un riesgo de exposición a la radiación o para mitigar los efectos de la exposición continuada. En tales situaciones, los compuestos se pueden administrar parenteralmente (preferiblemente por vía subcutánea) o por vía oral, sin ninguna consideración por el problema  
10 asociado con el contexto de la radioterapia del cáncer, es decir, la administración del radioprotector al tumor.

Los compuestos de fórmula (I) como los anteriormente mencionados se pueden preparar de acuerdo con el Esquema 1, como sigue:

Esquema 1



En el Esquema 1, X, Y, Z y R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> son como se han definido en relación a la Fórmula I y R<sup>c</sup> representa:



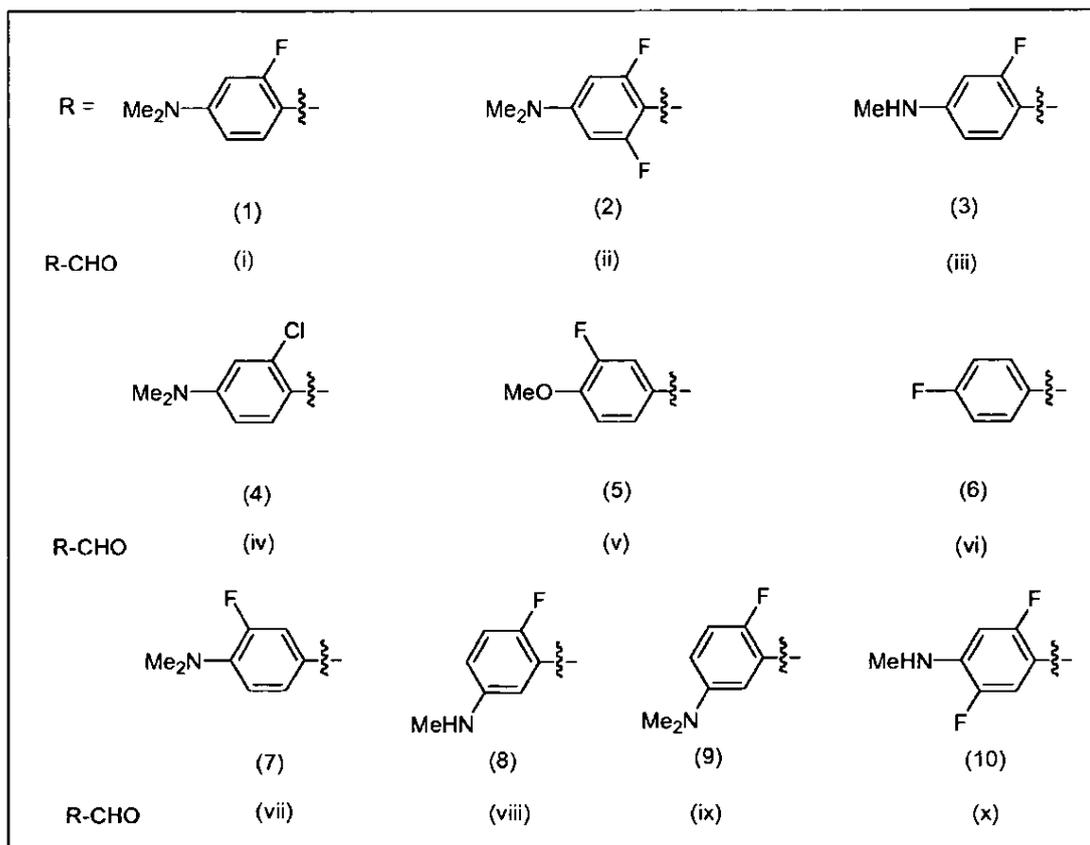
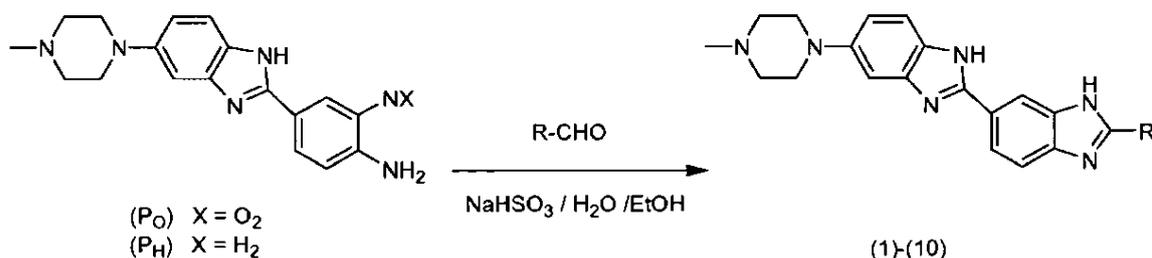
20 En el Esquema 1 R<sup>b</sup> inicialmente representa O. Este compuesto nitroamina (un ejemplo del cual ha sido previamente descrito por Kelly et al (5)) se reduce en la diamina, por ejemplo, por hidrogenación catalítica, en el que R<sup>b</sup> representa H. La diamina se acopla inmediatamente a continuación al aldehído deseado en presencia de metabisulfito para producir el bis-benzimidazol previsto. Los ejemplos específicos de compuestos producidos de acuerdo con el Esquema 1 se proporcionan a continuación.  
25

La invención se describirá ahora con referencia a los siguientes Ejemplos. Estos ejemplos no deben interpretarse como limitantes de la invención de ninguna manera.

30 Síntesis de bis-benzimidazoles fluorados o clorados

Los ligandos de ADN fluorados o clorados de los ejemplos (1)-(10) se prepararon de acuerdo con el esquema general esbozado en el Esquema 2. El precursor nitroamina (P<sub>O</sub>), cuya preparación se ha descrito anteriormente<sup>(5)</sup>, se redujo por hidrogenación catalítica al precursor diamina (P<sub>H</sub>) correspondiente, el cual se acopló inmediatamente a los aldehídos (i)-(x) en presencia de metabisulfito, obteniendo con un buen rendimiento los bis-benzimidazoles (1)-(10), respectivamente.  
35

Esquema 2



### Métodos

- 5 Los puntos de fusión se determinaron usando un aparato de punto de fusión electrotérmico y están sin corregir. La resonancia magnética nuclear (RMN) de protón (<sup>1</sup>H) y de carbono (<sup>13</sup>C) se registraron como soluciones en el disolvente indicado utilizando un espectrómetro Varian Inova 400 o Varian Inova 500, a 399,77 o 499,69 MHz, respectivamente, para <sup>1</sup>H y a 100,52 o 125,66 MHz, respectivamente, para <sup>13</sup>C. Los espectros de RMN de <sup>1</sup>H se midieron como desplazamientos químicos indicados en partes por millón (ppm) a partir de tetrametilsilano, seguido por la multiplicidad, constante(s) de acoplamiento, número de núcleos equivalentes y asignación. Se usaron las abreviaturas s para singlete, d para doblete, t para triplete, c para cuarteto, a para ancho y m para multiplete en las asignaciones de la multiplicidad. Un valor que se aproxima al centro de un multiplete aparece entre paréntesis. Se observó que la adición de unas pocas gotas de ácido trifluoroacético-d (d-TFA) a las soluciones de metanol-d<sub>4</sub> reducía el ensanchamiento de los picos y aumentaba la definición de multipletes en la región aromática. La adición de unas pocas gotas de ácido acético a las soluciones de metanol-d<sub>4</sub> se utilizó para aumentar la solubilidad para la adquisición de los espectros de RMN de <sup>13</sup>C. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Micromass Quattro II y se llevaron a cabo análisis de masas exactos por la Escuela de Química de la Universidad de Melbourne en un espectrómetro de masas de alta resolución del modelo Finnigan LTQ-FT. La cromatografía en capa fina (TLC) se llevó a cabo usando gel de sílice 60 de Merck, láminas de aluminio F<sub>254</sub> o láminas de óxido de aluminio neutro 150 F<sub>254</sub> de Merck. La cromatografía en columna ultrarrápida se realizó usando gel de sílice Ajax de 230-400 de malla.

El nitrobenzimidazol (P<sub>O</sub>) se preparó como se ha descrito anteriormente por Kelly et al<sup>(5)</sup>.

Ejemplo 1

Preparación de 4-dimetilamino-2-fluoro-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (1)

5 A una solución de 4-dimetilamino-2-fluorobenzaldehído (i) (1,98 g, 11,8 mmol) en etanol (35 ml) se añadió una solución de metabisulfito de sodio (2,6 g, 13,7 mmol) en 1:1 etanol/agua (40 ml) y la mezcla se calentó durante 10 min. A continuación se añadió una solución de diamina (P<sub>H</sub>) (de la hidrogenación catalítica de 3,22 g de nitroamina (P<sub>O</sub>), 9,14 mmol) en etanol (50 ml) y la mezcla se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 21 h. A  
10 continuación, el condensador se sustituyó por una cabeza de destilación y se eliminó aproximadamente 50 ml del disolvente de reacción por destilación. La mezcla de reacción restante se enfrió a -20 °C y el sólido amarillo se recogió y se lavó cuidadosamente con solución de amoníaco diluido (6 %, 50 ml), agua (50 ml), acetona (2 x 20 ml) y éter (50 ml) antes de secarse al vacío para dar 4-dimetilamino-2-fluoro-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (1) como un polvo de color amarillo pálido (2,50 g, 58 %), que se  
15 purificó adicionalmente por recristalización en etanol, *mp* > 240 °.

RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 2 gotas de d-TFA) δ 3,01, s, 3H, 4'''-MeN; 3,16, s, 6H, 4-Me<sub>2</sub>N; 3,20, t (J = 11,5 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,34, dt (J = 3,0, 13,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,69, d (J = 12,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,98, d (J = 13,5 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 6,75, dd (J = 2,5, 16,0 Hz), 1H, H<sub>3</sub>; 6,84, dd (J = 2,5, 9,5 Hz), 1H, H<sub>5</sub>; 7,35, d (J = 2,0 Hz), 1H, H<sub>4</sub>''; 7,45, dd (J = 2,5, 9,0 Hz), 1H, H<sub>6</sub>''; 7,76, d (J = 9,0 Hz), 1H, H<sub>7</sub>''; 7,97, t ap (J = 9,0 Hz), 1H, H<sub>6</sub>; 8,02, d (J = 8,5 Hz), 1H, H<sub>7</sub>''; 8,21, dd (J = 1,5, 8,7 Hz), 1H, H<sub>6</sub>''; 8,50, d (J = 1,5 Hz), 1H, H<sub>4</sub>'. RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 3 gotas de HOAc) δ 39,9, 4-Me<sub>2</sub>N; 43,6, 4'''-MeN; 49,3, C2'''/6'''; 54,6, C3'''/5'''; 98,7, d (<sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 26 Hz), C3; 102,1, C4''; 102,9, d (<sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 11 Hz), C1; 109,0, C5; 113,2, C4'; 115,6, C7''; 116,1, 116,5, C6'', C7''; 122,3, C6'; 123,0, C5'; 131,0, d (<sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 3 Hz), C6; 133,8, C7a''; 138,4, 138,6, C3a', C3a''; 140,3, C7a'; 148,5, C5'', 150,8, 152,5, C2', C2''; 154,6, d (<sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 12 Hz), C4; 162,7, d (<sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 246 Hz), C2. MS (ESI + ve) *m/z* 470 (M+H, 50 %). HRMS (ESI + ve) *m/z* 470,2461, C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>FN<sub>7</sub> requiere 470,2463 (Δ = 0,4 ppm).

Ejemplo 2

30 Preparación de 2,6-difluoro-4-dimetilamino-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (2)

Una solución de 2,6-difluoro-4-dimetilaminobenzaldehído (ii) (0,20 g, 1,1 mmol) en etanol (10 ml) se trató con una solución de metabisulfito de sodio (0,246 g, 1,3 mmol) en agua (1 ml) y la mezcla combinada se añadió a  
35 continuación a una solución de la diamina (P<sub>H</sub>) (0,29 g, 0,9 mmol) en etanol (14 ml) y se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 24 h. La mezcla de reacción se enfrió, se separaron los disolventes mediante evaporador rotatorio y el residuo se trató con una solución de amoníaco diluido (6 %, 2 x 20 ml), acetonitrilo (2 x 20 ml) y éter (2 x 20 ml) con cada tratamiento seguido de centrifugación y eliminación del sobrenadante. El secado del sólido resultante a vacío proporcionó 2,6-difluoro-4-dimetilamino-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (2) como un polvo de color tostado claro (0,362 g, 82 %), *mp* 259-261 °.

RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 3 gotas de d-TFA) δ 3,02, s, 3H, 4'''-MeN; 3,17, s, 6H, 4-Me<sub>2</sub>N; 3,23, t (J = 12 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,36, m (oscurecido), NCH<sub>2</sub>; 3,70, d (J = 12,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,99, d (J = 13,5 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 6,69, d (J = 14,5 Hz), 2H, H<sub>3</sub>/5; 7,34, d (J = 2,0 Hz), 1H, H<sub>4</sub>''; 7,45, dd (J = 2,0, 9,5 Hz), 1H, H<sub>6</sub>''; 7,77, d (J = 9,0 Hz), 1H, H<sub>7</sub>''; 8,06, d (J = 8,5 Hz), 1H, H<sub>7</sub>''; 8,25, dd (J = 1,5, 9,0 Hz), 1H, H<sub>6</sub>''; 8,56, d (J = 1,5 Hz), 1H, H<sub>4</sub>'. RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 3 gotas de HOAc) δ 40,0, 4-Me<sub>2</sub>N; 43,6, 4'''-MeN; 49,4, C2'''/6'''; 54,6, C3'''/5'''; 94,4, t (<sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 16 Hz), C1; 95,8, d (<sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 28 Hz), C3'''/C5'''; 102,4, C4''; 113,9, C4'; 116,1, 116,4, 116,6, C6'', C7'', C7''; 122,6, C6'; 124,0, C5'; 134,7, C7a''; 139,0, 139,2, C3a', C3a''; 140,5, C7a'; 146,5, C2' o C2''; 148,5, C5''; 153,1, C2' o C2''; 154,0, t (<sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 14 Hz), C4; 162,9, dd (<sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 10 Hz, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 248 Hz), C2/6. MS (ESI + ve) *m/z* 488 (M + H, 10 %).

Ejemplo 3

Preparación de 2-fluoro-4-metilamino-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (3)

55 Una solución de 2-fluoro-4-metilaminobenzaldehído (iii) (0,10 g, 0,65 mmol) en etanol (10 ml) se trató con una solución de metabisulfito de sodio (0,15 g, 0,8 mmol) en agua (5 ml) y la mezcla se calentó suavemente durante 10 min. Se añadió una solución de la diamina (P<sub>H</sub>) (0,16 g, 0,5 mmol) en etanol (16 ml) y la mezcla se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 21,5 h. La mezcla de reacción se enfrió, se filtró y el sólido filtrado se lavó con  
60 una solución de amoníaco diluido (6 %, 2 x 10 ml), acetona (2 x 10 ml), éter (2 x 10 ml), después se secó a vacío para dar 2-fluoro-4-metilamino-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (3) como un polvo de color tostado (0,165 g, 73 %).

RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 3 gotas de d-TFA) δ 2,91, s, 3H, 4-MeN; 3,01, s, 3H, 4'''-MeN; 3,20, t (J = 12 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,34, m (oscurecido), NCH<sub>2</sub>; 3,69, d (J = 11 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,98, d (J = 13 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 6,59, dd (J = 2,0, 15,0 Hz), 1H, H<sub>3</sub>; 6,70, dd (J = 2,5, 9,0 Hz), 1H, H<sub>5</sub>; 7,35, d (J = 2,0 Hz), 1H, H<sub>4</sub>''; 7,45, dd (J = 2,5, 9,0 Hz), 1H,

H6"; 7,76, d (J = 9,0 Hz), 1H, H7"; 7,89, t ap (J = 8,8 Hz), 1H, H6; 8,01, d (J = 8,5 Hz), 1H, H7'; 8,21, dd (J = 1,5, 8,8 Hz), 1H, H6'; 8,49, d (J = 1,0 Hz), 1H, H4'. RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $d_4$ -MeOH + 1 gota de HOAc)  $\delta$  29,9, 4-MeHN; 44,3, 4"-MeN; 50,1 C2"/6"; 55,1, C3"/5"; 98,4, d ( $^2J_{\text{CF}} = 25$  Hz), C3; 102,6, C4"; 104,4, d ( $^2J_{\text{CF}} = 18$  Hz), C1; 110,0, C5; 113,7, C4'; 115,8, C7'; 116,39, 116,43, C6", C7"; 122,3, C6'; 124,6, C5'; 131,5, d ( $^3J_{\text{CF}} = 7$  Hz), C6; 135,5, C7a"; 139,77, 139,85, C3a', C3a"; 141,2, C7a'; 148,6, C5"; 151,8, 153,7, C2', C2"; 155,4, d ( $^3J_{\text{CF}} = 12$  Hz), C4; 163,4, d ( $^1J_{\text{CF}} = 248$  Hz), C2. MS (ESI + ve)  $m/z$  456 (M + H, 25 %). HRMS (ESI + ve)  $m/z$  456,2306,  $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{FN}_7$  requiere 456,2306 ( $\Delta = 0,0$  ppm).

#### Ejemplo 4

Preparación de 2-cloro-4-dimetilamino-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2'-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (4)

Se hidrogenó nitroamina ( $P_N$ ) (0,115 g, 0,327 mmol) en MeOH/EtOAc 20 % (20 ml) en presencia de Pd/C 5 % a presión atmosférica. Después de 3 horas se eliminó el catalizador por filtración a través de celite y el filtrado se evaporó. A continuación, el residuo de diamina se protegió de la luz y se mantuvo en atmósfera de nitrógeno. Se añadió metabisulfito de sodio (0,327 mmol) en 1:1 EtOH/H<sub>2</sub>O (3 ml) a 2-cloro-4-dimetilaminobenzaldehído (iv) (0,06 g, 0,327 mmol) en EtOH (3 ml). A continuación la diamina ( $P_H$ ) en EtOH (3 ml) se añadió al complejo aldehído/metabisulfito y la mezcla se agitó a reflujo durante 4 horas. La mezcla resultante se enfrió a 0 °C durante 3 días y el precipitado resultante por filtración se aisló dando (4) (0,1 g) como un polvo marrón.

RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $d_4$ -MeOH + 3 gotas de d-TFA)  $\delta$  3,00, s, 3H, MeN; 3,14, s, 6H, Me<sub>2</sub>N 3,23, t (J = 12,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,34, m (obs), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,68, d (J = 11,0 Hz), 2 H, NCH<sub>2</sub>; 3,98, d (J = 14,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 6,93, dd, (J = 2,0, 8,5 Hz), 1H, H5; 7,00, d, (J = 2,0 Hz), 1H, H3; 7,40, sa, 1H, H4"; 7,44, dd (J = 2,0, 8,5 Hz), 1H, H6"; 7,77, d (J = 8,8 Hz), 1H, H7"; 7,84, d, (J = 9,0 Hz), 1H, H5; 8,08, d (J = 8,8 Hz), 1H, H7'; 8,26, dd (J = 2,0, 8,5 Hz), 1H, H6'; 8,59, d (J = 1,5 Hz), 1H, H4'. HRMS (ESI + ve)  $m/z$  486,2162 calc = 416,2168, ( $\Delta = 1,2$  ppm).

#### Ejemplo 5

Preparación de 3-fluoro-4-metoxi-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2'-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (5)

Se hidrogenó nitroamina ( $P_O$ ) (0,45 g, 1,3 mmol) en MeOH/EtOAc 20 % (20 ml) en presencia de Pd/C 5 % a presión atmosférica. Después de 5 horas se eliminó el catalizador por filtración y el filtrado se evaporó para dar la diamina ( $P_H$ ) como un residuo naranja. Se añadió metabisulfito de sodio (0,49 g, 2,6 mmol) en 1:1 EtOH/H<sub>2</sub>O (20 ml) a 3-fluoro-4-metoxibenzaldehído (v) (0,40 g 2,6 mmol) en EtOH (20 ml). La diamina recién preparada ( $P_H$ ) en EtOH (40 ml) se añadió al complejo aldehído/metabisulfito y la mezcla se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 20 horas. La mezcla se evaporó y el residuo resultante se lavó con Et<sub>2</sub>O y cloroformo caliente. El sólido resultante se disolvió en EtOH mínimo, después se trató con Et<sub>2</sub>O, el sólido obtenido por filtración se disolvió a continuación en HCl 1 N y se volvió a precipitar por la adición de una solución de NH<sub>3</sub> 28 %. La filtración dio (5) como un polvo marrón (0,128 g).

RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $d_4$ -MeOH + 3 gotas de d-TFA)  $\delta$  3,01, s, 3H, MeN; 3,22, t (J = 12,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,33, m, 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,69, d (J = 12 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,97, d (J = 13,2 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 4,04, s, 3H, OCH<sub>3</sub>; 7,36, d (J = 2,2 Hz), 1H, H4"; 7,42, dd (J = 2,2, 9,3 Hz), 1H, H6"; 7,47, t ap (J = 9,0 Hz), 1H, H4; 7,76, d (J = 9,0 Hz), 1H, H7"; 8,00, dd (J = 11,5, 2,1 Hz), 1H, H2; 8,05, dd, (J = 8,8, 1,5 Hz), 1H, H5; 8,08, d, (J = 8,5 Hz), 1H, H7' 8,25, dd (J = 1,8, 8,6 Hz), 1H, H6'; 8,58, d (J = 1,7 Hz), 1H, H4'. RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $d_4$ -MeOH + 1 gota de HOAc)  $\delta$  43,6, 4"-MeN; 48,6 C2"/6"; 54,6, C3"/5"; 56,6 (OMe); C3; 101,3, C4"; 114,1, 114,3, 115,07 (C3,  $^3J_{\text{CF}} = 21$  Hz) 115,7 (ArCH), 116,5 (ArCH), 117,3 (ArCH), 120,2, (C5'/Cl); 121,9 (C5'/C1); 122,3 (C6'); 124,3 (C6); 130,7 (C7a"), 136,3 (C3a'/C3a"); 142,0 (C7a'); 149,0 (C5"); 150,82 ( $^4J_{\text{CF}} = 10$  Hz) (C4); 151,0 (C2'/C2'); 153,05 ( $^1J_{\text{CF}} = 245$  Hz) (C3); 153,9 (C2'/C2"). HRMS (ESI + ve)  $m/z$  = 457,2140, calc = 457,2149, ( $\Delta = 2,0$  ppm).

#### Ejemplo 6

4-fluoro-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2'-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (6)

Se hidrogenó nitroamina ( $P_O$ ) (0,500 g, 1,42 mmol) en MeOH/EtOAc 20 % (20 ml) en presencia de Pd/C 5 % a presión atmosférica. Después de 5 horas se eliminó el catalizador por filtración a través de celite y el filtrado se evaporó. A continuación, el residuo resultante se protegió de la luz y se mantuvo en atmósfera de nitrógeno. Se añadió metabisulfito de sodio (0,437 g, 2,30 mmol) en 1:1 EtOH/H<sub>2</sub>O (20 ml) a 4-fluorobenzaldehído (vi) (0,29 g, 2,30 mmol) en EtOH (20 ml). A continuación la diamina ( $P_H$ ) en EtOH (40 ml) se añadió al complejo aldehído/metabisulfito y la mezcla se agitó a reflujo durante 20 horas. La mezcla se dejó enfriar a continuación hasta temperatura ambiente durante unas pocas horas. Después de la filtración, el sólido obtenido se lavó con EtOH, se diluyó con HCl (1N) y se volvió a precipitar con 28 % de NH<sub>3</sub>liq para dar un compuesto puro (6) (0,230 g).

RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $d_4$ -MeOH + 3 gotas de d-TFA)  $\delta$  3,01, s, 3H, MeN; 3,23, t (J = 12,0 Hz), 2 H, NCH<sub>2</sub>; 3,34, m (obs), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,69, d (J = 11,5 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,97, d (J = 14,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 7,35, d (J = 2,0 Hz), 1H, H4";

7,42, dd (J = 2,3, 9,3 Hz), 1H, H6"; 7,48, t ap (J = 9,0 Hz), 2H, H3/5; 7,75, d (J = 9,0 Hz), 1H, H7"; 8,07, d (J = 8,5 Hz), 1H, H7"; 8,22, dd (J = 2,0, 8,5 Hz), 1H, H6"; 8,26, dd (J = 5,0, 9,0 Hz), 2H, H2/6; 8,58, d (J = 1,5 Hz), 1H, H4'. HRMS (ESI + ve)  $m/z = 428,2025$ , calc = 428,2074. ( $\Delta = 13,8$  ppm).

### 5 Ejemplo 7

Preparación de 4-dimetilamino-3-fluoro-1-(5'-(5'-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (7)

10 A partir de la nitroamina (P<sub>0</sub>) y el 4-dimetilamino-3-fluorobenzaldehído (vii), según el método descrito para la preparación de (1) dio (7) como un polvo de color amarillo pálido.

15 RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 2 gotas de d-TFA)  $\delta$  2,99, s, 3H, MeN; 3,15, s, 6H, 4-Me<sub>2</sub>N; 3,22, t (J = 11,5 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,34, m, 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,68, d (J = 11,9 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,96, d (J = 13,5 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 7,11, t ap (J = 8,5 Hz), 1H, H5; 7,37, d (J = 2,0 Hz), 1H, H4"; 7,44, dd (J = 2,5, 9,3 Hz), 1H, H6"; 7,76, d (J = 9,0 Hz), 1H, H7"; 7,90, dd (J = 2,0, 14,7 Hz), 1H, H2; 7,92, dd (J = 2,0, 9,0 Hz), 1H, H2; 8,03, d (J = 8,5 Hz), 1H, H7"; 8,24, dd (J = 1,5, 6,9 Hz), 1H, H6"; 8,54, d (J = 1,5 Hz), 1H, H4'. HRMS (ESI + ve)  $m/z = 470,2459$  calc = 470,2463, ( $\Delta = 0,8$  ppm).

### 20 Ejemplo 8

Preparación de 2-fluoro-5-metilamino-1-(5'-(5'-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (8)

25 A una solución de 2-fluoro-5-metilaminobenzaldehído (viii) (155 mg, 1,01 mmol) en etanol (5 ml) se añadió lentamente una solución de metabisulfito de sodio (206 mg, 1,08 mmol) en agua (1 ml). A continuación, la mezcla resultante se añadió a una solución de la diamina (preparada a partir de la hidrogenación catalítica de 0,92 mmol de nitroamina P<sub>0</sub>) en etanol (5 ml), utilizándose etanol adicional (5 ml) para ayudar a la transferencia. La mezcla se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 16,5 h antes de enfriar y eliminar el disolvente mediante evaporador rotatorio. El residuo se trató con una solución de amoniaco diluido (6 %, 3 x 10 ml), acetonitrilo (2 x 10 ml) y éter dietílico (2 x 10 ml) con centrifugación y la eliminación del sobrenadante después de cada tratamiento. El secado del sólido resultante a vacío dio un polvo de color marrón claro que se disolvió en 4:1 de acetato de etilo/metanol (3 ml) y se filtró a través de un tapón de alúmina (neutro, act. I, 40 x 40 mm) utilizando la misma mezcla de disolvente, para dar 2-fluoro-5-metilamino-1-(5'-(5'-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno como un sólido vítreo de color marrón (353 mg, 84 %), pf 195-198 °C.

35 RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 4 gotas de d-TFA)  $\delta$  3,00, s, 3H, 5-MeN o 4'''-MeN; 3,02, s, 3H, 4'''-MeN o 5-MeN; 3,20, t (J = 12,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,34, m (oscurecido), NCH<sub>2</sub>; 3,69, d (J = 12,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,97, d (J = 13,5 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 7,35, m, 2H, H4, H4"; 7,43, m, 2H, H3, H6"; 7,74, d (J = 9,0 Hz), 1H, H7"; 7,77, dd (J = 2,8, 5,8 Hz), 1H, H6; 8,04, d (J = 9,0 Hz), 1H, H7"; 8,15, dd (J = 8,5, 2,0 Hz), 1H, H6"; 8,55, d (J = 1,5 Hz), 1H, H4'. RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 3 gotas de HOAc)  $\delta$  31,0, 5-MeHN; 43,6, 4'''-MeN; 49,2, C2'''/6''; 54,5, C3'''/5''; 102,2, C4''; 112,0, C6; 114,6, C4'; 116,1, 116,5, 116,8, C6'', C7', C7''; 117,4, d (<sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 7 Hz), C4; 117,7, d (<sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 23 Hz), C3; 117,8 (parcialmente obs), C1; 122,6, C6'; 123,5, C5'; 133,8, C7a''; 138,6, 139,7, C3a', C3a''; 141,2, C7a'; 148,2, 148,5, C5, C5'', 151,0, 152,7, C2', C2''; 154,0, d (<sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 238 Hz), C2. MS (ESI + ve)  $m/z$  456 (M+H, 100 %). HRMS (ESI + ve)  $m/z$  456,23072, C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>7</sub> requiere 456,23065 ( $\Delta = 0,2$  ppm).

### 45 Ejemplo 9

Preparación de 5-dimetilamino-2-fluoro-1-(5'-(5'-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (9)

50 A una solución de 5-dimetilamino-2-fluorobenzaldehído (ix) (185 mg, 1,1 mmol) en etanol (5 ml) se añadió lentamente una solución de metabisulfito de sodio (261 mg, 1,37 mmol) en agua (1 ml) y la mezcla combinada se añadió después a una suspensión de la diamina (preparada a partir de la hidrogenación catalítica de 1,04 mmol de nitroamina P<sub>0</sub>) en etanol (5 ml), utilizando etanol adicional (5 ml) para facilitar la transferencia. A continuación, la mezcla se sometió a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 24 h antes de enfriar y eliminar el disolvente mediante evaporador rotatorio. El residuo se trató con una solución de amoniaco diluido (6 %, 2 x 15 ml), acetonitrilo (2 x 10 ml) y éter dietílico (2 x 10 ml) con centrifugación y eliminación del sobrenadante después de cada tratamiento. El polvo de color tostado seco resultante (467 mg) se recristalizó en metanol con filtración en caliente para dar 5-dimetilamino-2-fluoro-1-(5'-(5'-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno como un polvo de color tostado claro (348 mg, 71 %), pf 231-233 °C.

65 RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 3 gotas de d-TFA)  $\delta$  3,00, s, 3H, 4'''-MeN; 3,17, s, 6H, 5-Me<sub>2</sub>N; 3,24, t ap (J = 13,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,34, m (oscurecido), NCH<sub>2</sub>; 3,68, d (J = 12,0 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,96, d (J = 13,5 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 7,34, d (J = 2,0 Hz), 1H, H4"; 7,43, m, 3H, H3, H4, H6"; 7,74, d (J = 9,0 Hz), 1H, H7"; 7,80, dd (J = 3,0, 5,5 Hz), 1H, H6; 8,08, dd (J = 0,8, 8,8 Hz), 1H, H7"; 8,20, dd (J = 2,0, 8,5 Hz), 1H, H6"; 8,60, dd (J = 1,8, 1,0 Hz), 1H, H4'. RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 3 gotas de HOAc)  $\delta$  41,1, 5-Me<sub>2</sub>N; 43,6, 4'''-MeN; 49,4, C2'''/6''; 54,6, C3'''/5''; 102,4, C4'';

113,4, C6; 114,6, C4'; 116,3, 116,5, 116,7, C6'', C7', C7''; 117,3, d ( $^3J_{CF} = 7$  Hz), C4; 117,4 (parcialmente obs), Cl; 117,6, d ( $^2J_{CF} = 23$  Hz), C3; 122,7, C6'; 124,0, C5'; 134,4, C7a''; 139,0, 139,8, C3a', C3a''; 141,2, C7a'; 148,5, 149,0, C5, C5'', 151,0, 152,9, C2', C2''; 154,0, d ( $^1J_{CF} = 239$  Hz), C2. MS (ESI + ve)  $m/z$  470 (MH<sup>+</sup>, 100 %). HRMS (ESI + ve)  $m/z$  470,24612, C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>FN<sub>7</sub> requiere 470,24630 ( $\Delta = 0,4$  ppm).

### Ejemplo 10

Preparación de 2,5-difluoro-4-metilamino-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (10)

A una solución de 2,5-difluoro-4-metilaminobenzaldehído (x) (250 mg, 1,46 mmol) en etanol (16 ml) se añadió una solución de metabisulfito de sodio (270 mg, 1,42 mmol) en agua (1 ml) y la mezcla combinada se añadió a continuación a una suspensión de la diamina (preparada a partir de la hidrogenación catalítica de 1,22 mmol de nitroamina, P<sub>O</sub>) en etanol (14 ml). A continuación, la mezcla se sometió a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 16 h antes de enfriar y la eliminación del disolvente mediante evaporador rotatorio. El residuo se trató con una solución de amoníaco diluido (6 %, 2 x 20 ml), acetonitrilo (2 x 20 ml) y éter dietílico (2 x 20 ml) con centrifugación y eliminación del sobrenadante después de cada tratamiento. El sólido resultante se secó a vacío para dar 2,5-difluoro-4-metilamino-1-(5'-(5''-(4'''-metilpiperazin-1'''-il)benzimidazol-2''-il)benzimidazol-2'-il)benzeno (0,524 mg, 91 %), pf 209-215 ° C.

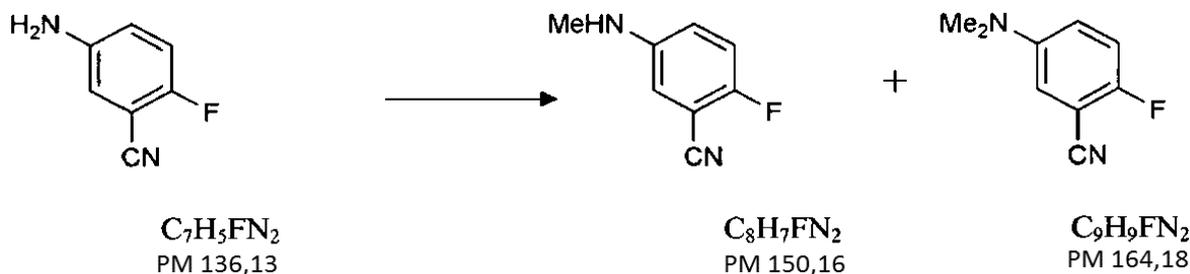
RMN de  $^1H$  (500 MHz, d<sub>4</sub>-MeOH + 3 gotas de d-TFA)  $\delta$  2,94, s, 3H, 4-MeN; 3,02, s, 3H, 4'''-MeN; 3,22, t (J = 13 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,34, m (oscurecido), NCH<sub>2</sub>; 3,70, d (J = 13 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 3,97, d (J = 13 Hz), 2H, NCH<sub>2</sub>; 6,70, dd (J = 7,2, 14,0 Hz), 1H, H3; 7,34, d (J = 2,0 Hz), 1H, H4''; 7,42, dd (J = 2,3, 9,3 Hz), 1H, H6''; 7,76, m, 2H, H6, H7''; 7,99, d (J = 9,0 Hz), 1H, H7'; 8,18, dd (J = 2,0, 8,5 Hz), 1H, H6'; 8,47, d (J = 1,5 Hz), 1H, H4'.

### Ejemplo 11

Preparación de aldehídos

a) Preparación de 2-fluoro-5-metilaminobenzaldehído (viii)

Etapas 1: Preparación de 2-fluoro-5-metilaminobenzonitrilo y 5-dimetilamino-2-fluorobenzonitrilo



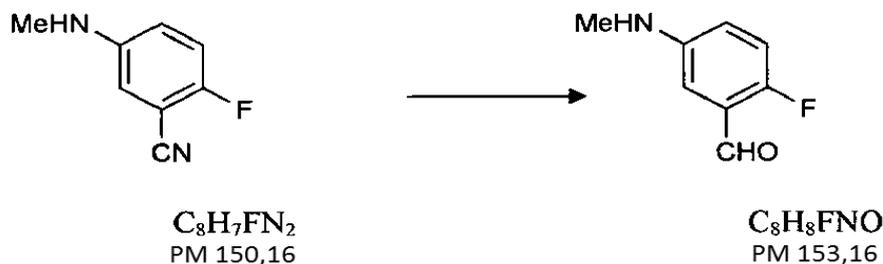
A una suspensión de 5-amino-2-fluorobenzonitrilo (2,50 g, 18,4 mmol) en metanol (100 ml) se añadió carbonato de potasio (7,66 g, 55,4 mmol, 3 eq.) seguido de yoduro de metilo (2,35 ml, 37,6 mmol, 2 eq.) y la mezcla se calentó a reflujo suavemente en un baño de aceite a 65 ° en atmósfera de nitrógeno durante 23 h. A continuación se añadió yoduro de metilo adicional (4,7 ml, 4 eq.) y se continuó el reflujo durante otras 23,5 h más cuando todo el material de partida se había consumido (según lo indicado por TLC<sub>Rf</sub> 0,09). La mezcla de reacción se concentró y el residuo se repartió entre éter dietílico (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se volvió a extraer con éter (100 ml) y el extracto de éter combinado se lavó con agua (100 ml), salmuera (100 ml), se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporó para dar un sólido oleoso de color naranja-marrón (1,656 g). La cromatografía en columna (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> neutro act I, 40 x 150 mm) eluyendo con 4:1 hexano/cloroforno proporcionó 5-dimetilamino-2-fluorobenzonitrilo (1,050 g, 35 %) como un sólido blanco, pf 72-72,5 ° C. La elución adicional con 3:2 hexano/cloroforno proporcionó 2-fluoro-5-metilaminobenzonitrilo (0,37 g, 13 %) en forma de un sólido blanco, pf 64-65 ° C.

**5-Dimetilamino-2-fluorobenzonitrilo:** RMN de  $^1H$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2,94, s, 6H, NMe<sub>2</sub>; 6,76, dd (J = 3,3, 4,8 Hz), 1H, H6; 6,86, ddd (J = 9,0, 4,0, 3,5 Hz), 1H, H4; 7,04, dd (J = 8,5, 9,0 Hz), 1H, H3. RMN de  $^{13}C$  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  40,7, NMe<sub>2</sub>; 101,0, d ( $^2J_{CF} = 16$  Hz), Cl; 114,9, CN; 115,0, d ( $^3J_{CF} = 3$  Hz), C6; 116,6, d ( $^2J_{CF} = 20$  Hz), C3; 118,3, d ( $^3J_{CF} = 6$  Hz), C4; 147,0, C5; 155,3, d ( $^1J_{CF} = 247$  Hz), C2. MS (ESI + ve)  $m/z$  165 (M+H, 100 %). HRMS (ESI + ve)  $m/z$  165,08220, C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>FN<sub>2</sub> requiere 165,08225 ( $\Delta = 0,1$  ppm).

**2-Fluoro-5-metilaminobenzonitrilo:** RMN de  $^1H$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2,82, s, 3H, NMe; 3,87, a, 1H, NH; 6,68, t ap (J = 3,5 Hz), 1H, H6; 6,75, m, 1H, H4; 7,00, t ap (J = 8,8 Hz), 1H, H3. RMN de  $^{13}C$  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  30,7, NHMe; 101,1, d ( $^2J_{CF} = 17$  Hz), C1; 113,9, C6; 114,7, CN; 116,8, d ( $^2J_{CF} = 21$  Hz), C3; 118,7, d ( $^3J_{CF} = 7$  Hz), C4; 145,8, C5;

155,8, d ( $^1J_{CF} = 246$  Hz), C2. MS (ESI + ve)  $m/z$  301 (2M + H, 60 %), 151 (M+H, 100). HRMS (ESI + ve)  $m/z$  151,06661,  $C_8H_8FN_2$  requiere 151,06660 ( $\Delta = 0,1$  ppm).

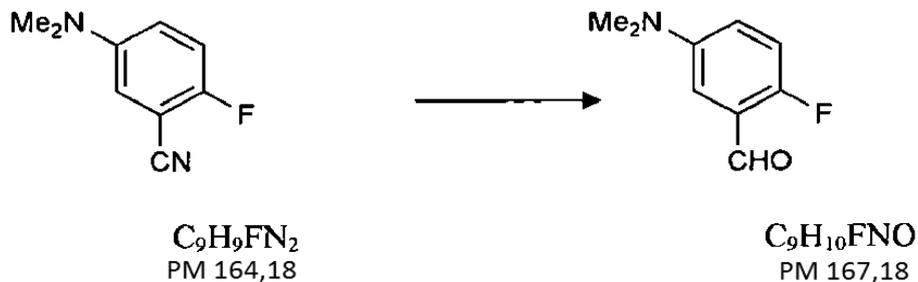
5 Etapa 2: Preparación de 2-fluoro-5-metilaminobenzaldehído (viii)



10 A una solución de 2-fluoro-5-metilaminobenzonitrilo (307 mg, 2,04 mmol) en éter dietílico seco (10 ml) agitada a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno, se añadió gota a gota hidruro de diisobutilaluminio mediante una jeringa (2,8 ml, 1,0 M en tolueno, 2,8 mmol, 1,4 eq) y se continuó agitando durante 19,5 h. La solución se enfrió en un baño de hielo y se añadió gota a gota metanol (1,0 ml) y la mezcla se agitó durante 1 h antes de añadir HCl 1,0 M (9 ml) y la agitación se continuó durante 1 h más. La mezcla de reacción se alcalinizó con NaOH (0,4 g), después se repartió entre éter (50 ml) y agua (50 ml) y la capa acuosa se volvió a extraer con éter (50 ml). El extracto de éter combinado se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre  $MgSO_4$  y se evaporó para dar un aceite naranja (289 mg), que se sometió a cromatografía en columna (gel de sílice, 30 x 190 mm) eluyendo con diclorometano 100 %, proporcionando 2-fluoro-5-metilaminobenzaldehído (viii) como un sólido cristalino amarillo (162 mg, 52 %), pf 36-38 ° C.

20 RMN de  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  2,85, d ( $J = 5,0$  Hz), 3H, NMe; 3,77, a, 1H, NH; 6,82, ddd ( $J = 9,0, 4,3, 3,3$  Hz), 1H, H4; 6,97, dd ( $J = 5,5, 3,0$  Hz), 1H, H6; 7,00, t ap ( $J = 9,3$  Hz), 1H, H3; 10,32, s, 1H, CHO. RMN de  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  31,0, NMe; 108,6, C6; 116,9, d ( $^2J_{CF} = 22$  Hz), C3; 120,7, d ( $^3J_{CF} = 8$  Hz), C4; 124,0, d ( $^2J_{CF} = 9$  Hz), C1; 145,9, C5; 158,0, d ( $^1J_{CF} = 248$  Hz), C2; 187,0, d ( $^3J_{CF} = 7$  Hz), CHO. MS (ESI + ve)  $m/z$  154 (M+H, 100 %). HRMS (ESI + ve)  $m/z$  154,06631,  $C_8H_9FNO$  requiere 154,06627 ( $\Delta = 0,3$  ppm).

25 b) Preparación de 5-dimetilamino-2-fluorobenzaldehído (ix)

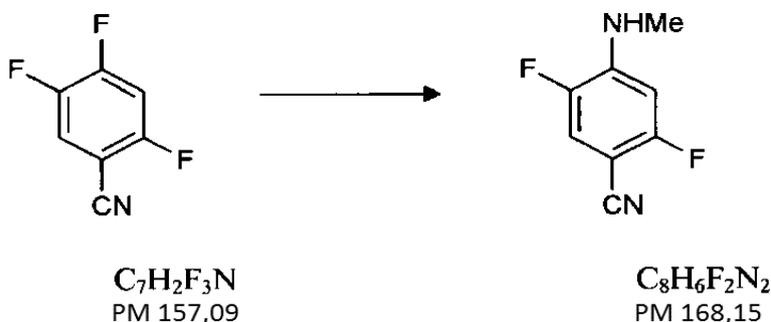


30 A una solución de 5-dimetilamino-2-fluorobenzonitrilo (viii) (331 mg, 2,02 mmol) en éter dietílico seco (10 ml) agitada a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno, se añadió gota a gota hidruro de diisobutilaluminio mediante una jeringa (2,8 ml, 1,0 M en tolueno, 2,8 mmol, 1,4 eq) y se continuó agitando durante 19,5 h. La solución se enfrió en un baño de hielo y se añadió gota a gota metanol (1,0 ml) y la mezcla se agitó durante 1 h antes de añadir HCl 1,0 M (9 ml) y la agitación se continuó durante 1 h más. La mezcla de reacción se alcalinizó con NaOH (0,4 g), después se repartió entre éter (50 ml) y agua (50 ml) y la capa acuosa se volvió a extraer con éter (50 ml). El extracto de éter combinado se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre  $MgSO_4$  y se evaporó para dar un aceite naranja (323 mg), que se sometió a cromatografía en columna (gel de sílice, 30 x 170 mm) eluyendo con diclorometano 100 %, proporcionando 5-dimetilamino-2-fluorobenzaldehído (ix) como un aceite de color amarillo-verde brillante (228 mg, 68 %).

40 RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  2,94, s, 6H, NMe<sub>2</sub>; 6,93, dt ( $J = 8,8, 4,0$  Hz), 1H, H4; 7,03, t ap ( $J = 9,4$  Hz), 1H, H3; 7,07, dd ( $J = 3,4, 5,4$  Hz), 1H, H6; 10,32, s, 1H, CHO. RMN de  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  40,9, NMe<sub>2</sub>; 109,8, C6; 116,7, d ( $^2J_{CF} = 22$  Hz), C3; 120,3, d ( $^3J_{CF} = 8$  Hz), C4; 123,8, d ( $^2J_{CF} = 8$  Hz), C1; 147,4, C5; 157,6, d ( $^1J_{CF} = 248$  Hz), C2; 187,8, d ( $^3J_{CF} = 7$  Hz), CHO. MS (ESI + ve)  $m/z$  168 (M+H, 100 %). HRMS (ESI + ve)  $m/z$  168,08192,  $C_9H_{11}FNO$  requiere 168,08192 ( $\Delta = 0,0$  ppm).

45 c) Preparación de 2,5-difluoro-4-metilaminobenzaldehído (x)

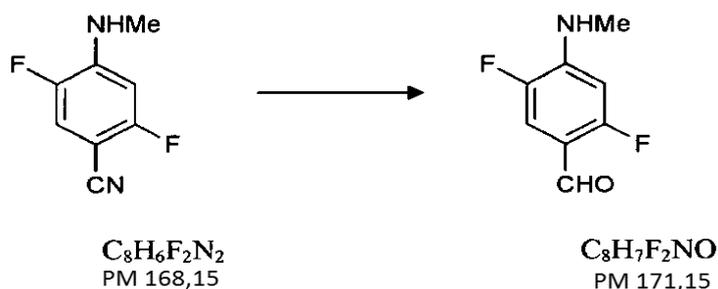
Etapa 1: Preparación de 2,5-difluoro-4-metilaminobenzonitrilo



5 A una solución de 2,4,5-trifluorobenzonitrilo (0,575 g, 3,7 mmol) en etanol (20 ml) se añadió metilamina (30 % acuosa, 4,2 ml, 37 mmol) y la mezcla se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción se repartió a continuación entre éter dietílico (100 ml) y agua (100 ml) y la capa acuosa se volvió a extraer con éter dietílico (100 ml). El extracto de éter combinado se lavó con salmuera (200 ml), se secó ( $\text{MgSO}_4$ ) y se evaporó para dar 2,5-difluoro-4-metilaminobenzonitrilo (0,549 g, 89 %), pf 160-163 °C.

10 RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2,92, d (J = 5,0 Hz), 3H, NMe; 4,68, a, 1H, NH; 6,36, dd (J = 7,3, 10,8 Hz), 1H, H3; 7,10, dd (J = 6,0, 11,0 Hz), 1H, H6. MS (ESI + ve)  $m/z$  169 ( $\text{MH}^+$ , 100 %).

15 Etapa 2: Preparación de 2,5-difluoro-4-metilaminobenzaldehído (X)



20 A una solución de 2,5-difluoro-4-metilaminobenzonitrilo (0,509 g, 3,03 mmol) en éter dietílico seco (40 ml) agitada a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno, se añadió gota a gota hidruro de diisobutilaluminio mediante una jeringa (5,5 ml, 1,0 M en tolueno, 5,5 mmol) y se continuó agitando durante 16 h. La solución se enfrió en un baño de hielo y se añadió gota a gota metanol (2,8 ml) y la mezcla se agitó durante 1 h antes de añadir HCl 1,0 M (17 ml) y la agitación se continuó durante 1 h más. La mezcla de reacción se repartió entre éter (50 ml) y agua (50 ml) y la capa acuosa se volvió a extraer con éter (50 ml). El extracto de éter combinado se lavó con una solución de bicarbonato de sodio 5 % (34 ml), después con salmuera, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ) y se evaporó para dar una mezcla del aldehído deseado y la imina no hidrolizada (0,511 g). El material se filtró a través de un tapón de gel de sílice usando diclorometano 100 % para dar el 2,5-difluoro-4-metilaminobenzaldehído (x) puro (0,481 g, 94 %), pf 133-138 °C.

30 RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2,95, s, 3H, NMe; 4,79, a, 1H, NH; 6,30, dd (J = 6,8, 12,0 Hz), 1H, H3; 7,41, dd (J = 6,0, 11,6 Hz), 1H, H6; 10,07, d (J = 3,2 Hz), 1H, CHO. RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  29,2, NHMe; 96,8, dd ( $^2J_{\text{CF}} = 28$  Hz,  $^3J_{\text{CF}} = 4$  Hz), C3; 110,0, dd ( $^2J_{\text{CF}} = 11$  Hz,  $^3J_{\text{CF}} = 5$  Hz), C1; 111,5, dd ( $^2J_{\text{CF}} = 28$  Hz,  $^3J_{\text{CF}} = 5$  Hz), C6; 145,3, t a ( $^2/3J_{\text{CF}} = 14$  Hz), C4; 146,8, d ( $^1J_{\text{CF}} = 237$  Hz), C5; 162,9, d ( $^1J_{\text{CF}} = 250$  Hz), C2; 183,9, d ( $^3J_{\text{CF}} = 5$  Hz), CHO. MS (ESI + ve)  $m/z$  194 ( $\text{MNa}^+$ , 100 %), 172 ( $\text{MH}^+$ , 30). HRMS (ESI + ve)  $m/z$  194,03877,  $\text{C}_8\text{H}_7\text{F}_2\text{NONa}$  requiere 194,03879 ( $\Delta = 0,1$  ppm).

### Ejemplo 12

Ensayo de supervivencia clonogénica de un cultivo celular para la determinación de la citotoxicidad y la actividad radioprotectora

40 El ensayo implica la línea celular transformada de queratinocitos humanos (FEP 1811) (como se describe por Smith et al (6)) y la evaluación de la citotoxicidad y la actividad radioprotectora usando el criterio de valoración de supervivencia clonogénica. Los detalles se describen en detalle en Martin et al (4) (cuya descripción se incluye en la presente memoria en su totalidad a modo de referencia), brevemente, se incuban cultivos monocapa en fase semilogarítmica con diversas concentraciones de los fármacos de ensayo durante una hora, después de lo cual las monocapas se lavan y se dispersan en suspensiones monocelulares utilizando pronasa y finalmente se distribuyen

los números apropiados de células en placas Petri. Las colonias se cuentan después de ocho días de incubación. Para los estudios de radioprotección, los cultivos en monocapa se irradian con una fuente de radiación celular de  $^{137}\text{Cs}$ -Gamma a una dosis de 12Gy. La irradiación (con una tasa de dosis de 0,6 Gy por minuto) se inicia 30 minutos después de la adición del fármaco de ensayo. Después de la terminación de la irradiación, la incubación de los cultivos se continúa hasta que el tiempo total de exposición al fármaco alcanza 60 minutos. Los cultivos se lavan a continuación y se siembran para determinar la supervivencia clonogénica como se describe para los experimentos de citotoxicidad. Los experimentos incluyen cultivos no tratados como controles y la eficiencia del sembrado en placa de estos controles se utiliza para ajustar la de los cultivos de ensayo, a fin de calcular la supervivencia clonogénica en general.

En general, cada experimento implica el análisis de 4 ó 5 concentraciones de ensayo diferentes del fármaco en estudio, con y sin irradiación. El análisis de los datos de los experimentos con células no irradiadas genera curvas que muestran la relación entre la supervivencia celular y la concentración de fármaco (Fig 1), a partir de las cuales se determina la concentración del fármaco correspondiente para el 50 % de supervivencia ( $C_{50}$ ). Los resultados mostrados en la Fig 1 demuestran la citotoxicidad disminuida de los compuestos de la invención en comparación con el compuesto radioprotector metilproamina conocido (como se describe por Martin *et al* (4)).

Para las células irradiadas, concentraciones crecientes de los compuestos de la invención aumentan primero la supervivencia clonogénica, lo que demuestra el efecto radioprotector. Sin embargo, para algunos de los compuestos, la supervivencia disminuye a concentraciones de fármaco más altas, debido a la citotoxicidad. El análisis de regresión no lineal de los datos, por ejemplo, los de la Figura 2, genera un parámetro denominado el factor de protección (FP), que es la relación entre la supervivencia máxima y la supervivencia sólo con radiación (fármaco cero). Por lo tanto, el FP es una medida de la eficacia radioprotectora. En la Tabla 1 se presentan los valores  $C_{50}$  y FP y para varios de los compuestos con desviaciones estándar (DE) para aquellos compuestos que han sido estudiados en los experimentos repetidos.

Tabla 1. Resultados del ensayo de supervivencia clonogénica para la determinación de la citotoxicidad y la radioprotección

Fármaco	X	Y	Z	Sustituyentes del anillo Phe					Datos de supervivencia clonogénica					
				R1 (o)	R2 (m)	R3 (p)	R4 (m)	R5 (o)	Nº exp	C50	de C50	radioprotección FP	de FP	
Radioprotector conocido (metilproamina)	MeN	N	N	Me	-	NMe <sub>2</sub>	-	-	-	5	19,3	3,3	10	4,6
Ejemplo 1 compuesto (ortoFluoroPromamina)	MeN	N	N	F	-	NMe <sub>2</sub>	-	-	-	4	28	10	9,3	1,4
Ejemplo 2 compuesto (2,6-di-Fluoro Para-N-difMetilAmino Hoechst)	MeN	N	N	F	-	NMe <sub>2</sub>	-	F	-	1	25		6,4	
Ejemplo 3 compuesto (OFPM)	MeN	N	N	F	-	NHMe	-	-	-	3	218	63	7	2,4
Ejemplo 4 compuesto (ortocloroproamina)	MeN	N	N	Cl	-	NMe <sub>2</sub>	-	-	-	1	18		5,5	
Ejemplo 5 compuesto (OMe-mFHoechst)	MeN	N	N	-	F	OMe	-	-	-	1	91		2,1	
Ejemplo 6 compuesto (paraFluorHoechst)	MeN	N	N	-	-	F	-	-	-	1	34		4,5	
Ejemplo 7 compuesto (metaFluoroProamina)	MeN	N	N	-	F	NMe <sub>2</sub>	-	-	-	1	26		3,2	
Ejemplo 8 compuesto (OFMPM)	MeN	N	N	F	-	-	NHMe	-	-	2	151	3,5	15,5	0,07
Ejemplo 9 compuesto (OFMP)	MeN	N	N	F	-	-	NMe <sub>2</sub>	-	-	2	21,9	4,4	16,7	0,57
Ejemplo 10 compuesto (DFPM)	MeN	N	N	F	-	NHMe	F	-	-	2	51,4	4,1	9,62	2,18

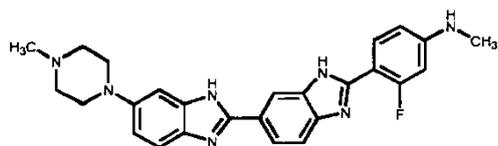
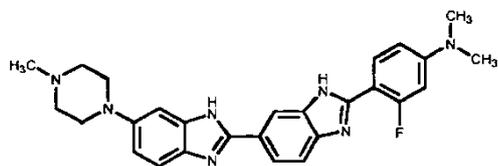
Referencias

- 5 1. Waselenko, J. K., MacVittie, T. J., Blakely, W. F., Pesik, N., Wiley, A. L., Dickerson, W. E., Tsu, H., Confer, D. L., Coleman, C. N., Seed, T., Lowry, P., Armitage, J. O., and Dainiak, N. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the Strategic National Stockpile Radiation Working Group. *Ann Intern Med*, 140: 1037-1051, 2004.
- 10 2. Smith, P.J. and Anderson, C.O., *Int. J. Radiat. Biol.*, 46, 331 (1984).
3. Young, S.D. and Hill, R.P., *Brit. J. Cancer*, 60, 715-721 (1989).
- 15 4. Martin RF, Broadhurst S, Reum ME, Squire CJ, Clark GR, Lobachevsky PN, White JM, Clark C, Sy D, Spothem-Maurizot M, Kelly DP. In vitro studies with methylproamine: a potent new radioprotector. *Cancer Res.* 64(3):1067-70 (2004)
5. Kelly, D. P.; Bateman, S. A.; Hook, R. J.; Martin, R. F.; Reum, M. E.; Rose, M.; Whittaker, A. R. D. *Aust. J. Chem.* 1994, 47, 1751-1769
- 20 6. Smith PP, Bryant EM, Kaur P, McDougall JK, Cytogenetic analysis of eight human papillomavirus immortalized human keratinocyte cell lines, *Int. J. Cancer*, 1989 Dec 15;44(6):1124-31.

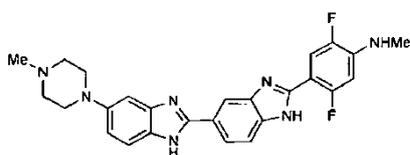
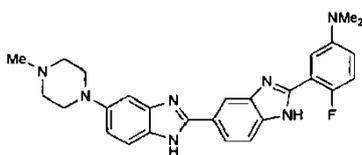
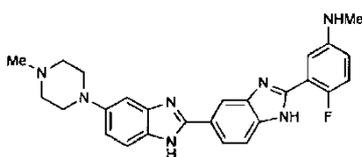
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto radioprotector que se selecciona de

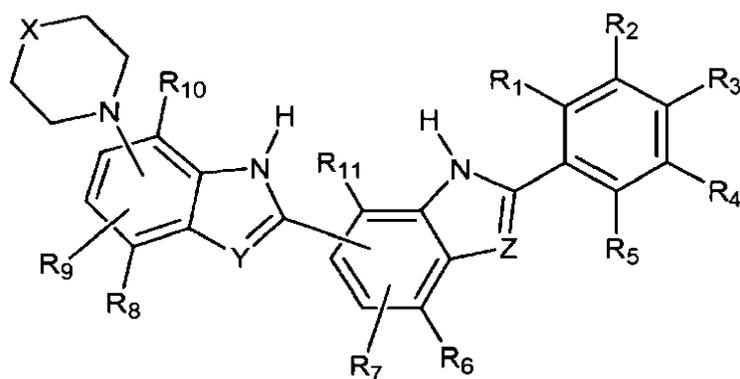
5



10



15 2. Un compuesto radioprotector de fórmula (I)



Fórmula (I)

en la que

20

X es alquilamino;

Y y Z son N;

25

y R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan entre flúor, cloro, hidrógeno y un grupo donador de electrones, o dos cualesquiera de R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> y NH junto con los átomos de carbono a los que están unidos, puede formar un anillo opcionalmente sustituido que puede contener heteroátomos, siempre que al menos uno de R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> sea flúor o cloro; caracterizado además por que uno o ambos de R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son un grupo donador de electrones, en la que al menos uno de R<sub>1</sub> a R<sub>5</sub> (si no es un grupo donador de electrones) es flúor;

30

en la que el grupo donador de electrones se selecciona opcionalmente de alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, NHR', NR'<sub>2</sub>, OR' o SR'; en la que R' es hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido o alqueno opcionalmente sustituido;

y sales y/o tautómeros del mismo.

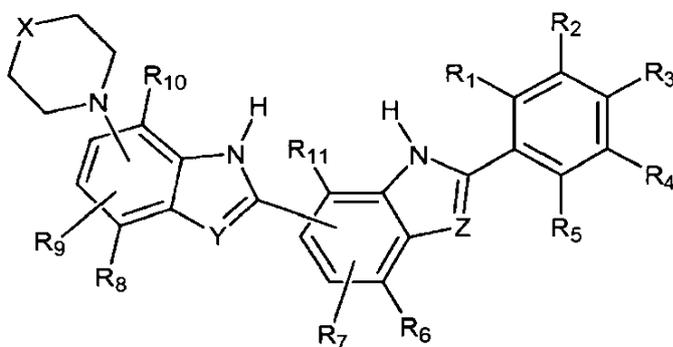
3. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 2, en la que

- 5 X es alquilamino;  
 Y y Z son N;  
 R<sub>3</sub> es N(R)<sub>2</sub> o NHR, donde R es alquilo C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub>;  
 R<sub>1</sub> es flúor y  
 R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> a R<sub>11</sub> son hidrógeno.

4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso como un medicamento.

5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y uno o más vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

6. Un compuesto radioprotector de fórmula (I)



Fórmula (I)

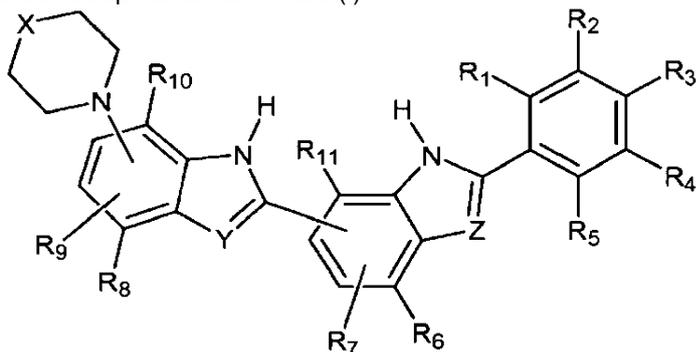
20 en la que

X es alquilamino opcionalmente sustituido o alquilo opcionalmente sustituido;  
 Y y Z son iguales o diferentes y se seleccionan entre N y C (R') en la que R' es hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido o alqueno opcionalmente sustituido;  
 25 y R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan entre flúor, cloro, hidrógeno y un grupo donador de electrones, o dos cualesquiera de R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> y NH junto con los átomos de carbono a los que están unidos, puede formar un anillo opcionalmente sustituido que puede contener heteroátomos, siempre que al menos uno de R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> sea flúor o cloro;  
 en la que el grupo donador de electrones se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, NHR', NR'<sub>2</sub>, OR' o SR';  
 30 y sales y/o tautómeros del mismo  
 para su uso como un radioprotector.

7. Un compuesto radioprotector para su uso de acuerdo con la reivindicación 6 en el que el compuesto radioprotector es como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-3.

8. Un compuesto radioprotector para su uso de acuerdo con una cualquiera de la reivindicación 6 o 7 para su uso como un radioprotector junto con la radioterapia del cáncer.

9. Uso de un compuesto radioprotector de fórmula (I)



Fórmula (I)

en la que

X es alquilamino opcionalmente sustituido o alquilo opcionalmente sustituido;

5 Y y Z son iguales o diferentes y se seleccionan entre N y C (R') en la que R' es hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido o alquenilo opcionalmente sustituido;

y R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan entre flúor, cloro, hidrógeno y un grupo donador de electrones, o dos cualesquiera de R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> y NH junto con los átomos de carbono a los que están unidos, puede formar un anillo opcionalmente sustituido que puede contener heteroátomos, siempre que al menos uno de R<sub>1</sub> a R<sub>11</sub> sea flúor o cloro;

10 en la que el grupo donador de electrones se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, NHR', NR'<sub>2</sub>, OR' o SR';

y sales y/o tautómeros del mismo

en la preparación de un medicamento para su uso como un radioprotector.

15 10. Uso de un compuesto radioprotector para su uso de acuerdo con la reivindicación 9 en el que el compuesto radioprotector es como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-3.

11. Uso de un compuesto radioprotector de acuerdo con una cualquiera de la reivindicación 9 o 10 en la preparación de un medicamento para su uso como un radioprotector junto con la radioterapia del cáncer.

20

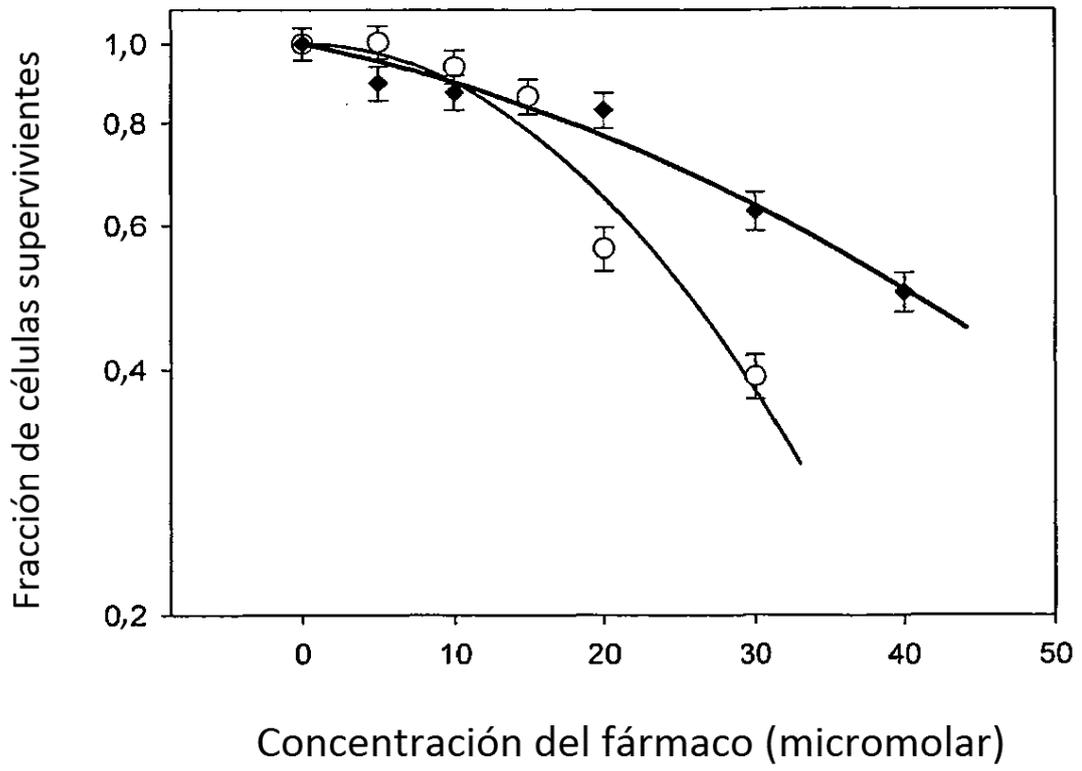


Figura 1

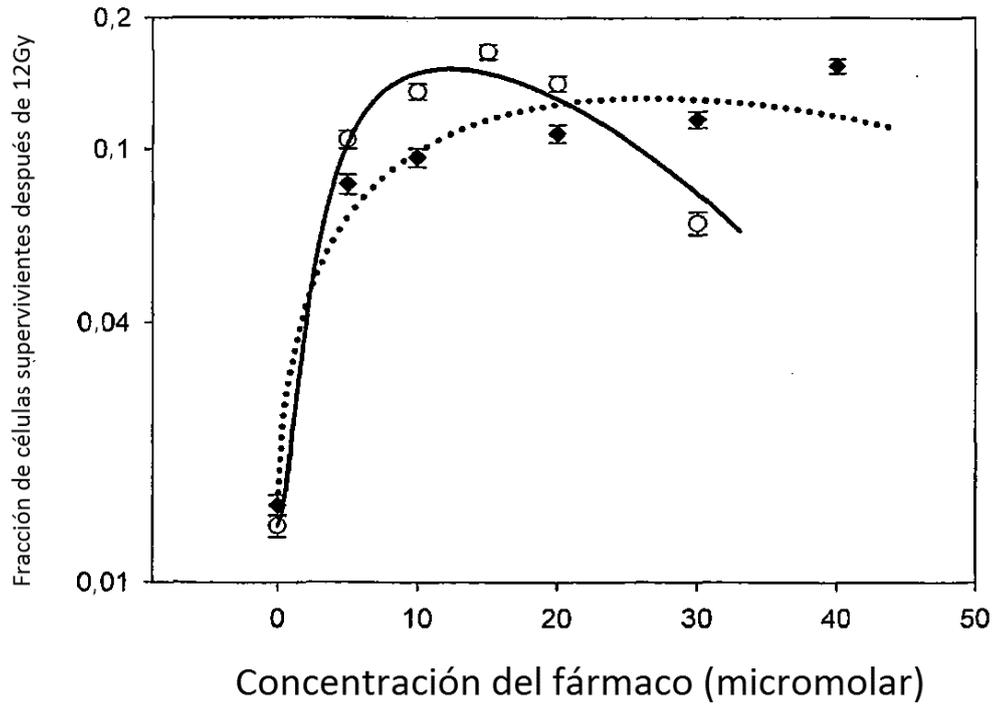


Figura 2