

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 850**

51 Int. Cl.:

C07D 403/12 (2006.01) **C07D 417/12** (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01) **C07D 487/04** (2006.01)
A61K 31/4184 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 235/18 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 407/12 (2006.01)
C07D 407/14 (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.09.2017 PCT/EP2017/073801**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **29.03.2018 WO18054989**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.09.2017 E 17769091 (4)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.01.2024 EP 3515904**

54 Título: **Derivados del benzoimidazol como agentes anticancerígenos**

30 Prioridad:

20.09.2016 EP 16306203

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.06.2024

73 Titular/es:

CENTRE LÉON BÉRARD (20.0%)
28, rue Laënnec
69008 Lyon, FR;
HOSPICES CIVILS DE LYON (20.0%);
UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1
(20.0%);
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (CNRS) (20.0%) y
INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA
RECHERCHE MÉDICALE (INSERM) (20.0%)

72 Inventor/es:

RENNO, TOUFIC;
COSTE-INVERNIZZI, ISABELLE;
GIRAUD, STÉPHANE y
LEBECQUE, SERGE

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 973 850 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

Derivados del benzoimidazol como agentes anticancerígenos

Introducción / campo de la invención

El ámbito técnico de la invención son los fármacos contra el cáncer.

5 La quimioterapia, junto con la cirugía y la radioterapia, sigue siendo uno de los enfoques más utilizados para el tratamiento del cáncer. Aunque se ha aprobado el uso clínico de unas decenas de compuestos contra el cáncer, sigue existiendo una necesidad constante de nuevas terapias más selectivas, más eficaces y menos tóxicas. Por tanto, existe una necesidad constante en la técnica de optimizar los fármacos contra el cáncer.

En este contexto, la invención se refiere a derivados de benzoimidazol con propiedades anticancerígenas.

10 Otros derivados de benzoimidazol se divulgan en el documento US 8,242,284 (derivados de benzoimidazol del 5-trifluorometanol) para el tratamiento del cáncer; en el documento US 2014/128352 (por ejemplo, derivados de benzoimidazol 5-sustituidos) como inhibidores de la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (GDPH); en Richards et al. (Eur. J. Med. Chem. 2006, 41, 950-969) para el tratamiento de alergias o asma; en el documento WO 2011/046954 como activadores de los receptores del factor de crecimiento hematopoyético; o en el documento
15 WO 2008/048991 como inhibidores de la acil coA-diacilglicerol acil transferasa 1 (DGAT 1).

Los compuestos según la invención son capaces, en primer lugar, de inhibir las interacciones proteína/proteína de la MAP cinasa Erk, lo que conduce a la inhibición de la proliferación, y, en segundo lugar, de inducir la apoptosis de las células cancerosas, especialmente como se ha demostrado en líneas celulares de cáncer humano de pulmón, colon, melanoma, sarcoma y líneas celulares de cáncer de páncreas, pero no de células normales.

20 Los compuestos según la invención son capaces de inhibir la interacción Erk1/2 con MyD88, Erk significa cinasa regulada por señal extracelular y MyD88 significa gen 88 de respuesta primaria a la diferenciación mieloide.

Ventajosamente, los compuestos de la invención también son capaces de estimular la muerte celular inmunogénica (ICD) mediante la visualización de marcadores como los marcadores de muerte celular inmunogénica. La secreción de ATP, un procedimiento activo que se produce durante la ICD, también fue inducida por los compuestos de la
25 invención en la membrana celular en particular de células pulmonares de ratón y células de colon humano en particular, y de células tumorales de ratón.

Ventajosamente, la muerte celular inducida por los compuestos de la invención está generalmente acompañada por la exposición de la calreticulina (CRT) en la membrana celular notablemente de células pulmonares de ratón y células de colon humanas, y de células tumorales de ratón. De hecho, la presencia de CRT en la superficie de la
30 célula apoptótica proporciona una señal de "eat me" a macrófagos y células dendríticas, lo que conduce a la activación del sistema inmunitario.

Ventajosamente, los compuestos de la invención son capaces de inducir apoptosis por un mecanismo distinto al de los inhibidores de cinasa.

35 La presente invención pretende proporcionar nuevos compuestos que tengan una o más de las siguientes características:

- los compuestos de la invención no son inhibidores de la cinasa que, como es sabido, afectan generalmente a múltiples dianas moleculares generando muchos efectos secundarios;
- los compuestos de la invención son sorprendentemente inductores del sistema inmunitario;
- los compuestos de la invención son seguros in vivo a dosis eficaces;
- 40 • los compuestos de la invención son menos tóxicos en comparación con la quimioterapia convencional generando menos efectos secundarios.

Uno de los propósitos de la invención es proporcionar compuestos de fórmula (I') como se describe a continuación, para su uso como medicamento en el tratamiento del cáncer, así como las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, estereoisómeros o mezclas de estereoisómeros de los mismos, en cualquier proporción, en particular
45 una mezcla de enantiómeros, y especialmente una mezcla racémica.

Otro propósito de la invención es proporcionar compuestos de fórmula (I'') como se describe a continuación, así como una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I'') y un portador farmacéuticamente aceptable.

Definiciones

El término "halógeno" o "halo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

5 El término "grupo amino", como se usa en la presente invención, se refiere a un grupo NHs, NH₂Alk1 o NAlk1Alk2 en el que Alk1 y Alk2, idénticos o diferentes, representan un grupo (C1-C6)-alquilo como se define a continuación. Por ejemplo, puede ser un grupo dimetilamino.

El término "(C1-C6)alquilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a una cadena de hidrocarburo saturado monovalente recta o ramificada que contiene desde 1 a 6 átomos de carbono, incluyendo, pero sin limitarse a, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, n-pentilo, n-hexilo y similares.

10 El término "(C1-C6)alquilcarbonilo", como se usa en la presente invención, se refiere a un grupo (C1-C6)alquilo como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo -C(=O)-, incluyendo, pero sin limitarse a acetilo, propionilo, n-butirilo, sec-butirilo, t-butirilo o isopropionilo.

El término "oxi(C1-C6)alquilcarbonilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo (C1-C6)alquilcarbonilo como se ha definido anteriormente sustituido por al menos un átomo de oxígeno, y unido a la molécula mediante un grupo -C(=O)-.

15 El término "(C1-C6)haloalquilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo (C1-C6)alquilo como se define anteriormente sustituido por al menos un átomo de halógeno, y preferentemente por al menos un átomo de cloro o flúor. Puede ser, en particular, un grupo trifluorometilo.

20 Los términos "amida de ácido (C1-C6)alcanoico", como se utilizan en la presente invención, se refieren a un grupo (C1-C6)alquilo como se ha definido anteriormente unido a un grupo -C(=O)-, el carbono del grupo CO está unido a un átomo de nitrógeno (NH), la amida de ácido (C1-C6)alcanoico está unida a la molécula mediante el grupo alquilo.

El término "(C1-C6)alcoxi", como se usa en la presente invención, se refiere a un grupo (C1-C6)alquilo como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un átomo de oxígeno, incluyendo, pero no limitado a, metoxi, etoxi, n-propoxi, iso-propoxi, n-butoxi, iso-butoxi, sec-butoxi, t-butoxi, n-pentoxi, n-hexoxi, y similares.

25 El término "(C1-C6)alcoxialquilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere al grupo (C1-C6)alcoxi como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo alquilo como se ha definido anteriormente incluyendo, pero sin limitarse a CH₃-O-(CH₂)₂-.

30 El término "(C3-C10)cicloalquilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un anillo de hidrocarburo que tiene de 3 a 10 átomos de carbono incluyendo, pero sin limitarse a, ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo y similares.

El término "oxi(C3-C10)cicloalquilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo (C3-C10)cicloalquilo como se ha definido anteriormente sustituido por al menos un átomo de oxígeno.

35 El término "arilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo hidrocarburo aromático que comprende preferentemente de 6 a 10 átomos de carbono y que comprende uno o más anillos condensados, tal como, por ejemplo, un grupo fenilo o naftilo. Ventajosamente, será un grupo fenilo.

El término "ariloxi", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo arilo como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un átomo de oxígeno, incluyendo, pero no limitado a fenoxi (Ph-O).

40 El término "ariloxicarbonilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo ariloxi como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo -C(=O)-, incluyendo, pero no limitado a feniloxicarbonilo.

El término "arilcarbonilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo arilo como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo -C(=O)-, incluyendo, pero no limitado a fenilcarbonilo.

45 El término "aril-(C1-C6)alquilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo arilo como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo (C1-C6)alquilo como se ha definido anteriormente. En particular, un grupo aril-(C1-C6)alquilo es un grupo bencilo.

El término "(C1-C6)alcoxiarilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo (C1-C6)alcoxi como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo arilo como se ha definido anteriormente. En particular, puede ser un grupo metoxifenilo (CH₃-O-Ph-).

50 El término "aminoarilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo amino como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo arilo como se ha definido anteriormente. En particular, puede ser un grupo dimetilaminofenilo ((CH₃)₂N-Ph-).

El término "haloarilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo arilo como se ha definido anteriormente sustituido por al menos un átomo de halógeno, y unido a la molécula mediante el grupo arilo. En particular, puede ser un grupo clorofenilo (Cl-Ph-).

5 El término "oxiarilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo arilo como se ha definido anteriormente sustituido por al menos un átomo de oxígeno, y unido a la molécula mediante el grupo arilo. En particular, puede ser un grupo oxofenilo (O-Ph-).

10 El término "heteroarilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo aromático que comprende uno o varios, especialmente uno o dos, preferentemente uno, ciclos de hidrocarburos condensados en los que uno o varios, especialmente de uno a cuatro, ventajosamente uno o dos, átomos de carbono han sido sustituidos por un heteroátomo seleccionado entre un átomo de azufre, un átomo de oxígeno y un átomo de nitrógeno, preferentemente seleccionado entre un átomo de oxígeno y un átomo de nitrógeno, en particular un átomo de nitrógeno. Puede ser un benzotiazolilo, furilo, tienilo, pirrolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, quinolilo, isoquinolilo, quinoxalilo o indolilo.

15 El término "(C1-C6)alcoxiheteroarilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo (C1-C6)alcoxi como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo heteroarilo como se ha definido anteriormente. En particular, puede ser un grupo metoxipiridilo (CH₃-O-piridilo-).

20 El término "(C1-C6)alquilheteroarilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo (C1-C6)alquilo como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo heteroarilo como se ha definido anteriormente. En particular, puede ser un etilpiridilo (C₂H₅-piridilo-).

El término "aminoheteroarilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo amino como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo heteroarilo como se ha definido anteriormente. En particular, puede ser un grupo aminopiridilo (NH₂-piridilo-).

25 El término "heteroarilcarbonilo", como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo heteroarilo como se ha definido anteriormente unido a la molécula mediante un grupo -C(=O)-, incluyendo, pero no limitado a furano.

30 El término "heterociclo" como se usa en la presente invención se refiere a un monociclo o policiclo saturado, insaturado o aromático, preferentemente no aromático tal como saturado (que comprende anillos condensados, en puente o espiro), preferiblemente monociclo que comprende preferentemente de 5 a 10 especialmente 5 o 6, átomos en cada anillo o anillos, en los que los átomos del anillo o anillos consisten en átomos de carbono y uno o más, ventajosamente de 1 a 4, y más ventajosamente 1 o 2, heteroátomos, tales como un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre, siendo el resto átomos de carbono. Un heterociclo puede ser, por ejemplo, tienilo, furanilo, pirrolilo, pirrolidinilo, morfolinilo, piperidinilo o piperazinilo, en particular pirrolidinilo, morfolinilo, piperidinilo o piperazinilo.

35 El término "(C1-C6)alquilcarbonilheterociclo" como se utiliza en la presente invención se refiere a un grupo (C1-C6)alquilo unido a un grupo carbonilo, el grupo carbonilo está unido al heterociclo, el (C1-C6)alquilcarbonilheterociclo está unido a la molécula mediante el grupo alquilo.

La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se utiliza en la presente invención, pretende significar lo que es útil para la preparación de una composición farmacéutica, y lo que es generalmente seguro y no tóxico, para un uso farmacéutico.

40 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere, en el marco de la presente invención, a una sal de un compuesto que es farmacéuticamente aceptable, como se ha definido anteriormente, y que posee la actividad farmacológica del compuesto correspondiente.

Las sales farmacéuticamente aceptables comprenden:

45 (1) sales de adición ácida formadas con ácidos inorgánicos tales como el clorhídrico, el bromhídrico, el sulfúrico, el nítrico, el fosfórico y similares o formadas con ácidos orgánicos tales como acético, bencenosulfónico, fumárico, glucoheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, hidroxinaftoico, 2-hidroxietanosulfónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mucónico, 2-naftalenosulfónico, propiónico, succínico, dibenzoil-L-tartárico, tartárico, p-toluenosulfónico, trimetilacético y trifluoroacético y similares, y

50 (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto se sustituye por un ion metálico, tal como un ion de metal alcalino, un ion de metal alcalinotérreo o un ion de aluminio, o se coordina con una base orgánica o inorgánica. Las bases orgánicas aceptables comprenden dietanolamina, etanolamina, N-metilglucamina, trietanolamina, trometamina y similares. Las bases inorgánicas aceptables comprenden hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio e hidróxido de sodio.

El término "estereoisómeros", como se utiliza en la presente invención, se refiere a estereoisómeros configuracionales e incluye isómeros geométricos e isómeros ópticos.

5 Los isómeros geométricos, también llamados isómeros E/Z o isómeros cis-trans, resultan de la diferente posición de los sustituyentes en un doble enlace C=C que puede tener una configuración Z o E, también llamada configuración cis o trans.

10 Los isómeros ópticos resultan de la diferente posición en el espacio de los sustituyentes o del par solitario de electrones en un átomo (tal como un átomo de carbono o de azufre) que comprende cuatro sustituyentes diferentes (incluyendo potencialmente un par solitario de electrones). Este átomo representa por tanto un centro quiral o asimétrico. Los isómeros ópticos que no son imágenes especulares entre sí se denominan "diastereoisómeros", y los isómeros ópticos que son imágenes especulares no superponibles se denominan "enantiómeros".

Una mezcla equimolar de dos enantiómeros de un compuesto quiral se designa como racemato o mezcla racémica.

La expresión "compuesto de fórmula (I)" como se utiliza en la presente invención incluye un compuesto de fórmula (I'd) o (I'e).

Breve descripción de los dibujos

15 Las figuras 1, 2 y 3 muestran la inducción de apoptosis en células HCT116 tratadas con los compuestos 2, 6 y 7 respectivamente.

La figura 1 representa el factor multiplicador de inducción de la actividad de las caspas en ordenadas y la concentración del compuesto 2 en μM , de izquierda a derecha 1 μM , 1,78 μM , 3,16 μM , 5,62 μM , 10 μM , 17,8 μM y 31,6 μM en abscisas.

20 La figura 2 representa el factor multiplicador de inducción de la actividad de las caspas en ordenadas y la concentración del compuesto 6 en μM , de izquierda a derecha 1 μM , 1,45 μM , 2,11 μM , 3,08 μM , 4,47 μM , 6,5 μM , 9,46 μM , 13,8 μM y 20 μM en abscisas.

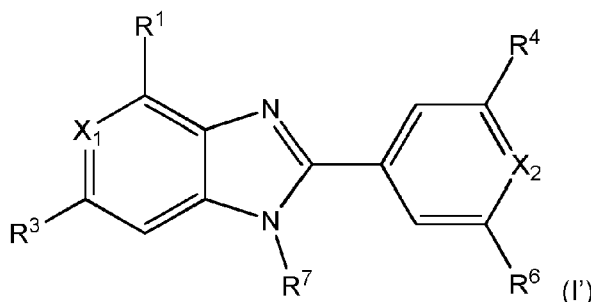
25 La figura 3 representa el factor multiplicador de inducción de la actividad de las caspas en ordenadas y la concentración del compuesto 7 en μM , de izquierda a derecha 1 μM , 5 μM , 10 μM , 20 μM , 35 μM y 50 μM en abscisas.

La figura 4 muestra los resultados de xenoinjerto en ratones tratados con el compuesto 6 o vehículo.

La figura 4 representa el volumen tumoral en ordenadas y la concentración del compuesto 6 en mg/kg de izquierda a derecha 50 mg/kg, 25 mg/kg y 12,5 mg/kg.

Descripción de la invención

30 La invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) a continuación para su uso como medicamento en un tratamiento contra el cáncer, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero o mezcla de estereoisómeros del mismo, en cualquier proporción, en particular una mezcla de enantiómeros, y especialmente una mezcla racémica,



35 en la que:

- X₁ representa CR²;
- X₂ representa CR⁵;
- R¹ representa H, (C1-C6)alquilo o halógeno, preferentemente H;
- R² representa CONR¹¹R¹²; en el que

R11 representa H o (C1-C6)alquilo;

R12 representa un grupo (C1-C6)alquilo, arilo, aril-(C1-C6)alquilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37;

5 R35, R36 y R37 representan, independientemente entre sí, H o (C1-C6)alquilo;

- R³ representa H, (C1-C6)alquilo o halógeno, preferentemente H;
- R⁴ representa H, Cl, CN, NO₂, NHR18 u OR19, preferentemente H, en el que:

R18 representa H, (C1-C6)alquilo, arilo, heteroarilo o (C1-C6)alquilcarbonilo;

R19 representa H o (C1-C6)alquilo;

10 • R⁵ representa NR21R22 en el que:

R21 representa H, o R41;

R22 representa H, o R42;

o R21 y R22 forman junto con el átomo de nitrógeno que los soporta un heterociclo, preferentemente un heterociclo saturado, opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo;

15 R41 y R42 representan, independientemente entre sí, un grupo (C1-C6)alquilo, arilo, aril-(C1-C6)alquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR43 y NR44R45;

R43, R44 y R45 representan, independientemente entre sí, H o (C1-C6)alquilo;

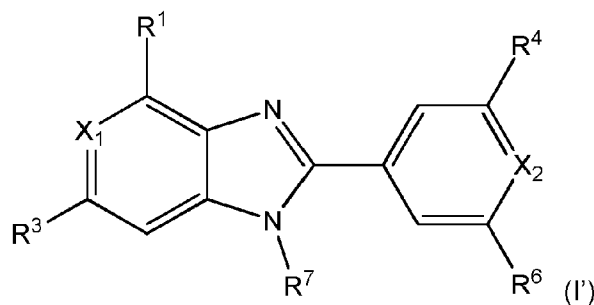
- R⁶ representa H, OH, (C1-C6)alcoxi o (C1-C6)alquilo, preferentemente H; y

20 • R⁷ representa H o (C1-C6)alquilo, preferentemente H;

siempre que cuando R12 = arilo opcionalmente sustituido, entonces R21 represente H o (C1-C6)alquilo y R22 represente H o (C1-C6)alquilo, o R21 y R22 formen junto con el átomo de nitrógeno que los soporta un heterociclo, preferentemente un heterociclo saturado, opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo,

25 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La invención también se refiere a un compuesto de la siguiente fórmula (I') o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero o mezcla de estereoisómeros del mismo, en cualquier proporción, en particular una mezcla de enantiómeros, y especialmente una mezcla racémica,



30 en la que:

- X₁ representa CR²;
- X₂ representa CR⁵;
- R¹ representa H, (C1-C6)alquilo o halógeno;
- R² representa CONR11R12; en el que

35 R11 representa H o (C1-C6)alquilo;

R12 representa un grupo (C1-C6)alquilo, arilo, aril-(C1-C6)alquilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37;

R35, R36 y R37 representan, independientemente entre sí, H o (C1-C6)alquilo;

- 5
- R³ representa H, (C1-C6)alquilo o halógeno;
 - R⁴ representa H, Cl, CN, NO₂, NHR18 u OR19, en el que:

R18 representa H, (C1-C6)alquilo, arilo, heteroarilo o (C1-C6)alquilcarbonilo;

R19 representa H o (C1-C6)alquilo;

- 10
- R⁵ representa NR21R22 en el que R21 representa H o R41 y R22 representa R42 o R21 y R22 forman junto con el átomo de nitrógeno que los porta un heterociclo opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo,

donde R41 y R42 representan, independientemente entre sí, un grupo (C1-C6)alquilo, arilo, aril-(C1-C6)alquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR43 y NR44R45;

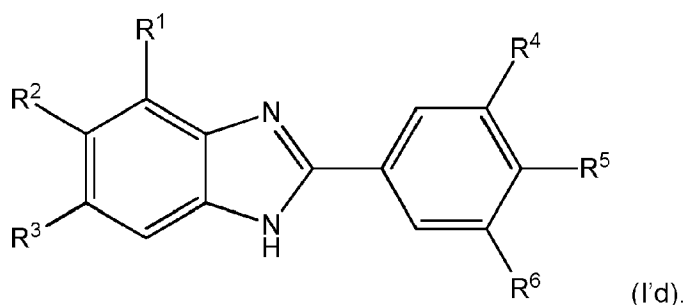
15 donde R43, R44 y R45 representan, independientemente entre sí, H o (C1-C6)alquilo;

- R⁶ representa H, OH, (C1-C6)alcoxi o (C1-C6)alquilo; y
 - R⁷ representa H o (C1-C6)alquilo; siempre que cuando R12 = arilo opcionalmente sustituido, entonces R21 representa H o (C1-C6)alquilo y R22 representa H o (C1-C6)alquilo, o R21 y R22 forman junto con el átomo de nitrógeno que los soporta un heterociclo, preferentemente un heterociclo saturado, opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 20

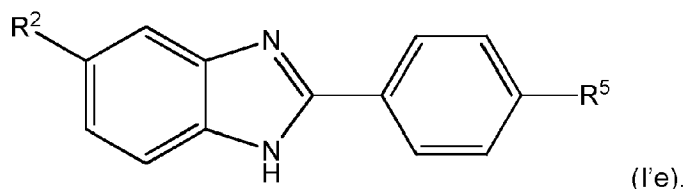
La salvedad permite distinguir la invención de la divulgación de Richards et al. (Eur. J. Med. Chem. 2006, 41, 950-969), WO 2011/046954 y WO 2008/048991.

Según una realización particular, la fórmula (I') o (I'') es la fórmula (I'd) siguiente:

25



Según una realización particular, la fórmula (I') o (I'') es la fórmula (I'e) siguiente:



30 Según una realización particular de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención, R¹ es H o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃, preferentemente H.

Según una realización preferida de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención, R² es CONR11R12, con

- R11 que representa H o (C1-C6)alquilo, como H o CH₃, preferentemente H; y
- R12 que representa un grupo (C1-C6)alquilo, arilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37; tales como

(C1-C6)alquilo, arilo, heteroarilo, (C1-C6)alcoxiheteroarilo, (C1-C6)alcoxiarilo, haloarilo, (C1-C6)alcoxialquilo, (C1-C6)alquilheteroarilo, aminoarilo o aril-(C1-C6)alquilo.

5 Ventajosamente, R² es CONR11R12 con R11 representando H o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃, preferentemente H, y R12 representando un arilo, o un grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37; tales como arilo, heteroarilo, (C1-C6)alcoxiheteroarilo, (C1-C6)alcoxiarilo, haloarilo, (C1-C6)alcoxialquilo, (C1-C6)alquilheteroarilo, aminoarilo o aril-(C1-C6)alquilo. El arilo puede ser un fenilo y el grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros puede ser furilo, tienilo, pirrolilo, piridilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo. Preferentemente, el grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros es un grupo heteroarilo de 6 miembros tales como piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo, preferentemente piridilo.

15 Ventajosamente, R² es CONR11R12 con R11 representando H o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃, preferentemente H, y R12 representando un grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37; tal como un (C1-C6)alcoxiheteroarilo, (C1-C6)alquilheteroarilo o heteroarilo. El grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros puede ser furilo, tienilo, pirrolilo, piridilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo. Preferentemente, el grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros es un grupo heteroarilo de 6 miembros tales como piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo, preferentemente piridilo.

20 Según una realización particular de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención, R² es CONR11R12 con R11 representando H o CH₃, y R12 representando un piridilo, un grupo alcoxilpiridilo o un etilpiridilo.

Según una realización particular de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención, R³ es H, Cl o CH₃, tal como H o CH₃, preferentemente H.

Según una realización particular de los compuestos de fórmula (I') de la invención, R⁵ representa NR21R22 con

- 25
- R21 que representa H o (C1-C6)alquilo; y
 - R22 representa H, (C1-C6)alquilo, arilo, heteroarilo, (C1-C6)alquilo-N((C1-C6)alquilo)₂, (C1-C6)alquilo-NH(C1-C6)alquilo, heteroarilcarbonilo, COR23, (C1-C6)alquilcarbonilo, arilcarbonilo o heteroarilcarbonilo.

30 Según otra realización preferida de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención, R⁵ representa NR21R22 con R21 representando H o R41 y R22 representando H o R42 (R42 para fórmula (I'')) o R21 y R22 forman junto con el átomo de nitrógeno que los lleva un heterociclo, preferentemente un heterociclo saturado, opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo. En particular, R⁵ representa NR21 R22 con R21 representando H o R41 y R22 representando H o R42 (R42 para la fórmula (I'')). Ventajosamente, R41 y R42 representan, independientemente entre sí, un grupo (C1-C6)alquilo. El heterociclo es ventajosamente un heterociclo saturado de 5 o 6 miembros, tal como pirrolidinilo, morfolinilo, piperidinilo o piperazinilo.

35 Preferentemente, R⁵ representa NR21R22 con R21 y R22 representando cada uno, independientemente uno del otro, H, o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃.

Según una realización particular de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención, R⁶ representa H o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃, preferentemente H.

40 Según una realización particular de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención, R⁴ representa H, o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃, preferentemente H.

Ventajosamente, R⁷ representa H o CH₃, preferentemente H.

45 Se entiende, que cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente se pueden combinar entre sí, con cualquiera de otra realización de la lista. Por ejemplo, podría preverse combinar una selección realizada a partir de la lista que describe R², ya sea de toda la lista o de parte de la lista, con cualquiera de las otras realizaciones de otra lista, como por ejemplo R⁵, ya sea de toda la lista o de parte de la lista de R⁵.

Según una primera realización preferida de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención:

- R² es CONR11R12 con R11 representando H o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃, preferentemente H, y R12 representando un grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37; y
 - R⁵ es NR21R22 con R21 representando H o R41 y R22 representando H o R42 (R42 para la fórmula (I'')) o R21 y R22 forman junto con el átomo de nitrógeno que los soporta un heterociclo, preferentemente un heterociclo saturado, opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo.
- 50

Según una segunda realización preferida de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención:

- R² es CONR11R12 con R11 representando H o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃, preferentemente H, y R12 representando un grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37; y
- 5
- R⁵ es NR21R22 donde R21 representa H o R41 y R22 representa H o R42 (R42 para la fórmula (I'')).

Según una tercera realización preferida de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención:

- R² es CONR11R12 con R11 representando H o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃, preferentemente H, y R12 representando un grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37; y
- 10
- R⁵ es NR21R22 con R21 y R22 representando cada uno, independientemente uno del otro, H, o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃.

Según una cuarta realización preferida de los compuestos de fórmula (I') o (I'') de la invención:

- R² es CONR11R12 donde R11 representa H y R12 representa un grupo piridilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37; y
- 15
- R⁵ es NR21R22 con R21 y R22 representando cada uno, independientemente uno del otro, H, o (C1-C6)alquilo, tal como H o CH₃.

En las cuatro realizaciones preferidas antes mencionadas, R¹, R³, R⁴, R⁶ y R⁷ representan cada uno ventajosamente H.

20 En las cuatro realizaciones preferidas mencionadas anteriormente, el grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros puede ser furilo, tienilo, pirrolilo, piridilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo. Preferentemente, el grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros es un grupo heteroarilo de 6 miembros tales como piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo, preferentemente piridilo.

25 Ventajosamente, el compuesto de fórmula (I') se elige entre los compuestos 1 a 3, 5 a 9, 16, 19, 45 y 46, como se divulga en los ejemplos y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Ventajosamente, el compuesto de fórmula (I'') se elige entre los compuestos 1 a 3, 5 a 9, 19, 45 y 46, como se divulga en los ejemplos y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Preferentemente, el compuesto de fórmula (I') o (I'') se elige entre los compuestos **2, 6, y 7** como se divulga en los ejemplos y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

30 El cáncer a tratar será ventajosamente cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer cervical, leucemia, cáncer linfóide, cáncer de piel, cáncer pancreático, cáncer intestinal, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer esofágico, cáncer gástrico, cáncer genital masculino, mesotelioma, sarcoma o cáncer óseo.

35 La invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I'') como se ha definido anteriormente según cualquiera de sus realizaciones y un portador farmacéuticamente aceptable.

La invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I') como se ha definido anteriormente según una cualquiera de sus realizaciones, estando dicho compuesto de fórmula (I') unido a un anticuerpo, ventajosamente mediante un enlazante, para formar un ADC.

40 Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden formularse para administración parenteral (por ejemplo, subcutánea, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intracraneal, intratecal, etc.), oral, sublingual, transdérmica, local o rectal, destinada a mamíferos, incluidos los seres humanos. La posología varía en función del tratamiento y de la afección de que se trate.

45 En las composiciones farmacéuticas de la presente invención, el principio activo puede administrarse en forma de unidades de administración, mezcladas con portadores farmacéuticos convencionales, a animales o seres humanos.

Las formas unitarias de administración oral apropiadas incluyen comprimidos, geles, polvos, gránulos y soluciones o suspensiones orales, y formas de administración parenteral, especialmente intraperitoneal.

Cuando se prepara una composición sólida en forma de comprimidos, el principio activo principal se mezcla con un portador farmacéutico como gelatina, almidón, lactosa, estearato de magnesio, talco, goma arábiga o similares. Los comprimidos pueden recubrirse con sacarosa u otros materiales apropiados o incluso tratarse para que tengan una actividad prolongada o retardada y que liberen continuamente una cantidad predeterminada de principio activo.

- 5 Un preparado en cápsulas se obtiene mezclando el principio activo con un diluyente y vertiendo la mezcla obtenida en cápsulas duras o blandas.

Un preparado en forma de jarabe o elixir puede contener el principio activo junto con un edulcorante, un antiséptico y un potenciador del sabor y colorante adecuados.

- 10 Los polvos o gránulos dispersables en agua pueden contener el principio activo en mezcla con agentes dispersantes o humectantes o agentes de suspensión, y con correctores del sabor o edulcorantes.

Para la administración parenteral, se utilizan suspensiones acuosas, soluciones salinas isotónicas o soluciones estériles e inyectables que contienen agentes dispersantes y/o humectantes farmacológicamente compatibles.

El principio activo también puede formularse en forma de microcápsulas, posiblemente con uno o más portadores adicionales.

- 15 Ventajosamente, la composición farmacéutica según la invención comprende además al menos un fármaco antitumoral diferente del compuesto de fórmula (I"), como preparación combinada para un uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de mamíferos, en particular seres humanos, que padecen un cáncer tal como un tumor maligno (canceroso).

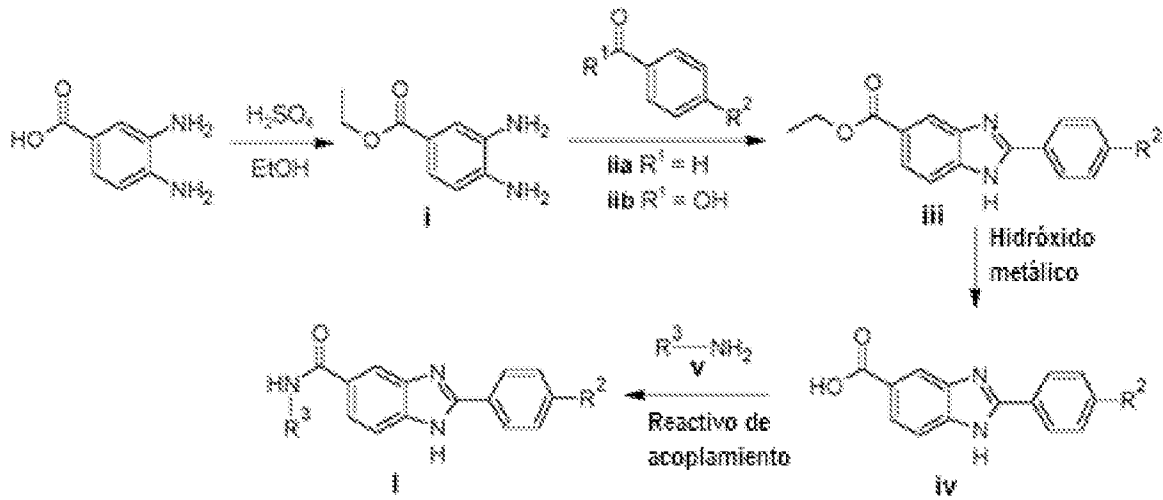
- 20 Ventajosamente, la composición farmacéutica según la invención comprende además al menos uno de los siguientes fármacos antitumorales y/o terapias dirigidas, sin limitarse a esta lista abraxane, abarelix, aldesleukina, alemtuzumab, alitretinoína, alopurinol, altretamina, anastrozol, trióxido de arsénico, asparaginasa, azacitidina, atezolizumab, bevacizumab, bexaroteno, bicalutamida, bleomicina, bortezomib, busulfán intravenoso, busulfán oral, calusterona, capecitabina, carboplatino, carmustina, cetuximab, clorambucilo, cisplatino, cladribina, clofarabina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, dalteparina sódica, dasatinib, daunorrubicina, decitabina, denileucina, denileucina difitox, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina, propionato de dromostanolona, eculizumab, epirubicina, erlotinib, estramustina, fosfato de etopósido, etopósido, exemestano, citrato de fentanilo, filgrastim, floxuridina, fludarabina, 5-fluorouracilo, fulvestrant, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab, ozogamicina, acetato de goserelina, acetato de histrelina, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamida, mesilato de imatinib, interferón alfa 2a, ipilimumab, irinotecán, ditosilato de lapatinib, lenalidomida, letrozol, leucovorina, acetato de leuprolida, levamisol, lomustina, mecloretamina, acetato de megestrol, melfalán, mercaptopurina, metotrexato, metoxsaleno, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, fenpropionato de nandrolona, nelarabina, nivolumab, nofetumomab, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, panitumumab, pegaspargasa, pegfilgrastim, pembrolizumab, pemetrexed disódico, pentostatina, pipobromán, plicamicina, procarbazona, quinacrina, rasburicasa, rituximab, sorafenib, estreptozocina, sunitinib, maleato de sunitinib, tamoxifeno, taxol, taxotere, temozolomida, teniposida, testolactona, talidomida, tioguanina, tiotepa, topotecán, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, tretinoína, mostaza uracilo, valrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina, vorinostat y zoledronato, así como inhibidores del punto de control inmunitario, incluidos anticuerpos contra PD1 (muerte celular programada-1), PD-L1 (muerte celular programada-1-ligando 1) y CTLA4 (proteína 4 asociada a linfocitos T citotóxicos).

- 40 Las composiciones farmacéuticas según la presente invención son útiles en el tratamiento del cáncer, en particular como se ha definido anteriormente.

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse según las rutas de síntesis descritas en los esquemas 1, 2 y 3 a continuación y por los siguientes procedimientos descritos en los mismos.

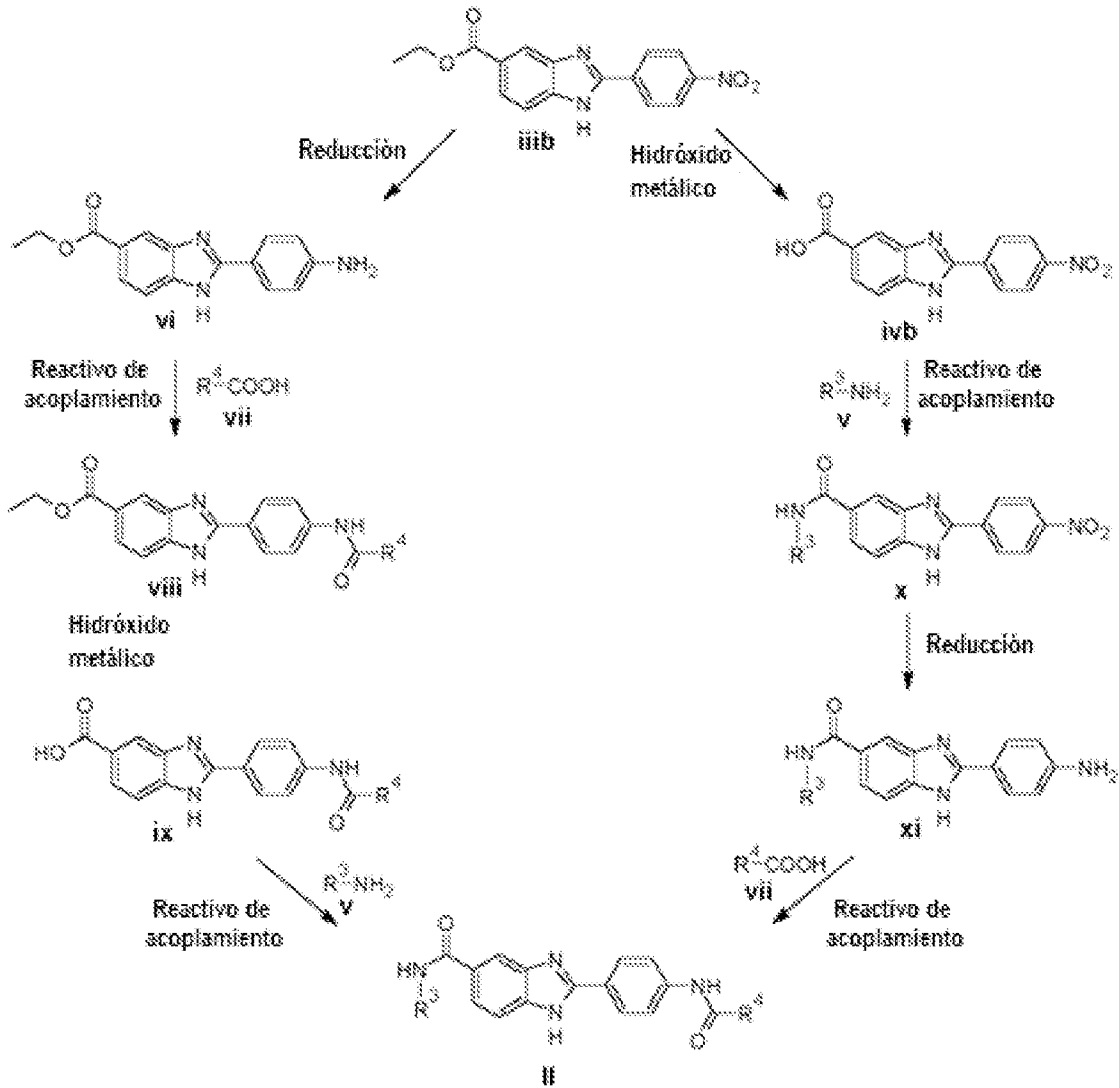
- 45 Los benzoimidazoles de fórmula I definidos en el esquema 1 pueden prepararse en una secuencia de varias etapas a partir del éster etílico del ácido 3,4-diamino-benzoico **i** y un aldehído **ii**a apropiadamente sustituido con un reactivo como NaHSOs o Na₂S₂O₅ y para algunos compuestos sin reactivos. Alternativamente, los benzoimidazoles de fórmula **iii** pueden prepararse a partir del éster etílico del ácido 3,4-diamino-benzoico **i** y un ácido carboxílico **ii**b apropiadamente sustituido con un reactivo tal como el ácido polifosfórico. La saponificación de **iii** y la amidación del ácido carboxílico **iv** resultante con una amina **v** adecuadamente sustituida con un reactivo de acoplamiento tal como EDCI o HATU produce benzoimidazoles de fórmula **I**.
- 50

Esquema 1



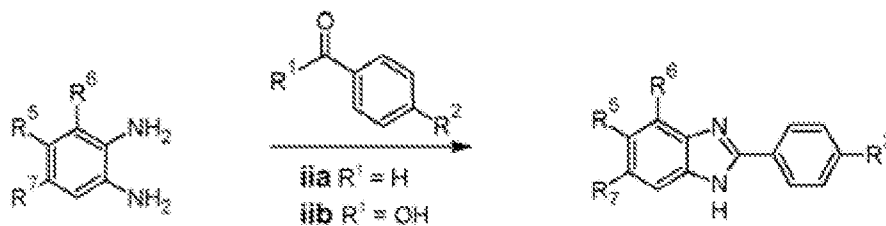
Los benzoimidazoles de fórmula II definidos en el esquema 2 pueden prepararse en una secuencia de varias etapas a partir del éster etílico del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico **iiib**. La reducción del grupo nitro proporciona el correspondiente éster etílico del ácido 2-(4-amino-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico **vi**, que puede sustituirse con el ácido carboxílico **vii** adecuadamente sustituido . A continuación, la amida **viii** puede hidrolizarse al ácido carboxílico **ix** y puede reaccionar con la amina **v** adecuadamente sustituida y un reactivo de acoplamiento para producir benzoimidazoles de fórmula II. Alternativamente, el éster etílico del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico **iiib** puede hidrolizarse al correspondiente ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico **ivb** que puede reaccionar con la amina **v** apropiadamente sustituida para dar la amida **x**. La reducción del derivado nitro **x** y el acoplamiento de la amina resultante con el ácido carboxílico apropiadamente sustituido **vii** y un reactivo de acoplamiento produce benzoimidazoles de fórmula II.

Esquema 2



Los benzimidazoles de fórmula **III** definidos en el esquema 3 pueden prepararse en una secuencia de varias etapas a partir de 3,4-diamino-benzamida **xiia**, o a partir de (3,4-diaminofenil)-fenilmetanona **xiib**, o a partir de 3,4-diamino-benzonitrilo **xiic**, o a partir de 3,5-dimetilbenceno-1,2-diamina **xiid**, o de 5-cloro-3-metilbenceno-1,2-diamina **xiie**, o de 4-pirimidin-2-ilbenceno-1,2-diamina **xiif**, o de 4-nitrobenceno-1,2-diamina **xiig**, o de 4-(trifluorometil)benceno-1,2-diamina **xiih**, y un aldehído **iiia** adecuadamente sustituido con un reactivo tal como NaHSOs o Na₂S₂O₅. Como alternativa, los benzimidazoles de fórmula **III** pueden prepararse a partir de 3,4-diamino-benzamida **xiia**, o a partir de (3,4-diaminofenil)-fenil-metanona **xiib**, o a partir de 3,4-diamino-benzonitrilo **xiic**, o a partir de 3,5-dimetil-benceno-1,2-diamina **xiid**, o a partir de 5-cloro-3-metil-benceno-1,2-diamina **xiie**, o de 4-pirimidin-2-il-benceno-1,2-diamina **xiif**, o de 4-nitro-benceno-1,2-diamina **xiig**, o de 4-(trifluorometil)benceno-1,2-diamina **xiih**, y un ácido carboxílico **iiib** apropiadamente sustituido con un reactivo tal como el ácido polifosfórico.

Esquema 3



xiia	R ⁵ = CONH ₂ , R ⁶ = H, R ⁷ = H	IIla	R ⁵ = CONH ₂ , R ⁶ = H, R ⁷ = H
xiib	R ⁵ =COPh, R ⁶ = H, R ⁷ = H	IIlb	R ⁵ =COPh, R ⁶ = H, R ⁷ = H
xiic	R ⁵ = CN, R ⁶ = H, R ⁷ = H	IIlc	R ⁵ = CN, R ⁶ = H, R ⁷ = H
xiid	R ⁵ = H, R ⁶ = CH ₃ , R ⁷ = CH ₃	IIld	R ⁵ = H, R ⁶ = CH ₃ , R ⁷ = CH ₃
xiie	R ⁵ =H, R ⁶ = CH ₃ , R ⁷ = Cl	IIle	R ⁵ =H, R ⁶ = CH ₃ , R ⁷ = Cl
xiif	R ⁵ = piridin-2-il, R ⁶ = H, R ⁷ = H	IIlf	R ⁵ =piridin-2-il, R ⁶ = H, R ⁷ = H
xiig	R ⁵ = NO ₂ , R ⁶ = H, R ⁷ = H	IIlg	R ⁵ = NO ₂ , R ⁶ = H, R ⁷ = H
xiih	R ⁵ = CF ₃ , R ⁶ = H, R ⁷ = H	IIlh	R ⁵ = CF ₃ , R ⁶ = H, R ⁷ = H

Ejemplos

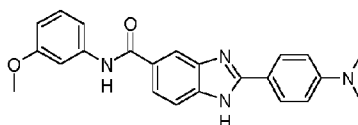
En los ejemplos se han utilizado las siguientes abreviaturas:

- DCM : Diclorometano
- 5 DIPEA : Diisopropiletilamina
- DMAP : Dimetilaminopiridina
- DMF : Dimetilformamida
- DMSO : Dimetilsulfóxido
- EDCI : 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
- 10 HATU : 3-oxid hexafluorofosfato de 1-[Bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio
- MS : Espectro de masas
- RMN : Resonancia magnética nuclear
- PyBOP : hexafluorofosfato de (1H-benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio
- THF : Tetrahidrofurano
- 15 TLC : Cromatografía en capa fina

1/ Química - Procedimientos de síntesis

Ejemplo 1

Ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico(3-metoxifenil)-amida



- 20 Etapa 1: preparación del éster etílico del ácido 3,4-diamino-benzoico i

A una solución agitada de ácido 3,4-diamino-benzoico (500 mg, 3,29 mmol) en etanol (20 ml) se le agregó gota a gota H₂SO₄ conc. (2 ml) de 0 a 5 °C y la solución resultante se calentó a reflujo a 85 °C, durante 18 horas. La reacción se controló por TLC. Una vez completada la reacción se evaporó el etanol, el residuo obtenido se basificó con solución saturada de bicarbonato, se extrajo con acetato de etilo, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener éster etílico del ácido 3,4-diamino-benzoico i (500 mg, 84 % de rendimiento). MS m/z (M+H) 181,3.

25

Etapa 2: preparación del éster etílico del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico

5 A una solución agitada de éster etílico del ácido 3,4-diamino-benzoico i (0,36 g, 0,002 moles, 1 eq) y 4-dimetilamino-benzaldehído (0,45 g, 0,003 moles) en DMF (5 ml), se le agregó bisulfito sódico (360 mg, 0,03 mmol) y la mezcla de reacción resultante se calentó a 150 °C, durante 3 horas. La reacción se controló por TLC. Una vez completada la reacción, la mezcla se agregó a hielo picado para obtener el producto en bruto como un sólido de color amarillo pálido que se purificó mediante recristalización en metanol caliente para obtener el éster etílico del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico como un sólido blanquecino (247 mg, 41 % de rendimiento). MS m/z (M+H) 310,0.

Etapa 3: ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico

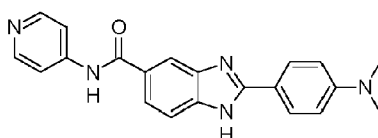
10 A una solución de éster etílico del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico (0,43 g, 0,0014 moles) en metanol (10 ml) a 25 °C, se le agregó NaOH (0,569 g, 0,014 moles) en agua (5 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 60 °C, durante 12 horas. La reacción se controló por TLC. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción resultante se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en un mínimo de agua y se acidificó lentamente hasta pH 3 utilizando HCl 1,5 N para obtener el producto en bruto como un sólido de color amarillo pálido que se purificó adicionalmente con cromatografía en columna de fase normal utilizando gel de sílice 230-400 en el sistema de disolventes metanol/DCM (el producto eluyó al 5 % de metanol en DCM) para obtener el ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico como un sólido blanquecino (300 mg, 76 % de rendimiento). MS m/z (M+H) 281,9.

Etapa 4: (3-metoxi-fenil)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico

20 A una solución de ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico (195 mg, 0,694 mmol, 1 eq) en DMF (10 ml) a 25 °C, se le agregaron EDCI (200 mg, 1,04 mmol, 1,5 eq), 3-metoxi-fenilamina (128 mg, 1,04 mmol, 1,5 eq) y DMAP (17 mg, 0,138 mmol, 0,2 eq). La masa de reacción resultante se calentó a 25 °C y se agitó durante 16 h. La reacción se controló por TLC. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción anterior se agregó a hielo picado y se filtró. El sólido obtenido se purificó mediante cromatografía en columna utilizando gel de sílice 230-400 en el sistema de disolventes DCM/metanol. El producto obtenido se purificó adicionalmente por recristalización de metanol para obtener la (3-metoxi-fenil)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico como sólido blanquecino (92 mg, 36 % de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,82 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 10,17 (d, J = 24,6 Hz, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,08 - 7,98 (m, 3H), 7,78 (ddd, J = 8,7, 3,9, 1,7 Hz, 1H), 7,53 (dd, J = 7,9, 2,8 Hz, 1H), 7,41 (dd, J = 10,4, 8,1 Hz, 1H), 7,25 (td, J = 8,2, 1,7 Hz, 1H), 6,86 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,67 (dt, J = 8,2, 2,5 Hz, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,01 (d, J = 1,8 Hz, 6H). MS m/z (M+H) 387,0.

30 Ejemplo 2

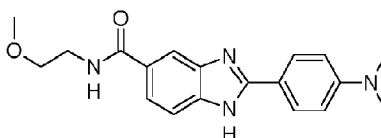
Piridin-4-ilamida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



35 La piridin-4-ilamida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se sintetizó a partir del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y la piridin-4-ilamina siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,87 (s, 1H), 10,60 (d, J = 36,9 Hz, 1H), 8,47 (d, J = 5,4 Hz, 2H), 8,26 (s, 1H), 8,04 (m, 3H), 7,82 (dd, J = 12,0, 7,1 Hz, 2H), 7,67 - 7,47 (m, 1H), 6,86 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 3,02 (s, 6H). MS m/z (M+H) 358,0.

Ejemplo 3

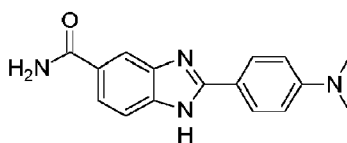
(2-Metoxietil)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



40 La (2-metoxietil)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se sintetizó a partir del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y 2-metoxietilamina siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,73 (s, 1H), 8,45 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 8,13 - 7,91 (m, 3H), 7,67 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,51 (dd, J = 43,5, 8,5 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 3,46 (qd, J = 8,8, 8,3, 3,3 Hz, 4H), 3,28 (s, 3H), 3,01 (s, 6H). MS m/z (M+H) 339,1.

Ejemplo de referencia 4

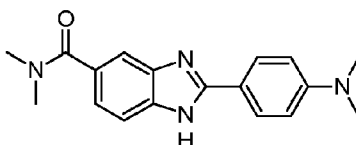
Amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico



5 La amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico se preparó usando 3,4-diaminobenzamida y 4-dimetilamino-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,79 (s, 1H), 8,02-7,93 (m, 4H), 7,71 (dd, J = 8,8, 1,2 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,22 (s, 1H), 6,84 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 3,01 (s, 6H). MS m/z (M+H) 281,0.

Ejemplo 5

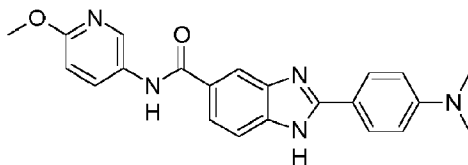
Dimetil amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico



10 La dimetil amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico se preparó usando ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y dimetil amina (2M) en THF siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 1, y ambos se disolvieron en DMF (23 ml). La mezcla de reacción se agitó a 90 °C bajo atmósfera de Ar durante 19 h. La mezcla de reacción se diluyó en acetato de etilo (75 ml) y se lavó con agua (3x 25 ml). Las capas acuosas se combinaron, se lavaron 3x 10 ml de AcOEt. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se evaporaron a presión reducida para obtener productos en bruto. el éster etílico del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se obtuvo tras recristalización de etanol/ CH_2Cl_2 como un sólido blanquecino (0,9 g, 69 % de rendimiento). MS m/z (M+H) 309,1.

Ejemplo 6

(6-Metoxi-piridin-3-il)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



15

Etapa 1: éster etílico del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico

20 Se disolvieron 1,00 g (6,7 mmol, 1,00 eq) de 4-(dimetilamino)-benzaldehído en etanol y se agregaron 1,9 g (10 mmol, 1,50 eq) de metabisulfito sódico en agua en 3 porciones. Tras la adición del reactivo, la mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 1 minuto y, además, durante 5 minutos tras la última adición. Después se deja durante 1h (se sacude cada 20 minutos) y se enfría con baño de hielo. El precipitado formado se filtró, se lavó con 2x agua fría y 2x EtOH, y se secó al vacío para obtener aductos de bisulfito sódico. Al producto en bruto (1,19 g, rendimiento 70 %) se le agregó éster etílico del ácido 3,4-diamino-benzoico i, que se preparó siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 1, y ambos se disolvieron en DMF (23 ml). La mezcla de reacción se agitó a 90 °C bajo atmósfera de Ar durante 19 h. La mezcla de reacción se diluyó en acetato de etilo (75 ml) y se lavó con agua (3x 25 ml). Las capas acuosas se combinaron, se lavaron 3x 10 ml de AcOEt. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se evaporaron a presión reducida para obtener productos en bruto. el éster etílico del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se obtuvo tras recristalización de etanol/ CH_2Cl_2 como un sólido blanquecino (0,9 g, 69 % de rendimiento). MS m/z (M+H) 310,3.

25

Etapa 2: ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico

30 A una solución agitada de éster etílico del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico (2,445 g, 7,9 mmol, 1,00 eq) en THF (25 ml) se le agregó una solución de $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1 g, 24,5 mmol, 3,12 eq) en H_2O (12 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y a 80°C, durante 7h. Se agregó más $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1 g, 24,5 mmol, 3,12 eq) en H_2O (12 ml) y se continuó calentando durante toda la noche. La mezcla de reacción se diluyó con 150 ml de agua y se acidificó con HCl 6N hasta pH = 6. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con agua (3x 10 ml) y se secó al vacío para obtener el ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico (2,2 g, 99 % de rendimiento). MS m/z (M+H) 282,1.

35

Etapa 3: (6-metoxi-piridin-3-il)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico

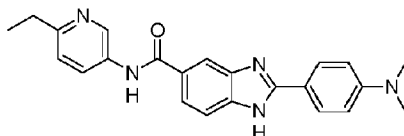
40 El ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico (1,2 g, 4,25 mol, 1,00 eq) se disolvió en DMF seco (12,5 ml) y a continuación se agregaron HATU (1,78 g, 4,7 mmol, 1,2 eq) y DIPEA (2,2 ml, 12,8 mmol, 3 eq) a 0 °C. Después de 30 minutos se agregó a esta mezcla una solución de 6-metoxipiridin-3-amina (1,06 g, 8,5 mmol, 2,00 eq) en DCM seco (12,5 ml). La mezcla de reacción se agitó 3 días en atmósfera de Ar. A continuación, se

40

agregaron agua (20-100 ml) y AcOEt (5-75 ml), y la mezcla se transfirió a un matraz con tapón. Tras agitar enérgicamente aparece el precipitado. El sólido se filtró y se lavó con una cantidad mínima de agua (1x) y AcOEt (2x). El sólido se secó al vacío durante 24 h. para obtener (6-metoxi-piridin-3-il)-amida del ácido 2-(4-dimetilaminofenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico (6-metoxi-piridin-3-il)-amida como sólido blanquecino (1,237 g, 75 % de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,93 (s, 1H), 10,25 (s, 1H), 8,55 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 8,17 (s, 1H), 8,13 - 7,99 (m, 3H), 7,81 (dd, J = 8,3, 1,7 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,86 (dd, J = 8,9, 4,0 Hz, 3H), 3,85 (s, 3H), 3,02 (s, 6H). MS m/z (M+H) 387,8.

Ejemplo 7

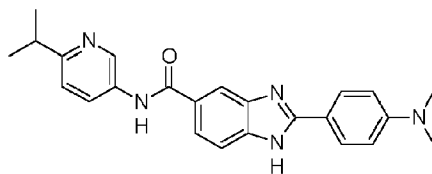
(6-Etilpiridin-3-il)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



Se preparó la (6-metoxi-piridin-3-il)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico utilizando ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y 6-etilpiridin-3-amina en DMF/CH₂Cl₂ 1:1 siguiendo el procedimiento del ejemplo 6. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,83 (s, 1H), 10,31 (m, 1H), 8,85 (d, J = 4 Hz, 1 H), 8,13 (m, 1H), 8,04 (dd, J = 8 Hz, 2H), 7,81 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,60 (m, 1H), 7,26 (d, J = 8 Hz, 1H), 6,86 (d, J = 8 Hz, 2H), 3,02 (s, 6H), 2,73 (q, J = 8 Hz, 2H), 1,23 (t, J = 8 Hz, 3H). MS m/z (M+H) 386,3.

Ejemplo 8

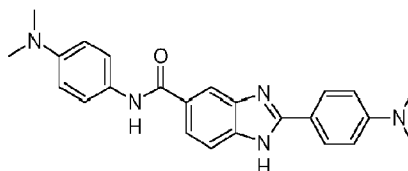
(6-Isopropilpiridin-3-il)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



Se preparó la (6-isopropilpiridin-3-il)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico utilizando ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y 6-isopropilpiridin-3-amina en DMF/CH₂Cl₂ 1:1 siguiendo el procedimiento del ejemplo 6. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,82 (d, J = 4 Hz, 1H), 10,32 (d, J = 24 Hz, 1H), 8,85 (dd, J = 4 Hz, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,13 (ddd, J = 4 Hz, 1H), 8,04 (dt, J = 4 Hz, 2H), 7,66 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 12 Hz, 0,5H), 7,54 (d, J = 12 Hz, 0,5H), 7,27 (d, J = 4 Hz, 1H), 6,66 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 12 Hz, 0,5H), 7,54 (d, J = 12 Hz, 0,5H), 7,27 (d, J = 8 Hz, 1H), 6,86 (d, J = 8 Hz, 2H), 3,01 (m, 7H), 1,24 (d, J = 8 Hz, 6H). MS m/z (M+H) 400,3.

Ejemplo 9

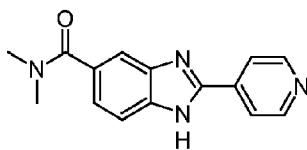
(4-Dimetilamino-fenil)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



Se preparó la (4-dimetilamino-fenil)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico usando ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y N,N-dimetilbenceno-1,4-diamina en DMF/CH₂Cl₂ 1:1 siguiendo el procedimiento para el ejemplo 6. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,77 (s, 1H), 9,93 (d, J = 20 Hz, 1H), 8,24 (s, 0,5H), 8,03 (m, 2,5H), 7,78 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,61 (m, 2,5H), 7,51 (d, J = 8 Hz, 0,5H), 6,85 (m, 2H), 6,73 (dd, J = 8 Hz, J = 4 Hz, 2H), 3,01 (s, 6H), 2,87 (s, 6H). MS m/z (M+H) 400,4.

Ejemplo 10

Dimetilamida del ácido 2-piridin-4-il-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



Etapa 1: éster etílico del ácido 2-piridin-4-il-3H-benzimidazol-5-carboxílico El éster etílico del ácido 2-piridin-4-il-3H-benzimidazol-5-carboxílico se preparó utilizando éster etílico del ácido 3,4-diamino-benzoico i y piridina-4-carbaldehído en DMF siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 268,1.

5 Etapa 2: ácido 2-piridin-4-il-3H-benzimidazol-5-carboxílico

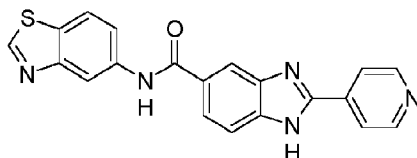
El ácido 2-piridin-4-il-3H-benzimidazol-5-carboxílico se preparó a partir del éster etílico del ácido 2-piridin-4-il-3H-benzimidazol-5-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 240,5.

Etapa 3: dimetilamida del ácido 2-piridin-4-il-1H-benzimidazol-5-carboxílico

10 La dimetilamida del ácido 2-piridin-4-il-1H-benzimidazol-5-carboxílico se preparó a partir del ácido 2-piridin-4-il-3H-benzimidazol-5-carboxílico y N,N-dimetilamina en THF (1M) siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,45 (s, 1H), 8,81 - 8,75 (m, 2H), 8,14 - 8,07 (m, 2H), 7,69 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 7,32 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 3,00 (s, 6H). MS m/z (M+H) 267,0.

Ejemplo de referencia 11

Benzotiazol-5-ilamida del ácido 2-piridin-4-il-1H- benzimidazol-5-carboxílico



15

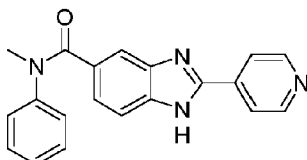
Etapa 1: ácido 2-piridin-4-il-3H-benzimidazol-5-carboxílico

20 El ácido 3,4-diamino-benzoico (0,76 g, 5 mmol) se disolvió en 15 ml de N,N-dimetilformamida y se agregó un equivalente de piridina-4-carbaldehído (0,54 g, 5 mmol). La solución se calentó a 80 °C, durante 5 horas y se enfrió a temperatura ambiente. El precipitado se filtró, se lavó con metanol y se utilizó sin más purificación (Rendimiento 60 %).

25 Etapa 2: benzotiazol-5-ilamida del ácido 2-piridin-4-il-1H-benzimidazol-5-carboxílico. El ácido 2-piridin-4-il-3H-benzimidazol-5-carboxílico se solubilizó en N,N-dimetilformamida a una concentración de 0,1 M con 2 equivalentes de diisopropiletilamina. El reactivo de acoplamiento O-(Benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU) se solubilizó a 0,1 M en N,N-dimetilformamida. Se agregó un equivalente a la solución ácida y se agitó la mezcla de reacción durante 5 minutos. La benzotiazol-6-ilamina se solubilizó en N,N-dimetilformamida a una concentración de 0,1 M. Se agregó un equivalente a la solución de ácido activado y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla se evaporó y el residuo se purificó en C18 en un gradiente de agua / metanol con 0,1 % de amoniaco para obtener el compuesto final en forma de polvo (rendimiento 75 %). MS m/z (M+H) 372,05.

30 **Ejemplo de referencia 12**

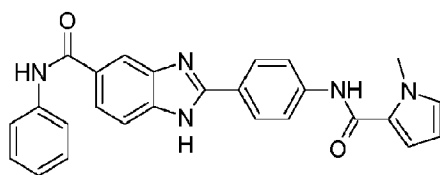
Metil-fenil-amida del ácido 2-piridin-4-il-1H-benzimidazol-5-carboxílico



35 La metil-fenil-amida del ácido 2-piridin-4-il-3H-benzimidazol-5-carboxílico se preparó utilizando el ácido 2-piridin-4-il-3H- benzimidazol-5-carboxílico y N-metilaniлина siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,34 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 8,82 - 8,71 (m, 2H), 8,03 (dd, J = 4,7, 1,5 Hz, 2H), 7,60 - 7,50 (m, 1H), 7,50 - 7,39 (m, 2H), 7,30 - 7,14 (m, 5H), 7,13 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 3,41 (d, J = 3,3 Hz, 3H). MS m/z (M+H) 329,1.

Ejemplo de referencia 13

Fenilamida del ácido 2-{4-[(1-metil-1H-pirrol-2-carbonil)-amino]-fenil}-1H- benzimidazol-5-carboxílico



Etapa 1: éster etílico del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico **iiib**

5 El éster metílico del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico **iiib** se preparó utilizando 4-nitro-benzaldehído y éster etílico del ácido 3,4-diamino-benzoico **i** siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 312,3.

Etapa 2: éster etílico del ácido 2-(4-amino-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico **vi**

10 A una solución del éster etílico del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico **iiib** (500 mg, 1,61 mmol) en metanol (50 ml), se le agregó Pd/C (10 %, 50 % húmedo) (250 mg) y se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (50 psi) durante 16h. La reacción se controló por TLC. Una vez completada la reacción, la masa de reacción se filtró a través de un lecho de celite® y el filtrado se concentró para obtener el producto en bruto, que se purificó ulteriormente mediante cromatografía en columna flash con sílice (230-400) y metanol/CH₂Cl₂ (2-3 %) como eluyente para obtener el éster metílico del ácido 2-(4-amino-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico **vi** puro (270 mg, rendimiento del 59 %). MS m/z (M+H) 282,4.

Etapa 3: éster etílico del ácido 2-{4-[(1-metil-1H-pirrol-2-carbonil)-amino]-fenil}-1H- benzoimidazol-5-carboxílico

15 A una solución agitada del ácido 1-metil-1H-pirrol-2-carboxílico (100 mg, 0,8 mmoles) en DMF (10 ml) a 25 °C, se le agregaron EDCI (230 mg, 1,2 moles), éster etílico **vi** del ácido 2-(4-amino-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico (320 mg, 1,2 mmoles) y DMAP (20 mg, 0,16 mmoles) y la mezcla de reacción resultante se calentó a 80 °C, durante 5 h. A la mezcla de reacción resultante se le agregó a agua helada y se extrajo con acetato de etilo. La capa de acetato de etilo se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener el producto en bruto, que se purificó con cromatografía en columna en fase normal utilizando gel de sílice (230-400) en disolvente de acetato de etilo/hexano para obtener éster etílico del ácido 2-{4-[(1-metil-1H-pirrol-2-carbonil)-amino]-fenil}-1H-benzoimidazol-5-carboxílico (120 mg, rendimiento del 38 %). MS m/z (M+H) 389,6.

Etapa 4: ácido 2-{4-[(1-metil-1H-pirrol-2-carbonil)-amino]-fenil}-1H- benzoimidazol-5-carboxílico

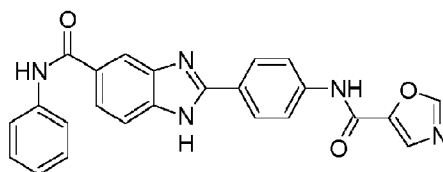
25 El ácido 2-{4-[(1-metil-1H-pirrol-2-carbonil)-amino]-fenil}-1H- benzoimidazol-5-carboxílico se preparó a partir del éster etílico del ácido 2-{4-[(1-metil-1H-pirrol-2-carbonil)-amino]-fenil}-1H- benzoimidazol-5-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 361,4.

Etapa 5: fenilamida del ácido 2-{4-[(1-metil-1H-pirrol-2-carbonil)-amino]-fenil}-1H-benzoimidazol-5-carboxílico

30 A una solución de ácido 2-{4-[(1-metil-1H-pirrol-2-carbonil)-amino]-fenil}-1H-benzoimidazol-5-carboxílico (250 mg, 0,694 mmol, 1 eq) en DMF (10 ml) a 25 °C, se le agregaron EDCI (200 mg, 1,04 mmol, 1,5 eq), anilina (100 mg, 1,04 mmol, 1,5 eq) y DMAP (17 mg, 0,138 mmol, 0,2 eq). La masa de reacción resultante se calentó a 25 °C y se agitó durante 16 h (reacción controlada por TLC). Una vez completada, la mezcla de reacción anterior se agregó a hielo picado, se filtró y el sólido obtenido se purificó mediante cromatografía en columna utilizando gel de sílice 230-400 en el sistema de disolventes CH₂Cl₂/metanol. El producto obtenido se purificó adicionalmente por recristalización de metanol para obtener fenilamida del ácido 2-{4-[(1-metil-1H-pirrol-2-carbonil)-amino]-fenil}-1H-benzoimidazol-5-carboxílico como sólido blanquecino (110 mg, rendimiento del 36 %). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,20 (s, 1H), 10,25 (s, 1H), 10,01 (s, 1H), 8,26 - 8,14 (m, 3H), 7,93 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,83 (d, J = 7,7 Hz, 3H), 7,66 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,36 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 7,08 (dd, J = 15,9, 7,7 Hz, 3H), 6,13 (s, 1H), 3,91 (s, 3H). MS m/z (M+H) 436,5.

Ejemplo de referencia 14

40 Fenilamida del ácido 2-{4-[(oxazole-5-carbonil)-amino]-fenil}-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



Etapa 1: éster etílico del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico **iiib**

El éster metílico del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico se preparó utilizando 4-nitro-benzaldehído y éster metílico del ácido 3,4-diamino-benzoico siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 312,3.

Etapa 2: ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico **ivb**

- 5 El ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico **ivb** se preparó a partir del éster etílico del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 312,1.

Etapa 3: fenilamida del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico

La fenilamida del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico se preparó usando ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico y anilina siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. MS m/z (M+H) 359,1.

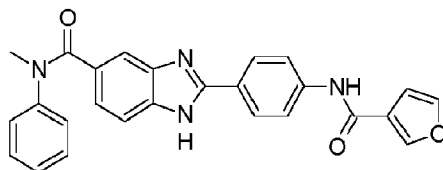
- 10 Etapa 4: la fenilamida del ácido 2-(4-amino-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico se preparó a partir de la fenilamida del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. MS m/z (M+H) 329,4.

Etapa 5: fenilamida del ácido 2-{4-[(oxazol-5-carbonil)-amino]-fenil}-1H- benzoimidazol-5-carboxílico

- 15 La fenilamida del ácido 2-{4-[(oxazol-2-carbonil)-amino]-fenil}-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se preparó por acoplamiento entre la fenilamida del ácido 2-(4-amino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y el ácido oxazol-2-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,15 (s, 1H), 11,11 (s, 1H), 10,25 (s, 1H), 8,45 (s, 2H), 8,20 (s, 2H), 8,07 - 8,02 (m, 2H), 7,83 (s, 3H), 7,61 (s, 1H), 7,36 (s, 2H), 7,10 (m, 2H). MS m/z (M+H) 424,1.

Ejemplo de referencia 15

- 20 Metil-fenil-amida del ácido 2-{4-[(furan-3-carbonil)-amino]-fenil}-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



Etapa 1: metil-fenil-amida del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico

- 25 Se sintetizó la metil-fenil-amida del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico usando ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico **ivb** y N-metil anilina siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. MS m/z (M+H) 373,0. Etapa 2: metil-fenil-amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico

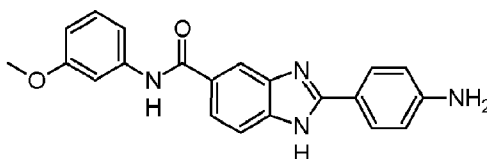
Se preparó metil-fenil-amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico a partir de metil-fenil-amida 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-ácido carboxílico utilizando el procedimiento del ejemplo 13. MS m/z (M+H) 343,1.

Etapa 3: metil-fenil-amida del ácido 2-{4-[(furan-3-carbonil)-amino]-fenil}-1H-benzoimidazol-5-carboxílico

- 30 La metil-fenil-amida del ácido 2-{4-[(furan-3-carbonil)-amino]-fenil}-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se preparó mediante acoplamiento entre la metil-fenil-amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y el ácido furan-2-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,07 (s, 1H), 10,37 (s, 1H), 8,13 - 8,05 (m, 2H), 7,97 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,45 - 7,30 (m, 4H), 7,29 - 7,06 (m, 5H), 6,72 (dd, J = 3,5, 1,7 Hz, 1H), 3,34 (s, 3H). MS m/z (M+H) 437,0.

35 Ejemplo 16

(3-Metoxi-fenil)-amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico



Etapa 1: (3-metoxi-fenil)-amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico

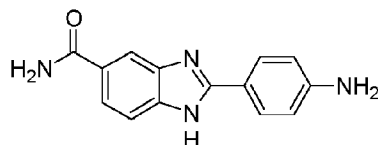
Se sintetizó la (3-metoxi-fenil)-amida del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico a partir de ácido 2-(4-nitro-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico **ivb** y 3-cloro-fenilamina siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. MS m/z (M+H) 389,0

Etapa 2: (3-metoxi-fenil)-amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico

- 5 Se sintetizó (3-metoxi-fenil)-amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico a partir de (3-metoxi-fenil)-amida del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H- benzoimidazol-5-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,71 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 10,16 (d, J = 23,2 Hz, 1H), 8,13 (dd, J = 91,8, 1,6 Hz, 1H), 7,92 - 7,82 (m, 2H), 7,77 (ddd, J = 8,4, 2,8, 1,6 Hz, 1H), 7,65 - 7,49 (m, 2H), 7,46 - 7,33 (m, 1H), 7,25 (td, J = 8,2, 1,8 Hz, 1H), 6,74 - 6,52 (m, 3H), 5,69 (d, J = 11,8 Hz, 2H), 3,76 (s, 3H). MS m/z (M+H) 359,0.

10 Ejemplo de referencia 17

Amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico



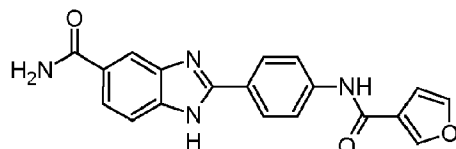
- 15 Etapa 1: amida del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico. La amida del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico se sintetizó utilizando 3,4-diamino-benzamida **xiia** y 4-nitro-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 283,1.

Etapa 2: amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico

- 20 La amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico se sintetizó a partir de la amida del ácido 2-(4-nitro-fenil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,69 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,90 - 7,83 (m, 2H), 7,69 (dd, J = 8,3, 1,7 Hz, 1H), 7,47 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,20 (s, 1H), 6,72 - 6,63 (m, 2H), 5,67 (s, 2H). MS m/z (M+H) 253,0.

Ejemplo de referencia 18

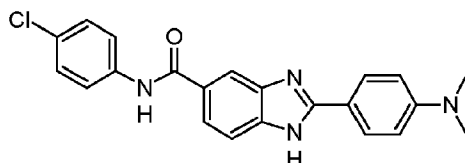
Amida del ácido 2-{4-[(furan-3-carbonil)-amino]-fenil}-1H- benzoimidazol-5-carboxílico



- 25 La amida del ácido 2-{4-[(furan-3-carbonil)-amino]-fenil}-1H- benzoimidazol-5-carboxílico se sintetizó a partir de la amida del ácido 2-(4-amino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico y el ácido furan-2-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,01 (s, 1H), 10,43 (s, 1H), 8,21 - 8,11 (m, 3H), 8,01 - 7,92 (m, 4H), 7,76 (dd, J = 8,4, 1,6 Hz, 1H), 7,58 (dd, J = 8,5 Hz, 1H), 7,40 (dd, J = 3,4 Hz, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,74 (dd, J = 3,5, 1,8 Hz, 1H). MS m/z (M-H) 344,8.

Ejemplo 19

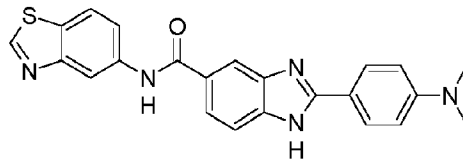
- 30 (4-Clorofenil)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico



- 35 Se preparó la (4-clorofenil)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico utilizando ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y 4-cloroanilina siguiendo el procedimiento del ejemplo 6. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,84 (s, 1H), 10,33 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,07 - 7,99 (m, 2H), 7,92 - 7,83 (m, 2H), 7,79 (dd, J = 8,4, 1,7 Hz, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,45 - 7,32 (m, 2H), 6,95 - 6,80 (m, 2H), 3,01 (s, 6H). MS m/z (M+H) 391,2.

Ejemplo de referencia 20

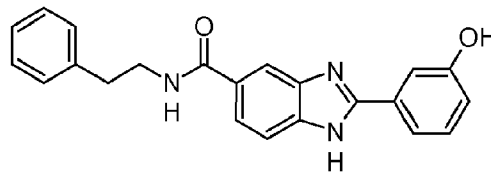
Benzotiazol-5-ilamida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico



- 5 Se preparó labenzotiazol-5-ilamida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico utilizando ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y 1,3-benzotiazol-5-amina siguiendo el procedimiento del ejemplo 6. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,85 (s, 1H), 10,45 (d, J = 17,2 Hz, 1H), 9,39 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,32 (s, 0,5H), 8,08 (m, 1,5 H), 8,04 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,91 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,84 (dd, J = 1,6, 8,4 Hz, 1H), 7,60 (m, 1H), 6,86 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 3,02 (s, 6H). MS m/z (M+H) 413,9.

Ejemplo de referencia 21

Fenetil-amida del ácido 2-(3-hidroxi-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico



- 10 Etapa 1: ácido 2-(3-hidroxi-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico

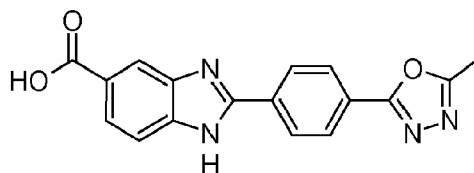
El ácido 3,4-diamino-benzoico (0,76 g, 5 mmol) se disolvió en 15 ml de N,N-dimetilformamida y se agregó un equivalente de 3-hidroxi-benzaldehído (0,61 g, 5 mmol). La solución se calentó a 80 °C, durante 5 horas y se enfrió a temperatura ambiente. El precipitado se filtró, se lavó con metanol y se utilizó sin más purificación (Rendimiento 60 %).

- 15 Etapa 2: fenetil-amida del ácido 2-(3-hidroxi-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carboxílico

El ácido 2-(3-hidroxi-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se solubilizó en N,N-dimetilformamida a una concentración de 0,1 M con 2 equivalentes de diisopropililamina. El reactivo de acoplamiento O-(Benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU) se solubilizó a 0,1 M en N,N-dimetilformamida. Se agregó un equivalente a la solución ácida y se agitó la mezcla de reacción durante 5 minutos. La fenetilamina se solubilizó en N,N-dimetilformamida a 0,1 M. Se agregó un equivalente a la solución de ácido activado y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla se evaporó y el residuo se purificó en C18 en un gradiente de agua / metanol con 0,1 % de amoníaco para obtener el compuesto final en forma de polvo (rendimiento 75 %). MS m/z (M+H) 358,12.

Ejemplo de referencia 22

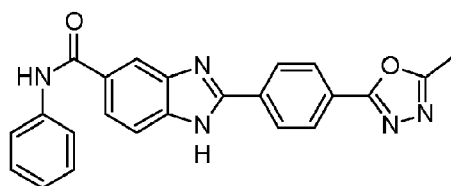
- 25 Ácido 2-[4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-fenil]-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



El ácido 2-[4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-fenil]-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se sintetizó a partir del éster etílico del ácido 3,4-diamino-benzoico i y del ácido 4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-benzoico siguiendo el procedimiento del ejemplo 26. En el transcurso de la reacción se produjo la hidrólisis del éster carboxílico. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,41 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 8,18 (t, J = 10,6 Hz, 3H), 7,87 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 2,62 (s, 3H), 1,23 (s, 1H). MS m/z (M+H). 321,0.

Ejemplo de referencia 23

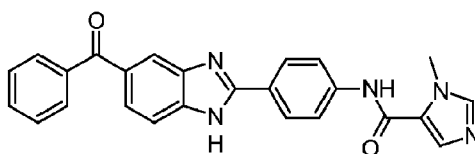
Fenilamida del ácido 2-[4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-fenil]-1H- benzoimidazol-5-carboxílico



5 La fenilamida del ácido 2-[4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-fenil]-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se sintetizó por acoplamiento entre el ácido 2-[4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-fenil]-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y la anilina utilizando el procedimiento del ejemplo 13. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,29 (s, 1H), 8,48 - 8,39 (m, 2H), 8,22 - 8,15 (m, 2H), 7,90 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,85 - 7,79 (m, 2H), 7,74 (s, 1H), 7,36 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 7,10 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 2,62 (s, 3H). MS m/z (M+H). 396,0.

Ejemplo de referencia 24

[4-(5-Benzoil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido 3-metil-3H-imidazol-4-carboxílico



10 Etapa 1: [2-(4-nitro-fenil)-3H-benzoimidazol-5-il]-fenil-metanona

Se preparó la [2-(4-nitro-fenil)-3H-benzoimidazol-5-il]-fenil-metanona utilizando (3,4-diamino-fenil)-fenil-metanona **xiib** y 4-nitro-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 344,0.

Etapa 2: [2-(4-amino-fenil)-3H-benzoimidazol-5-il]-fenil-metanona

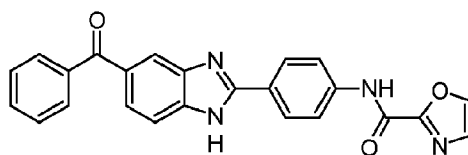
15 Se preparó la [2-(4-amino-fenil)-3H-benzoimidazol-5-il]-fenil-metanona a partir de [2-(4-nitro-fenil)-3H-benzoimidazol-5-il]-fenil-metanona siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. MS m/z (M+H) 313,9.

Etapa 3: [4-(5-benzoil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido 3-metil-3H-imidazol-4-carboxílico

20 Se sintetizó la [4-(5-benzoil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido 3-metil-3H-imidazol-4-carboxílico a partir de [2-(4-amino-fenil)-3H-benzoimidazol-5-il]-fenil-metanona y ácido 3-metil-3H-imidazol-4-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13,23 (d, J = 22,9 Hz, 1H), 10,30 (s, 1H), 8,21 - 8,11 (m, 2H), 7,93 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,87 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,80 - 7,75 (m, 3H), 7,74 - 7,63 (m, 3H), 7,59 (dd, J = 8,2, 6,8 Hz, 2H), 3,88 (s, 3H). MS m/z (M-H) 420,1.

Ejemplo de referencia 25

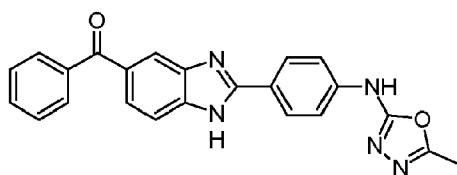
[4-(5-Benzoil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido oxazol-2-carboxílico



25 A una solución agitada de ácido oxazol-2-carboxílico (81 mg, 0,718 mmol) en DMF (10 ml) a 25 °C, se le agregaron sucesivamente trietilamina (0,35 ml, 1,19 mmol) y PyBOP (303 mg, 0,718 mmol) y se agitó durante 15 min. A la solución anterior se le agregó [2-(4-aminofenil)-1H-benzoimidazol-5-il]-fenil-metanona (150 mg, 0,479 mmol) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C, durante 16 h. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se agregó a agua helada y se extrajo con acetato de etilo. La capa de acetato de etilo se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida para obtener el producto en bruto que se purificó con cromatografía en columna en fase normal usando gel de sílice (230-400) en disolvente de acetato de etilo/ hexano para obtener la [4-(5-benzoil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido oxazol-2-carboxílico (40 mg, 21 % de rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13,26 (d, J = 24,2 Hz, 1H), 11,14 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,19 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 8,08 - 7,96 (m, 2H), 7,89 (s, 2H), 7,77 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,73 - 7,64 (m, 2H), 7,64 - 7,48 (m, 3H). MS m/z (M+H) 409,1.

35 **Ejemplo de referencia 26**

{2-[4-(5-Metil-[1,3,4]oxadiazol-2-ilamino)-fenil]-1H-benzoimidazol-5-il}-fenil-metanona



Etapa 1: éster etílico del ácido 4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-ilamino)-benzoico

El éster etílico del ácido 4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-ilamino)-benzoico se preparó utilizando Tetrahedron, 2005, 61(22), 5323-5349.

5 Etapa 2: ácido 4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-ilamino)-benzoico

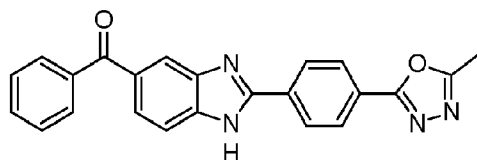
El ácido 4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-ilamino)-benzoico se preparó siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 219,9.

Etapa 3: {2-[4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-ilamino)-fenil]-1H-benzoimidazol-5-il}-fenil-metanona

10 A un recipiente de reacción que contenía ácido polifosfórico (5 g) bajo atmósfera de nitrógeno a 110 °C se agregaron (3,4-diamino-fenil)-fenil-metanona **xiib** (175 mg, 0,82 mmol) y ácido 4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-ilamino)-benzoico (180 mg, 0,82 mmol) en porciones. La suspensión resultante se calentó a 130°C, durante 2 h. La reacción se controló por TLC. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se agregó a hielo picado y se basificó con NaHCO₃ hasta pH-9. La suspensión resultante se extrajo con metanol al 20 % en CH₂Cl₂, la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El producto en bruto obtenido se purificó con ayuda de HPLC preparativa en fase inversa para obtener el producto como sólido de color marrón pálido 30 mg (9,3 %, rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,21 - 8,14 (m, 2H), 7,92 (s, 1H), 7,80 - 7,64 (m, 7H), 7,58 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,43 (s, 3H). MS m/z (M+H) 395,9.

Ejemplo de referencia 27

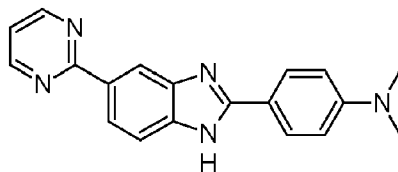
{2-[4-(5-Metil-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-fenil]-1H-benzoimidazol-5-il}-fenil-metanona



20 La {2-[4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-fenil]-1H-benzoimidazol-5-il}-fenilmetanona se sintetizó a partir del ácido 4-(5-metil-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-benzoico (PCT Int. Appl., 2009117676, 24 Sep 2009) y (3,4-diamino-fenil)-fenil-metanona **xiib** siguiendo el procedimiento del ejemplo 26. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,63 (s, 1H), 8,45 - 8,38 (m, 2H), 8,25 - 8,12 (m, 2H), 7,99 (s, 1H), 7,78 (dt, J = 7,0, 1,4 Hz, 3H), 7,75 - 7,66 (m, 2H), 7,64 - 7,51 (m, 2H), 2,62 (s, 3H). MS m/z (M+H) 281,0.

Ejemplo de referencia 28

Dimetil-[4-(5-pirimidin-2-il-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amina



Etapa 1: 4-pirimidin-2-il-benceno-1,2-diamina **xiif**

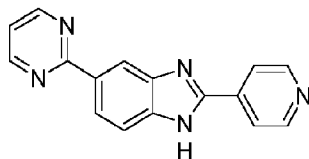
30 La 4-pirimidin-2-il-benceno-1,2-diamina **xiif** se preparó utilizando PCT Int. Appl., 2014176258.

Etapa 2: dimetil-[4-(5-pirimidin-2-il-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amina

35 La dimetil-[4-(5-pirimidin-2-il-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amina se sintetizó a partir de 4-pirimidin-2-il-benceno-1,2-diamina **xiif** y 4-dimetilamino-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,73 (s, 1H), 8,88 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 8,52 (s, 1H), 8,27 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,07 - 7,98 (m, 2H), 7,61 (s, 1H), 7,37 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 6,92 - 6,77 (m, 2H), 3,01 (s, 6H). MS m/z (M+H) 316,4.

Ejemplo de referencia 29

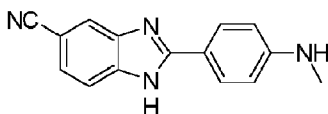
2-Piridin-4-il-5-pirimidin-2-il-1H-benzoimidazol



5 El 2-piridin-4-il-5-pirimidin-2-il-1H-benzoimidazol se sintetizó a partir de 4-pirimidin-2-il-benceno-1,2-diamina **xiif** y piridina-4-carbaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13,47 (s, 1H), 8,92 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 8,83 - 8,76 (m, 2H), 8,69 (s, 1H), 8,39 (dd, J = 8,6, 1,6 Hz, 1H), 8,19 - 8,09 (m, 2H), 7,78 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,42 (t, J = 4,8 Hz, 1H). MS m/z (M+H) 274,1.

Ejemplo de referencia 30

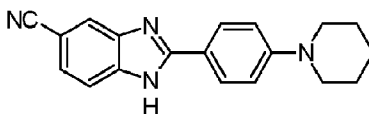
2-(4-metilamino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carbonitrilo



10 El 2-(4-metilamino-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carbonitrilo se preparó a partir de 3,4-diamino-benzonitrilo **xiic** y 4-metilamino-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,98 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,99 - 7,85 (m, 1H), 7,57 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 6,66 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,38 - 6,30 (m, 1H), 2,75 (d, J = 4,9 Hz, 3H). MS m/z (M+H) 248,9.

Ejemplo de referencia 31

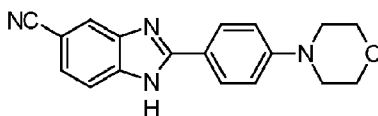
15 2-(4-Piperidin-1-il-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carbonitrilo



20 Se preparó el 2-(4-Piperidin-1-il-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carbonitrilo a partir de 3,4-diamino-benzonitrilo **xiic** y 4-Piperidin-1-il-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13,11 (s, 1H), 8,10 - 7,97 (m, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,71 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,53 (dd, J = 8,5, 4,0 Hz, 1H), 7,11 - 7,03 (m, 2H), 3,86 (m, 4H), 1,60 (t, J = 3,2 Hz, 6H). MS m/z (M+H) 303,4.

Ejemplo de referencia 32

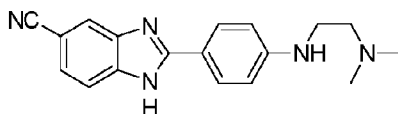
2-(4-Morfolin-4-il-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carbonitrilo



25 El 2-(4-Morfolin-4-il-fenil)-1H- benzoimidazol-5-carbonitrilo se preparó a partir de 3,4-diamino-benzonitrilo **xiic** y 4-morfolin-4-il-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13,17 (s, 1H), 8,06 (d, J = 8,7 Hz, 3H), 7,63 (s, 1H), 7,58 - 7,51 (m, 1H), 7,16 - 7,08 (m, 2H), 3,76 (t, J = 4,9 Hz, 4H), 3,27 (t, J = 4,9 Hz, 4H). MS m/z (M+H) 305,3.

Ejemplo de referencia 33

2-[4-(2-Dimetilamino-etilamino)-fenil]-1H- benzoimidazol-5-carbonitrilo

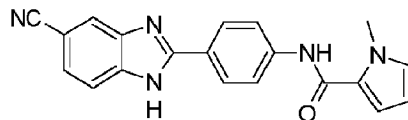


30 Se preparó el 2-[4-(2-dimetilamino-etilamino)-fenil]-1H- benzoimidazol-5-carbonitrilo a partir de 3,4-diamino-benzonitrilo **xiic** y 4-(2-dimetilamino-etilamino)-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13,11 (s, 1H), 8,08 - 7,86 (m, 3H), 7,64 (dd, J = 38,3, 8,4 Hz, 1H), 7,51 (d, J = 8,5 Hz, 1H),

6,75 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,32 (s, 1H), 3,34 - 3,24 (m, 2H), 2,79 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 2,45 (s, 6H). MS m/z (M+H) 306,2.

Ejemplo de referencia 34

[4-(5-Ciano-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido 1-metil-1H-pirrol-2-carboxílico



5

Etapa 1: 2-(4-Nitro-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carbonitrilo

El 2-(4-Nitro-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carbonitrilo se preparó a partir de 3,4-diamino-benzonitrilo **xiic** y 4-nitro-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M-H) 262,9.

Etapa 2: 2-(4-amino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carbonitrilo

10 A una solución agitada de 2-(4-nitro-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carbonitrilo (500 mg, 1,89 mmol, 1 eq) en etanol (20 ml) a 25 °C, se agregaron 5mL de solución acuosa de NH₄Cl (1,27g, 22,72 mmol, 12 eq) y polvo de hierro (636 mg, 11,36 mmol, 6 eq) y se calentó a 80°C, durante 16 h. La reacción se controló por TLC. Una vez completada la reacción, la masa de reacción se filtró a través de un lecho de celite®, el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto como sólido de color marrón que se purificó adicionalmente mediante lavado con metanol para obtener 2-(4-aminofenil)-1H-benzoimidazol-5-carbonitrilo como sólido de color marrón rojizo (320 mg, rendimiento del 72 %). MS m/z (M+H) 234,9.

15

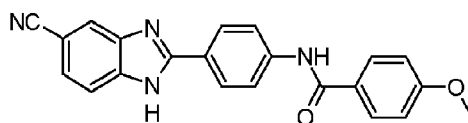
Etapa 3: [4-(5-ciano-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido 1-metil-1H-pirrol-2-carboxílico

20 A una solución de ácido 1-metil-1H-pirrol-2-carboxílico (240 mg, 1,92 mmol, 1,5 eq) en DMF (10 ml) a 25 °C, se le agregaron EDCI (488 mg, 2,56 mmol), 2-(4-amino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carbonitrilo (400 mg, 1,28 mmol) y DMAP (35 mg, 0,25 mmol). La masa de reacción resultante se calentó a 80 °C, durante 16 h. La reacción se controló por TLC. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción anterior se agregó a hielo picado, se filtró y el sólido obtenido se purificó mediante cromatografía en columna utilizando gel de sílice 230-400 en el sistema de disolventes CH₂Cl₂ / metanol. El producto obtenido se purificó adicionalmente por recristalización de metanol para obtener la [4-(5-ciano-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido 1-metil-1H-pirrol-2-carboxílico como un sólido blanquecino (95 mg, 16 % de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,36 (s, 1H), 10,01 (s, 1H), 8,16 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,98 - 7,90 (m, 2H), 7,78 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,58 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,13 - 7,02 (m, 2H), 6,13 (dd, J = 4,0, 2,5 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H). MS m/z (M+H) 342,1.

25

Ejemplo de referencia 35

N-[4-(5-Ciano-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-4-metoxi-benzamida



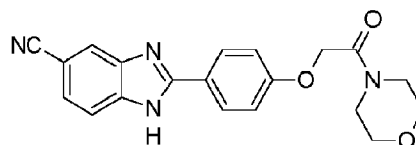
30

La N-[4-(5-Ciano-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-4-metoxi-benzamida se preparó a partir de ácido 4-metoxibenzoico y 2-(4-amino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carbonitrilo siguiendo el procedimiento del ejemplo 34. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,23 (s, 1H), 8,21 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,99 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,87 (d, J = 8,1 Hz, 3H), 7,55 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 3,85 (s, 3H). MS m/z (M+H) 369,1.

35

Ejemplo de referencia 36

2-[4-(2-Morfolin-4-il-2-oxoetoxi)-fenil]-1H-benzoimidazol-5-carbonitrilo



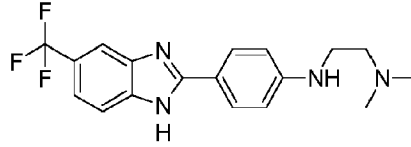
40

El 2-[4-(2-morfolin-4-il-2-oxoetoxi)-fenil]-1H-benzoimidazol-5-carbonitrilo se preparó a partir de 4-(2-Morfolin-4-il-2-oxoetoxi)-benzaldehído (preparado usando J. Med. Chem. 2014, 57(13), 5579-5601) y 3,4-diamino-benzonitrilo **xiic** siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,30 (s, 1H), 8,13 (d,

J = 8,6 Hz, 3H), 7,72 (d, J = 39,4 Hz, 1H), 7,57 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,16 - 7,09 (m, 2H), 4,97 (s, 2H), 3,61 (dt, J = 20,9, 4,7 Hz, 4H), 3,48 (dd, J = 9,0, 4,8 Hz, 4H). MS m/z (M+H) 363,1.

Ejemplo de referencia 37

N,N-dimetil-N'-[4-(5-trifluorometil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-etano-1,2-diamina



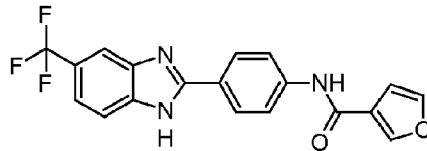
5

La N,N-dimetil-N'-[4-(5-trifluorometil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-etano-1,2-diamina se preparó a partir de 4-(trifluorometil)benceno-1,2-diamina **xiih** y 4-(2-dimetilamino-etilamino)-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 12,88 (s, 1H), 7,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,76 - 7,67 (m, 1H), 7,60 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,43 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,73 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,14 - 6,03 (m, 1H), 3,19 (m, 1H), 4,3 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,73 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,14 - 6,03 (m, 1H), 3,19 (q, J = 6,2 Hz, 2H), 2,47 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 2,21 (s, 6H). MS m/z (M+H) 349,0.

10

Ejemplo de referencia 38

[4-(5-trifluorometil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido furan-3-carboxílico



15

Etapa 1: 2-(4-nitrofenil)-5-(trifluorometil)-1H-benzoimidazol

El 2-(4-nitrofenil)-5-(trifluorometil)-1H-benzoimidazol se sintetizó a partir de 4-(trifluorometil)benceno-1,2-diamina **xiih** y 4-nitro-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 308,0.

Etapa 2: 4-[5-(trifluorometil)-1H-benzoimidazol-2-il]anilina

20

Se sintetizó el 4-[5-(trifluorometil)-1H-benzoimidazol-2-il]anilina a partir de 2-(4-nitrofenil)-5-(trifluorometil)-1H-benzoimidazol siguiendo el procedimiento del ejemplo 34. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 12,84 (s, 1H), 7,91 - 7,83 (m, 2H), 7,67 (t, J = 19,9 Hz, 2H), 7,43 (dd, J = 8,4, 1,7 Hz, 1H), 6,74 - 6,64 (m, 2H), 5,72 (s, 2H). MS m/z (M+H) 278,0.

Etapa 3: [4-(5-trifluorometil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido furan-3-carboxílico

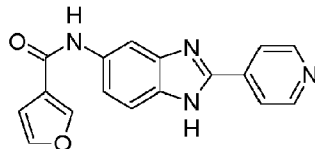
25

La [4-(5-trifluorometil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido furan-3-carboxílico se sintetizó a partir de 4-[5-(trifluorometil)-1H-benzoimidazol-2-il]anilina y ácido furan-3-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 10,45 (s, 1H), 8,52 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 8,30 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 8,10 - 8,02 (m, 3H), 7,92 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,84 (t, J = 1,7 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,06 (d, J = 1,9 Hz, 1H). MS m/z (M+H) 372,1.

Ejemplo de referencia 39

30

(2-piridin-4-il-1H-benzoimidazol-5-il)-amida del ácido furan-3-carboxílico



Etapa 1: 5-nitro-2-(piridin-4-il)-1H-benzoimidazol

Se sintetizó la 5-nitro-2-(piridin-4-il)-1H-benzoimidazol a partir de 4-nitro-benceno-1,2-diamina **xiig** y piridina-4-carbaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 241,0.

35

Etapa 2: 2-(piridin-4-il)-1H-benzoimidazol-5-amina

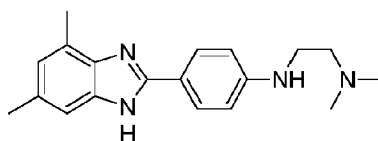
La 2-(piridin-4-il)-1H-benzoimidazol-5-amina se sintetizó a partir de 5-nitro-2-(piridin-4-il)-1H-benzoimidazol siguiendo el procedimiento del ejemplo 34. MS m/z (M+H) 211,1.

Etapas 3: (2-piridin-4-il-1H-benzoimidazol-5-il)-amida del ácido furan-3-carboxílico

- 5 Se sintetizó la (2-piridin-4-il-1H-benzoimidazol-5-il)-amida del ácido furan-3-carboxílico utilizando 2-(piridin-4-il)-1H-benzoimidazol-5-amina y ácido furan-3-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,22 (d, J = 18,4 Hz, 1H), 10,27 (d, J = 30,2 Hz, 1H), 8,81 - 8,69 (m, 2H), 8,31 - 8,14 (m, 1H), 8,07 (dd, J = 12,4, 5,3 Hz, 2H), 7,95 (dd, J = 4,2 Hz, 1H), 7,66 (dd, J = 15,6, 8,3 Hz, 1H), 7,60 - 7,46 (m, 1H), 7,35 (dd, J = 9,5, 3,5 Hz, 1H), 6,72 (q, J = 2,7 Hz, 1H). MS m/z (M+H) 305,0.

Ejemplo de referencia 40

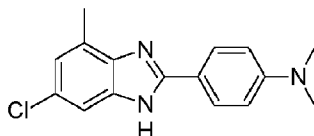
- 10 N'-[4-(4,6-Dimetil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-N,N-dimetil-etano-1,2-diamina



- 15 La N'-[4-(4,6-dimetil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-N,N-dimetil-etano-1,2-diamina se sintetizó a partir de 3,5-dimetilbenceno-1,2-diamina **xiid** y 4-(2-dimetilamino-etilamino)-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,19 (s, 1H), 7,93 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,76 - 6,65 (m, 3H), 5,87 (d, J = 3,9 Hz, 1H), 3,16 (q, J = 6,4 Hz, 2H), 2,51 - 2,42 (m, 5H), 2,35 (d, J = 7,6 Hz, 3H), 2,20 (s, 6H). MS m/z (M+H) 309,2.

Ejemplo de referencia 41

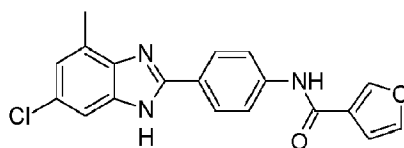
[4-(6-cloro-4-metil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-dimetil-amina



- 20 La [4-(6-cloro-4-metil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-dimetil-amina se sintetizó a partir de 5-cloro-3-metilbenceno-1,2-diamina **xiie** y 4-(2-dimetilamino-etilamino)-benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,49 (d, J = 90,9 Hz, 1H), 8,05 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,97 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,55 - 7,19 (m, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,83 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 3,00 (d, J = 1,8 Hz, 6H), 2,55 (s, 3H). MS m/z (M+H) 286,1.

Ejemplo de referencia 42

- 25 [4-(6-Cloro-4-metil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido furan-3-carboxílico



Etapas 1: 6-cloro-4-metil-2-(4-nitrofenil)-1H-benzoimidazol

El 6-cloro-4-metil-2-(4-nitrofenil)-1H-benzoimidazol se sintetizó a partir de 5-cloro-3-metilbenceno-1,2-diamina **xiie** y 4-nitro benzaldehído siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M+H) 288,1.

- 30 Etapas 2: 4-(6-cloro-4-metil-1H-benzoimidazol-2-il)anilina

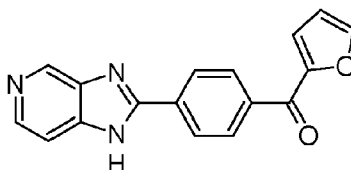
Se sintetizó la 4-(6-cloro-4-metil-1H-benzoimidazol-2-il)anilina a partir de 6-cloro-4-metil-2-(4-nitrofenil)-1H-benzoimidazol siguiendo el procedimiento del ejemplo 34. MS m/z (M+H) 258,1.

Etapas 3: [4-(6-cloro-4-metil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido furan-3-carboxílico

- 35 La [4-(6-cloro-4-metil-1H-benzoimidazol-2-il)-fenil]-amida del ácido furan-3-carboxílico se sintetizó a partir de 4-(6-cloro-4-metil-1H-benzoimidazol-2-il)anilina y ácido furan-3-carboxílico siguiendo el procedimiento del ejemplo 13. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,80 (d, J = 91,6 Hz, 1H), 10,15 (s, 1H), 8,43 (t, J = 1,1 Hz, 1H), 8,21 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,91 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,83 (t, J = 1,8 Hz, 1H), 7,52 - 7,31 (m, 2H), 7,03 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 2,58 - 2,55 (m, 3H). MS m/z (M+H) 352,1.

Ejemplo de referencia 43

Furan-2-il-[4-(1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il)-fenil]-metanona



Etapa 1: ácido 4-(furan-2-carbonil)-benzoico

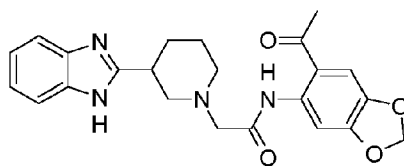
- 5 El ácido 4-(furan-2-carbonil)-benzoico se sintetizó a partir del éster metílico del ácido 4-(furan-2-carbonil)-benzoico (sintetizado según Eur. J. Org. Chem. 2011, 14, 2662 - 2667) siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. MS m/z (M-H) 215,1.

Etapa 2: furan-2-il-[4-(1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il)-fenil]-metanona

- 10 La furan-2-il-[4-(1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il)-fenil]-metanona se sintetizó a partir del ácido 4-(furan-2-carbonil)-benzoico y piridina-3,4-diamina siguiendo el procedimiento del ejemplo 26. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,63 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,44 - 8,31 (m, 3H), 8,20 - 8,06 (m, 3H), 7,65 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,84 (dd, J = 3,6, 1,7 Hz, 1H). MS m/z (M+H). 290,0.

Ejemplo de referencia 44

N-(6-Acetil-benzo[1,3]dioxol-5-il)-2-[3-(1H-benzoimidazol-2-il)-piperidin-1 -il]-acetamida



15

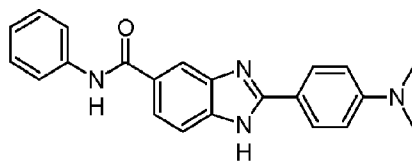
Etapa 1: 2-piperidin-3-il-1H-benzoimidazol

- 20 Se disolvió 1-(6-amino-benzo[1,3]dioxol-5-il)-etanona (0,90 g, 5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) con un equivalente de trietilamina (0,50 g, 5 mmol). Se agregó gota a gota cloruro de cloroacetilo (0,56 g, 5 mmol) y la mezcla se agitó durante una hora y se evaporó. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó para obtener un sólido que se utilizó sin purificación adicional. (Rendimiento de 95 %). Etapa 2: N-(6-acetil-benzo[1,3]dioxol-5-il)-2-[3-(1H-benzoimidazol-2-il)-piperidin-1-il]-acetamida

- 25 El 2-Piperidin-3-il-1H-benzoimidazol se solubilizó en N,N-dimetilformamida a una concentración de 0,1 M con 2 equivalentes de diisopropilamina. La N-(6-acetil-benzo[1,3]dioxol-5-il)-2-cloro-acetamida se solubilizó en N,N-dimetilformamida a una concentración de 0,1 M. Se agregó un equivalente a la solución de amina y la mezcla de reacción se calentó a 80 °C, durante 8 horas. La mezcla se evaporó y el residuo se purificó en C18 en un gradiente agua / metanol con 0,1% de amoníaco para obtener el compuesto final en forma de polvo (rendimiento del 80 %). MS m/z (M+H). 421,15.

Ejemplo 45

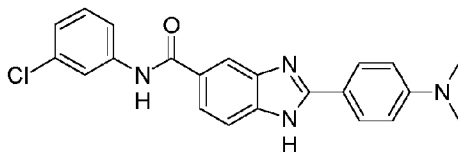
Fenil amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



- 35 La fenil amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se sintetizó a partir del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y anilina siguiendo el procedimiento del ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,81 (s, 1H), 10,19 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,08 - 8,00 (m, 2H), 7,86 - 7,77 (m, 3H), 7,59 (d, J = 33,0 Hz, 1H), 7,39 - 7,31 (m, 2H), 7,13 - 7,03 (m, 1H), 6,90 - 6,82 (m, 2H), 3,02 (s, 6H). MS m/z (M+H) 357,1.

Ejemplo 46

(3-Clorofenil)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico



La(3-clorofenil)-amida del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico se sintetizó a partir del ácido 2-(4-dimetilamino-fenil)-1H-benzoimidazol-5-carboxílico y 3-cloro-fenilamina siguiendo el procedimiento para el ejemplo 1. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,90 (s, 1H), 10,37 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 8,08 - 7,98 (m, 3H), 7,82 - 7,73 (m, 2H), 7,61 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,39 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,15 (ddd, J = 8,0, 2,1, 0,9 Hz, 1H), 6,91 - 6,81 (m, 2H), 3,02 (s, 6H). MS m/z (M+H) 390,9.

2 / Actividad biológica

2-1/ Determinación in vitro de la actividad de los compuestos mediante el ensayo HTRF

10 Principio:

En el experimento, se utilizaron Erk1 y Erk2 recombinantes, marcadas con un tramo de polihistidina en su parte N-terminal. Para reproducir la interacción entre ERK1/2 y Myd88, se utilizó un péptido correspondiente a los aminoácidos 24-40 de Myd88: biotina-Ahx-PLAALNMRVRRRLSLFLNVR siendo Ahx ácido aminohexanoico como espaciador (biotina-MyD88péptido). Este péptido englobaba el motivo de interacción de Myd88 con el dominio CD de ERK1/2. Para realizar el ensayo HTRF, este péptido se marcó N-terminalmente con biotina. Para detectar la interacción entre el péptido y Erk1 o Erk2 se utilizaron los siguientes componentes: un anticuerpo dirigido contra la etiqueta His-tag, marcado con el fluoróforo donante (criptato de europio); la proteína estreptavidina, marcada con el fluoróforo aceptor XL665 dirigido contra la biotina. Todos los componentes excepto Erk1, Erk2 y el péptido se adquirieron a Cisbio (Condolet, Francia).

20 El ensayo de fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (HTRF) combina dos técnicas: Transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) y medición con resolución temporal (TR). En la TR-FRET, la transferencia de fluorescencia entre una molécula donadora y una aceptora genera una señal que puede medirse. Esta transferencia de energía sólo es posible cuando ambos fluoróforos están lo suficientemente cerca entre sí. Por lo tanto, este procedimiento puede utilizarse para detectar la interacción proteína-proteína.

25 Experimentación:

▣ Para la interacción MyD88-ERK1 el medio de reacción contenía: 6xHis-ERK1 a 7,5 nM, biotina-MyD88péptido a 25 nM, anticuerpo anti-Histidina-Criptato a 1,3325 nM y estreptavidina marcada con XL665 a 3,125 nM.

30 ▣ Para la interacción MyD88-ERK2 el medio de reacción contenía: GST-ERK2 a 50 nM, biotina-MyD88pep a 50 nM, anticuerpo anti-GST-Criptato a 0,8 nM y estreptavidina marcada con XL665 a 12,5 nM.

Las concentraciones de los compuestos a ensayar oscilaron entre 0,1 µM y 100 µM. Se prepararon soluciones madre de los compuestos según la invención a 10 mM en DMSO. Las soluciones madre de los compuestos se distribuyeron directamente en placas negras de 384 pocillos (Greiner de bajo volumen) en Tris-HCl 20 mM, pH 8/0,1 % de BSA/0,05 % de Tween 20/150mM de NaCl (ensayo ERK1) o en Tris-HCl 10 mM, pH8/0,1 % de BSA/0,05 % de Tween 20/150mM de NaCl (ensayo ERK2) mediante un dispensador digital HP D300 para obtener las concentraciones finales requeridas. A continuación, se agregaron las proteínas (ERK1, ERK2) y se incubó la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente. Tras la incubación, se agregaron biotina-Myd88péptido, anti-his-K, anti-GST-k y XL665-estreptavidina a cada pocillo correspondiente hasta alcanzar un volumen final de 20 µl. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas y se midió la fluorescencia con un lector TECAN Infinite F500 Reader®. Los resultados se calculan como la variación de fluorescencia (Delta F) entre el control y las muestras. Delta F se calculó mediante la siguiente ecuación: [(Proporción muestra-Proporción de la media aritmética del control)/Proporción de la media aritmética del control] x100 donde proporción = (Fluorescencia del aceptor/ Fluorescencia del donante) x10000. Las IC50 se determinaron utilizando el software GraphPad siguiendo esta ecuación: log (inhibidor) frente a la variable de respuesta pendiente (parámetros jour) y = Inferior + [(Superior-Inferior)/ (1+10((logIC50-X) pendiente))]. El valor inferior se determinó mediante la ecuación y el superior fue el valor de control DMSO. Los resultados se presentan a continuación, en el apartado 2-5.

2-2/ Ensayo celular

50 Los términos "promotor SRE" se refieren a "elementos de respuesta al suero", que es una secuencia de ADN (CC(A/T)6GG) que se utiliza aguas arriba de los genes indicadores y se sabe que es el sitio de unión de las proteínas SRF (factor de respuesta al suero) codificadas por el gen SRF identificado por el número del Banco de Genes (Gene ID: 6722, NM_003131.2).

Para determinar la actividad de los compuestos sobre ERK1/2, se utilizó la línea celular de tumor de colon humano (HCT116) p53+/+ transformada de forma estable para expresar el gen indicador de luciferasa bajo el control del elemento de respuesta al suero (SRE). Esta línea celular se cultivó en medio McCoy suplementado con 10% de FBS, 2 mM de glutamina, 1 % de antibióticos y 1 µM de puromicina.

5 Las células HCT116 p53+/+ SRE luciferasa se sembraron en una placa de fondo plano de 96 pocillos a razón de 20.000 pocillos y se incubaron a 37 °C, durante 36 horas. El medio se desechó y se substituyó por 100 µl de medio libre de suero durante 16 horas. A continuación, se pretrataron las células durante 2 horas con los compuestos según la invención a diversas concentraciones (desde 0,001 µM a 80 µM). A continuación, las células se estimularon mediante la adición de un 10 % de FCS y se incubaron a 37 °C, durante cuatro horas más; la expresión del gen indicador se evaluó con el reactivo One-Glo Luciferase (Promega). La luminiscencia se cuantificó al cabo de 5 minutos en un lector TECAN infinite M200 Reader (Männedorf, Suiza). Los resultados se presentan a continuación, en el apartado 2-5.

2-3/ Ensayo de apoptosis

15 La apoptosis celular se midió utilizando el kit de ensayo Caspase-Glo® 3/7 (Promega). Para realizar este estudio, se sembraron células HCT116 p53+/+ a una densidad de 7.000 células/pocillo en placas de 96 medios pocillos y se mantuvieron 24 h. a 37 °C en medio McCoy suplementado con 2 mM de glutamina, 1 % de penicilina, 1 % de estreptomycin y 10 % de FBS. A continuación, las células se trataron con los compuestos a distintas concentraciones que oscilaban entre 1µM y 100µM según el compuesto. La concentración de DMSO se normalizó al 1 % en cada pocillo y las células se incubaron durante 16 h. La actividad de la caspasa 3/7 se controló utilizando el kit caspase-Glo 3/7 según las instrucciones del fabricante. Brevemente, se agregaron 50 µL de reactivo Caspase-Glo® 3/7 en cada pocillo y las placas se agitaron suavemente durante 30 s. y se dejaron a temperatura ambiente durante una hora más. A continuación, se midió la luminiscencia en un lector de microplacas TECAN infinite 200. Los resultados se expresan como el factor multiplicador de inducción de la activación de la caspasa 3/7 utilizando como control células tratadas con DMSO. Los resultados se presentan en las figuras 1 a 3.

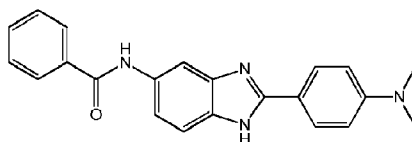
2-4/ Xenoinjerto

Se inyectaron células HCT116 por vía subcutánea en el flanco de ratones Swiss-nude hembra de 6 semanas de edad (Charles River, Les Oncins, Francia). Cuando los tumores alcanzaron los 100 mm³, los ratones fueron tratados diariamente por vía intraperitoneal con 50, 25, 12,5 mg/kg del compuesto 6, o un vehículo. El volumen tumoral se midió dos veces por semana con un calibrador electrónico. Los resultados se presentan en la figura 4.

2-5/ Resultados

Compuestos	IC50* (µM) sobre Myd88-ERK1 en ensayo HRTF	IC50* (µM) sobre Myd88-ERK2 en ensayo HRTF	IC50* (µM) en ensayo celular
6	4,44	2,34	0,48
2	8	11,76	0,32
7	6,15	25,5	0,79
Comp. ej.**	>50 (Inactivo)	>50 (Inactivo)	>50 (Inactivo)

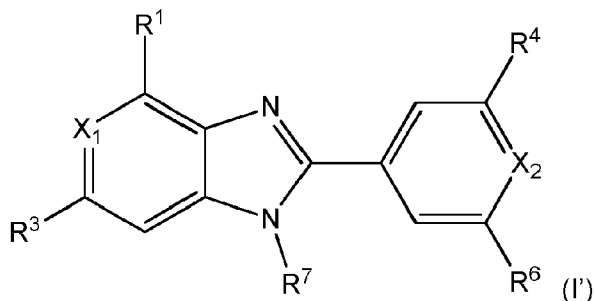
* Concentración de inhibición: la concentración que proporciona el 50 % de inhibición, ** Comp. ej. =



Cuanto menor es el valor IC50, cuanto mayor es la inhibición, mejor es la actividad de los compuestos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la siguiente fórmula (I') o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero o mezcla de estereoisómeros del mismo, en cualquier proporción, en particular una mezcla de enantiómeros, y especialmente una mezcla racémica,



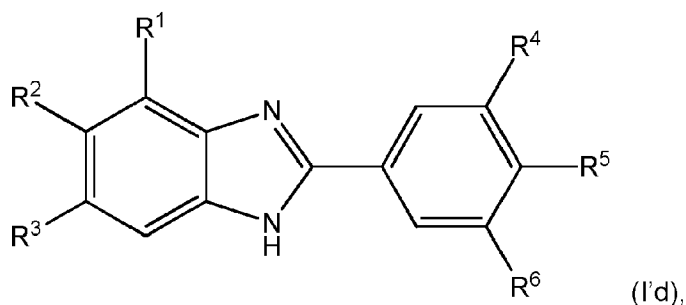
5

en la que:

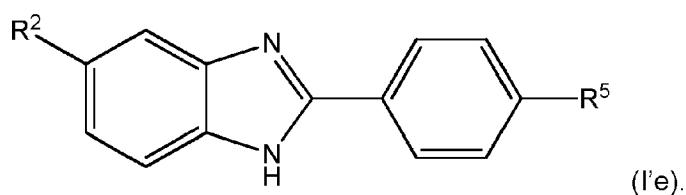
- X₁ representa CR²;
 - X₂ representa CR⁵;
 - R¹ representa H, (C1-C6)alquilo o halógeno;
 - R² representa CONR¹¹R¹²; en el que
 - R¹¹ representa H o (C1-C6)alquilo;
 - R¹² representa un grupo (C1-C6)alquilo, arilo, aril-(C1-C6)alquilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR³⁵ y NR³⁶R³⁷;
 - R³⁵, R³⁶ y R³⁷ representan, independientemente entre sí, H o (C1-C6)alquilo;
 - R³ representa H, (C1-C6)alquilo o halógeno;
 - R⁴ representa H, Cl, CN, NO₂, NHR¹⁸ u OR¹⁹, en el que:
 - R¹⁸ representa H, (C1-C6)alquilo, arilo, heteroarilo o (C1-C6)alquilcarbonilo;
 - R¹⁹ representa H o (C1-C6)alquilo;
 - R⁵ representa NR²¹R²² en el que:
 - R²¹ representa H, o R⁴¹;
 - R²² representa H, o R⁴²;
 - o R²¹ y R²² forman junto con el átomo de nitrógeno que los contiene un heterociclo opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo;
 - R⁴¹ y R⁴² representan, independientemente entre sí, un grupo (C1-C6)alquilo, arilo, aril-(C1-C6)alquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR⁴³ y NR⁴⁴R⁴⁵;
 - R⁴³, R⁴⁴ y R⁴⁵ representan, independientemente entre sí, H o (C1-C6)alquilo;
 - R⁶ representa H, OH, (C1-C6)alcoxi o (C1-C6)alquilo; y
 - R⁷ representa H o (C1-C6)alquilo;
 - siempre que cuando R¹² = arilo opcionalmente sustituido, entonces R²¹ represente H o (C1-C6)alquilo y R²² represente H o (C1-C6)alquilo, o R²¹ y R²² formen junto con el átomo de nitrógeno que los soporta un heterociclo, preferentemente un heterociclo saturado, opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo,
- y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo,
- para su uso en el tratamiento del cáncer.

35

2. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que es un compuesto de fórmula siguiente (I'd) o (I'e) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero o mezcla de estereoisómeros del mismo, en cualquier proporción, en particular una mezcla de enantiómeros, y especialmente una mezcla racémica,



5 o



3. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que R11 representa H o CH₃, preferentemente H.

4. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R12 representa un arilo, o un grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37, en el que el arilo es un fenilo y el grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros es un furilo, tienilo, pirrolilo, piridilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo; preferentemente un piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo; más preferentemente piridilo.

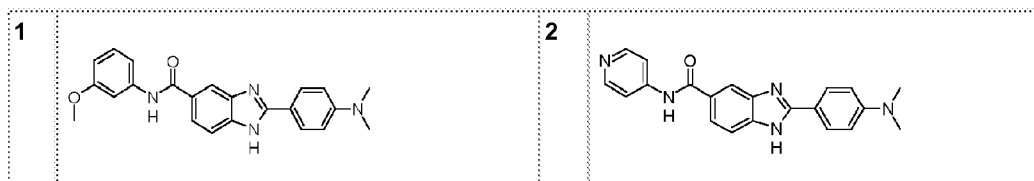
5. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R21 representa H o R41 y R22 representa H o R42 o R21 y R22 forman junto con el átomo de nitrógeno que los lleva un heterociclo opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo, con R41 y R42 representando, independientemente entre sí, un grupo (C1-C6)alquilo, y siendo el heterociclo un heterociclo saturado de 5 o 6 miembros, tal como pirrolidinilo, morfolinilo, piperidinilo o piperazinilo.

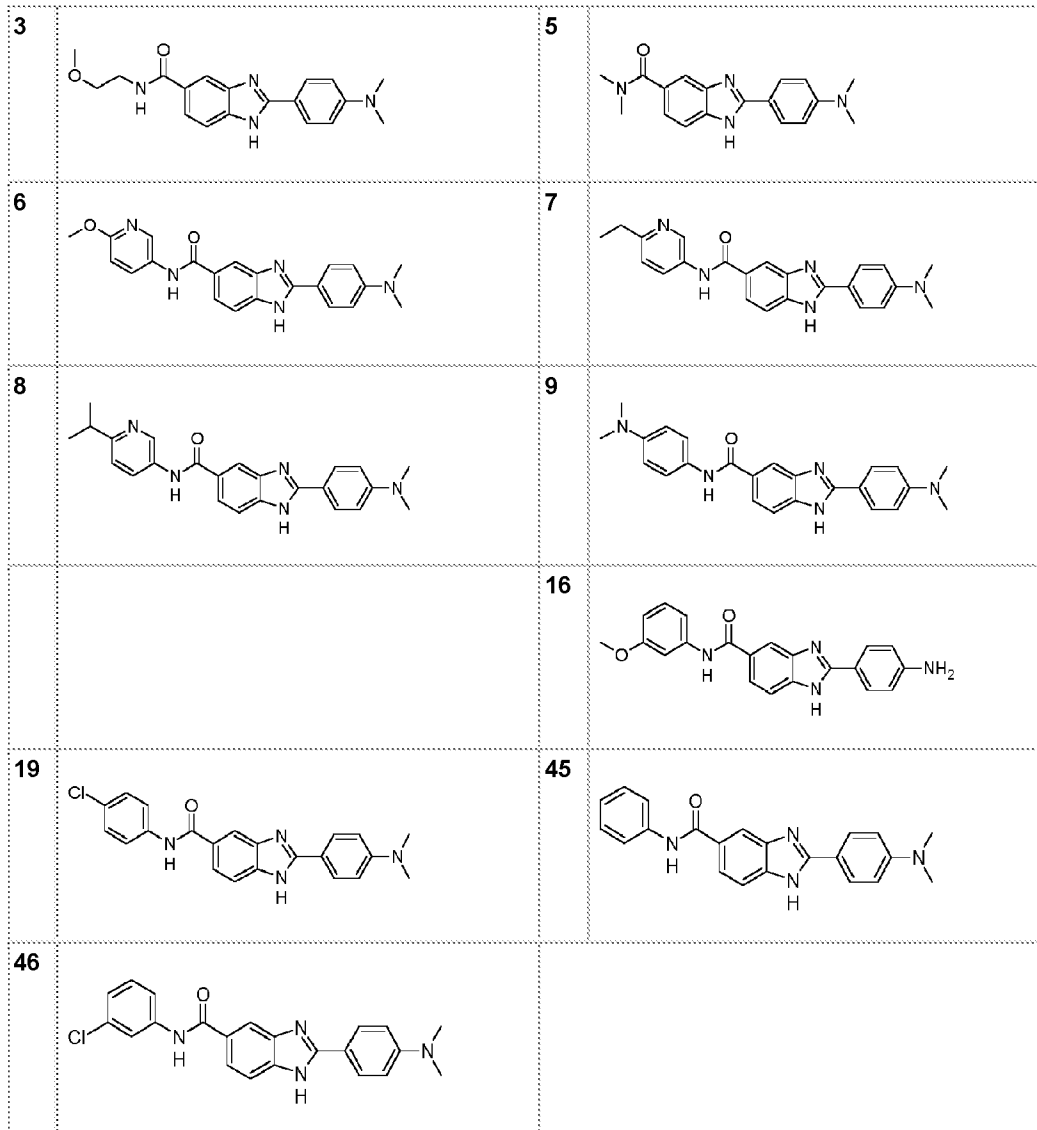
6. El compuesto para su uso según la reivindicación 5, en el que R21 representa H o R41 y R22 representa H o R42 con R41 y R42 representando, independientemente entre sí, un grupo (C1-C6)alquilo.

7. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que:

- R11 representa H;
- R12 representa un grupo heteroarilo de 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37, en el que el grupo heteroarilo de 6 miembros es un piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo; más preferentemente un piridilo; y
- R21 y R22 representan, independientemente entre sí, H o un grupo (C1-C6)alquilo.

8. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que se elige entre los siguientes compuestos:



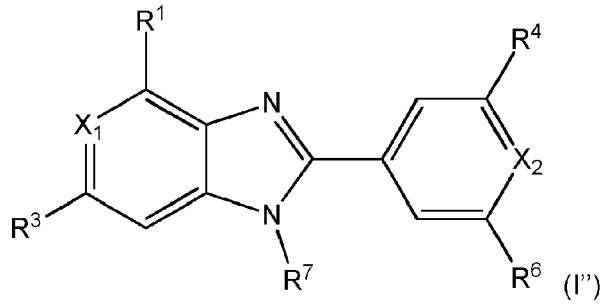


y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo,

preferentemente entre los compuestos 2, 6 y 7 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 9. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cuello de útero, leucemia, cáncer linfóide, cáncer de piel, cáncer de páncreas, cáncer intestinal, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer genital masculino, mesotelioma, sarcoma o cáncer óseo

10 10. Un compuesto de la siguiente fórmula (I'') o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero o mezcla de estereoisómeros del mismo, en cualquier proporción, en particular una mezcla de enantiómeros, y especialmente una mezcla racémica,



en la que:

•X₁ representa CR²;

•X₂ representa CR⁵;

5 •R¹ representa H, (C1-C6)alquilo o halógeno;

•R² representa CONR¹¹R¹²; en el que

R¹¹ representa H o (C1-C6)alquilo;

10 R¹² representa un grupo (C1-C6)alquilo, arilo, aril-(C1-C6)alquilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR³⁵ y NR³⁶R³⁷;

R³⁵, R³⁶ y R³⁷ representan, independientemente entre sí, H o (C1-C6)alquilo;

•R³ representa H, (C1-C6)alquilo o halógeno;

•R⁴ representa H, Cl, CN, NO₂, NHR¹⁸ u OR¹⁹, en el que:

R¹⁸ representa H, (C1-C6)alquilo, arilo, heteroarilo o (C1-C6)alquilcarbonilo;

15 R¹⁹ representa H o (C1-C6)alquilo;

•R⁵ representa NR²¹R²² en el que R²¹ representa H o R⁴¹ y R²² representa R⁴² o R²¹ y R²² forman junto con el átomo de nitrógeno que los porta un heterociclo opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo,

20 donde R⁴¹ y R⁴² representan, independientemente entre sí, un grupo (C1-C6)alquilo, arilo, aril-(C1-C6)alquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR⁴³ y NR⁴⁴R⁴⁵;

donde R⁴³, R⁴⁴ y R⁴⁵ representan, independientemente entre sí, H o (C1 - C6)alquilo;

-R⁶ representa H, OH, (C1-C6)alcoxi o (C1-C6)alquilo; y

-R⁷ representa H o (C1-C6)alquilo;

25 siempre que cuando R¹² = arilo opcionalmente sustituido, entonces R²¹ represente H o (C1-C6)alquilo y R²² represente H o (C1-C6)alquilo, o R²¹ y R²² formen junto con el átomo de nitrógeno que los soporta un heterociclo, preferentemente un heterociclo saturado, opcionalmente sustituido con un grupo (C1-C6)alquilo,

y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

11. El compuesto según la reivindicación 10, en el que R¹, R³, R⁴, R⁶ y R⁷ representan cada uno H.

30 12. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 11, en el que R¹¹ representa H o CH₃, preferentemente H, y R¹² representa un arilo, o un grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR³⁵ y NR³⁶R³⁷, en el que el arilo es un fenilo y el grupo heteroarilo de 5 o 6 miembros es un furilo, tienilo, pirrolilo, piridilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo; preferentemente piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo; más preferentemente piridilo.

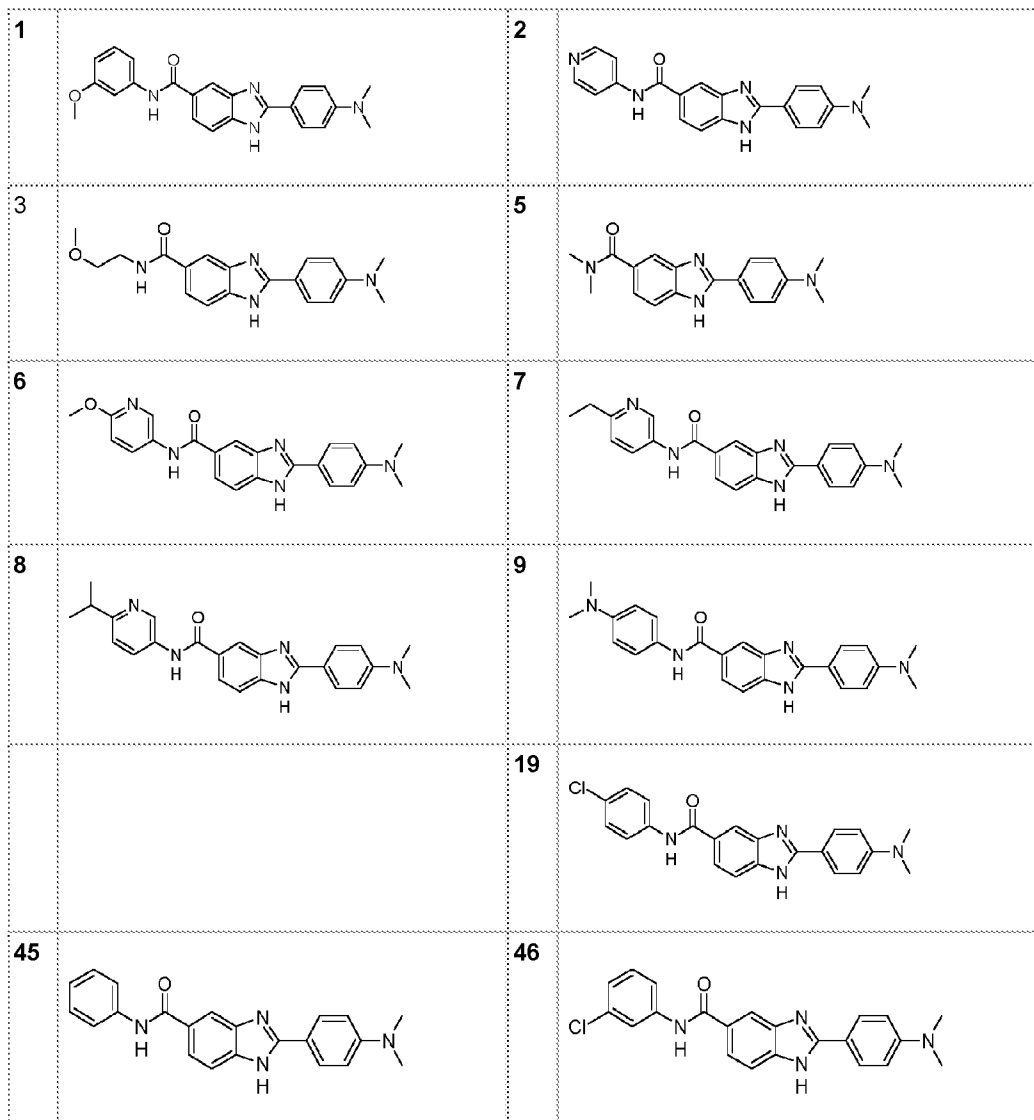
35 13. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que:

- R¹¹ representa H;

- R12 representa un grupo heteroarilo de 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, (C1-C6)alquilo, OR35 y NR36R37, en el que el grupo heteroarilo de 6 miembros es un piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo; más preferentemente un piridilo; y

- R21 representa H o un grupo (C1-C6)alquilo y R22 representa un grupo (C1-C6)alquilo.

5 14. El compuesto según la reivindicación 10, en la que se elige entre los siguientes compuestos:



y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos,

preferentemente entre los compuestos 2, 6 y 7 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 15. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14 y un portador farmacéuticamente aceptable.

16. La composición farmacéutica según la reivindicación 15, comprende además al menos otro fármaco antitumoral, como preparación combinada para un uso simultáneo, separado o secuencial, en particular dicho otro fármaco antitumoral se selecciona entre:

15 abraxano, abarelix, aldesleucina, alemtuzumab, alitretinoína, alopurinol, altretamina, anastrozol, trióxido de arsénico, asparaginasa, azacitidina, atezolizumab, bevacizumab, bexaroteno, bicalutamida, bleomicina, bortezomib, busulfán intravenoso, busulfán oral, calusterona, capecitabina, carboplatino, carmustina, cetuximab, clorambucilo, cisplatino, cladribina, clofarabina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, dalteparina sódica, dasatinib, daunorrubicina, decitabina, denileucina, denileucina difitox, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina, propionato de dromostanolona, eculizumab, epirubicina, erlotinib, estramustina, fosfato de

5 etopósido, etopósido, exemestano, citrato de fentanilo, filgrastim, floxuridina, fludarabina, 5-fluorouracilo, fulvestrant, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab ozogamicina, acetato de goserelina, acetato de histrelina, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamida, mesilato de imatinib, interferón alfa 2a, ipilimumab, irinotecán, ditosilato de lapatinib, lenalidomida, letrozol, leucovorina, acetato de leuprolida, levamisol, lomustina, mecloretamina, acetato de megestrol, melfalán, mercaptopurina, metotrexato, metoxsaleno, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, fenpropionato de nandrolona, nelarabina, nivolumab, nofetumomab, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, panitumumab, pegaspargasa, pegfilgrastim, pembrolizumab, pemetrexed disódico, pentostatina, pipobroman, plicamicina, procarbazona, quinacrina, rasburicasa, rituximab, sorafenib, estreptozocina, sunitinib, maleato de sunitinib, tamoxifeno, taxol, taxotere, temozolomida, teniposida, testolactona, talidomida, tioguanina, tiotepa, topotecán, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, tretinoína, mostaza uracilo, valrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina, vorinostat y zoledronato, así como inhibidores de puntos de control inmunitarios, incluidos anticuerpos contra PD1, PD-L1 y CTLA4.

10 17. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14 para su uso como fármaco.

Figura 1

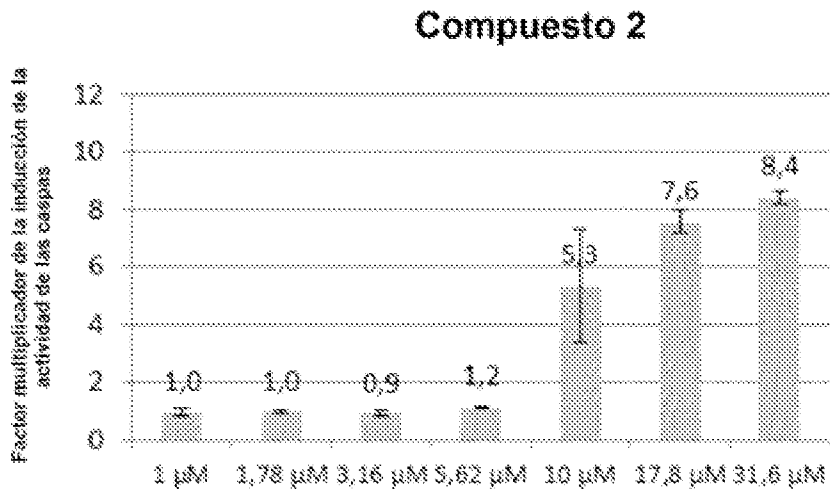


Figura 2

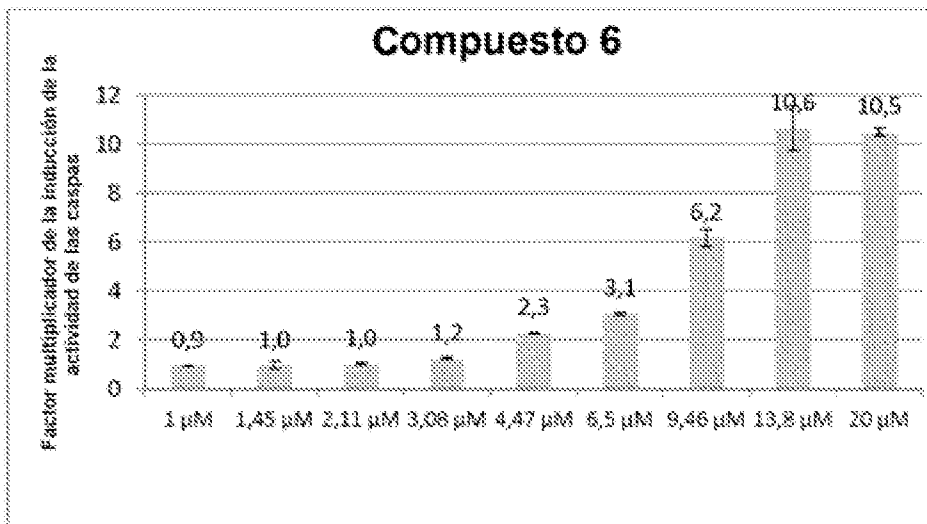


Figura 3

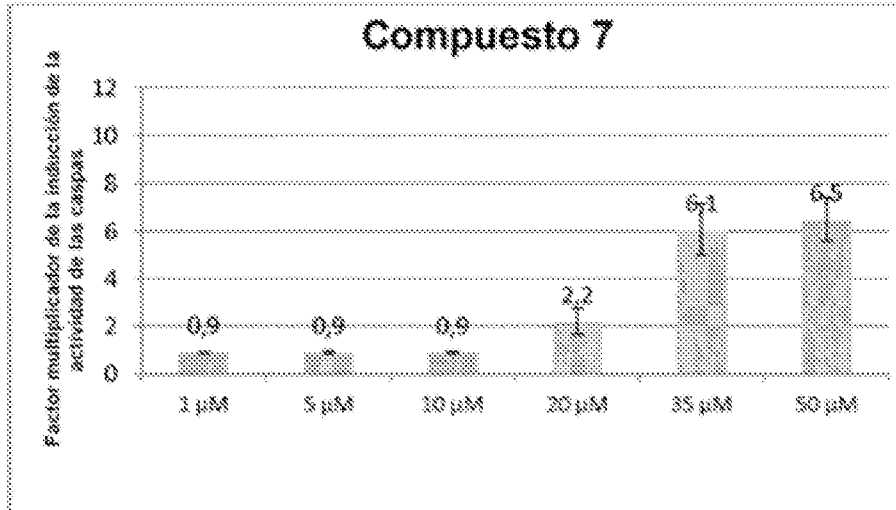


Figura 4

