(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 985 082**

(51) Int. Cl.:

A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01)
C07D 215/38 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.06.2010 E 19157827 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2024 EP 3517534**

(54) Título: **Compuestos útiles para tratar el cáncer**

(30) Prioridad:

12.06.2009 EP 09162630
12.06.2009 US 18655209 P
12.06.2009 EP 09305540
12.06.2009 US 18654409 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.11.2024

(73) Titular/es:

ABIVAX (25.0%)
7-11 Boulevard Haussmann
75009 Paris, FR;
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (25.0%);
INSTITUT CURIE (25.0%) y
UNIVERSITE DE MONTPELLIER (25.0%)

(72) Inventor/es:

ROUX, PIERRE;
MAHUTEAU, FLORENCE;
NAJMAN, ROMAIN;
TAZI, JAMAL y
GADEA, GILLES

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos útiles para tratar el cáncer

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención está dedicada generalmente al uso de compuestos para la fabricación de composiciones útiles para tratar el cáncer.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

En la mayor parte de los cánceres, la mortalidad no se debe al tumor primario sino por el contrario a las metástasis derivadas. Esta progresión maligna que conduce a la invasión tumoral y está definida clínicamente por la aparición de metástasis es la consecuencia final de la pérdida primaria de adherencia celular y el incremento de la movilidad celular que conjuntamente permiten que la célula invasiva abandone el emplazamiento inicial del tumor y colonice diversos tejidos diana.

Las metástasis se consideran una característica recurrente de la progresión maligna descontrolada del cáncer. Durante este proceso, las células tumorales completan su transformación maligna al incrementar su capacidad migratoria. Las células cancerosas pueden entonces diseminarse y establecer focos tumorales en emplazamientos alejados. La diseminación de células cancerosas en el organismo es la consecuencia de una serie de episodios llamados «cascada metastásica»: invasión de los tejidos alrededor del tumor, intravasación venosa o linfática, migración y establecimiento en un lugar distante de una nueva colonia que escapa a todos los mecanismos de defensa del organismo.

La invasión metastásica, contra la que no existe una opción terapéutica eficaz disponible en este momento, es con mucho la principal causa de muerte. Debido a la frecuencia de cánceres diagnosticados en la fase metastásica y al punto muerto terapéutico que representan, el desarrollo de moléculas que se dirijan específicamente a la invasión metastásica es así un requisito crucial para un gran avance en los tratamientos del cáncer.

La presente invención está en consonancia con la evidencia publicada durante los últimos veinte años de una conexión entre los cambios en el empalme alternativo de ARN y la invasión metastásica que se ha abierto a nuevas estrategias terapéuticas.

Ya se conoce el tratamiento del cáncer usando compuestos tales como los descritos, por ejemplo, en el documento US2005/085482.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los medicamentos de la presente invención para el uso en un método para el tratamiento del organismo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico).

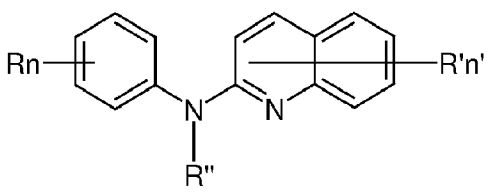
Se ha descubierto ahora que los derivados de fórmula (Ib) que se definen en la fórmula (Ib) posteriormente en el presente documento son capaces de corregir defectos del empalme alternativo, según se ilustra en los datos experimentales posteriormente en el presente documento, un mecanismo estrechamente asociado con la progresión invasiva de cánceres metastásicos, y, basándose en esta actividad, los compuestos son útiles en el tratamiento del cáncer.

La presente invención se refiere por lo tanto a compuestos de fórmula (Ib) según la reivindicación 1 para el uso como agentes para prevenir, inhibir o tratar el cáncer.

La presente invención se refiere además a un método para prevenir, inhibir o tratar el cáncer, que comprende al menos una etapa que consiste en administrar a un paciente que sufre el mismo una cantidad eficaz de un compuesto como el definido en la fórmula (Ib) posterior o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Según un primer aspecto, una materia de la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (Ib) para el uso como un agente para prevenir, inhibir o tratar el cáncer:



(Ib)

donde:

R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido de un grupo alquilo (C_1-C_3), un grupo -NR_1R_2, un grupo fluoroalcoxi (C_1-C_3), un grupo -NO_2, un grupo fenoxi y un grupo alcoxi (C_1-C_4),

R_1 y R_2 son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo (C_1-C_3),

R" es un átomo de hidrógeno o un grupo (C_1-C_4) y ventajosamente es un átomo de hidrógeno,

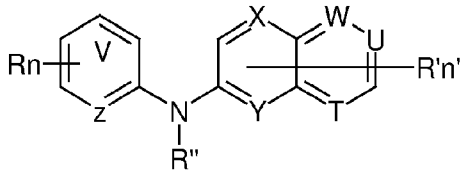
n es 1, 2 o 3 y es preferiblemente 1 o 2,

n' es 1 o 2 y es preferiblemente 1,

R' es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido de un grupo alquilo (C_1-C_3) y un grupo alcoxi (C_1-C_4),

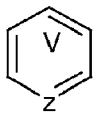
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

El presente texto describe un compuesto de fórmula (I) (no forma parte de la invención)



(I)

donde:



significa un anillo aromático en el que V es C o N y cuando V es N, V está en orto, meta o para de Z, es decir forma respectivamente una piridazina, una pirimidina o un grupo pirazina,

R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido de un grupo -CN, un grupo hidroxilo, un grupo -$COOR_1$, un grupo fluoroalquilo (C_1-C_3), un grupo fluoroalcoxi (C_1-C_3), un grupo -NO_2, un grupo -NR_1R_2, un grupo alcoxi (C_1-C_3), un grupo fenoxi y un grupo alquilo (C_1-C_3), estando dicho alquilo opcionalmente monosustituido con un grupo hidroxilo,

R_1 y R_2 son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C_1-C_3),

n es 1, 2 o 3,

n' es 1 o 2,

R' es un átomo de hidrógeno o un grupo elegido de un grupo alquilo (C_1-C_3), un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, un grupo -$COOR_1$, un grupo -NO_2, un grupo -NR_1R_2, un grupo morfolinilo o uno morfolino, un grupo N-metilpiperazinilo, un grupo fluoroalquilo (C_1-C_3), un grupo alcoxi (C_1-C_4) y un grupo -CN,

R" es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C_1-C_4),

Z es N o C,

Y es N o C,

X es N o C,

W es N o C,

T es N o C,

U es N o C,

y donde como máximo cuatro de los grupos V, T, U, Z, Y, X y W son N,

y al menos uno de los grupos T, U, Y, X y W es N,

o una cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables,

para el uso como un agente para prevenir, inhibir o tratar el cáncer.

Los compuestos de la invención pueden existir en forma de bases libres o de sales por adición con ácidos farmacéuticamente aceptables.

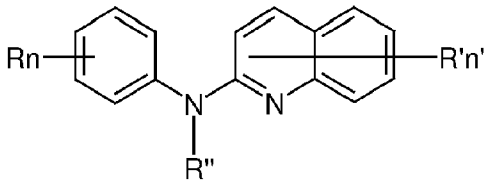
Sales por adición de ácido fisiológicamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyendo la fórmula (Ib) incluyen hidrobromuro, tartrato, citrato, trifluoroacetato, ascorbato, hidrocloruro, tartrato, triflato, maleato, mesilato, formiato, acetato y fumarato.

Los compuestos de fórmula (I) incluyendo la fórmula (Ib) y/o sales de los mismos pueden formar solvatos (p. ej. hidratos) y la invención incluye todos estos solvatos.

En el contexto de la presente invención, el término:

- "halógeno" se entiende que significa cloro, flúor, bromo o yodo, y en particular indica cloro, flúor o bromo,
- "alquilo (C_1-C_3)" según se usa en el presente documento se refiere respectivamente a un hidrocarburo saturado normal, secundario o terciario C_1-C_3. Ejemplos son, pero no se limitan a, metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo,
- "alcoxi (C_1-C_3)" según se usa en el presente documento se refiere respectivamente a un resto O-alquilo(C_1-C_3), donde el alquilo es como se define anteriormente. Ejemplos son, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, 1-propoxi, 2-propoxi,
- "grupo fluoroalquilo" y "grupo fluoroalcoxi" se refiere respectivamente a un grupo alquilo y un grupo alcoxi según se definen anteriormente, estando dichos grupos sustituidos con al menos un átomo de flúor. Ejemplos son grupos perfluoroalquilo, tales como trifluorometilo o perfluoropropilo, y
- "paciente" se puede extender a seres humanos o mamíferos, tales como gatos o perros.

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (Ib)



(Ib)

para el uso como un agente para prevenir, inhibir o tratar el cáncer según la reivindicación 1.

Según la presente invención, el compuesto para el uso como un agente para prevenir, inhibir o tratar el cáncer, se elige de:

(8) Quinolin-2-il-(4-trifluorometoxifenil)-amina

(78) 4-metil-N-[4-(trifluorometoxi)fenil]quinolin-2-amina

(88) 8-cloro-N-(3-fluorofenil)quinolin-2-amina

(94) 8-cloro-N-[2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil]quinolin-2-amina

(96) 6-cloro-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina

(99) 8-fluoro-N-[4-(trifluorometoxi)fenil]quinolin-2-amina

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Por lo tanto, la presente invención se extiende a los compuestos (8), (78), (88), (94), (96) y (99) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para el uso como un agente para prevenir, inhibir o tratar el cáncer.

Los compuestos de fórmulas (Ib) pueden comprender uno o más átomos de carbono asimétricos. Así, pueden existir en forma de enantiómeros o de diastereoisómeros. Estos enantiómeros, diastereoisómeros y sus mezclas, incluyendo las mezclas racémicas, están abarcados dentro del alcance de la presente invención.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula (Ib) y los compuestos (8), (78), (88), (94), (96) y (99) y sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como hidrobromuro, tartrato, citrato, trifluoroacetato, ascorbato, hidrocloruro, tartrato, triflato, maleato, mesilato, formiato, acetato y fumarato, para el uso como un agente para inhibir,

prevenir o tratar el cáncer.

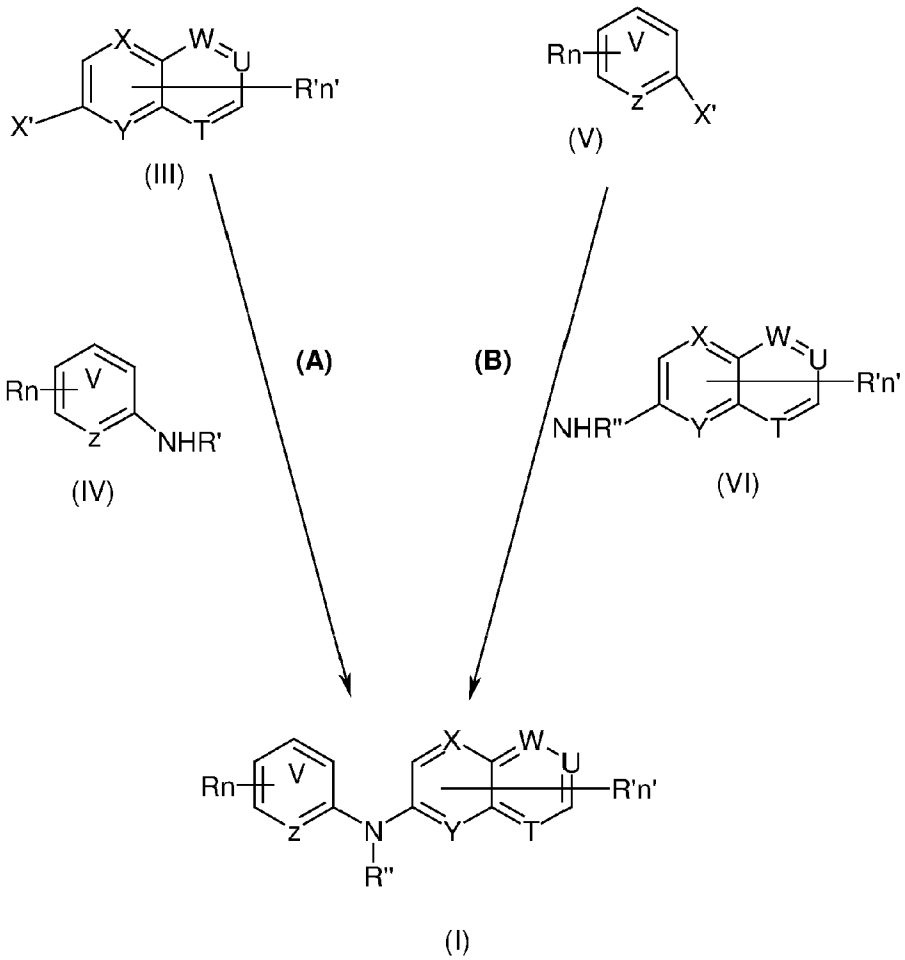
Los compuestos (Ib) para el uso según la presente invención, y los compuestos específicos (8), (78), (88), (94), (96) y (99) que se enumeran anteriormente, no son solo útiles como un agente para inhibir, prevenir o tratar el cáncer, sino que también pueden ser útiles para inhibir, prevenir o tratar el envejecimiento prematuro o la progeria y para inhibir, prevenir o tratar el SIDA (no forma parte de la invención).

Dichos compuestos pueden ser útiles para inhibir, prevenir y/o tratar enfermedades con envejecimiento prematuro y que probablemente están relacionadas con un empalme aberrante del gen de lamina A nuclear. Entre todas, dicha enfermedad puede incluir síndrome de progeria de Hutchinson-Guilford (HGPS), progeria, envejecimiento prematuro asociado con infección por VIH, distrofia muscular, trastorno de Charcot-Marie-Tooth, síndrome de Werner, pero también aterosclerosis, diabetes tipo II resistente a insulina, cataratas, osteoporosis y envejecimiento de la piel tal como dermopatía restrictiva.

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar mediante métodos convencionales de la síntesis orgánica practicados por los expertos en la técnica. Las secuencias de reacción generales esbozadas posteriormente representan un método general útil para preparar los compuestos de la presente invención y no significa que sean limitativos en alcance o utilidad.

Los compuestos de fórmula general (I) incluyendo los compuestos de fórmula (Ib) y los compuestos específicos (8), (78), (88), (94), (96) y (99) que se enumeran anteriormente se pueden preparar según el esquema 1 posterior.

Esquema 1



Como aparece en dicho esquema, están disponibles dos rutas para recuperar un compuesto de fórmula (I), incluyendo compuestos de fórmula (Ib) y los compuestos específicos (8), (78), (88), (94), (96) y (99) que se enumeran anteriormente para el uso según la presente invención.

La síntesis se basa en una reacción de acoplamiento partiendo alternativamente de un biciclo halogenado de fórmula

(III), donde X, Y, W, T, U, n', R' y R" son como se definen anteriormente y X' es un átomo de cloro o un átomo de bromo o de un monociclo clorado de fórmula (V), donde Z, V, n y R son como se definen anteriormente y X' es un átomo de cloro o un átomo de bromo.

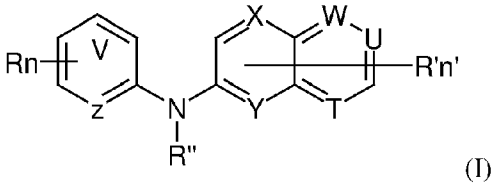
Según la ruta (A), el compuesto de fórmula (III) se pone en un disolvente prótico tal como terc-butanol. El compuesto de fórmula (IV) se añade a continuación en una relación molar que varía de 1 a 1,5 con respecto al compuesto de fórmula (III) en presencia de una base inorgánica, tal como Cs_2CO_3 o K_2CO_3, en una relación molar que varía de 1 y 2, en presencia de una difosfina, tal como Xantphos (4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno) o X-Phos (2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo), en una cantidad que varía de 2% en moles a 10% en moles con relación a la cantidad total de compuesto de fórmula (III), y en presencia de un catalizador, tal como $Pd(OAc)_2$ o Pd_2dba_3, en una cantidad que varía de 2% en moles a 10% en moles con relación a la cantidad total de compuesto de fórmula (III). La mezcla de reacción se puede calentar a continuación a una temperatura que varía de 80 a 120°C, por ejemplo a 90°C, agitarse durante un tiempo que varía de 15 a 25 horas, por ejemplo durante 20 horas, bajo un gas inerte, por ejemplo, argón. La mezcla de reacción se puede concentrar bajo presión reducida.

Según la ruta (B), el compuesto de fórmula (V) se pone en un disolvente prótico tal como terc-butanol. El compuesto de fórmula (VI) se añade a continuación en una relación molar que varía de 1 a 1,5 con respecto al compuesto de fórmula (V) en presencia de una base inorgánica, tal como Cs_2CO_3 o K_2CO_3, en una relación molar que varía de 1 a 2, en presencia de una difosfina, tal como Xantphos (4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno) o X-Phos (2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo), en una cantidad que varía de 2% en moles a 10% en moles con relación a la cantidad total de compuesto de fórmula (V), y en presencia de un catalizador, tal como $Pd(OAc)_2$ o Pd_2dba_3, en una cantidad que varía de 2% en moles a 10% en moles con relación a la cantidad total de compuesto de fórmula (V). La mezcla de reacción se puede calentar a continuación a una temperatura que varía de 80 a 120°C, por ejemplo a 90°C, y agitarse durante un tiempo que varía de 15 a 25 horas, por ejemplo durante 20 horas, bajo un gas inerte y, por ejemplo, argón. La mezcla de reacción se puede concentrar bajo presión reducida.

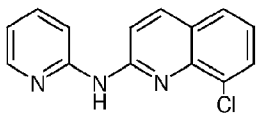
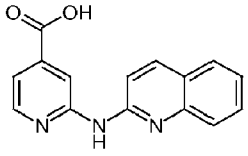
Los compuestos de partida de fórmula (III), (IV), (V) y (VI) están disponibles comercialmente o se pueden preparar según métodos conocidos por el experto en la técnica.

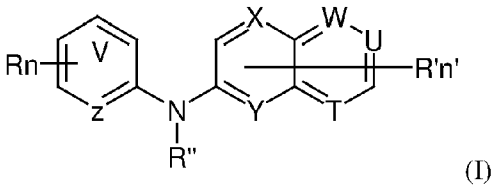
Las estructuras químicas y los datos espectroscópicos de algunos compuestos de fórmula (I), incluyendo los compuestos de fórmula (Ib) y los compuestos específicos (8), (78), (88), (94), (96) y (99) que se enumeran anteriormente, se ilustran respectivamente en las siguientes Tabla I y Tabla II.

Tabla I



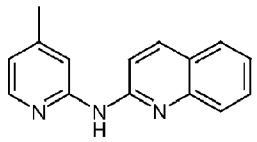
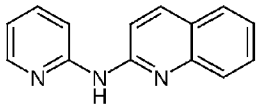
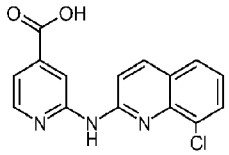
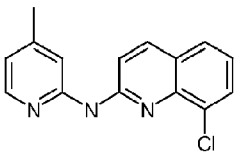
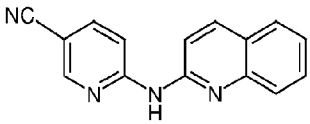
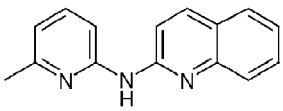
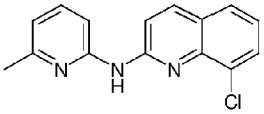
(I)

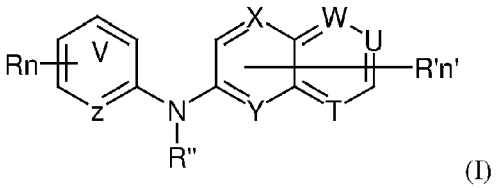
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)	
1	
2	
3	



(I)

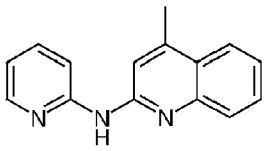
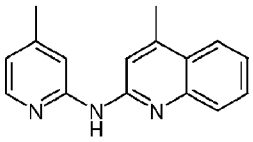
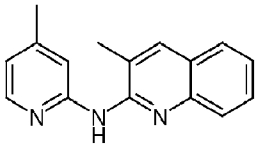
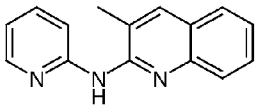
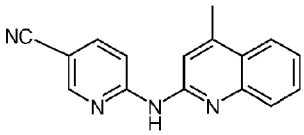
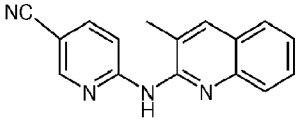
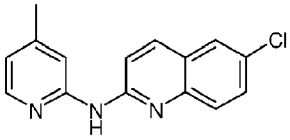
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

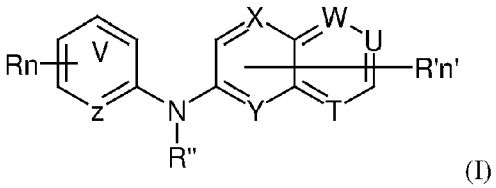
	
4	
5	
6	
7	
17	
18	
19	



(I)

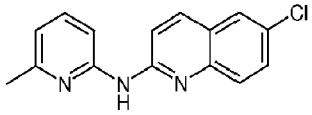
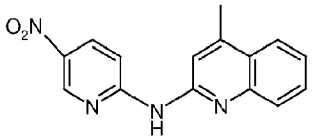
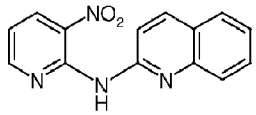
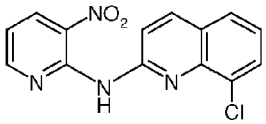
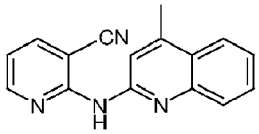
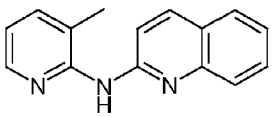
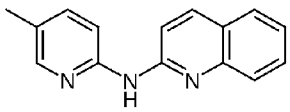
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

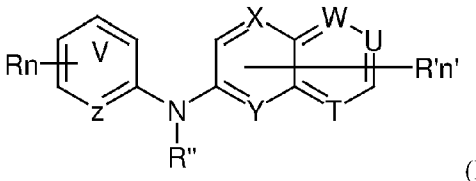
	
20	
21	
22	
23	
24	
25	
26	



(I)

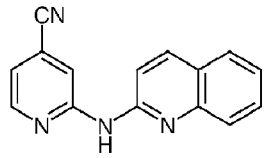
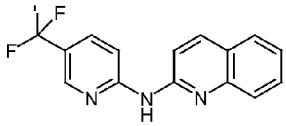
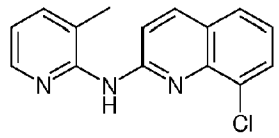
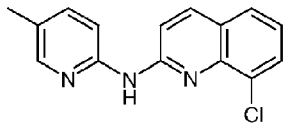
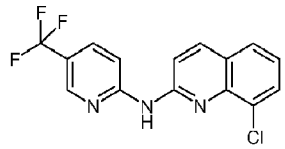
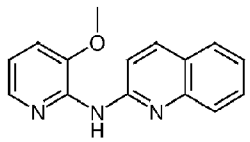
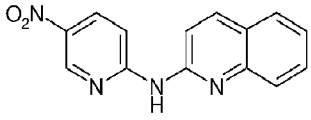
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

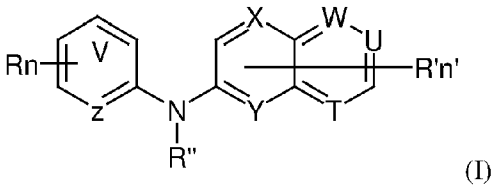
	
27	
28	
29	
30	
31	
32	
33	



(I)

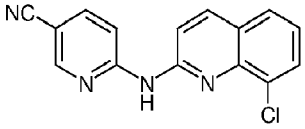
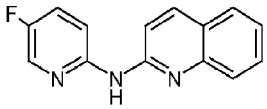
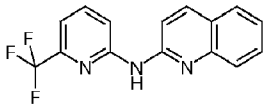
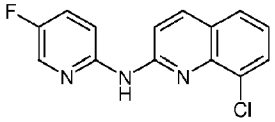
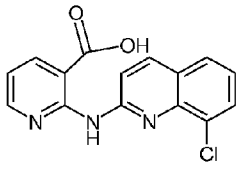
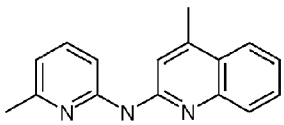
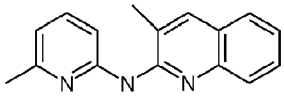
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

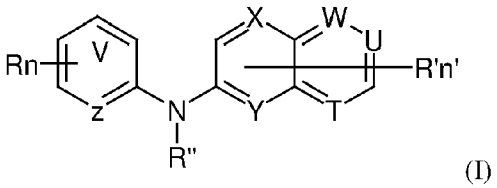
	
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	



(I)

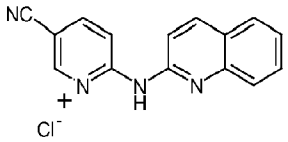
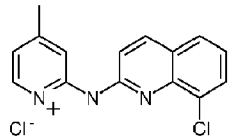
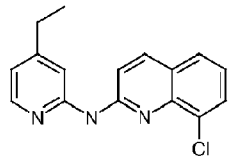
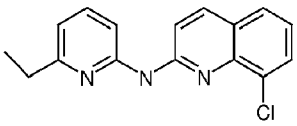
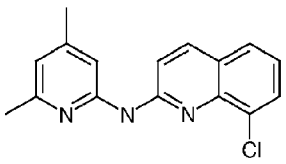
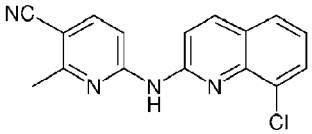
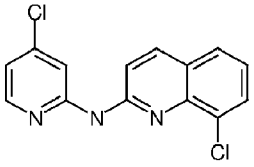
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

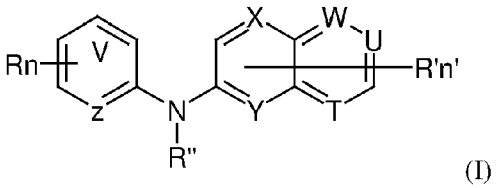
	
41	
42	
43	
44	
45	
46	
47	



(I)

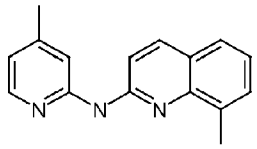
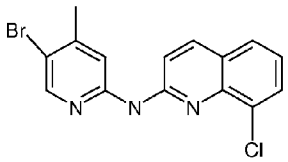
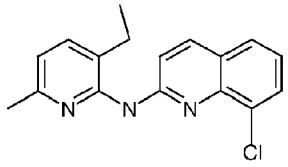
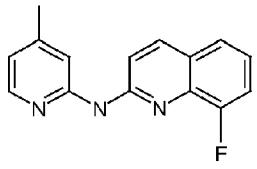
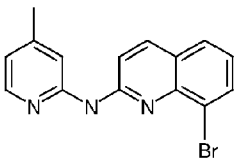
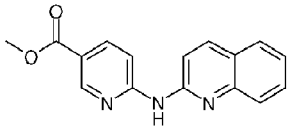
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

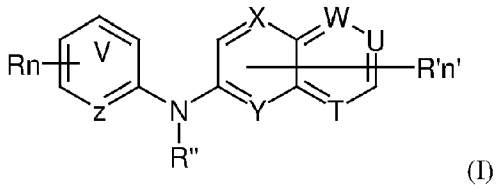
	
48	
49	
50	
51	
52	
53	



(I)

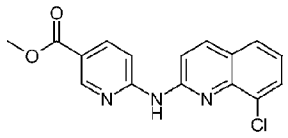
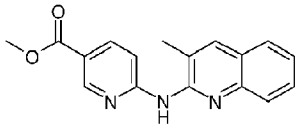
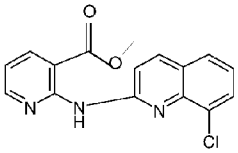
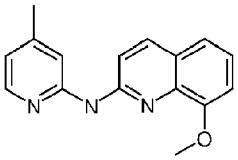
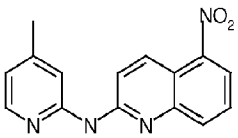
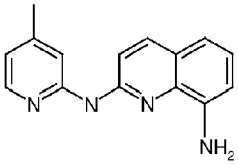
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

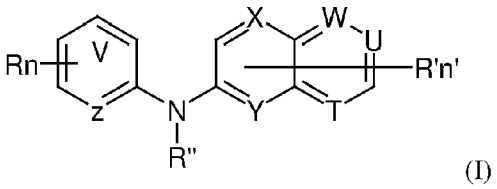
54	
55	
56	
57	
58	
59	
60	



(I)

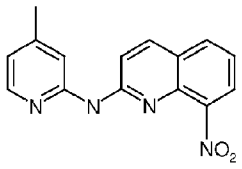
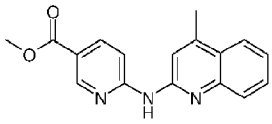
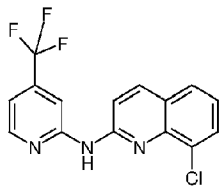
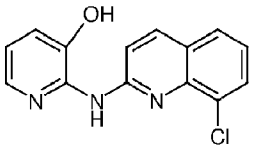
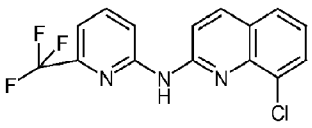
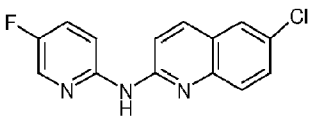
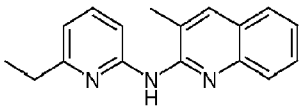
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

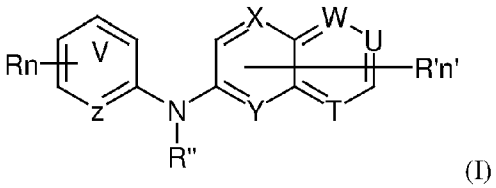
	
61	
62	
63	
64	
65	
66	



(I)

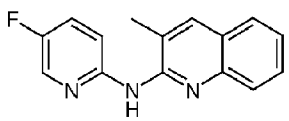
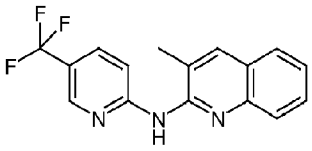
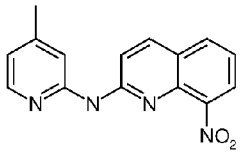
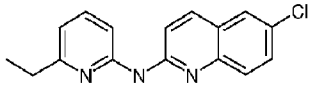
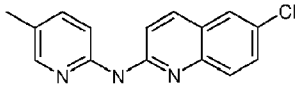
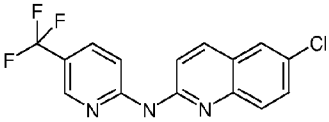
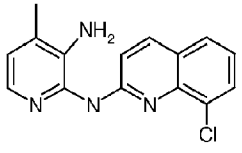
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

	
67	
68	
69	
70	
71	
72	

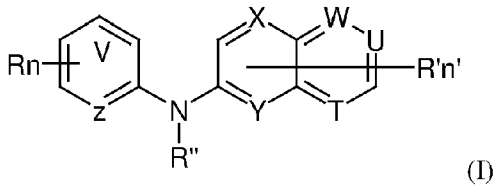


(I)

Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

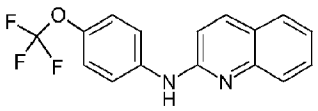
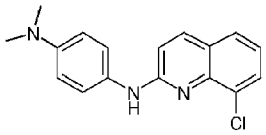
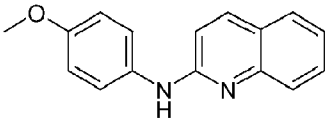
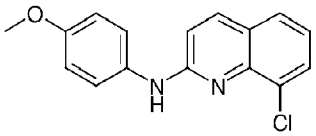
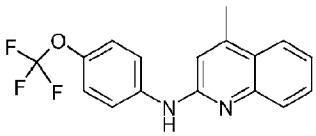
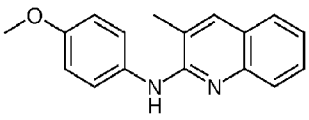
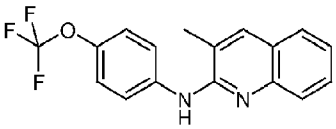
73	
74	
150	
151	
152	
153	
154	

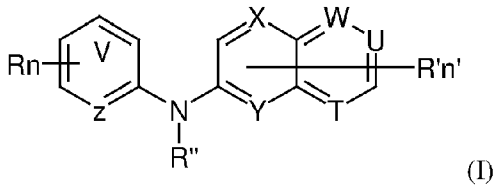
Formula (Ib)



(I)

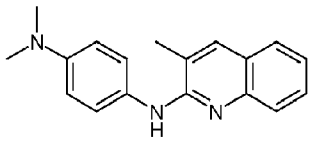
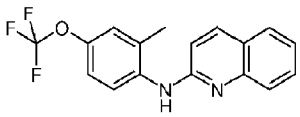
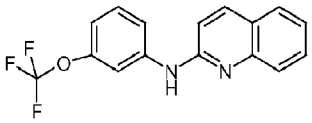
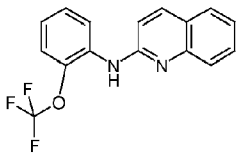
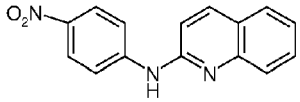
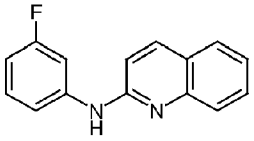
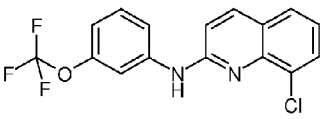
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

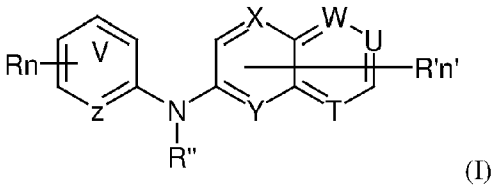
8 (según la invención)	
75 (fuera de la invención)	
76 (fuera de la invención)	
77 (fuera de la invención)	
78 (según la invención)	
79 (fuera de la invención)	
80 (fuera de la invención)	
81 (fuera de la invención)	



(I)

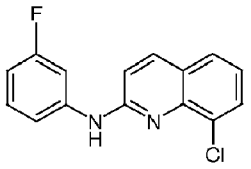
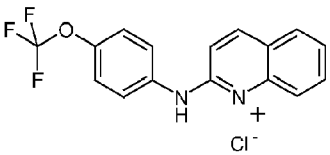
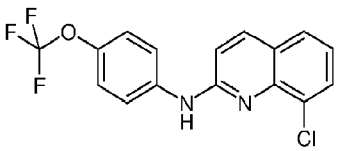
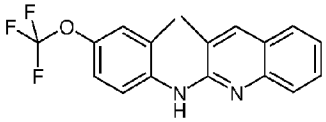
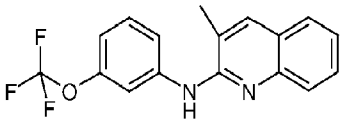
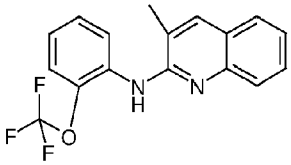
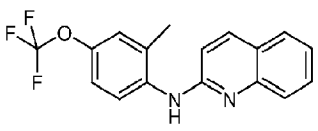
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

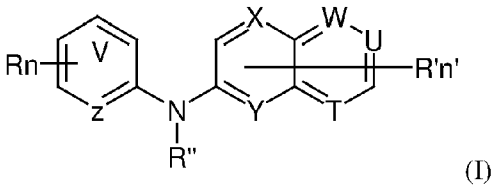
	
82 (fuera de la invención)	
83 (fuera de la invención)	
84 (fuera de la invención)	
85 (fuera de la invención)	
86 (fuera de la invención)	
87 (fuera de la invención)	
88 (según la invención)	



(I)

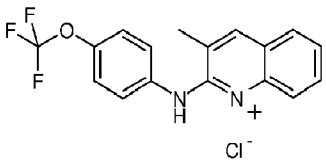
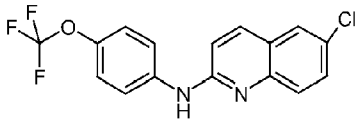
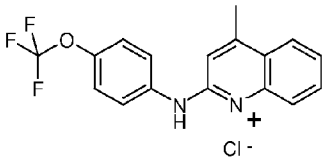
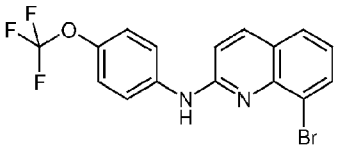
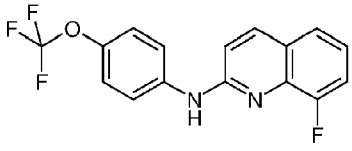
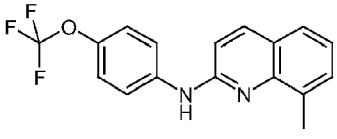
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

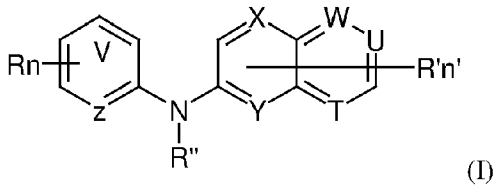
	
89 (fuera de la invención)	
90 (fuera de la invención)	
91 (fuera de la invención)	
92 (fuera de la invención)	
93 (fuera de la invención)	
94 (según la invención)	



(I)

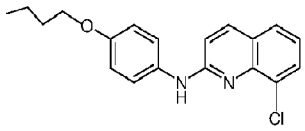
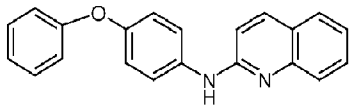
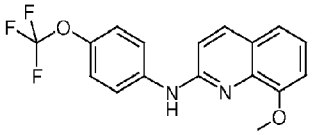
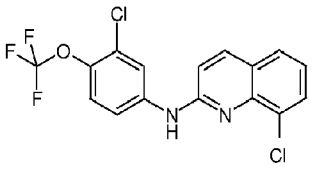
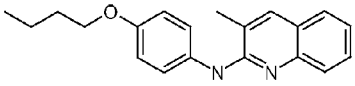
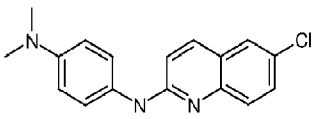
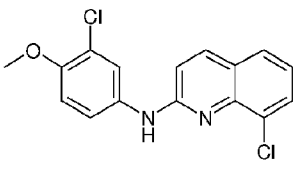
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

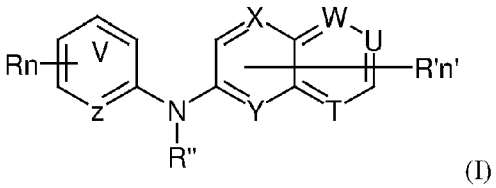
95 (fuera de la invención)	
96 (según la invención)	
97 (fuera de la invención)	
98 (fuera de la invención)	
99 (según la invención)	
100 (fuera de la invención)	
101 (fuera de la invención)	



(I)

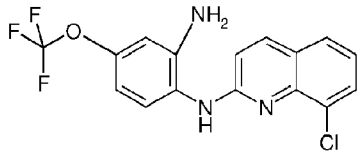
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

	
102 (fuera de la invención)	
103 (fuera de la invención)	
104 (fuera de la invención)	
155 (fuera de la invención)	
156 (fuera de la invención)	
157 (fuera de la invención)	
158 (fuera de la invención)	

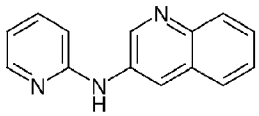
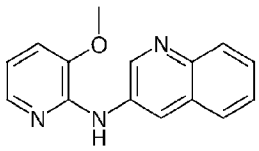
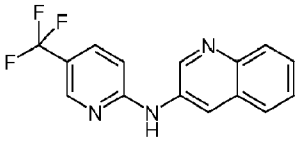
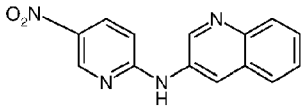
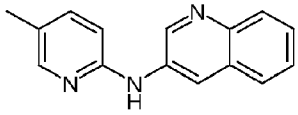
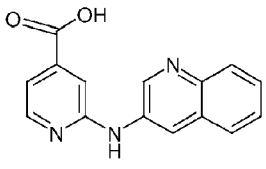


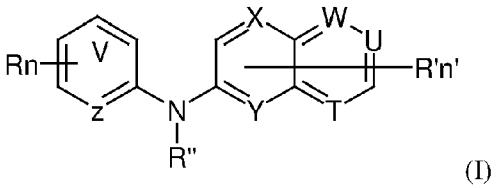
(I)

Fórmula (Ia) (fuera de la invención)



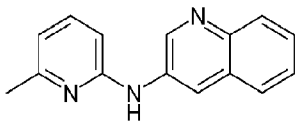
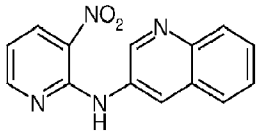
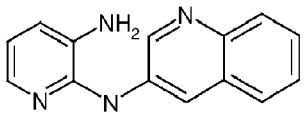
Formula (Ic) (fuera de la invención)

9	
10	
11	
12	
13	
14	

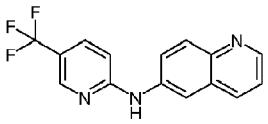
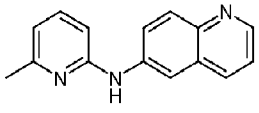
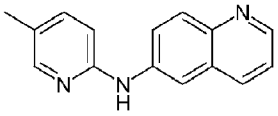
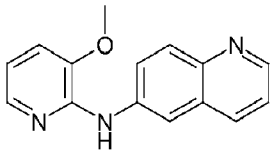


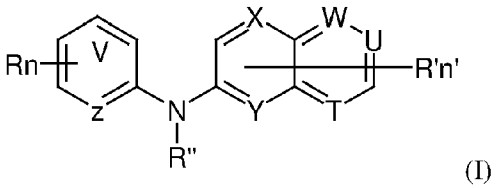
(I)

Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

105	
106	
159	

Formula (Id) (fuera de la invención)

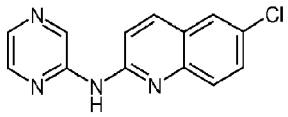
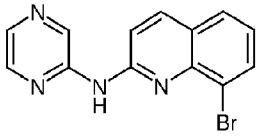
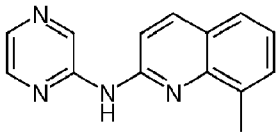
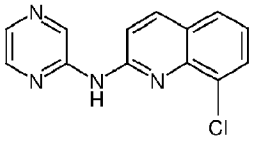
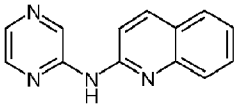
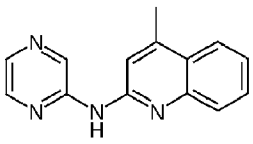
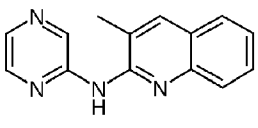
15	
16	
107	
108	

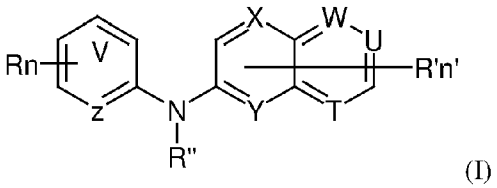


(I)

Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

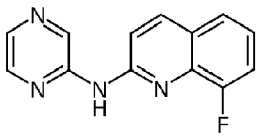
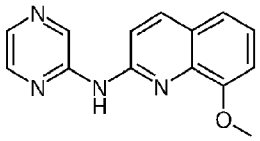
Formula (Ie) (fuera de la invención)

109	
110	
111	
112	
113	
114	
115	

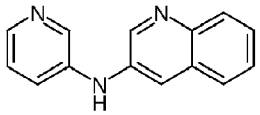


(I)

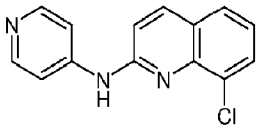
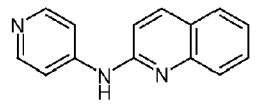
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

116	
117	

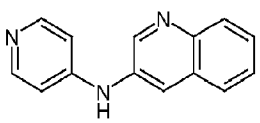
Formula (If) (fuera de la invención)

118	

Formula (Ig) (fuera de la invención)

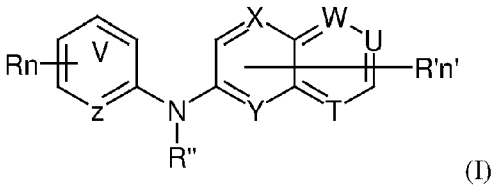
119	
120	

Formula (Ih) (fuera de la invención)

121	

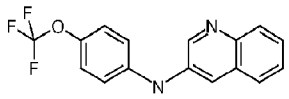
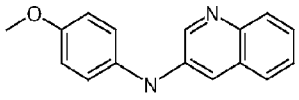
Formula (Ii) (fuera de la invención)

122	

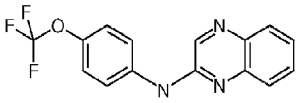
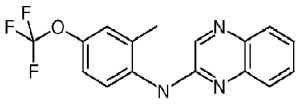
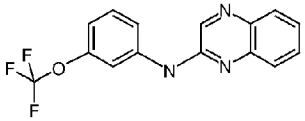
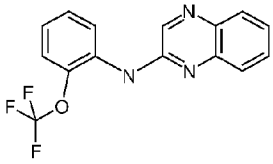


(I)

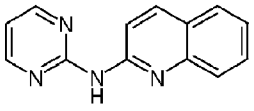
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

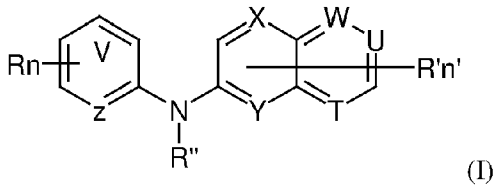
	
123	

Formula (Ij) (fuera de la invención)

124	
125	
126	
127	

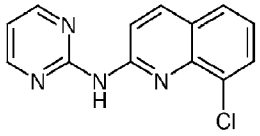
Formula (Ik) (fuera de la invención)

128	
129	

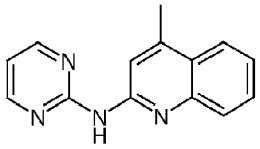


(I)

Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

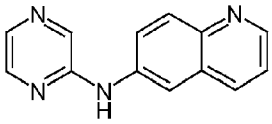


130



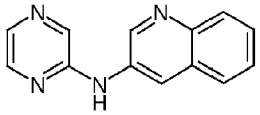
Formula (II) (fuera de la invención)

131



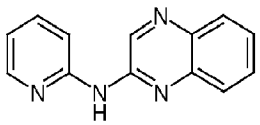
Formula (Im) (fuera de la invención)

132

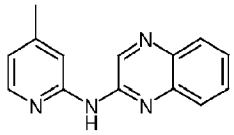


Formula (Io) (fuera de la invención)

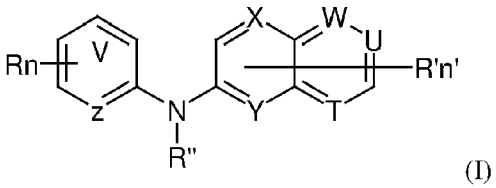
135



136

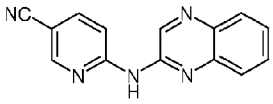
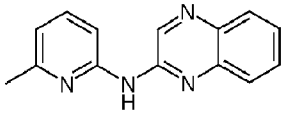
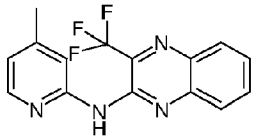
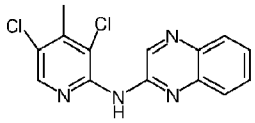
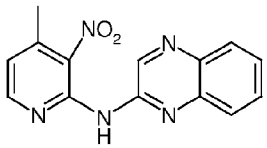
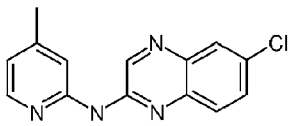
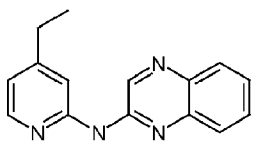


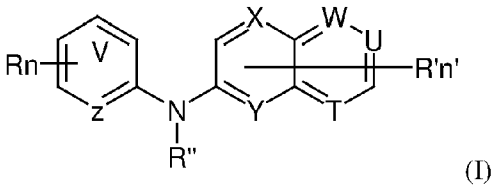
137



(I)

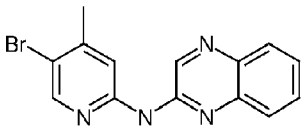
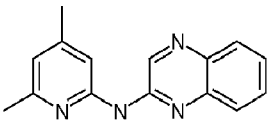
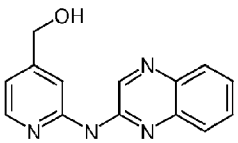
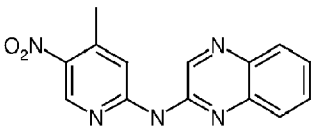
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

	
138	
139	
140	
141	
160	
161	
162	

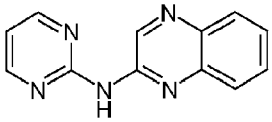


(I)

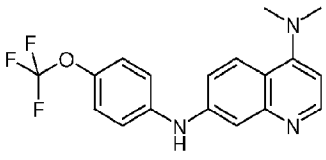
Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

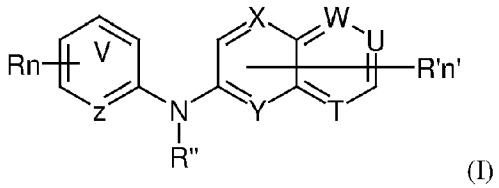
	
163	
164	
165	

Formula (Ip) (fuera de la invención)

142	

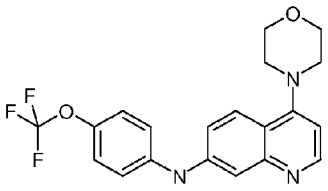
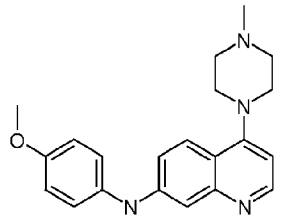
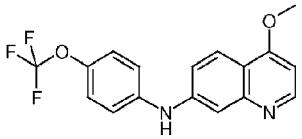
Formula (Iq) (fuera de la invención)

143	
144	

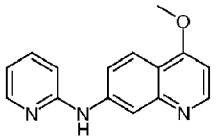
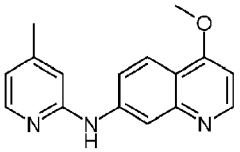
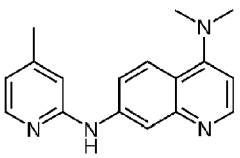


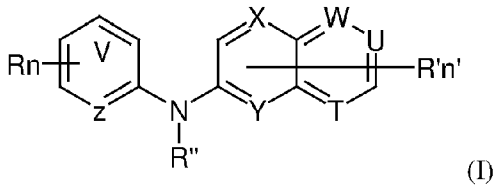
(I)

Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

	
166	
167	

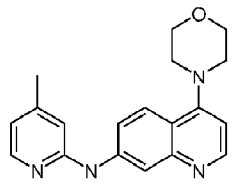
Formula (Ir) (fuera de la invención)

145	
146	
147	



(I)

Fórmula (Ia) (fuera de la invención)

168	

Formula (Iee) (fuera de la invención)

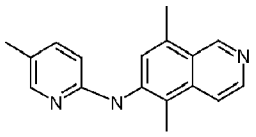
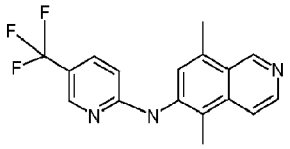
148	
149	

Tabla II

Ej.	Caracterizaciones
1	MS (ESI) $[M+H]^+$=256
2	^{1}H NMR (300 MHz, D_2O) δ 8,31 (d, *J* = 5,1, 1H), 8,21 (d, *J* = 9,3, 1H), 7,60 (d, *J* = 7,5, 3H), 7,34 (dd, *J* = 6,2, 15,6, 2H), 7,18 (s, 1H), 6,99 (d, *J* = 9,1, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=266
5	MS (ESI) $[M+H]^+$=300
6	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10,23 (s, 1H), 8,96 (s, 1H), 8,18 (d, *J* = 8,8, 2H), 7,78 (dd, *J* = 7,7, 13,7, 2H), 7,46 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,31 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,86 (d, *J* = 4,3, 1H), 2,37 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 153,63, 153,61, 148,37, 147,32, 142,65, 137,52, 129,68, 129,47, 126,82, 125,06, 123,26, 118,36, 115,10, 113,31, 21,24. MS (ESI) $[M+H]^+$=270

Ej.	Caracterizaciones
7	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10,71 (s, 1H), 8,71 (d, *J* = 1,4, 1H), 8,62 (d, *J* = 8,9, 1H), 8,24 (d, *J* = 8,9, 1H), 8,17 (dd, *J* = 1,9, 8,9, 1H), 7,89 - 7,74 (m, 2H), 7,66 (dd, *J* = 7,9, 14,2, 2H), 7,42 (t, *J* = 7,3, 1H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 156,09, 152,40, 152,11, 146,24, 141,07, 137,83, 129,87, 127,67, 126,78, 124,50, 124,21, 118,04, 114,49, 111,67, 100,12. MS (ESI) [M+H] $^+$=247
8	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,92 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,79 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,65 (t, *J* = 7,7, 3H), 7,59 (dd, *J* = 7,1, 8,3, 1H), 7,31 (t, *J* = 7,0, 1H), 7,20 (d, *J* = 8,5, 2H), 6,88 (d, *J* = 8,9, 1H), 6,80 (s, 1H) ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 153,88, 147,62, 144,35, 139,26, 138,11, 130,13, 127,65, 127,12, 124,43, 123,70, 122,20, 120,95, 112,25. MS (ESI) [M+H] $^+$=305
10	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,10 (d, *J* = 2,5, 1H), 8,83 (d, *J* = 2,6, 1H), 8,02 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,94 (dd, *J* = 1,3, 5,0, 1H), 7,85 - 7,79 (m, 1H), 7,52 (pd, *J* = 1,5, 6,9, 2H), 7,33 (s, 1H), 7,04 (dd, *J* = 1,2, 7,9, 1H), 6,81 (dd, *J* = 5,1, 7,9, 1H), 3,95 (s, 3H)
11	MS (ESI) [M+H]$^+$=290
12	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,18 (d, *J* = 2,7, 1H), 8,86 (d, *J* = 2,5, 1H), 8,56 (d, *J* = 2,3, 1H), 8,33 (dd, *J* = 2,7, 9,2, 1H), 8,08 (d, *J* = 8,5, 1H), 7,83 (d, *J* = 8,5, 1H), 7,71 - 7,63 (m, 2H), 7,57 (t, *J* = 7,4, 2H), 6,82 (d, *J* = 9,1, 1H)
13	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,83 (d, *J* = 2,6, 1H), 8,37 (d, *J* = 2,3, 1H), 8,00 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,71 (d, *J* = 7,7, 1H), 7,59 - 7,51 (m, 1H), 7,46 (dd, *J* = 7,3, 15,1, 2H), 6,71 (d, *J* = 8,3, 1H), 6,67 (d, *J* = 7,4, 1H), 2,49 (s, 3H) ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 157,13, 154,59, 145,81, 144,43, 138,78, 134,54, 129,22, 128,86, 127,41, 127,27, 121,48, 115,41, 106,50, 24,18. MS (ESI) [M+H] $^+$=236
14	MS (ESI) [M+H]$^+$= 266
15	MS (ESI) [M+H]$^+$= 290
16	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,77 (dd, *J* = 1,5, 4,2, 1H), 8,04 (dd, *J* = 4,7, 8,7, 2H), 7,92 (d, *J* = 2,4, 1H), 7,59 (dd, *J* = 2,5, 9,1, 1H), 7,47 (t, *J* = 7,8, 1H), 7,35 (dd, *J* = 4,2, 8,3, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,2, 1H), 6,70 (d, *J* = 7,4, 1H), 2,50 (s, 3H) MS (ESI) [M+H] $^+$=236
18	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,53 (d, *J* = 59,9, 2H), 7,76 (d, *J* = 8,6, 1H), 7,58 (t, *J* = 8,3, 2H), 7,42 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,09 (t, *J* = 7,7, 1H), 6,95 (d, *J* = 8,7, 1H), 6,71 (d, *J* = 7,3, 1H), 2,38 (s, 3H)
21	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,78 (s, 1H), 8,13 (d, *J* = 5,1, 1H), 7,89 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,63 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,56 (d, *J* = 7,3, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,33 (t, *J* = 7,5, 1H), 6,79 (d, *J* = 4,9, 1H), 2,44 (s, 6H)
22	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,95 (d, *J* = 8,4, 1H), 8,28 (d, *J* = 5,7, 1H), 7,87 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,76 - 7,70 (m, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,60 - 7,52 (m, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,32 (t, *J* = 7,4, 1H), 6,95 (dd, *J* = 5,1, 6,5, 1H), 2,45 (s, 3H)
23	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,64 (d, *J* = 8,4, 1H), 8,55 (d, *J* = 2,1, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 8,5, 4H), 7,66 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,06 (s, 1H), 2,67 (s, 4H)
24	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,09 (d, *J* = 8,9, 1H), 8,53 (d, *J* = 1,7, 1H), 7,94 (dd, *J* = 2,2, 8,9, 1H), 7,92 - 7,84 (m, 2H), 7,67 (d, *J* = 8,6, 2H), 7,65 - 7,58 (m, 1H), 7,40 (t, *J* = 7,4, 1H), 2,49 (s, 3H)

Ej.	Caracterizaciones
25	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,16 (d, *J* = 5,2, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,79 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,66 (d, *J* = 2,2, 1H), 7,55 (dd, *J* = 2,3, 8,9, 1H), 7,39 (d, *J* = 9,0, 1H), 6,79 (d, *J* = 5,2, 1H), 2,42 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=270
26	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,06 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,70 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,64 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,49 (t, *J* = 7,9, 2H), 7,40 (dd, *J* = 2,3, 8,9, 1H), 7,18 (d, *J* = 8,9, 1H), 6,68 (d, *J* = 7,4, 1H), 2,38 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=270
27	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,17 (d, *J* = 2,5, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,49 (dd, *J* = 2,6, 9,0, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,93 (d, *J* = 8,9, 2H), 7,74 - 7,64 (m, 1H), 7,48 (dd, *J* = 4,2, 11,4, 1H), 7,09 (s, 1H), 2,71 (s, 3H)
28	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,64 - 8,51 (m, 3H), 8,18 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,93 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,79 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,73 - 7,64 (m, 1H), 7,51 - 7,41 (m, 1H), 7,00 (dd, *J* = 4,6, 8,2, 1H), 6,75 (dd, *J* = 4,6, 8,3, 0H)
29	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,77 (s, 1H), 8,60 (s, 3H), 8,19 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,76 (dd, *J* = 6,6, 25,5, 2H), 7,38 (d, *J* = 7,2, 1H), 7,04 (d, *J* = 4,4, 1H)
30	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,46 (dd, *J* = 1,9, 5,0, 1H), 7,87 (dd, *J* = 2,0, 7,6, 1H), 7,82 (d, *J* = 7,3, 1H), 7,60 (t, *J* = 7,3, 2H), 7,43 - 7,33 (m, 1H), 6,90 (dd, *J* = 5,0, 7,6, 1H), 2,64 (s, 3H)
31	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,44 (d, *J* = 9,1, 1H), 8,17 (d, *J* = 4,8, 1H), 8,03 (d, *J* = 9,1, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,68 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,62 - 7,54 (m, 1H), 7,39 (d, *J* = 7,3, 1H), 7,32 (t, *J* = 7,5, 1H), 6,82 (dd, *J* = 5,0, 7,3, 1H), 2,31 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=236
32	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,23 (d, *J* = 8,5, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,91 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,82 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,56 (d, *J* = 7,3, 1H), 7,50 (dd, *J* = 1,8, 8,5, 1H), 7,37 - 7,24 (m, 2H), 2,26 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=236
33	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,87 (s, 1H), 8,32 (d, *J* = 5,0, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,84 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,60 (dd, *J* = 7,4, 14,1, 2H), 7,32 (t, *J* = 7,5, 1H), 7,04 (dd, *J* = 5,0, 9,0, 2H) MS (ESI) $[M+H]^+$=247
34	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,52 (s, 1H), 8,45 (d, *J* = 8,6, 1H), 8,01 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,87 (dd, *J* = 2,5, 8,5, 2H), 7,72 - 7,56 (m, 2H), 7,39 (d, *J* = 9,0, 2H) MS (ESI) $[M+H]^+$=290
35	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,32 (d, *J* = 9,1, 1H), 8,07 (d, *J* = 4,8, 1H), 7,93 (d, *J* = 9,1, 1H), 7,59 (t, *J* = 7,9, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,36 (d, *J* = 7,2, 1H), 7,14 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,77 (dd, *J* = 5,0, 7,3, 1H), 2,29 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=270
36	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,70 (d, *J* = 7,2, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,62 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,53 (dd, *J* = 1,8, 8,6, 1H), 7,46 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,12 (t, *J* = 7,8, 1H), 7,05 (d, *J* = 8,8, 1H), 2,21 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=270
37	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,08 (d, *J* = 8,5, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 8,02 (d, *J* = 8,1, 2H), 7,77 (d, *J* = 7,2, 1H), 7,62 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,35 - 7,24 (m, 1H), 7,12 (d, *J* = 8,8, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=324

Ej.	Caracterizaciones
38	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,69 (d, *J* = 9,1, 1H), 7,97 (d, *J* = 9,1, 1H), 7,80 - 7,74 (m, 1H), 7,70 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,59 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,54 - 7,45 (m, 1H), 7,22 (t, *J* = 7,5, 1H), 6,87 (d, *J* = 7,9, 1H), 6,68 (dd, *J* = 5,0, 7,9, 1H), 3,73 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=252
39	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,57 (d, *J* = 29,4, 1H), 7,80 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,66 (t, *J* = 6,7, 2H), 7,46 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,14 (t, *J* = 7,8, 1H), 7,06 (d, *J* = 8,8, 1H), 6,79 (d, *J* = 7,3, 1H), 2,73 (dd, *J* = 7,6, 15,2, 2H), 1,28 (t, *J* = 7,7, 3H)
40	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9,75 (s, 1H), 9,12 (d, *J* = 2,3, 1H), 8,50 (d, *J* = 2,2, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,64 (t, *J* = 7,7, 1H), 7,45 (t, *J* = 7,8, 1H)
41	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,52 (dd, *J* = 2,8, 8,6, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 2,3, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,84 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,65 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,59 (d, *J* = 7,2, 1H), 7,50 - 7,40 (m, 1H), 7,33 (t, *J* = 7,4, 1H), 7,11 (d, *J* = 8,9, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=240
42	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,55 (d, *J* = 6,8, 1H), 8,01 (d, *J* = 8,9, 2H), 7,82 (dd, *J* = 9,1, 17,3, 2H), 7,69 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,63 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,37 (t, *J* = 7,5, 1H), 7,32 - 7,18 (m, 2H) MS (ESI) $[M+H]^+$=290
43	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10,41 (s, 1H), 9,08 (dd, *J* = 4,1, 9,3, 1H), 8,31 (d, *J* = 2,9, 1H), 8,20 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,88 - 7,70 (m, 3H), 7,44 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,32 (t, *J* = 7,8, 1H) ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 156,30, 153,32, 153,04, 150,17, 142,55, 137,73, 135,06, 134,74, 129,58, 129,49, 126,86, 125,29, 125,14, 125,04, 123,36, 114,91, 113,36. MS (ESI) $[M+H]^+$=274
44	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 11,09 (s, 1H), 8,78 (d, *J* = 9,0, 1H), 8,42 (dd, *J* = 1,9, 4,7, 1H), 8,28 (dd, *J* = 1,9, 7,8, 1H), 8,11 (d, *J* = 9,1, 1H), 7,73 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,65 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,27 (dd, *J* = 6,4, 9,2, 1H), 6,88 (dd, *J* = 4,8, 7,8, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=300
46	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,59 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,51 (t, *J* = 7,9, 1H), 7,43 (t, *J* = 9,2, 2H), 7,17 (t, *J* = 7,4, 1H), 6,67 (d, *J* = 7,4, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,28 (s, 3H)
47	^{1}H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8,99 (s, 1H), 8,76 (d, *J* = 9,2, 1H), 8,32 (d, *J* = 8,7, 1H), 8,22 (d, *J* = 8,6, 1H), 8,11 (d, *J* = 7,8, 1H), 8,01 (t, *J* = 7,1, 1H), 7,76 (t, *J* = 7,4, 1H), 7,55 - 7,43 (m, 2H) MS (ESI) $[M+H]^+$=247
48	^{1}H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8,48 (d, *J* = 9,1, 1H), 8,40 (d, *J* = 6,7, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,90 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,54 (t, *J* = 8,0, 1H), 7,38 (d, *J* = 8,6, 1H), 7,30 (s, 2H), 2,58 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=270
49	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,34 (s, 1H), 8,95 (s, 1H), 8,21 (d, *J* = 5,1, 1H), 7,87 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,71 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,52 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,19 (t, *J* = 7,8, 1H), 7,05 (d, *J* = 8,9, 1H), 6,84 (d, *J* = 5,1, 1H), 2,76 (q, *J* = 7,6, 2H), 1,37 (t, *J* = 7,6, 3H)
50	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,57 (d, *J* = 29,4, 1H), 7,80 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,66 (t, *J* = 6,7, 2H), 7,46 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,14 (t, *J* = 7,8, 1H), 7,06 (d, *J* = 8,8, 1H), 6,79 (d, *J* = 7,3, 1H), 2,73 (dd, *J* = 7,6, 15,2, 2H), 1,28 (t, *J* = 7,7,

Ej.	Caracterizaciones
	3H)
51	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,64 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,89 (d, *J* = 8,7, 1H), 7,71 (d, *J* = 7,4, 1H), 7,54 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,20 (t, *J* = 7,7, 1H), 7,02 (d, *J* = 8,8, 1H), 6,67 (s, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,39 (s, 3H) ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 156,15, 153,17, 152,82, 150,16, 143,70, 137,92, 131,34, 129,89, 126,49, 125,47, 123,43, 118,62, 114,47, 111,02, 24,13, 21,70. MS (ESI) $[M+H]^+$=284
52	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,89 (d, *J* = 8,8, 1H), 8,05 (d, *J* = 8,8, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,93 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,79 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,64 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,32 (t, *J* = 7,8, 1H), 7,13 (d, *J* = 8,8, 1H), 2,67 (s, 3H)
53	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,27 (s, 1H), 8,33 (d, *J* = 5,7, 1H), 8,13 (d, *J* = 5,2, 1H), 8,00 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,76 (d, *J* = 7,4, 1H), 7,60 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,29 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,07 (d, *J* = 8,9, 1H), 6,97 (d, *J* = 4,8, 1H)
54	MS (ESI) $[M+H]^+$=250
55	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,19 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,63 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,52 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,33 (d, *J* = 7,4, 1H), 7,14 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,69 (d, *J* = 7,5, 1H), 2,70 (dd, *J* = 7,3, 14,8, 2H), 2,47 (s, 3H), 1,26 (t, *J* = 7,7, 3H)
56	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,20 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,63 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,52 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,33 (d, *J* = 7,4, 1H), 7,14 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,69 (d, *J* = 7,5, 1H), 2,70 (dd, *J* = 7,3, 14,8, 2H), 2,47 (s, 3H), 1,25 (dd, *J* = 7,5, 15,5, 3H)
57	MS (ESI) $[M+H]^+$=253
58	MS (ESI) $[M+H]^+$=314-316
59	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,91 (d, *J* = 1,7, 1H), 8,46 (d, *J* = 8,8, 1H), 8,28 (dd, *J* = 2,0, 8,8, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,03 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,88 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,70 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,67 - 7,58 (m, 1H), 7,38 (t, *J* = 7,4, 1H), 7,32 (d, *J* = 8,8, 2H), 3,91 (s, 3H)
60	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,94 (d, *J* = 8,9, 1H), 8,91 (d, *J* = 1,8, 1H), 8,37 (dd, *J* = 2,2, 8,8, 1H), 8,04 (d, *J* = 8,9, 2H), 7,77 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,62 (d, *J* = 7,2, 1H), 7,30 (t, *J* = 7,8, 2H), 7,19 (d, *J* = 8,8, 2H), 3,92 (s, 3H)
61	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,96 (d, *J* = 8,8, 1H), 8,85 (d, *J* = 1,3, 1H), 8,28 (d, *J* = 9,9, 1H), 7,84 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,59 (d, *J* = 8,4, 2H), 7,53 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,31 (t, *J* = 7,4, 1H), 3,88 (s, 4H), 2,42 (s, 4H) MS (ESI) $[M+H]^+$=294
62	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 11,02 (s, 1H), 8,75 (d, *J* = 9,2, 1H), 8,44 (d, *J* = 3,7, 1H), 8,31 (d, *J* = 7,9, 1H), 8,10 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,72 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,64 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,27 (d, *J* = 8,1, 1H), 6,88 (dd, *J* = 4,7, 7,8, 1H), 3,97 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=314
63	MS (ESI) $[M+H]^+$=266
64	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10,38 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,28 (d, *J* = 9,1, 1H), 8,20 - 8,03 (m, 3H), 7,50 (d, *J* = 8,7, 1H), 7,45 (d, *J* = 8,0, 1H), 6,88 (d, *J* = 4,4, 1H), 2,37 (s, 3H)
65	MS (ESI) $[M+H]^+$=314-316
66	MS (ESI) $[M+H]^+$=250

Ej.	Caracterizaciones
67	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10,51 (s, 1H), 8,83 (d, *J* = 2,3, 1H), 8,62 (d, *J* = 9,3, 1H), 8,24 (dd, *J* = 2,7, 9,1, 1H), 7,96 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,81 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,67 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,45 (d, *J* = 11,2, 2H), 3,86 (s, 3H), 2,62 (s, 3H) MS (ESI) [M+H] $^+$=294
68	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,57 (s, 1H), 8,44 (d, *J* = 4,8, 1H), 8,05 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,80 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,64 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,31 (t, *J* = 7,8, 1H), 7,19 (d, *J* = 4,3, 1H), 7,04 (d, *J* = 8,8, 1H)
69	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,12 (s, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,6, 1H), 7,71 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,57 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,25 (d, *J* = 10,2, 2H), 7,17 (s, 1H), 7,05 (s, 1H)
70	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,07 (d, *J* = 8,5, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,90 (t, *J* = 8,0, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,75 (dd, *J* = 1,1, 7,5, 1H), 7,62 - 7,55 (m, 1H), 7,31 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,27 (t, *J* = 7,8, 1H), 7,08 (d, *J* = 8,8, 1H) MS (ESI) [M+H] $^+$=274
71	MS (ESI) [M+H] $^+$=274
72	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,67 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,83 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,69 - 7,61 (m, 1H), 7,57 (d, *J* = 7,9, 2H), 7,52 (d, *J* = 7,1, 1H), 7,28 (t, *J* = 7,4, 1H), 2,74 (q, *J* = 7,6, 2H), 2,42 (s, 3H), 1,31 (t, *J* = 7,6, 3H) MS (ESI) [M+H] $^+$=264
73	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,91 (dd, *J* = 3,8, 9,0, 1H), 8,11 (d, *J* = 2,9, 1H), 7,81 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,56 (dd, *J* = 7,4, 14,1, 2H), 7,51 - 7,42 (m, 1H), 7,29 (d, *J* = 7,2, 1H), 2,38 (s, 3H) MS (ESI) [M+H] $^+$=254
74	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,96 (d, *J* = 8,3, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,89 (dd, *J* = 1,9, 9,0, 1H), 7,82 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,57 (t, *J* = 8,7, 3H), 7,33 (t, *J* = 7,4, 1H), 2,37 (s, 3H) MS (ESI) [M+H] $^+$=304
75	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,83 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,69 (dd, *J* = 1,3, 7,6, 1H), 7,53 (dd, *J* = 1,2, 8,0, 1H), 7,42 (d, *J* = 8,9, 2H), 7,15 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,89 (d, *J* = 8,9, 2H), 6,79 (d, *J* = 8,9, 2H), 2,97 (s, 6H)
77	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,83 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,70 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,59 (d, *J* = 8,6, 2H), 7,52 (d, *J* = 7,3, 1H), 7,16 (t, *J* = 7,7, 1H), 6,94 (d, *J* = 8,4, 3H), 6,86 (d, *J* = 8,8, 1H), 3,82 (s, 3H) ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 156,40, 155,54, 144,29, 138,09, 132,96, 130,44, 129,99, 126,61, 125,22, 123,29, 122,66, 114,73, 112,16, 55,74. MS (ESI) [M+H] $^+$=285
78	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,80 (t, *J* = 7,6, 2H), 7,64 (d, *J* = 8,9, 2H), 7,61 - 7,55 (m, 1H), 7,33 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,19 (d, *J* = 8,7, 2H), 2,59 (s, 3H)
79	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,78 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,76 - 7,71 (m, 2H), 7,69 (s, 1H), 7,57 (dd, *J* = 1,1, 8,0, 1H), 7,51 (ddd, *J* = 1,5, 7,0, 8,4, 1H), 7,29 - 7,21 (m, 1H), 6,96 - 6,90 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 2,35 (s, 3H)

Ej.	Caracterizaciones
80	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,92 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,84 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,57 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,32 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,24 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,53 (s, 1H), 2,42 (s, 3H) ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 152,46, 146,25, 143,86, 139,33, 136,83, 128,93, 126,96, 126,71, 124,75, 123,56, 121,88, 120,44, 119,95, 17,77. MS (ESI) $[M+H]^+$=319
81	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,75 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,66 (d, *J* = 8,5, 3H), 7,55 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,48 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,20 (d, *J* = 7,2, 1H), 6,80 (d, *J* = 8,8, 2H), 6,32 (s, 1H), 2,93 (s, 7H), 2,35 (s, 3H)
82	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,92 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,82 - 7,70 (m, 2H), 7,66 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,59 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,30 (dd, *J* = 6,0, 13,5, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,84 (d, *J* = 8,9, 1H), 2,32 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=319
83	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,93 - 7,86 (m, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,59 (dd, *J* = 8,2, 15,5, 2H), 7,44 - 7,38 (m, 1H), 7,29 (dd, *J* = 8,3, 16,8, 2H), 6,91 (d, *J* = 9,0, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,3, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=305
84	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,67 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,92 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,63 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,58 (d, *J* = 7,3, 1H), 7,30 (dd, *J* = 6,8, 14,8, 3H), 7,02 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,89 (d, *J* = 8,9, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=305
86	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,93 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,83 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,70 (d, *J* = 12,0, 1H), 7,61 (dd, *J* = 7,9, 18,1, 2H), 7,32 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 7,21 (t, *J* = 6,5, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,9, 1H), 6,79 - 6,68 (m, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=239
87	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,27 (s, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,67 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,45 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,28 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,14 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,86 (d, *J* = 10,1, 1H), 6,76 (d, *J* = 8,9, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=339
88	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,11 (dt, *J* = 2,1, 12,1, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,66 (dd, *J* = 1,2, 7,6, 1H), 7,45 (dd, *J* = 1,1, 8,0, 1H), 7,22 (dd, *J* = 1,4, 7,2, 2H), 7,18 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,12 (d, *J* = 7,8, 1H), 6,75 (d, *J* = 8,9, 1H), 6,69 (d, *J* = 7,9, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=273
89	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,38 (s, 1H), 8,41 (d, *J* = 9,1, 1H), 7,93 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,80 (dt, *J* = 8,1, 20,9, 4H), 7,50 (d, *J* = 7,8, 3H), 7,36 (d, *J* = 9,3, 1H)
90	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,84 (d, *J* = 9,1, 2H), 7,79 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,67 (dd, *J* = 1,2, 7,6, 1H), 7,48 (dd, *J* = 1,1, 8,0, 1H), 7,18 (s, 3H), 6,89 (s, 1H), 6,75 (d, *J* = 8,9, 1H) ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 153,88, 144,30, 143,91, 139,00, 138,25, 131,13, 130,13, 126,55, 125,42, 123,45, 122,50, 122,17, 120,49, 119,10, 113,24. MS (ESI) $[M+H]^+$=339
91	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,74 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,46 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,91 (dd, *J* = 5,5, 14,5, 2H), 7,79 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,67 (d, *J* = 2,1, 1H), 7,56 (dd, *J* = 2,3, 8,9, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,9, 1H)

Ej.	Caracterizaciones
92	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,67 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,83 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,69 - 7,61 (m, 1H), 7,55 (dd, *J* = 7,5, 14,4, 2H), 7,29 (d, *J* = 7,8, 1H), 6,80 (d, *J* = 7,4, 1H)
93	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,21 (dd, *J* = 1,5, 8,4, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,58 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,53 (dd, *J* = 1,3, 8,3, 1H), 7,40 - 7,35 (m, 1H), 7,32 (dd, *J* = 1,1, 4,6, 1H), 7,31 - 7,24 (m, 2H), 7,04 (s, 1H), 7,02 - 6,94 (m, 1H), 2,38 (s, 3H)
94	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,16 (d, *J* = 8,7, 1H), 7,83 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,63 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,48 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,13 (t, *J* = 7,8, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,04 (s, 2H), 6,81 (d, *J* = 8,9, 2H), 2,27 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=353
95	^{1}H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8,42 (s, 1H), 7,94 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,83 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,78 (d, *J* = 7,1, 1H), 7,72 (d, *J* = 8,7, 2H), 7,58 (d, *J* = 8,2, 3H), 2,60 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=319
96	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,79 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,70 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,64 (d, *J* = 8,9, 2H), 7,59 (d, *J* = 2,1, 1H), 7,50 (dd, *J* = 2,3, 8,9, 1H), 7,19 (d, *J* = 8,6, 2H), 6,85 (d, *J* = 8,9, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=281
97	^{1}H NMR (300 MHz, MeOD) δ 8,11 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,81 (s, 2H), 7,62 (d, *J* = 8,7, 3H), 7,51 (d, *J* = 8,3, 2H), 7,12 (s, 1H), 2,77 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=319
98	MS (ESI) $[M+H]^+$=383-385
99	MS (ESI) $[M+H]^+$=320
100	MS (ESI) $[M+H]^+$=316
101	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,82 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,70 - 7,63 (m, 1H), 7,51 (dd, *J* = 5,3, 7,6, 3H), 7,14 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,91 (d, *J* = 8,8, 3H), 6,85 (d, *J* = 9,0, 2H), 3,96 (t, *J* = 6,5, 2H), 1,84 - 1,68 (m, 3H), 1,49 (dd, *J* = 7,4, 15,0, 3H), 0,97 (t, *J* = 7,4, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=327
102	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,89 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,5, 1H), 7,63 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,8, 2H), 7,38 - 7,24 (m, 3H), 7,09 (d, *J* = 7,4, 1H), 7,02 (dd, *J* = 2,4, 8,8, 4H), 6,90 (d, *J* = 8,9, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=313
103	MS (ESI) $[M+H]^+$=334
104	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,49 (d, *J* = 2,5, 1H), 7,89 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,72 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,63 (dd, *J* = 2,5, 8,9, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,23 (dd, *J* = 6,2, 14,0, 2H), 7,04 (s, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,8, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=373
105	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,85 (d, *J* = 2,6, 1H), 8,45 (d, *J* = 2,3, 1H), 8,01 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,71 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,53 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,51 - 7,45 (m, 2H), 7,45 - 7,36 (m, 1H), 6,72 - 6,62 (m, 2H), 2,48 (s, 3H) 13C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 157,18, 154,80, 145,42, 143,80, 138,17, 135,04, 128,88, 128,76, 127,17, 127,04, 120,69, 115,22, 106,73, 24,38

Ej.	Caracterizaciones
106	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10,24 (s, 1H), 9,06 (d, *J* = 2,3, 1H), 8,65 (d, *J* = 1,8, 1H), 8,60 (d, *J* = 8,3, 1H), 8,56 (d, *J* = 4,5, 1H), 7,97 (dd, *J* = 8,2, 14,4, 2H), 7,69 (t, *J* = 6,9, 1H), 7,59 (t, *J* = 7,4, 1H), 7,08 (dd, *J* = 4,6, 8,3, 1H) MS (ESI) [M+H] $^+$=267
107	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,77 (dd, *J* = 1,5, 4,3, 1H), 8,06 (dd, *J* = 10,8, 18,4, 3H), 7,93 (d, *J* = 2,4, 1H), 7,57 (dd, *J* = 2,4, 9,0, 1H), 7,39 (ddd, *J* = 3,1, 8,3, 12,5, 3H), 6,93 (d, *J* = 8,4, 1H), 6,89 (s, 1H), 2,29 (s, 3H)
108	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,72 (dd, *J* = 1,6, 4,2, 1H), 8,61 (d, *J* = 2,4, 1H), 8,11 (d, *J* = 8,3, 1H), 8,00 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,91 (dd, *J* = 1,2, 5,0, 1H), 7,69 (dd, *J* = 2,4, 9,1, 1H), 7,35 - 7,26 (m, 2H), 7,01 (dd, *J* = 1,2, 7,9, 1H), 6,77 (dd, *J* = 5,1, 7,8, 1H), 3,93 (s, 3H)
109	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,68 (s, 1H), 8,21 (s, 2H), 7,94 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,79 (d, *J* = 9,2, 1H), 7,67 (d, *J* = 2,3, 1H), 7,56 (dd, *J* = 2,3, 8,9, 1H), 7,34 (d, *J* = 8,9, 1H) MS (ESI) [M+H] $^+$=257
110	1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,32 (s, 1H), 8,33 - 8,21 (m, 2H), 8,05 (d, J = 8,9, 1H), 8,00 (dd, J = 1,2, 7,6, 1H), 7,69 (dd, J = 1,1, 7,8, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,30 - 7,22 (m, 3H), 7,16 (d, J = 8,8, 1H). MS (ESI) [M+H] $^+$=301-303
111	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,82 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,70 - 7,63 (m, 1H), 7,51 (dd, *J* = 5,3, 7,6, 3H), 7,14 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,91 (d, *J* = 8,8, 3H), 6,85 (d, *J* = 9,0, 2H), 3,96 (t, *J* = 6,5, 2H), 1,84 - 1,68 (m, 3H), 1,49 (dd, *J* = 7,4, 15,0, 3H), 0,97 (t, *J* = 7,4, 3H)
112	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,89 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,5, 1H), 7,63 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,8, 2H), 7,38 - 7,24 (m, 3H), 7,09 (d, *J* = 7,4, 1H), 7,02 (dd, *J* = 2,4, 8,8, 4H), 6,90 (d, *J* = 8,9, 1H) ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 152,94, 150,19, 142,48, 142,18, 138,20, 137,55, 135,74, 129,71, 126,99, 125,35, 123,84, 114,75. MS (ESI) [M+H] $^+$=255
113	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,74 (s, 1H), 8,20 (s, 2H), 8,03 (d, *J* = 8,6, 1H), 7,87 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,70 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,63 (t, *J* = 7,7, 1H), 7,37 (t, *J* = 7,4, 1H), 7,30 (d, *J* = 8,7, 1H)
114	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,67 (s, 1H), 8,34 - 8,12 (m, 2H), 7,84 (d, *J* = 8,0, 2H), 7,70 - 7,54 (m, 1H), 7,38 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,17 (s, 1H), 2,61 (s, 3H) MS (ESI) [M+H] $^+$=237
115	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,15 (s, 1H), 8,24 - 8,12 (m, 2H), 7,79 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,55 (t, *J* = 8,3, 2H), 7,30 (t, *J* = 7,9, 1H), 2,38 (s, 3H) MS (ESI) [M+H] $^+$=237
116	MS (ESI) [M+H] $^+$=240
117	MS (ESI) [M+H] $^+$=253
118	MS (ESI) [M+H] $^+$=222
119	MS (ESI) [M+H] $^+$=256
121	MS (ESI) [M+H] $^+$=222

Ej.	Caracterizaciones
124	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,42 (s, 1H), 7,95 (dd, *J* = 1,3, 8,2, 1H), 7,87 - 7,78 (m, 3H), 7,70 - 7,61 (m, 1H), 7,55 - 7,47 (m, 1H), 7,26 (dd, *J* = 2,4, 6,5, 3H), 6,90 (s, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=306
125	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,42 (s, 1H), 8,03 (d, *J* = 9,5, 1H), 7,92 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,61 (t, *J* = 7,3, 1H), 7,46 (t, *J* = 7,2, 1H), 7,13 (s, 2H), 6,84 (s, 1H), 2,35 (s, 3H)
126	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,40 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,84 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,65 (t, *J* = 7,4, 1H), 7,53 (d, *J* = 7,1, 1H), 7,48 (d, *J* = 7,2, 1H), 7,35 (t, *J* = 8,2, 1H), 7,22 (s, 1H), 6,94 (d, *J* = 8,1, 1H)
127	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,85 (dd, *J* = 1,0, 8,3, 1H), 8,47 (s, 1H), 7,96 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,72 - 7,61 (m, 1H), 7,57 - 7,47 (m, 1H), 7,42 - 7,36 (m, 1H), 7,33 (d, *J* = 10,0, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,13 - 7,04 (m, 1H)
128	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,17 (s, 1H), 8,68 (d, *J* = 9,1, 1H), 8,64 (d, *J* = 4,8, 2H), 8,15 (d, *J* = 9,1, 1H), 7,87 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,64 (t, *J* = 7,7, 1H), 7,39 (t, *J* = 7,5, 1H), 6,87 (t, *J* = 4,8, 1H) ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl3) δ 158,34, 138,07, 129,85, 127,63, 127,31, 124,34, 114,20, 113,90.
129	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,14 (s, 1H), 8,73 (d, *J* = 21,2, 3H), 8,17 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 20,3, 2H), 7,28 (d, *J* = 9,6, 2H), 6,91 (s, 1H)
130	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,05 (s, 1H), 8,64 (d, *J* = 4,8, 2H), 8,52 (s, 1H), 7,89 (dd, *J* = 8,5, 14,6, 2H), 7,63 (t, *J* = 7,5, 1H), 7,41 (t, *J* = 7,4, 1H), 6,86 (t, *J* = 4,8, 1H), 2,74 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$=237
132	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,86 (d, *J* = 2,6, 1H), 8,70 (d, *J* = 2,5, 1H), 8,32 (d, *J* = 1,1, 1H), 8,25 - 8,21 (m, 1H), 8,10 (d, *J* = 2,7, 1H), 8,06 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,82 (dd, *J* = 1,2, 7,9, 1H), 7,66 - 7,51 (m, 3H), 6,89 (s, 1H)
135	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,09 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,54 (d, *J* = 8,4, 1H), 8,37 (dd, *J* = 1,0, 4,9, 1H), 7,96 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,82 - 7,74 (m, 1H), 7,66 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,52 (dd, *J* = 7,0, 8,1, 1H), 7,02 (dd, *J* = 5,0, 7,2, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=223
136	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,02 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,20 (d, *J* = 5,1, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,84 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,64 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,49 (t, *J* = 8,1, 1H), 6,83 (d, *J* = 5,0, 1H), 2,43 (s, 3H) ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 153,28, 150,20, 148,55, 147,40, 140,93, 139,83, 138,35, 130,44, 129,16, 127,18, 126,28, 119,70, 113,75, 21,87. MS (ESI) $[M+H]^+$=237
137	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11,10 (s, 1H), 9,03 (s, 1H), 8,82 - 8,75 (m, 1H), 8,56 (d, *J* = 8,9, 1H), 8,24 (dd, *J* = 2,3, 8,9, 1H), 7,96 (dd, *J* = 1,2, 8,2, 1H), 7,87 (dd, *J* = 1,0, 8,3, 1H), 7,79 - 7,71 (m, 1H), 7,61 (ddd, *J* = 1,4, 7,0, 8,3, 1H) MS (ESI) $[M+H]^+$=248
138	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,72 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,20 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,93 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,81 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,62 (td, *J* = 3,4, 8,1, 2H), 7,53 - 7,43 (m, 1H), 6,83 (d, *J* = 7,4, 1H), 2,48 (s, 3H) ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 156,86, 152,27, 148,40, 140,92, 139,70, 139,00, 138,35, 130,42, 129,13, 127,14, 126,27, 117,76, 110,01, 24,15. MS (ESI) $[M+H]^+$=237

Ej.	Caracterizaciones
139	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,53 (s, 1H), 8,20 (d, *J* = 4,8, 1H), 8,04 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,92 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,79 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,60 (t, *J* = 7,6, 1H), 6,88 (d, *J* = 4,7, 1H), 2,46 (s, 3H)
140	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,93 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,05 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,69 (t, *J* = 7,6, 1H), 7,59 (t, *J* = 8,2, 1H), 2,53 (s, 4H)
141	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,72 (s, 1H), 9,35 (s, 1H), 8,30 (d, *J* = 5,0, 1H), 8,05 (d, *J* = 7,7, 1H), 7,87 (d, *J* = 7,0, 1H), 7,66 (dd, *J* = 7,4, 16,9, 3H), 6,92 (d, *J* = 4,9, 1H), 2,58 (s, 3H)
143	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,85 (s, 1H), 8,42 (d, *J* = 5,3, 1H), 7,96 (d, *J* = 9,1, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,30 (s, 4H), 7,28 - 7,21 (m, 2H), 6,66 (d, *J* = 5,3, 1H), 2,99 (s, 6H) ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 156,82, 150,25, 149,69, 143,79, 141,71, 125,95, 122,33, 118,88, 117,37, 115,95, 109,39, 104,92, 43,57 MS (ESI) [M+H]+ = 348
144	MS (ESI) $[M+H]^+$=390
145	MS (ESI) $[M+H]^+$=252
146	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9,34 (s, 1H), 8,59 (d, *J* = 5,2, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,13 (d, *J* = 5,1, 1H), 7,98 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,66 (d, *J* = 9,1, 1H), 6,80 (d, *J* = 5,2, 1H), 6,76 (s, 1H), 6,69 (d, *J* = 4,9, 1H), 4,00 (s, 3H), 2,26 (s, 3H) ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 161,31, 155,67, 151,63, 150,25, 147,77, 147,01, 142,97, 121,56, 119,16, 116,61, 114,75, 112,60, 111,41, 98,91, 55,78, 20,66. MS (ESI) $[M+H]^+$= 266
147	MS (ESI) $[M+H]^+$=279
149	MS (ESI) $[M+H]^+$=318
150	MS (ESI) $[M+H]^+$=280
151	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,35 (s, 1H), 8,04 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,82 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,74 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,60 (t, *J* = 7,8, 2H), 7,50 (dd, *J* = 2,3, 8,9, 1H), 7,36 (d, *J* = 8,9, 1H), 6,79 (d, *J* = 7,4, 1H), 2,75 (q, *J* = 7,6, 2H), 1,30 (t, *J* = 7,6, 3H). MS (ESI) $[M+H]^+$= 284
152	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,30 (d, *J* = 8,5, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,77 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,65 (d, *J* = 2,2, 1H), 7,55 (td, *J* = 2,0, 8,8, 2H), 7,39 (d, *J* = 9,0, 1H), 2,31 (s, 3H). MS (ESI) $[M+H]^+$= 270
153	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,75 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,46 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,91 (dd, *J* = 5,5, 14,5, 2H), 7,79 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,67 (d, *J* = 2,1, 1H), 7,56 (dd, *J* = 2,3, 8,9, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,9, 1H). MS (ESI) $[M+H]^+$= 324
154	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9,08 (s, 1H), 8,12 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,2, 2H), 7,66 (d, *J* = 10,0, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 6,82 (s, 1H), 5,10 (s, 2H), 2,16 (s, 4H). MS (ESI) $[M+H]^+$= 285

Ej.	Caracterizaciones
155	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,68 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,56 (d, *J* = 11,5, 2H), 7,44 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,38 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,13 (t, *J* = 7,4, 1H), 6,80 (d, *J* = 8,7, 2H), 3,85 (t, *J* = 6,5, 2H), 2,18 (s, 3H), 1,73 - 1,58 (m, 2H), 1,48 - 1,31 (m, 2H), 0,88 (t, *J* = 7,3, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$= 307
156	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,75 (d, *J* = 9,1, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,58 (d, *J* = 2,2, 1H), 7,48 (dd, *J* = 2,4, 8,9, 1H), 7,30 (d, *J* = 8,9, 2H), 6,86 (d, *J* = 9,0, 1H), 6,77 (d, *J* = 8,9, 2H), 6,71 (s, 1H), 2,97 (s, 6H) MS (ESI) $[M+H]^+$= 298
157	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,98 (d, *J* = 2,6, 1H), 7,89 (d, *J* = 8,9, 1H), 7,72 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,62 (dd, *J* = 2,6, 8,8, 1H), 7,55 (d, *J* = 7,8, 1H), 7,20 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,95 (d, *J* = 8,9, 1H), 6,84 (d, *J* = 8,9, 1H), 6,79 (s, 1H), 3,91 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$= 319
158	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,89 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,70 (dd, *J* = 1,2, 7,5, 1H), 7,56 (dd, *J* = 1,1, 8,0, 1H), 7,30 (d, *J* = 8,6, 1H), 7,20 (t, *J* = 7,8, 1H), 6,71 (t, *J* = 5,9, 2H), 6,64 (d, *J* = 9,5, 1H). MS (ESI) $[M+H]^+$= 354
159	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,80 (d, *J* = 2,6, 1H), 8,37 (d, *J* = 2,6, 1H), 8,01 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,91 (dd, *J* = 1,6, 4,9, 1H), 7,78 - 7,70 (m, 1H), 7,58 - 7,43 (m, 2H), 7,09 (dd, *J* = 1,6, 7,6, 1H), 6,84 (dd, *J* = 4,9, 7,6, 1H), 6,69 (s, 1H), 3,82 - 3,07 (m, 2H).
160	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,68 - 8,90 (m, 1H), 8,77 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,14 (d, *J* = 5,0, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,79 (d, *J* = 8,8, 1H), 7,61 (d, *J* = 8,5, 1H), 6,88 (d, *J* = 4,8, 1H), 2,46 (s, 3H)
161	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,98 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,27 (d, *J* = 5,2, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,84 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,63 (t, *J* = 7,5, 1H), 7,48 (t, *J* = 7,5, 1H), 6,87 (d, *J* = 5,0, 1H), 2,74 (q, *J* = 7,6, 2H), 1,34 (t, *J* = 7,6, 3H). MS (ESI) $[M+H]^+$= 251
162	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,73 (s, 1H), 8,70 - 8,60 (m, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 7,98 (d, *J* = 8,1, 1H), 7,86 (d, *J* = 7,9, 1H), 7,68 (t, *J* = 8,2, 1H), 7,54 (t, *J* = 8,1, 1H), 2,49 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$= 315
163	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,75 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,84 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,64 (t, *J* = 8,2, 1H), 7,49 (t, *J* = 7,0, 1H), 6,69 (s, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,38 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$= 251
164	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10,46 (s, 1H), 9,00 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,24 (d, *J* = 3,0, 1H), 7,90 (d, *J* = 8,2, 1H), 7,79 (d, *J* = 8,3, 1H), 7,69 (t, *J* = 7,0, 1H), 7,52 (t, *J* = 7,4, 1H), 6,98 (d, *J* = 4,8, 1H), 5,45 (q, *J* = 5,6, 1H), 4,58 (d, *J* = 5,7, 2H). MS (ESI) $[M+H]^+$= 253
165	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,07 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,09 - 8,01 (m, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,4, 1H), 7,81 - 7,71 (m, 1H), 7,69 - 7,59 (m, 1H), 2,80 (s, 3H) MS (ESI) $[M+H]^+$= 282
166	^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,49 (d, *J* = 5,0, 1H), 7,77 (d, *J* = 9,0, 1H), 7,32 (d, *J* = 2,0, 1H), 7,12 (d, *J* = 9,0, 2H), 6,99 (dd, *J* = 2,0, *J* = 9,0, 1H), 6,82 (d, *J* = 9,0, 2H), 6,57 (d, *J* = 5,0, 1H), 5,78 (s, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,17 (s,

Ej.	Caracterizaciones
	4H), 2,62 (s, 4H), 2,34 (s, 3H)
167	MS (ESI) $[M+H]^+$=335
168	MS (ESI) $[M+H]^+$=321

Los siguientes ejemplos ilustran con detalle la preparación de los compuestos (51), (64), (110), (143) y (148) fuera de la invención. Las estructuras de los productos obtenidos se han confirmado al menos mediante espectros de NMR.

EJEMPLOS

Según la ruta (A), el compuesto de fórmula (III) se pone en un disolvente prótico tal como terc-butanol. El compuesto de fórmula (IV) se añade a continuación en una relación molar de 1,1 con respecto al compuesto de fórmula (III) en presencia de una base inorgánica, tal como Cs_2CO_3 o K_2CO_3, en una relación molar de 2,8, en presencia de una difosfina, tal como Xantphos (4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno) o X-Phos 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo, en una cantidad de 2% en moles con relación a la cantidad total de compuesto de fórmula (III), y en presencia de un catalizador, tal como $Pd(OAc)_2$ o Pd_2dba_3, en una cantidad de 2% en moles con relación a la cantidad total de compuesto de fórmula (III). A continuación, la mezcla de reacción se calienta a 90°C y se agita durante 20 horas, bajo argón. La mezcla de reacción se concentra bajo presión reducida y el residuo resultante se diluye con acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se lava dos veces con agua, se seca sobre sulfato magnésico, se filtra y se concentra bajo presión reducida. A continuación, el residuo podría purificarse mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar los compuestos (51), (64), (110) y (143) puros.

Según la ruta (B), el compuesto de fórmula (V) se pone en un disolvente prótico tal como terc-butanol. El compuesto de fórmula (VI) se añade a continuación en una relación molar de 1,1 con respecto al compuesto de fórmula (V) en presencia de Cs_2CO_3 en una relación molar de 2,8, en presencia de Xantphos (4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno) en una cantidad de 2% en moles con relación a la cantidad total de compuesto de fórmula (V), y en presencia de $Pd(OAc)_2$, en una cantidad de 2% en moles con relación a la cantidad total de compuesto de fórmula (V). A continuación, la mezcla de reacción se calienta a 90°C y se agita durante 20 horas, bajo argón. La mezcla de reacción se concentra bajo presión reducida y el residuo resultante se diluye con acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se lava dos veces con agua, se seca sobre sulfato magnésico, se filtra y se concentra bajo presión reducida. A continuación, el residuo podría purificarse mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar el compuesto (148) puro.

Ejemplo 1: compuesto (51) de la tabla I (fuera de la invención)

Según la ruta (A), una mezcla de 2,8-dicloroquinolina (98,5 mg) y 2-amino-4,6-dimetilpiridina (67,1 mg), $Pd(OAc)_2$ (2,2 mg), XantPhos (5,8 mg) y Cs_2CO_3 (456 mg) en 2 ml de t-BuOH daba el compuesto (51) (99,7 mg).

Ejemplo 2: compuesto (64) de la tabla I (fuera de la invención)

Según la ruta (A), una mezcla de 2-cloro-5-nitroquinolina (100,0 mg) y 2-amino-4-metilpiridina (57,6 mg), Pd_2dba_3 (20 mg), XantPhos (30 mg) y K_2CO_3 (270 mg) en 3 ml de t-BuOH daba el compuesto (64) (14,0 mg).

La preparación de 2-cloro-5-nitroquinolina se describe en la solicitud de patente WO2009/23844.

Ejemplo 3: compuesto (110) de la tabla I (fuera de la invención)

Según la ruta (A), una mezcla de 8-bromo-2-cloroquinolina (500 mg) y aminopirazina (216 mg), Pd_2dba_3 (95 mg), XantPhos (120 mg) y K_2CO_3 (1,15 g) en 12 ml de t-BuOH daba el compuesto (110) (245 mg).

La preparación de 8-bromo-2-cloroquinolina se describe en Cottet, F. y cols. Eur. J. Org. Chem. 2003, 8, 1559.

Ejemplo 4: compuesto (143) de la tabla I (fuera de la invención)

Según la ruta (A), una mezcla de 7-cloro-4-(N,N-dimetilamino)quinolina (500 mg), 4-trifluorometoxianilina (0,257 ml), Pd_2dba_3 (110 mg), XPhos (115 mg) y K_2CO_3 (1 g) en 10 ml de t-BuOH daba el compuesto (143) (410 mg).

La preparación de 7-cloro-4-(N,N-dimetilamino)quinolina se describe en Sánchez-Martín, R. y cols. J. Med. Chem. 2005, 48, 3354.

Ejemplo 5: compuesto (148) de la tabla I (fuera de la invención)

Según la ruta (B), una mezcla de 5,8-dimetilisoquinolin-6-amina (59 mg) y 2-bromo-5-metilpiridina (86 mg), $Pd(OAc)_2$

(2,2 mg), XantPhos (5,8 mg) y Cs_2CO_3 (456 mg) en 2 ml de t-BuOH daba el compuesto (148) (48 mg).

La preparación de 5,8-dimetilisoquinolin-6-amina se describe en Australian Journal of Chemistry 1969, 22, 2489.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,32 (s, 1H), 8,52 (d, J = 6,0, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,72 (d, J = 6,0, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,36 (dd, J = 2,1, 8,4, 1H), 6,69 (d, J = 8,3, 2H), 2,72 (s, 3H), 2,48 (s, 3H), 2,26 (s, 3H)

MS (ESI) [M+H]+ = 264

Ejemplo 6: Datos farmacológicos

Procedimiento operativo estándar:

Efecto de los compuestos farmacológicos sobre la invasión de células MDA-MB231-D3H2LN en colágeno

Antecedentes:

Una etapa clave en la generación de metástasis tumorales es la invasión de células tumorales en la matriz extracelular, uno de cuyos componentes principales es el colágeno. Por lo tanto, la invasión de células tumorales en colágeno *in vitro* puede ser indicativa de la generación de metástasis *in vivo*. P. ej., las células de cáncer de mama de ratón MDA-MB231-luc-D3H2LN exhiben en efecto tanto una invasión superior en colágeno *in vitro* como un potencial metastásico superior *in vivo* en comparación con células MDA-MB231 (de las que se derivaban). Usando estas células MDA-MB231-luc-D3H2LN como modelo, el objetivo del experimento descrito aquí es identificar compuestos farmacológicos que inhiban la invasión de células tumorales en colágeno *in vitro*, inhibiendo por lo tanto potencialmente también la generación de metástasis tumorales *in vivo*.

Principio del ensayo:

Etapa 1: Preparación de células en el fondo de un gel de colágeno: Las células se suspenden en una solución de colágeno líquida (4°C), se distribuyen en pocillos revestidos con BSA y a continuación se recogen en el fondo de los pocillos mediante centrifugación. A continuación, el colágeno se solidifica mediante incubación a 37°C. El revestimiento de BSA mejora la adherencia del gel de colágeno.

Etapa 2: Pretratamiento con los compuestos a probar: A continuación, se añaden soluciones concentradas de fármaco sobre el colágeno, y las células se preincuban durante 24 h con los fármacos en condiciones bajas en suero (FBS al 0,025%).

Etapa 3: Estimulación de la invasión: A continuación, se añade medio con FBS al 5% a fin de estimular la invasión de las células en el gel de colágeno.

Etapa 4: Fijación y tinción: Después de otras 24 h de incubación, las células se fijan y los núcleos se tiñen.

Etapa 5: Análisis: Finalmente, las placas se analizan usando un microscopio automatizado. Microesferas fluorescentes que se han incluido en el revestimiento de BSA sirven para detectar el fondo de los pocillos. Se toman fotografías de los núcleos teñidos al mismo nivel (0 µm) así como 25 µm y 50 µm por encima.

Nota:

A fin de detectar posibles efectos tóxicos, todos los compuestos se prueban en paralelo en un ensayo de viabilidad. El ensayo de viabilidad se realiza en paralelo sobre células privadas de suero (como en el ensayo de invasión) frente a células bajo condiciones de cultivo normales (FBS al 10%).

Materiales:

Equipo general: Congelador (-20°C), refrigerador (4°C), máquina de hielo, baño de agua (37°C), incubadora (37°C / CO_2 al 5%), campana de cultivo celular, vórtex, bomba de vacío, microscopio, célula de Malassez, adyuvante de pipeteo, micropipetas (para pipetear 1 – 1000 µl), pipetas de múltiples canales (para pipetear 20 – 200 µl), centrífuga de cultivo celular estándar, centrífuga refrigerada para placas de 96 pocillos

Consumibles generales: Placas de cultivo celular de 96 pocillos estériles (para el ensayo de viabilidad), tubos estériles (1,5 / 15 / 50 ml), pipetas estériles (5 / 10 / 25 ml), puntas de micropipeta estériles (para pipetear 1 – 1000 µl), pipetas de Pasteur estériles, depósitos de reactivos estériles

Productos generales: PBS estéril, agua Milli-Q estéril, DMSO, FBS descomplementado (partes alícuotas congeladas), NaOH 0,1 N, Hepes 1 M, MEM sin suero (no más antiguo de 1 mes), 2,5 x MEM sin suero (no más antiguo de 1 mes), MEM con FBS (no más antiguo de un mes) al 10%, solución de tripsina al 0,25% / EDTA 1 mM, solución de formaldehído al 37%

Equipo específico:

lector de placas: Tecan Infinite F200

microscopio automatizado: Cellomics ArrayScan VTI HCS Reader

Consumibles específicos:

placas de 96 pocillos negras estériles (para el ensayo de invasión): Perkin Elmer ViewPlate-96 F TC, ref. 6005225

placas de polipropileno de 96 pocillos profundos estériles (para la preparación de fármacos): Starlab, ref. S1896-5110

Productos específicos:

colágeno de cola de rata, tipo 1: BD Biosciences, ref. 354236 (nota: cada nuevo lote tiene que ser validado)

microesferas fluorescentes rojas (1 µm de diámetro): Invitrogen, ref. F13083

Y-27632 (solución acuosa 5 mM): Calbiochem, ref. 688001 (en solución) o 688000 (polvo seco)

BSA sin ácidos grasos (solución acuosa al 4% filtrada estérilmente): Sigma, ref. A8806 (polvo seco)

tinte nuclear Hoechst 33342 (10 mg/ml): Invitrogen, ref. H3570

reactivo MTS: Promega CellTiter CellTiter 96® AQueous One Solution Reagent, ref. G3581

compuestos farmacológicos a probar: generalmente 25 o 50 mM en DMSO al 100% (partes alícuotas almacenadas a -20°C, a continuación a 4°C durante un máximo de 3 meses)

Células MDA-MB231-luc-D3H2LN:

Límites para los cultivos celulares a usar en los ensayos:

número total de pases: máx. 30

último pase: entre 2 y 4 días antes, entre 1:3 y 1:20

densidad celular: entre 50 y 90% (óptimamente 70%) (entre 1 y 2 × 10^6 células por cápsula de 100 mm)

Procedimientos e*xperimentales:*

Consideraciones generales: Controles y mapas de placa:

Ensayo de invasión: Control negativo: Sin fármaco (solo DMSO a una concentración equivalente). Control positivo: Y-27632 10 µM. Para evitar efectos de borde, solo se usan los 60 pocillos centrales B2 - G11; las líneas A y H así como las columnas 1 y 12 permanecen libres. Cada fármaco se prueba al menos por triplicado. Los controles positivos y negativos se deben probar en dobles triplicados en diferentes posiciones en cada placa. Mapa de placa típico (- = control negativo, + = control positivo, 1 - 16 = 16 compuestos farmacológicos diferentes):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		-	1	2	3	4	5	6	7	8	+	
C		-	1	2	3	4	5	6	7	8	+	
D		-	1	2	3	4	5	6	7	8	+	
E		+	9	10	11	12	13	14	15	16	-	
F		+	9	10	11	12	13	14	15	16	-	
G		+	9	10	11	12	13	14	15	16	-	
H												

Ensayos de viabilidad: Sin controles adicionales. El ensayo de viabilidad de MTS se basa en la detección colorimétrica de un producto generado por la actividad mitocondrial de las células. Cada fármaco se prueba al menos por duplicado. Para detectar interacciones directas potenciales con el sustrato del ensayo, cada fármaco también se prueba en ausencia de células (señales de fondo). Mapa de placa típico (controles y compuestos farmacológicos como en el ensayo de invasión, líneas A - B y E - F: con células, líneas C - D y G - H: sin células; cada 1 placa con FBS al 10% frente al 0,025%):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		-	1	2	3	4	5	6	7	8	+	
B		-	1	2	3	4	5	6	7	8	+	
C		-	1	2	3	4	5	6	7	8	+	
D		-	1	2	3	4	5	6	7	8	+	
E		+	9	10	11	12	13	14	15	16	-	
F		+	9	10	11	12	13	14	15	16	-	
G		+	9	10	11	12	13	14	15	16	-	
H		+	9	10	11	12	13	14	15	16	-	

Los volúmenes u otras cantidades indicadas en lo siguiente se requieren para probar 16 compuestos farmacológicos por placa de 96 pocillos a 5 µM cada uno (controles +) en un ensayo de invasión y cada ensayo de viabilidad sobre células privadas de suero frente a células bajo condiciones de cultivo normales según los mapas de placa anteriores. Según el número de compuestos probados, los volúmenes y otras cantidades se pueden adaptar para probar más o menos compuestos o diferentes concentraciones.

Día 1: Preparación y tratamiento de las células (todas las etapas se realizan bajo una campana de cultivo celular):

Preparación de soluciones de fármaco concentradas 100 x en DMSO al 10%:

prepárese DMSO al 10% en PBS estéril: 1,8 ml de PBS estéril + 0,2 ml de DMSO

prepárense 100 µl/pocillo de DMSO al 10% en PBS en 16 pocillos de una placa de polipropileno de 96 pocillos estéril

añádase a cada uno 1 o 2 µl de las soluciones madre de compuesto 50 o 25 mM, respectivamente

mézclense al pipetear aspirando y expulsando

Preparación de soluciones de fármaco y control concentradas 4 x en DMSO al 0,4% en MEM + FBS al 0,1%:

prepárense MEM + FBS al 0,1%: 12 ml de MEM sin suero + 12 µl de FBS (parte alícuota descongelada recientemente)

prepárense 480 µl/pocillo de MEM + FBS al 0,1% en 20 pocillos de una placa de polipropileno de 96 pocillos profundos estéril

controles negativos (sin fármaco): añádanse a cada uno 20 µl de DMSO al 10% en PBS estéril

controles positivos (Y-27632): añádanse a cada uno 14 µl de PBS estéril + 2 µl de DMSO + 4 µl de Y-27632 5 mM (parte alícuota recientemente descongelada)

compuestos farmacológicos: añádanse a cada uno 20 µl de las soluciones de fármaco concentradas 100 × en DMSO al 10%

mézclense al pipetear aspirando y expulsando

almacénense a TA hasta su uso

Revestimiento de las placas para el ensayo de invasión:

mézclense 9,5 ml de MEM sin suero + 0,5 ml de BSA al 4% sin ácidos grasos + 1 µl de microesferas fluorescentes mezcladas en vórtex (es decir, dilúyase 1:10000), mézclense en vórtex, distribúyanse 100 µl/pocillo en la placa para el ensayo de invasión

centrifúguese 30 minutos con 1800 x g a 4°C (p. ej. 3000 rpm en una centrífuga Jouan GR412)

retírense los sobrenadantes mediante aspiración

Preparación de una suspensión de células de 10 × 10^6 células/ml (durante la centrifugación de las placas):

retírese el medio, lávense las células con ~ 10 ml/cápsula de PBS, añádase 1 ml/cápsula de tripsina al 0,25% / EDTA 1 mM

incúbese 30 - 60 s a 37°C

añádanse 5 – 10 ml/cápsula de MEM precalentado + FBS al 10%

homogenéicese al pipetear aspirando y expulsando usando una pipeta de 10 ml, reúnase todo

cuéntense las células usando una célula de Malassez

centrifúguense 2 × 10^6 (o más) células durante 5 minutos con 150 x g a TA (850 rpm en una centrífuga de cultivo celular estándar)

retírese el sobrenadante, resuspéndase la pella celular en 0,2 ml (o más, respectivamente) de MEM sin suero, dando 10 × 10^6 células/ml

Preparación del ensayo de invasión (sobre hielo; inicio durante la centrifugación de las células):

mézclense sobre hielo en un tubo prerrefrigerado: ejemplo para una solución madre de colágeno de 3,4 mg/ml; volúmenes de colágeno y agua para ser adaptados según la concentración de partida de cada lote de colágeno:

2,8 ml de 2,5 × MEM

441 µl de agua

140 µl de Hepes 1 M

49 µl de NaOH 1 N

3,5 ml de solución madre de colágeno de 3,4 mg/ml (que da 1,7 mg/ml de colágeno en 7 ml)

homogenéicese al pipetear suavemente aspirando y expulsando (manténgase sobre hielo)

añádanse 70 µl de la suspensión celular de 10 × 10^6 células/ml, homogenéicese al pipetear suavemente aspirando y expulsando (da 0,1 × 10^6 células/ml en 1,7 mg/ml de colágeno en 7 ml de 1 x MEM + Hepes 20 µM) (manténgase sobre hielo)

distribúyanse 100 µl/pocillo (es decir 10000 células/pocillo) en los pocillos revestidos de la placa para el ensayo de invasión (todo sobre hielo)

centrifúguese 5 minutos con 200 x g a 4°C (p. ej. 1000 rpm en una centrífuga Jouan GR412)

añádanse 200 µl/pocillo de PBS a todos los pocillos libres

incúbese 30 minutos a 37°C / CO_2 al 5% (solidificación del colágeno)

Preparación del ensayo de viabilidad sobre células privadas de suero:

añádanse 50 µl de la suspensión celular de 10 × 10^6 células/ml a 5 ml de MEM sin suero (da 0,1 × 10^6 células/ml)

distribúyanse 100 µl/pocillo de esta suspensión (es decir 10000 células/pocillo) o MEM sin suero sin células, respectivamente, en una placa de cultivo tisular de 96 pocillos estándar, según el mapa de placa anterior

añádanse 200 µl/pocillo de PBS a todos los pocillos libres

incúbese 30 minutos a 37°C / CO_2 al 5%

Preparación del ensayo de viabilidad sobre células bajo condiciones de cultivo normales:

añádanse 30 µl de la suspensión celular de 10 × 10^6 células/ml a 5 ml de MEM + FBS al 10% (da 0,06 × 10^6

células/ml)

distribúyanse 100 µl/pocillo de esta suspensión (es decir 6000 células/pocillo) o MEM + FBS al 10% sin células, respectivamente, en una placa de cultivo tisular de 96 pocillos estándar, según el mapa de placa anterior

añádanse 200 µl/pocillo de PBS a todos los pocillos libres

incúbese 30 minutos a 37°C / CO_2 al 5%

Tratamiento con los fármacos:

añádanse cada 33 µl/pocillo de las soluciones de fármaco concentradas 4 x en MEM + FBS al 0,1% a los pocillos correspondientes en las tres placas, según los mapas de placa anteriores

incúbese 24 h a 37°C / CO_2 al 5%

Día 2: Adición de FBS para estimular la invasión:

Observación microscópica después de 24 h de tratamiento:

examínense las células de los ensayos de viabilidad

Adición de FBS (bajo una campana de cultivo celular):

prepárense MEM + FBS al 5%: 7,2 ml de MEM sin suero + 0,8 ml de FBS (parte alícuota recientemente descongelada o resto de la parte alícuota descongelada el día antes si se mantiene a 4ºC)

añádanse 33 µl/pocillo a todos los pocillos de los ensayos de invasión y viabilidad

incúbese 24 h a 37°C / CO_2 al 5%

Día 3: Final:

Observación microscópica después de 48 h de tratamiento:

examínense las células de los ensayos de viabilidad

Ensayos de viabilidad: ensayo de MTS:

añádanse cada 33 µl/pocillo del reactivo MTS, incúbese 2,5 h a 37°C / CO_2 al 5%

remuévase y léase la absorbancia a 490 nm (proporcional a la viabilidad)

calcúlense las señales con corrección de fondo sustrayendo las medias de las señales de fondo en ausencia de células de las señales correspondientes en presencia de células

normalícense las señales con corrección de fondo con respecto a la señal media de los controles negativos (sin fármaco) (las viabilidades se expresan así en "% del control")

Ensayos de invasión: fijación y tinción (el formaldehído debe manipularse bajo una campana para humos):

prepárese recientemente 1 µg/ml de Hoechst 33342 en formaldehído al 18,5%: 5 ml de PBS (no necesariamente estéril) + 5 ml de formaldehído al 37% + 1 µl de 10 mg/ml Hoechst 33342 (nota: para una placa, un volumen menor sería suficiente, pero el volumen pipeteado mínimo no debe estar por debajo de 1 µl)

añádanse 50 µl/pocillo a todos los pocillos del ensayo de invasión (da formaldehído al 4,3% final)

séllese con película negra (proporcionada con las placas)

incúbese al menos 7 h a TA

Día 3: 17 (mín. 7 h / máx. 2 semanas después de la fijación y la tinción): Análisis del ensayo de invasión:

Lectura usando el Cellomics ArrayScan VTI HCS Reader:

Bio Application: SpotDetector.V3

Tipo de placa: Perkin Elmer 96 pocillos

Parámetros del protocolo de ensayo:

objetivo: 10 x (NA .45)

apotome: sí (corte óptico resultante: 11,7 µM)

campos por pocillo: 8

autoenfoque en cada campo

canal de autoenfoque: 1

canal 1 (autoenfoque activado, y fotografía de las microesferas fluorescentes en el fondo de los pocillos): filtro: XF93 - TRITC; tiempo de exposición: habitualmente entre 0,002 y 0,01 s

canal 2 (fotografía de las células teñidas al mismo nivel que las microesferas fluorescentes): filtro: XF100 - Hoechst; tiempo de exposición: habitualmente entre 0,02 y 0,1 s; compensación z: 0 µM

canal 3 (fotografía de las células teñidas 25 µM por encima de las microesferas fluorescentes): filtro: XF100 - Hoechst; tiempo de exposición: habitualmente entre 0,02 y 0,1 s; compensación z: - 25 µM

canal 4 (fotografía de las células fluorescentes 50 µM por encima de las microesferas fluorescentes): filtro: XF100 - Hoechst; tiempo de exposición: habitualmente entre 0,02 y 0,1 s; compensación z: - 50 µM

identificación de objetos: método: umbral fijado: 100 - 32767

parámetros de selección de objetos:	mín.	máx.
SpotArea:	20	1000000000000
SpotShapeBFR:	0,2	1000
SpotShapeBAR:	0	1000
SpotAvgInten:	200	32767
SpotTotalInten:	≤ 4000 (así, no limitativo)	1000000000000
TargetAvgInten:	0	32767
TargetTotalInten:	0	1000000000000

Análisis de los resultados del barrido usando el visor vHCS:

expórtense los resultados: para cada pocillo:

número de campos válidos

número de objetos en cada campo válido en cada uno de los canales 2, 3 y 4 ("detalles del campo")

números medios de objetos por campo válido para cada pocillo, en cada uno de los canales 2, 3 y 4

exclúyanse pocillos con menos de 6 campos válidos por pocillo del análisis adicional

compruébense visualmente todas las fotografías con respecto a cualquier problema evidente, tal como mal enfoque o estructura del colágeno obviamente heterogénea ("burbujas", ...), ...; en cado de problemas evidentes: documéntese, a continuación exclúyanse los pocillos correspondientes del análisis adicional

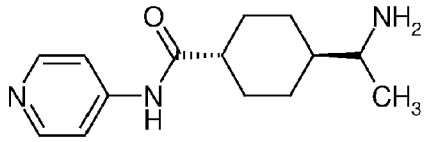
Análisis adicional de los resultados del ensayo de invasión (usando, p. ej., Excel):

para cada pocillo, calcúlese la distancia de invasión media de las células contadas: (25 µm × número de células a 25 µm + 50 µm × número de células a 50 µm) / suma de células a 0, 25 y 50 µm

para los cuatro parámetros (número de células a 0 µm, número de células a 25 µm, número de células a 50 µm, distancia de invasión media de las células contadas), calcúlense las medias, SD y CV de las réplicas (n = 6 para los controles; n = 3 para las muestras)

invalídese cualquier réplica con un CV ≥ 50% (compuesto que ha de probarse de nuevo o ensayo que ha de repetirse si CV ≥ 50% para el control negativo sin tratar o el control positivo tratado con compuesto Y-27632).

Y27632 es un inhibidor selectivo de la proteína cinasa asociada con Rho p160ROCK de la siguiente fórmula



valídese el ensayo solamente si la distancia de invasión media de las células tratadas con Y-27632 10 µM (control positivo) se reduce en ≥ 40% en comparación con el control negativo sin tratar

represéntense gráficos de los cuatro parámetros (número de células a 0 µm, número de células a 25 µm, número de células a 50 µm, distancia de invasión media de las células contadas)

RESULTADOS

Efecto antiinvasivo a 5 µM sobre células de cáncer de mama MDA-MB231 (efecto en número de veces en comparación con el compuesto de referencia Y-27632 10 µM)

Compuesto (familia) (fuera de la invención)	Invasión de células MDA MB231 a 5 mM (efecto en número de veces del control positivo)
148 (Iee)	0,54
109 (Ie)	0,41
110 (Ie)	0,64
112 (Ie)	0,26
143 (Iq)	0,8
144 (Iq)	0,73
63 (Ia)	0,69
64 (Ia)	1,16
6 (Ia)	0,63
18 (Ia)	0,52
45 (Ia)	0,50
30 (Ia)	0,33
35 (Ia)	0,26

Compuesto (familia) (fuera de la invención)	Invasión de células MDA MB231 a 5 mM (efecto en número de veces del control positivo)
36 (Ia)	0,43
37 (Ia)	0,34
48 (Ia)	0,63
53 (Ia)	0,27
51 (Ia)	1,06

Compuesto (familia) (fuera de la invención)	Invasión de células MDA MB231 a 5 mM (efecto en número de veces del control positivo)
52 (Ia)	0,27
58 (Ia)	0,33
61 (Ia)	0,34
58 (Ia)	0,33
55 (Ia)	0,27
56 (Ia)	0,26

Los compuestos según el presente texto demuestran un efecto antiinvasivo predictivo de su actividad contra el cáncer.

Por lo tanto, el resultado de las pruebas llevadas a cabo sobre los compuestos divulgados en el presente texto muestran que dichos compuestos pueden ser útiles para inhibir, prevenir y/o tratara el cáncer. El siguiente tipo de cáncer puede tratarse más particularmente mediante los compuestos según la presente invención: cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de mama, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de vesícula biliar, cáncer tiroideo, melanoma, cáncer de hígado, cáncer uterino/cervicouterino, cáncer de esófago, cáncer de riñón, cáncer ovárico, cáncer de próstata, cáncer de cabeza y cuello y cáncer de estómago, etc.

Con este fin, una cantidad eficaz de dicho compuesto se puede administrar a un paciente que sufra cáncer.

La presente invención también está relacionada con el uso de al menos un compuesto elegido de un compuesto de una cualquiera de la fórmula (Ib) según se define en la reivindicación 1 y los compuestos (8), (78), (88), (94), (96) y (99) según se definen en la reivindicación 2, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según la presente invención, para la fabricación de una composición farmacéutica destinada al tratamiento del cáncer.

Así, estas composiciones farmacéuticas contienen una cantidad eficaz de dicho compuesto y uno o más excipientes farmacéuticos.

Los susodichos excipientes se seleccionan según la forma de dosificación y el modo de administración deseado.

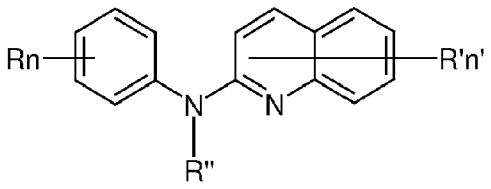
En este contexto, pueden estar presentes en cualquier forma farmacéutica que sea adecuada para la administración enteral o parenteral, en asociación con excipientes apropiados, por ejemplo en forma de comprimidos simples o revestidos, gelatina dura, cápsulas de envuelta blanda y otras cápsulas, supositorios, o un producto bebible, tal como suspensiones, jarabes, o soluciones o suspensiones inyectables, en dosis que permitan la administración diaria de 0,1 a 1000 mg de sustancia activa.

La presente invención se refiere además al uso de un compuesto de una cualquiera de la fórmula (Ib) según se define en la reivindicación 1 y los compuestos (8), (78), (88), (94), (96) y (99) según se definen en la reivindicación 2, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según la presente invención, para la fabricación de una composición farmacéutica destinada a inhibir, prevenir y/o tratar el cáncer.

La presente invención también se refiere a un método de tratamiento de pacientes que sufren cáncer, que comprende al menos una etapa de administración a un paciente que sufre el mismo de una cantidad eficaz de un compuesto de una cualquiera de la fórmula (Ib) según se define en la reivindicación 1 y (8), (78), (88), (94), (96) y (99) según se define en la reivindicación 2 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (Ib) para el uso como un agente para prevenir, inhibir o tratar el cáncer:



(Ib)

donde:

R representan independientemente un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido de un grupo alquilo (C_1-C_3), un grupo -NR_1R_2, un grupo fluoroalcoxi (C_1-C_3), un grupo -NO_2, un grupo fenoxi y un grupo alcoxi (C_1-C_4),

R_1 y R_2 son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo (C_1-C_3),

R" es un átomo de hidrógeno o un grupo (C_1-C_4) y ventajosamente es un átomo de hidrógeno,

n es 1, 2 o 3 y es preferiblemente 1 o 2,

n' es 1 o 2 y es preferiblemente 1,

R' es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo elegido de un grupo alquilo (C_1-C_3) y un grupo alcoxi (C_1-C_4),

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto para el uso según la reivindicación 1, eligiéndose dicho compuesto de:

- (8) quinolin-2-il-(4-trifluorometoxi-fenil)-amina
- (78) 4-metil-N-[4-(trifluorometoxi)fenil]quinolin-2-amina
- (88) 8-cloro-N-(3-fluorofenil)quinolin-2-amina
- (94) 8-cloro-N-[2-metil-4-(trifluorometoxi)fenil]quinolin-2-amina
- (96) 6-cloro-N-(4-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-2-amina
- (99) 8-fluoro-N-[4-(trifluorometoxi)fenil]quinolin-2-amina, y
- sus sales farmacéuticamente aceptables.

3. Un compuesto para el uso como un agente para prevenir, inhibir o tratar el cáncer según la reivindicación 1 o 2, donde la sal farmacéuticamente aceptable es hidrobromuro, tartrato, citrato, trifluoroacetato, ascorbato, hidrocloruro, triflato, maleato, mesilato, formiato, acetato o fumarato.

4. Un compuesto para el uso como un agente para prevenir, inhibir o tratar el cáncer según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el cáncer es cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer de pulmón incluyendo cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de mama, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de vesícula biliar, cáncer tiroideo, melanoma, cáncer de hígado, cáncer uterino/cervicouterino, cáncer de esófago, cáncer de riñón, cáncer ovárico, cáncer de próstata, cáncer de cabeza y cuello y/o cáncer de estómago.