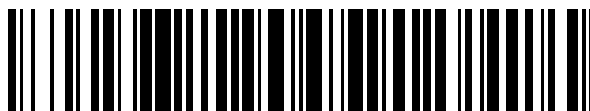


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 831**

51 Int. Cl.:
C07D 213/61 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04813958 .8**
96 Fecha de presentación: **13.12.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1701941**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.09.2006**

54 Título: **Compuestos para el tratamiento de enfermedades celulares proliferativas**

30 Prioridad:
11.12.2003 US 528877 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.08.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.08.2012

73 Titular/es:
**BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF
TEXAS SYSTEM
201 WEST 7TH STREET
AUSTIN TEXAS 78701, US**

72 Inventor/es:
**PRIEBE, Waldemar;
DONATO, Nicholas;
TALPAZ, Moshe;
SZYMANSKI, Slawomir;
FOKT, Izabela y
LEVITZKI, Alexander**

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 385 831 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos para el tratamiento de enfermedades celulares proliferativas

ANTECEDENTES DE LA INVENCION**1. Campo de la Invención**

- 5 La presente invención se refiere generalmente al tratamiento de enfermedades celulares proliferativas tales como el cáncer. Más particularmente, la misma se refiere a tirfostina y compuestos semejantes a tirfostina útiles para el tratamiento de enfermedades celulares proliferativas tales como el cáncer y métodos de síntesis de estos compuestos.

2. Descripción de la Técnica Afín

- 10 AG490 es un inhibidor de quinasas que inhibe la señalización de Jak2/Stat3. La inhibición dirigida del camino Jak/Stat con AG490 inhibe el crecimiento de las células tumorales y aumenta la sensibilidad a los estímulos apoptóticos; así, los inhibidores de este camino representan probablemente potenciales agentes terapéuticos para la terapia del cáncer (Catlett-Falcone *et al.*, 1999; Alas y Bonavida, 2003; Burdelya *et al.*, 2002). Dado que IL-6 promueve la supervivencia y proliferación de ciertas líneas de células cancerosas por la fosforilación de STAT3
- 15 (Bharti *et al.*, Verma *et al.*, Kerr *et al.*), los inhibidores de quinasas similares a AG490 tienen potencial como fármacos anti-cáncer.

AG490 está clasificado estructuralmente como una tirfostina. La Patente U.S. No. 6.596.828B2 y la Solicitud de Patente U.S. 2003/0013748 describen compuestos que tienen semejanza estructural con AG490.

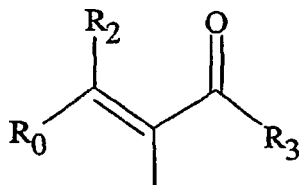
- 20 Lamentablemente, AG490 tiene actividad limitada en estudios con animales y tienen que utilizarse a concentraciones elevadas (~ 50 a 100 µM) para conseguir la inhibición de la señalización de Jak2/Stat3 y efectos antitumorales, y esta baja potencia de AG490 es insuficiente para justificar la investigación clínica de este compuesto para el tratamiento del cáncer (Burdelya *et al.*, 2002; Meydan *et al.*, 1996; Constantin *et al.*, 1998). Así pues, existe necesidad de agentes terapéuticos que exhiban efectos anti-proliferativos intensos por un mecanismo similar a concentraciones terapéuticas inferiores.

- 25 WO 9905109 describe derivados de piridilacrilamida para el tratamiento de la nefritis.

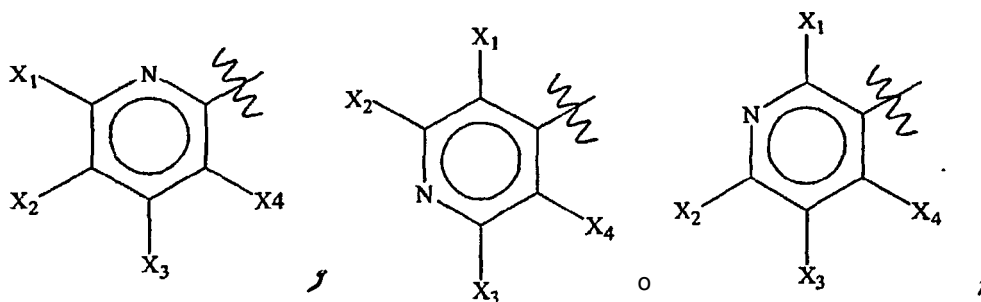
SUMARIO DE LA INVENCION

- La presente invención resuelve las limitaciones existentes en la técnica por proporcionar compuestos que exhiben perfiles farmacológicos mejorados (*v.g.*, potencia incrementada) cuando se comparan con AG490; estos compuestos bloquean la activación de Stat3 mediada por IL-6 a bajas concentraciones (~ 1 µM) y suprimen rápidamente la
- 30 expresión del proto-oncogén c-myc, que está frecuentemente sobreexpresado, reordenado, o mutado en muchas enfermedades malignas (Hallek *et al.*, 1998; Selvanayagam *et al.*, 1988; Jernberg-Wiklund *et al.*, 1992; Kuehl *et al.*, 1997). Adicionalmente, los compuestos de la presente invención inducen también apoptosis en células tumorales que sobreexpresan c-myc, que es paralela a su actividad reguladora decreciente de c-myc. La presente invención implica compuestos que tienen utilidad como fármacos antitumorales y/o quimioterapéuticos.

- 35 Un aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto que comprende la fórmula química:

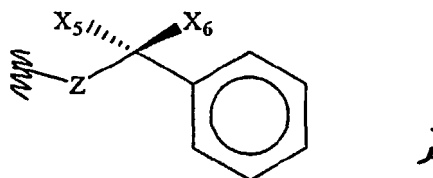


en donde R₀ se selecciona del grupo constituido por:



donde X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , se seleccionan cada uno independientemente del grupo constituido por hidrógeno, halógeno, C_{1-7} alquilo, C_{1-7} alcoxi, OH, trihalometilo, y NO_2 ;

R_2 se selecciona del grupo constituido por C_{1-7} alquilo, C_{1-7} alquenilo, C_{1-7} alquinilo, C_{1-7} alcoxi, halógeno, hidrógeno, OH, NO_2 , SH, y NH_2 ;



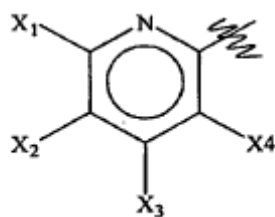
5 R_3 es

donde R_4 es CN;

donde Z es NH, y

donde X_5 y X_6 se seleccionan cada uno independientemente del grupo constituido por hidrógeno y C_{1-7} alquilo inferior.

10 En realizaciones más específicas, R_0 es:

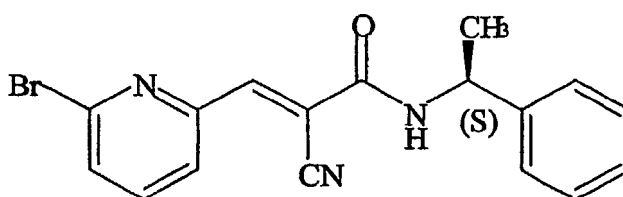


En ciertas realizaciones, X_1 es un halógeno tal como Br.

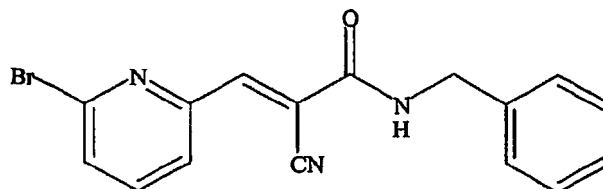
X_1 , X_2 , X_3 y X_4 pueden ser hidrógeno.

R_2 puede ser hidrógeno.

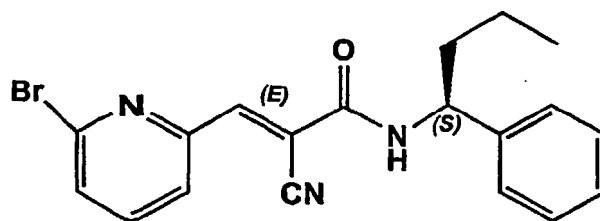
15 Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:



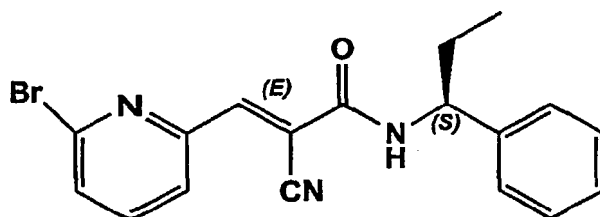
Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:



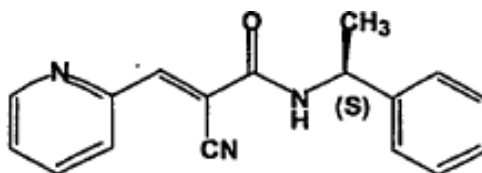
Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:



Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:

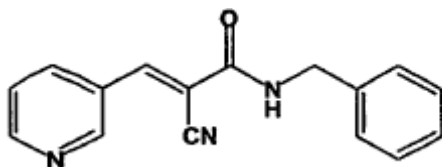


Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:



5

Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:



Otro aspecto de la invención es el uso de un compuesto de acuerdo con la invención como se define arriba para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad celular proliferativa en un individuo.

- 10 Un aspecto adicional de la invención es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la invención como se define arriba.

Un aspecto final de la invención es un compuesto de acuerdo con la invención como se define arriba o una composición farmacéutica como se define arriba, para uso en el tratamiento de un trastorno celular proliferativo.

- 15 El individuo puede ser un mamífero, y el mamífero puede ser un humano. El primer compuesto puede estar comprendido en un excipiente, diluyente, o vehículo farmacéuticamente aceptable. La enfermedad celular proliferativa puede ser cáncer. El cáncer puede ser melanoma, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico; cáncer pulmonar, hepatocarcinoma, retinoblastoma, astrocitoma, glioblastoma, leucemia, cáncer de sangre, de cerebro, de piel, oftálmico, de lengua, de encía, neuroblastoma, de cabeza, de cuello, de mama, pancreático, renal, óseo, testicular, ovárico, mesotelioma, cervical, gastrointestinal, linfoma, de colon, o de vejiga.

- 20 La enfermedad celular proliferativa puede ser artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, osteoartritis, leiomiomas, adenomas, lipomas, hemangiomas, fibromas, oclusión vascular, restenosis, arterioesclerosis, una lesión pre-neoplásica, carcinoma *in situ*, leucoplasia oral vellosa, o psoriasis.

- 25 En ciertas realizaciones, se reduce la activación de Stat3 en una célula del individuo. Puede reducirse la expresión de c-myc en una célula del individuo. El primer compuesto puede administrarse en combinación con una cantidad terapéuticamente relevante de un segundo compuesto. El segundo compuesto puede ser un compuesto anti-cáncer. El primer compuesto puede administrarse en combinación con cirugía, terapia de radiación, o terapia génica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Los dibujos que siguen forman parte de la presente memoria descriptiva y se incluyen para demostrar adicionalmente ciertos aspectos de la presente invención. La invención puede comprenderse mejor por referencia a uno o más de estos dibujos en combinación con la descripción detallada de realizaciones específicas presentadas en esta memoria.

FIG. 1: Inhibición de la formación de colonias MM por los compuestos AG490, AG1801 y AG2019. AG1801 (12 μ M) y AG2019 (12 μ M) inhibían completamente la formación de colonias MM mientras que AG490 (25 μ M) era menos eficaz a mayores concentraciones.

FIGS. 2 A-C: Inhibición del crecimiento y supervivencia de líneas de células MM. **FIG. 2A**, relaciones de respuesta a la dosis para los compuestos en células MM MM-1; las células MM se incubaron con la concentración indicada de compuesto AG o WP durante 72 horas antes de estimar el crecimiento y la supervivencia celulares por el ensayo MTT. Los compuestos AG1801, AG490 y WP1034 eran eficaces en la reducción del crecimiento y la supervivencia de las células MM1. **FIG. 2B**, relaciones de respuesta a la dosis para los compuestos en células MM OCI. Los compuestos AG1801, AG490, y WP1034 eran eficaces en la reducción del crecimiento y la supervivencia de las células OCI. **FIG. 2C**, relaciones de respuesta a la dosis para los compuestos en células MM U266. Los compuestos AG1801, AG490, y WP1034 eran eficaces para reducir el crecimiento y la supervivencia de las células U266.

FIGS. 3 A-C: Efectos de los compuestos AG y WP sobre el crecimiento/supervivencia de las células MM. Para determinar el efecto de los compuestos AG y WP sobre el crecimiento/supervivencia de las células MM, se incubaron células MM con la concentración indicada de AG o WP durante 72 horas antes de estimar el crecimiento y la supervivencia celulares por el ensayo MTT. Pueden observarse aumentos claros en la potencia de AG1801, WP1034, y WP1050 comparados con AG490. **FIG. 3A**, AG1801, WP1034, y WP1050 inhibían el crecimiento y la supervivencia de las células MM1 y demostraban potencia incrementada comparados con AG490. **FIG. 3B**, AG1801, WP1034, y WP1050 inhibían el crecimiento y la supervivencia de las células OCI y demostraban potencia incrementada comparados con AG490. **FIG. 3C**, AG1801, WP1034, y WP1050 inhibían el crecimiento y la supervivencia de las células U266 y demostraban potencia incrementada comparados con AG490.

FIG. 4: Se muestran las estructuras de WP1015 y WP1066.

FIG. 5: Efecto de WP1066 sobre líneas de células cancerosas múltiples. WP1066 era eficaz en la reducción de la proliferación celular en líneas de células múltiples, demostrando un potente efecto anti-cáncer.

FIG. 6: Se muestran las estructuras de WP1066, WP1130, y WP1129. Se muestran los valores IC50 para estos compuestos contra tumores de mieloma MM-1. Esta figura ilustra la actividad mejorada de estos compuestos.

FIG. 7: Inhibición mejorada de c-myc/Stat3 con WP1066, WP1130, y WP1129. Los compuestos se compararon en relación con su actividad inhibidora de Stat3/c-myc en células MM-1. Se observó una fuerte inhibición de c-myc/Stat3 para WP1066, WP1130, y WP1129.

FIG. 8: WP1066 reduce el tamaño de los tumores *in vivo*. Se muestran los resultados de estudios con animales de tumores del melanoma humano A375 en ratones lampiños, tratados con WP1066 después que los tumores alcanzaron un tamaño palpable. Los animales recibieron 40 mg/kg de WP1066 en días alternos (QID) con un total de 8 inyecciones. El experimento se paró el día 21 cuando el grupo de control alcanzó la carga tumoral máxima. Estos resultados indican que WP1066 reduce el volumen de los tumores *in vivo*.

FIG. 9: Se muestran las estructuras de WP1129, WP1026, y WP1127. Ejemplos de las clases de monosacáridos (*v.g.*, galactosa) y derivados de monosacáridos (*v.g.*, un monosacárido acetilado tal como galactosa acetilada, 1,2,3,4-diisopropilideno-D-galactosa) que pueden incorporarse en las estructuras de los compuestos de la presente invención se ilustran por las estructuras de WP1119, WP1026, y WP1127.

DESCRIPCIÓN DE REALIZACIONES ILUSTRATIVAS

Estudios previos han demostrado que los caminos de citoquinas que activan factores de transcripción (*v.g.*, NF- κ B, Stat3) están descontrolados o activados por lesiones genéticas o mecanismos autocrinos/paracrinos en tipos tumorales múltiples (Hallek *et al.*, 1998; Hideshima *et al.*, 2002). Estos caminos contribuyen a la tumorigenicidad y progresión del cáncer. En la presente invención, se sintetizaron varios compuestos, y el cribado *in vitro* reveló que estos compuestos pueden bloquear completamente la activación de Stat3 mediada por IL-6 a bajas concentraciones (\sim 1 μ M). Además, estos compuestos suprimían rápidamente la expresión del proto-oncogén c-myc, que está frecuentemente sobreexpresado, reordenado o mutado en muchas enfermedades malignas (Hallek *et al.*, 1998; Selvanayagam *et al.*, 1988; Jernberg-Wiklund *et al.*, 1992; Kuehl *et al.*, 1997). Las relaciones de estructura y actividad se describen en la presente invención para tirfostina y compuestos semejantes a tirfostina. En comparación con AG490, estos compuestos son 20 a 50 veces más activos en la inhibición de la señalización de Jak2/Stat3 en células tratadas con IL-6 y poseen una actividad reguladora decreciente rápida de c-myc. Estos compuestos pueden inducir también apoptosis de las células tumorales que sobreexpresan c-myc a concentraciones que son paralelas a su actividad reguladora decreciente de c-myc. La presente invención describe compuestos que desactivan genes y

camino de señalización importantes para la supervivencia y progresión de las células tumorales, y estos compuestos pueden utilizarse solos o en combinación con otros agentes para el tratamiento del cáncer.

I. DEFINICIONES QUÍMICAS

5 Siguiendo el convenio de la ley de patentes de larga duración, los términos "un" y "uno" cuando se utilizan en la memoria descriptiva incluyendo las reivindicaciones, denotan uno o más.

10 Un grupo "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado alifático saturado, con inclusión de grupos alquilo de cadena lineal, de cadena ramificada, y cíclicos. Preferiblemente, el grupo alquilo tiene 1 a 12 carbonos. Más preferiblemente, es un alquilo inferior de 1 a 7 carbonos, más preferiblemente de 1 a 4 carbonos. El grupo alquilo puede estar sustituido o insustituido. Cuando está sustituido, el o los grupos sustituidos son preferiblemente hidroxilo, ciano, alcoxi, =O, =S, NO₂, N(CH₃)₂, amino, o SH.

15 Un grupo "alquenilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado insaturado que contiene al menos un enlace doble carbono-carbono, con inclusión de grupos de cadena lineal, de cadena ramificada, y cíclicos. Preferiblemente, el grupo alquenilo tiene 1 a 12 carbonos. Más preferiblemente es un alquenilo inferior de 1 a 7 carbonos, y más preferiblemente de 1 a 4 carbonos. El grupo alquenilo puede estar sustituido o insustituido. Cuando está sustituido, el o los grupos sustituidos son preferiblemente hidroxilo, ciano, alcoxi, =O, =S, NO₂, N(CH₃)₂, halógeno, amino, o SH.

20 Un grupo "alquinilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado insaturado que contiene al menos un enlace triple carbono-carbono, con inclusión de grupos de cadena lineal, de cadena ramificada, y cíclicos. Preferiblemente, el grupo alquinilo tiene 1 a 12 carbonos. Más preferiblemente es un alquinilo inferior de 1 a 7 carbonos, y más preferiblemente de 1 a 4 carbonos. El grupo alquinilo puede estar sustituido o insustituido. Cuando está sustituido, el o los grupos sustituidos son preferiblemente hidroxilo, ciano, alcoxi, =O, =S, NO₂, N(CH₃)₂, amino, o SH.

Un grupo "alcoxi" se refiere a un grupo "-O-alquilo", donde "alquilo" se ha definido arriba.

25 Un grupo "arilo" se refiere a un grupo aromático que tiene al menos un anillo que tiene un sistema de electrones pi conjugados, e incluye grupos arilo carbocíclico, arilo heterocíclico, y biarilo, todos los cuales pueden estar sustituidos opcionalmente. Preferiblemente, el arilo es un fenilo o piridilo sustituido o insustituido. El o los sustituyentes de arilo preferidos son grupos halógeno, trihalometilo, hidroxilo, 5H, OH, NO₂, amina, tioéter, ciano, alcoxi, alquilo, y amino.

Un grupo "alquilarilo" se refiere a un grupo alquilo (como se ha descrito arriba), unido covalentemente a un grupo arilo (como se ha descrito arriba). Preferiblemente, el alquilo es un alquilo inferior.

30 Grupos "arilo carbocíclico" son grupos en los cuales los átomos de anillo en el anillo aromático son todos ellos átomos de carbono. Los átomos de carbono están sustituidos opcionalmente con grupos preferidos como se describe arriba para grupos arilo.

35 Grupos "arilo heterocíclico" son grupos que tienen de 1 a 3 heteroátomos como átomos de anillo en el anillo aromático, y el resto de los átomos del anillo son átomos de carbono. Heteroátomos adecuados incluyen oxígeno, azufre, y nitrógeno, e incluyen furanilo, tienilo, piridilo, pirrolilo, N-alquilo inferior-pirrolo, pirimidilo, pirazinilo, imidazolilo, y análogos, todos ellos opcionalmente sustituidos.

Una "amida" se refiere a un grupo -C(O)-NH-R, donde R es alquilo, arilo, alquilarilo, o hidrógeno.

Una "tioamida" se refiere a un grupo -C(S)-NH-R, donde R es alquilo, arilo, alquilarilo, o hidrógeno.

Un "éster" se refiere a un grupo -C(O)-OR', donde R' es alquilo, arilo, o alquilarilo.

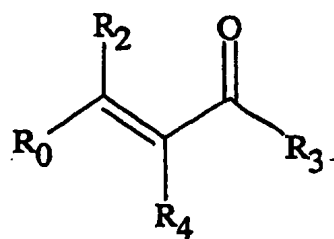
40 Una "amina" se refiere a un grupo -N(R'')R''', donde R'' y R''' es cada uno de ellos independientemente hidrógeno, alquilo, arilo, o alquilarilo, con la condición de que R'' y R''' no son ambos hidrógeno.

Un "tioéter" se refiere a un grupo -S-R, donde R es alquilo, arilo, o alquilarilo.

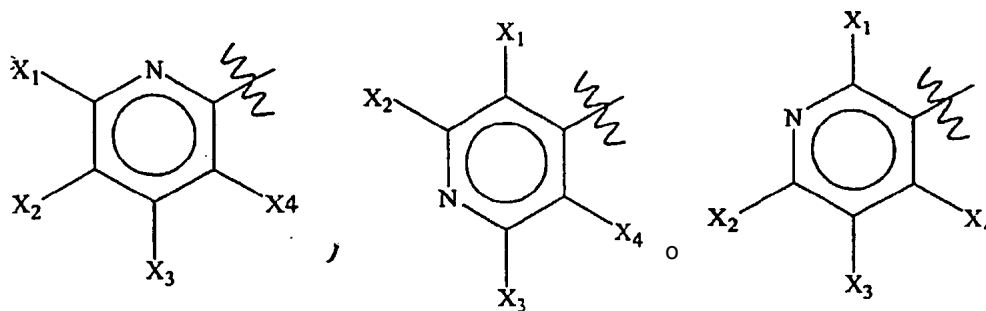
Un "sulfonilo" se refiere a un grupo -S(O)₂-R, donde R es arilo, C(CN)=C-arilo, CH₂-CN, alquilarilo, NH-alquilo, NH-alquilarilo, o NH-arilo.

II. TIRFOSTINA Y COMPUESTOS SEMEJANTES A TIRFOSTINA

45 La presente invención proporciona tirfostina y compuestos semejantes a tirfostina para el tratamiento de enfermedades celulares proliferativas tales como el cáncer. Los compuestos de la presente invención incluyen compuestos que comprenden la fórmula química:

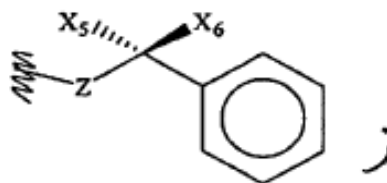


en donde R₀ se selecciona del grupo constituido por:



5 donde X₁, X₂, X₃ y X₄ se seleccionan cada uno independientemente del grupo constituido por hidrógeno, halógeno, C₁₋₇ alquilo, C₁₋₇ alcoxi, OH, trihalometilo, y NO₂;

R₂ se selecciona del grupo constituido por C₁₋₇ alquilo, C₁₋₇ alquenilo, C₁₋₇ alquinilo, C₁₋₇ alcoxi, halógeno, hidrógeno, OH, NO₂, SH, y NH₂;



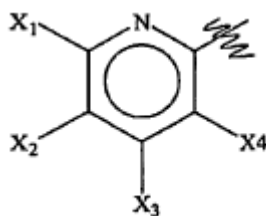
R₃ es

donde R₄ es CN;

10 donde Z es NH, y

donde X₅ y X₆ se seleccionan cada uno independientemente del grupo constituido por hidrógeno y C₁₋₇ alquilo inferior.

En realizaciones más específicas, R₀ es:

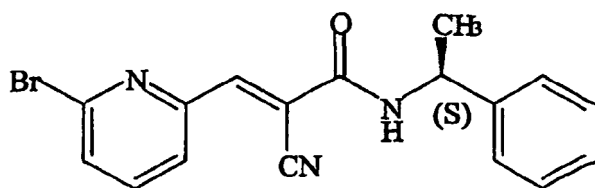


15 En ciertas realizaciones, X₁ es un halógeno tal como Br.

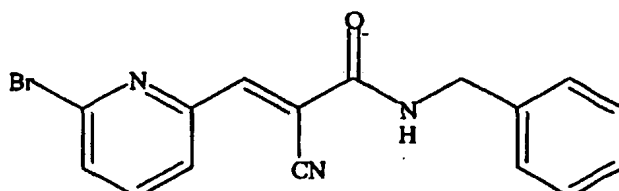
X₁, X₂, X₃ y X₄ pueden ser hidrógeno.

R₂ puede ser hidrógeno.

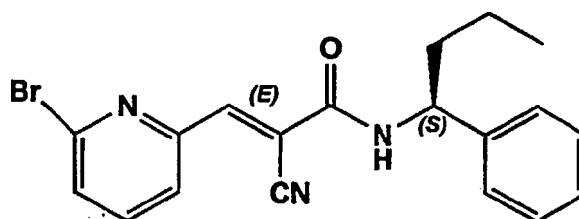
Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:



Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:

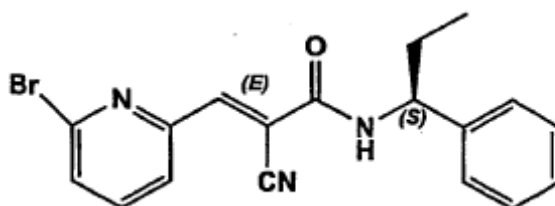


Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:

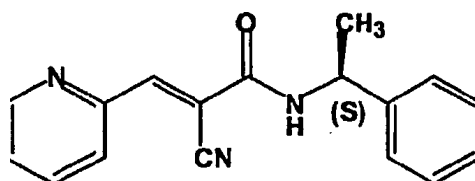


5

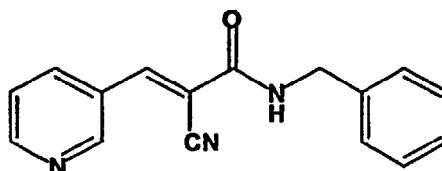
Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:



Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:



10 Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a un compuesto que tiene la fórmula:



III. ENFERMEDADES CELULARES PROLIFERATIVAS

15 La expresión "enfermedades celulares proliferativas" se refiere a trastornos que son resultado del crecimiento anormalmente incrementado y/o descontrolado de una o más células en un organismo multicelular, lo que da como resultado daño (v.g., malestar o esperanza de vida disminuida) del organismo multicelular. Enfermedades celulares proliferativas pueden ocurrir en animales o humanos. El cáncer es un ejemplo de una enfermedad celular proliferativa, y ciertas realizaciones de la presente invención están dirigidas hacia el tratamiento del cáncer.

En ciertas realizaciones, los compuestos y métodos de la presente invención pueden utilizarse para tratar una gran diversidad de estados cancerosos que incluyen, por ejemplo, melanoma, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico, cáncer pulmonar, hepatocarcinoma, retinoblastoma, astrocitoma, glioblastoma, leucemia, cáncer de sangre, de cerebro, de piel, oftálmico, de lengua, de encías, neuroblastoma, de cabeza, de cuello, de mama, pancreático, renal, óseo, testicular, ovárico, mesotelioma, cáncer cervical, gastrointestinal, linfoma, de colon, y/o de vejiga. El cáncer puede comprender un tumor constituido por células cancerosas. Estos estados cancerosos pueden incluir células que son cancerosas, pre-cancerosas, y/o malignas.

Se anticipa también que los compuestos de la presente invención pueden utilizarse asimismo para tratar enfermedades celulares proliferativas distintas del cáncer. Otras enfermedades celulares proliferativas que pueden tratarse en ciertas realizaciones de la presente invención incluyen, por ejemplo, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, osteoartritis, leiomiomas, adenomas, lipomas, hemangiomas, fibromas, oclusión vascular, restenosis, arterioesclerosis, lesiones pre-neoplásicas (v.g., hiperplasia adenomatosa, neoplasia prostática intraepitelial), carcinoma *in situ*, leucoplasia oral vellosa, y/o psoriasis.

Adicionalmente, los compuestos de la presente invención pueden utilizarse para tratar enfermedades distintas de enfermedades hiperproliferativas. Por ejemplo, ciertas tirfostinas pueden ser útiles para el tratamiento de la hipertrofia y la isquemia (Patente U.S. 6.433.018) así como infección de hepatitis B (Patente U.S. 6.420.338). Así, los compuestos de la presente invención pueden ser útiles también para el tratamiento de otras enfermedades que incluyen hipertrofia, isquemia, y una infección viral (v.g., infección de hepatitis B).

IV. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

Los compuestos antitumorales de esta invención pueden administrarse para destruir ciertas células implicadas en una enfermedad celular proliferativa, tales como células tumorales, por cualquier método que permita el contacto del ingrediente activo con el sitio de acción del o de los agentes en el tumor. Los mismos pueden administrarse por cualesquiera métodos convencionales disponibles para uso en conjunción con compuestos farmacéuticos, sea como ingredientes terapéuticamente activos individuales o en una combinación de ingredientes terapéuticamente activos. Los mismos pueden administrarse solos, pero generalmente se administran con un portador farmacéuticamente aceptable seleccionado sobre la base de la ruta de administración elegida y la práctica farmacéutica estándar.

Las composiciones acuosas de la presente invención contendrán una cantidad eficaz de los compuestos para destruir o ralentizar el crecimiento de las células cancerosas, tales composiciones se disolverán o dispersarán generalmente en un portador o medio acuoso farmacéuticamente aceptable.

Los términos "compuestos AG" y "compuestos WP" se refieren a ejemplos específicos de la presente invención. Por ejemplo, el compuesto WP1015 es un ejemplo de un compuesto WP, y AG1801 es un ejemplo de un compuesto AG.

Las frases "farmacéutica o farmacológicamente aceptable" se refieren a entidades y composiciones moleculares que no producen una reacción adversa, alérgica o desfavorable de cualquier otro tipo cuando se administran a un animal, o humano, según sea apropiado. Como se utiliza en esta memoria, "portador farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y la totalidad de disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción, y análogos. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en el caso de que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con los ingredientes activos, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. Pueden incorporarse también en las composiciones ingredientes activos suplementarios, tales como otros agentes anti-cáncer.

Además de los compuestos formulados para administración parenteral, tal como inyección intravenosa o intramuscular, otras formas farmacéuticamente aceptables incluyen, v.g., tabletas u otros sólidos para administración oral; cápsulas de liberación controlada; y cualquier otra forma utilizada corrientemente, con inclusión de cremas, lociones, elixires bucales, inhaladores, portadores lipídicos, liposomas y análogos.

45 A. Administración Parenteral

Los compuestos activos se formularán a menudo para administración parenteral, v.g., formulados para inyección por las rutas intravenosa, intramuscular, subcutánea, o incluso intraperitoneal. La preparación de una composición acuosa que contiene una antraciclina de la presente invención como ingrediente activo será conocida por quienes poseen una experiencia en la técnica teniendo a la vista la presente descripción. Típicamente, tales composiciones pueden prepararse como inyectables, sea como soluciones o suspensiones líquidas; pueden prepararse también formas sólidas adecuadas para utilización a fin de preparar soluciones o suspensiones por adición de un líquido antes de la inyección, y las preparaciones pueden estar también emulsionadas.

Las soluciones de los compuestos activos como base libre o sales farmacológicamente aceptables pueden prepararse en agua mezclada convenientemente con un agente tensioactivo, tal como hidroxipropilcelulosa. Pueden prepararse también dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos, y mixturas de los mismos, y en aceites. En condiciones ordinarias de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

- En algunas formas, será deseable formular los compuestos en forma de sal, por regla general para mejorar la solubilidad y biodisponibilidad y para proporcionar una forma activa del fármaco más fácilmente asimilable. Como se utiliza en esta memoria, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a compuestos que se forman por acidificación de una solución de antraciclina sustituida con ácidos fisiológicamente tolerados adecuados. Ácidos fisiológicamente tolerados adecuados son ácidos orgánicos e inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido salicílico, ácido maleico, ácido metano-sulfónico, ácido isotiónico, ácido láctico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido amidosulfúrico, ácido benzoico, ácido tartárico y ácido pámico. Típicamente, tales formas de sal del compuesto activo se proporcionarán o mezclarán antes de su utilización.
- 10 Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles; formulaciones que incluyen aceite de sésamo, aceite de cacahuate o propileno-glicol acuoso; y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma tiene que ser estéril y deberá ser fluida en tal grado que exista una susceptibilidad fácil de aplicación con jeringuilla. La misma debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento, y tiene que estar preservada contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos.
- 15 Los compuestos activos pueden formularse en una composición en forma neutra o salina. Sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición de ácido y que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, los ácidos clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como los ácidos acético, oxálico, tartárico, mandélico, y análogos.
- 20 Los compuestos de la presente invención pueden formularse también en una composición que comprende liposomas o cualquier otro portador lipídico. Los liposomas incluyen: liposomas multivesiculares, liposomas multilaminares, y liposomas unilaminares.
- El vehículo puede ser también un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, un poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, y polietilenglicol líquido, y análogos), mixturas adecuadas de los mismos, y aceites vegetales. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, por el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de una dispersión, y por el uso de agentes tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede realizarse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal, y análogos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse por el uso en las composiciones de agentes retardantes de la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.
- 25 30
- Se preparan soluciones inyectables estériles por incorporación de los compuestos activos en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con varios de los otros ingredientes enumerados arriba, en caso requerido, seguida por esterilización mediante filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan por incorporación de los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los arriba enumerados. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones estériles inyectables, los métodos preferidos de preparación son técnicas de secado a vacío y liofilización, que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución del mismo filtrada previamente en condiciones estériles.
- 35
- 40 En ciertos casos, las formulaciones terapéuticas de la invención podrían prepararse también en formas adecuadas para administración tópica, tales como cremas y lociones. Estas formas pueden utilizarse para tratamiento de enfermedades asociadas con la piel, tales como diversos sarcomas.
- Después de la formulación, las soluciones se administrarán de una manera compatible con la formulación de dosificación y en tal cantidad que sea terapéuticamente eficaz. Las formulaciones se administrarán fácilmente en una diversidad de formas de dosificación, tales como el tipo de soluciones inyectables arriba descrito, pudiendo emplearse incluso cápsulas de liberación de fármaco y medios análogos.
- 45
- Para administración parenteral en una solución acuosa, por ejemplo, la solución debería tamponarse convenientemente en caso necesario y el diluyente líquido hacerse primeramente isotónico con cantidad suficiente de solución salina o glucosa. Estas soluciones acuosas particulares son especialmente adecuadas para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. En relación con esto, medios acuosos estériles que pueden emplearse serán conocidos por los expertos en la técnica a la luz de la presente descripción. Por ejemplo, una dosis podría disolverse en 1 ml de solución isotónica de NaCl y añadirse ulteriormente a 1000 ml de fluido de hipodermoclasia o inyectarse en el sitio de infusión propuesto (véase, por ejemplo, "Remington's Pharmaceutical Sciences", Edición 15ª, páginas 1035-1038 y 1570-1580). Se producirá necesariamente cierta variación en la dosis dependiendo de la condición del individuo que se esté tratando. La persona responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la dosis apropiada para el sujeto individual.
- 50 55

B. Administración Oral

En ciertas realizaciones, los compuestos activos pueden administrarse por vía oral. Esto se contempla para agentes que son generalmente resistentes, o se han vuelto resistentes, a la proteólisis por las enzimas digestivas. Se contempla que tales compuestos incluyen todos aquellos compuestos, o fármacos que están disponibles del fabricante en forma de tableta, y derivados y análogos de los mismos.

Para administración oral, los compuestos activos pueden administrarse, por ejemplo, con un diluyente inerte o con un portador comestible asimilable, o pueden encerrarse en cápsulas de gelatina con envoltura dura o blanda, o comprimirse en tabletas, o incorporarse directamente con el alimento de la dieta. Para administración terapéutica oral, los compuestos activos pueden incorporarse con excipientes y utilizarse en la forma de tabletas ingeribles, tabletas bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, sellos, y análogos. Tales composiciones y preparaciones deben contener al menos 0,1% de compuesto activo. El porcentaje de las composiciones y preparaciones puede variar, por supuesto, y puede estar comprendido de modo conveniente entre aproximadamente 2 y aproximadamente 60% del peso de la unidad. La cantidad de compuestos activos en dichas composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtendrá una dosis adecuada.

Las tabletas, trociscos, píldoras, cápsulas y análogas pueden contener también lo siguiente: un aglomerante, como goma tragacanto, goma arábica, almidón de maíz, o gelatina; excipientes, tales como fosfato dicálcico; un agente desintegrante, tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico y análogos; un lubricante, tal como estearato de magnesio; y puede añadirse un agente edulcorante, tal como sacarosa, lactosa o sacarina o un agente saborizante, tal como menta común, aceite de gaulteria, o saborizante de cereza. Cuando la forma de dosis unitaria es una cápsula, la misma puede contener, además de materiales del tipo anterior, un portador líquido. Pueden estar presentes diversos otros materiales como recubrimientos o para modificar de otro modo la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, las tabletas, píldoras, o cápsulas pueden estar recubiertas con goma laca, azúcar o ambos. Un jarabe o elixir puede contener los compuestos activos sacarosa como agente edulcorante, metil- y propilparabenos como conservantes, un colorante y saborizante, tal como sabor de cereza o de naranja. Por supuesto, cualquier material utilizado en la preparación de cualquier forma de dosificación unitaria debe ser farmacéuticamente puro y esencialmente no tóxico en las cantidades empleadas. Adicionalmente, los compuestos activos pueden incorporarse en preparaciones y formulaciones de liberación prolongada.

Después de la formulación, los compuestos se administrarán de una manera compatible con la formulación de dosificación y en una cantidad tal que sea terapéuticamente eficaz. Las formulaciones se administran fácilmente en una diversidad de formas de dosificación, tales como las descritas más adelante en ejemplos específicos.

IV. Terapia

Uno de los riesgos principales en la oncología actual es el tratamiento eficaz de un tumor dado. Los tumores son a menudo resistentes a las terapias tradicionales. Por ello, están dedicándose grandes esfuerzos en la búsqueda de un tratamiento eficaz del cáncer. Una manera de conseguir esto es por combinación de fármacos nuevos con las terapias tradicionales. En el contexto de la presente invención, se contempla que las terapias que utilizan los compuestos podrían utilizarse en combinación con cirugía, quimioterapia, radioterapia, y/o terapia génica.

"Cantidades eficaces" o una "cantidad terapéuticamente relevante" son aquellas cantidades de un compuesto suficientes para producir un beneficio terapéutico (v.g., eficaces para inhibir, disminuir, reducir, inhibir o anular de algún otro modo reproduciblemente el crecimiento de una célula de cáncer). Una cantidad eficaz, en el contexto del tratamiento de un individuo, es suficiente para producir un beneficio terapéutico. El término "beneficio terapéutico", como se utiliza en esta memoria, hace referencia a cualquier cosa que favorezca o mejore el bienestar del individuo con respecto al tratamiento médico de la enfermedad celular proliferativa del individuo. Una lista de ejemplos no exhaustivos de esto incluye prolongación de la vida de los pacientes durante cualquier periodo de tiempo; disminución o retardo en el progreso neoplásico de la enfermedad; reducción de la hiperproliferación; reducción del crecimiento del tumor, retardo de las metástasis; reducción de la tasa de proliferación de una célula cancerosa, célula tumoral, o cualquier otra célula hiperproliferativa; inducción de la apoptosis en cualquier célula tratada o en cualquier célula afectada por una célula tratada; y/o disminución del dolor del individuo que pueda atribuirse al estado del paciente.

Los ejemplos que siguen se incluyen para demostrar realizaciones preferidas de la invención. Debe ser apreciado por los expertos en la técnica que los métodos descritos en los ejemplos que siguen representan métodos descubiertos por el autor de la invención que funcionan satisfactoriamente en la práctica de la invención, y por consiguiente puede considerarse que constituyen modos preferidos para la práctica de la misma.

Ejemplo 1**Método General para la Síntesis de los Compuestos**

Se prepararon N-(fenilalquil)cinamidas por el procedimiento general siguiente. Se agitaron bencilamina (3,0 g, 28 mmoles) y cianoacetato de etilo (4,7 g, 42 mmol) en acetonitrilo (20 ml), y se mantuvieron a reflujo durante 4 horas. En este procedimiento general, la bencilamina puede reemplazarse por cualesquiera otros sustituyentes

- presentados como R₃ anteriormente. El disolvente se eliminó a vacío para dar un aceite que solidificó al dejarlo en reposo. La precipitación (EtOAc) dio como resultado 3,28 g (68%) de un polvo blanquecino correspondiente a N-bencilcianoacetamida como compuesto intermedio. Una mezcla de N-bencilcianometilamida (1,3, 7,5 mmol), 3,4-dihidroxibenzaldehído (1,1 g, 8,2 mmol), y piperidina (catalítica, 5 gotas) se agitó a reflujo durante 3 horas. La cromatografía flash (EtOAc) seguida por dos recristalizaciones (H₂O/EtOH) proporcionó el producto como un polvo blanco, 0,8 g (36%).

Ejemplo 2

Síntesis de los Compuestos

- Utilizando el protocolo detallado en el Ejemplo 1, se sintetizaron los compuestos siguientes, y se presentan a continuación los datos concernientes a la síntesis de estos compuestos.

Se sintetizó AG1801. ¹H-NMR (C_DC₁₃, 500 MHz, δ): ,8,49 (s, 1H, H-3), 7,39 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H-3',5'), 8,12 (d, 2H, J = 7,5 Hz, H-2',6'), 7,43 - 7,39 (5H, H aromático de bencilo), 6,75 (bs, 1H, NH), 4,68 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂). Análisis elemental calculado para C₁₇H₁₃N₃O₃. Teórico, C; 66,44, H; 4,26, N; 13,67. Encontrado: C; 65,70, H; 4,27, N; 13,45. P.f.165- 166°C.

Se sintetizó WP1002. ¹H-NMR (C_DC₁₃, 500 MHz, δ): 8,23 (s, 1H, H-3), 7,83 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H-2',6'), 7,39 - 7,28 (5H, H aromático de bencilo), 6,69 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H-3',5'), 6,58 (bs, 1H, NH), 4,62 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂), 4,30 (bs, 2H, NH₂).

Se sintetizó WP1003. ¹H-NMR (C_DC₁₃, 500 MHz, δ): 8,30 (s, 1H, H-3), 7,92 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H-2',6'), 7,71 (s, 1H, NH), 7,66 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H-3',5'), 7,42 - 7,28 (5H, H aromático de bencilo), 6,70 (bs, 1H, NH), 4,62 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂), 2,22 (s, 3H, CH₃).

Se sintetizó WP1004. ¹H-NMR (C_DC₁₃, 500 MHz, δ): 8,30 (s, 1H, H-3), 7,94 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H-2',6'), 7,68 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H-3',5'), 7,51 (s, 1H, NH), 7,43 - 7,39 (5H, aromático de bencilo), 6,67 (t, 1H, J = 5,3 Hz, NH), 4,62 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂), 2,41 (t, 2H, J = 7,4 Hz, CH₂), 1,73 (m, 2H, CH₂), 1,42 (m, 2H, CH₂), 0,96(t, 3H, J = 7,4 Hz, CH₃).

Se sintetizó WP1005. ¹H-NMR (C_DC₁₃, 500 MHz, δ): 8,31 (s, 1H, H-3), 7,94 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H-2',6'), 7,68 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H-3',5'), 7,41 (s, 1H, NH), 7,40 - 7,28 (5H, H aromático de bencilo), 6,66 (t, 1H, J = 5,7 Hz, NH), 5,35 (m, 2H, CH=CH), 4,62 (d, 1H, J = 5,7 Hz, CH₂), 2,40 (t, 2H, J = 7,4 Hz, CH₂), 1,73 (m, 4H, CH₂), 1,75 (m, 2H, CH₂), 1,31 (m, 22H, CH₂), 0,89 (t, 3H, J = 7,0 Hz, CH₃).

Se sintetizó WP1009. ¹H-NMR (C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 11,88 (bs, 1H, H-1'), 8,64 (t, 1H, J = 5,8 Hz, NH), 8,07 (s, 1H, H-3), 7,36-7,22 (m, 7H, H - 3', 5' y H aromático de bencilo), 6,41 (bs, 1H, H-4'), 4,39 (d, 2H, J = 6,0 Hz, CH₂). P.f. 216-217°C.

Se sintetizó WP1010. ¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz, δ): 10,42 (bs, 1H, NHSO₂Me), 8,94 (bs, 1H, NH), 8,15 (s, 1H, H-3), 7,98 (d, 2H, J = 8,5 Hz, H - 2',6'), 7,43 - 7,39 (7H, H 3',5' y H aromático de bencilo), 4,43 (d, 1H, J = 5,4 Hz, CH₂), 3,15 (s, 3H, Me).

Se sintetizó WP1006 ¹H-NMR (C_DC₁₃, 500 MHz, δ): 8,35 (s, 1H, H-3), 7,98 (ddd, 2H, J = 8,6 Hz, J = 5,4 Hz, J = 5,1 Hz, H-2',6'), 7,40 - 7,31 (5H, H aromático de bencilo), 7,20 (dd, 2H, J = 8,5 Hz, J = 11,5 Hz, H-3',5'), 6,71 (bs, 1H, NH), 4,62 (d, 2H, J = 5,8 Hz, CH₂). Análisis elemental calculado para C₁₇H₁₃FN₂O. Teórico, C; 72,85, H; 4,67, F; 6,78, N; 9,99. Encontrado: C; 72,86, H; 4,65, F; 6,68, N; 9,80. P.f. 150-151°C.

Se sintetizó WP1007. ¹H-NMR(C_DC₁₃, 500 MHz, δ): 8,33 (s, 1H, H-3), 8,00 (d, 2H, J 8,6 Hz, H-3',5'), 7,40 - 7,27 (5H, H aromático de bencilo), 7,14 (dd, 2H, J = 7,0 Hz, J = 1,9 Hz, H - 2',6'), 6,66 (bs, 1H, NH), 4,63 (d, 1H, J = 5,8 Hz, CH₂). P.f.147-149°C.

Se sintetizó WP1011: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 300 MHz, δ): 8,31 (s, 1H, H-3), 7,98 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H - 3',5'), 7,63 (d, 2H, J = 8,5 Hz, H-2',6'),7,40 - 7,26 (5H, H aromático de bencilo), 6,67 (bs, 1H, NH), 4,61 (d, 2H, J = 5,8 Hz, CH₂). P.f. 177-178°C.

Se sintetizó WP1012: ¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, δ): 11,58 (bs, 1H, H-1'), 8,86 (t, 1H, J= 5,7 Hz, NH), 8,28 (s, 1H,H-3), 8,25 (bs, 1H, H-4'), 7,83 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, J = 1,7 Hz, H-8'), 7,57 (d, 1H, J = 8,7 Hz, H-7'), 7,50 (dd, 1H, J = 2,8 Hz, H-2'), 7,35-7,21 (m, 5H, H aromático de bencilo), 6,60 (bs, 1H, H-3'), 4,44 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂). P.f. 199-200°C.

Se sintetizó WP1013: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 10,93 (s, 1H, OH), 8,66 (d, 1H, J = 2,3 Hz, H-6), 8,31 (s, 1H, H-7), 8,26 (dd, 1H, J = 8,9 Hz, J = 2,2 Hz, H-2), 7,40 - 7,29 (6H, H- 3 y H aromático de bencilo), 6,66 (bs, 1H, NH), 4,61 (d, 1H, J 5,7 Hz, CH₂). P.f. 158-159°C.

Se sintetizó WP1014: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 10,56 (s, 1H, OH), 8,33 (s, 1H, H-3), 8,23 (d, 1H, J = 8,8 Hz, H-3'), 7,63 (d, 2H, J = 2,0 Hz, H-6'), 7,51 (dd, 1H, J = 8,8 Hz, J = 2,0 Hz, H-2'), 7,40 - 7,31 (5H, H aromático de bencilo), 6,71 (bs, 1H, NH), 4,62 (d, 2H, J = 6,0 Hz, CH₂). Análisis elemental calculado para C₁₇H₁₃N₃O₄. Teórico, C; 63,16, H;

ES 2 385 831 T3

4,05, N; 13,00. Encontrado: C; 62,88, H; 4,15, N; 12,80. P.f.171-172°C.

Se sintetizó WP1015: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 400 MHz, δ): 8,26 (s, 1H, H-3), 7,67 (dd, 1H, J = 7,6 Hz, H-5'), 7,60 (dd, 1H, J = 7,4 Hz, J = 1 Hz, H - 4'), 7,58 (dd, 1H, J = 7,7 Hz, J = 1 Hz, H-6'), 7,40 - 7,26 (m, 5H, H, H aromático de bencilo), 6,91 (bs, 1H, NH), 4,62 (d, 2H, J = 5,8 Hz, CH_2). P.f. 182-183°C.

5 Se sintetizó WP1016: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 400 MHz, δ): 8,50 (s, 1H, H-3), 8,43 (dd, 1H, J = 6,8 Hz, J = 2,2 Hz, H-6'), 7,81 (ddd, 1H, J = 8,7 Hz, J = 5,2 Hz, J = 2,0 Hz, H-3'), 7,40 - 7,31 (m, 5H, H aromático de bencilo), 6,96 (dd, 1H, J = 9,7 Hz, J = 8,7 Hz, H-4'), 6,68 (bs, 1H, NH), 4,62 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH_2). Análisis elemental calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}$. Teórico, C; 50,27, H; 2,98, F; 4,68, N; 31,24, N; 6,90. Encontrado: C; 50,68, H; 3,22, N; 6,73, F; 4,46, N; 30,33. P.f. 138- 139°C.

10 Se sintetizó WP1017: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 400 MHz, δ): 8,50 (s, 1H, H-3), 8,43 (dd, 1H, J = 6,8 Hz, J = 2,2 Hz, H-6'), 7,81 (ddd, 1H, J = 8,7 Hz, J = 5,2 Hz, J = 2,0 Hz, H-3'), 7,40 - 7,31 (m, 5H, H aromático de bencilo), 6,96 (dd, 1H, J = 9,7 Hz, J = 8,7 Hz, H-4'), 6,68 (bs, 1H, NH), 4,62 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH_2). P.f. 183-184°C.

15 Se sintetizó WP1018: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 400 MHz, δ): 8,38 (s, 1H, H-3), 8,06 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H-2',6'), 7,93 (s, 1H, H-2''), 7,53 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H-3',5'), 7,40 - 7,30 (6H, H-5'' y H aromático de bencilo), 7,25 (d, 1H, J = 4,1 Hz, H-4''), 6,77 (d, 1H, J = 6,2 Hz, NH), 4,62 (d, 2H, J = 5,8 Hz, CH_2). P.f. 187-188°C.

Se sintetizó WP1019: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 400 MHz, δ): 9,04 (t, 1H, J = 6,0 Hz, NH), 8,29 (bs, 2H, OH), 8,22 (s, 1H, H-3), 7,94 (d, 2H, J = 8,5 Hz, H-2', 6'), 7,90 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H - 3', 4'), 7,37 - 7,24 (m, 5H, H aromático de bencilo), 4,43 (d, 2H, J = 5,8 Hz, CH_2).

20 Se sintetizó WP1020: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 300 MHz, δ): 12,87 (bs, 1H, NH), 12,45 (bs, 1H, NH), 7,82 (s, 1H, H-3), 7,49 (s, 1H, H-3'), 7,26 - 7,11 (m, 6H, H-5' y H aromático de bencilo), 4,37 (d, 2H, J = 5,5 Hz, CH_2). P.f. 230-231°C.

25 Se sintetizó WP1021: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz, δ): 12,42 (bs, 1H, H-1'), 8,83 (dd, 1H, J = 5,7 Hz, NH), 8,49, 8,47 (2s, 1H ea, H - 2',3), 8,01 (d, 1H, J = 2,0 Hz, H-4'), 7,56 (d, 1H, J = 8,5 Hz, H-7'), 7,33 - 7,32 (5H, H aromático de bencilo), 7,26 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, J = 2,1 Hz, H-6'), 4,44 (d, 2H, J = 6,0 Hz, CH_2). Análisis elemental calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}$. Teórico, C; 67,96, H; 4,20, Cl; 10,56, N; 12,51. Encontrado: C; 68,15, H; 4,34, Cl; 10,78, N; 12,31. P.f. 229- 230°C.

Se sintetizó WP1022: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 300 MHz, δ): 12,46 (bs, 1H, H'), 8,87 (dd, 1H, J = 5,9 Hz, NH), 8,50 (s, 1H, H-3), 8,49 (d, 1H, J = 2,6 Hz, H-2'), 8,17 (d, 1H, J = 1,7 Hz, H-4'), 7,53 (d, 1H, J = 8,6 Hz, H-7'), 7,40 (dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2 Hz, H-6'), 7,36 - 7,23 (5H, H aromático de bencilo), 4,43 (d, 2H, J = 5,9 Hz, CH_2). P.f. 224-225°C.

30 Se sintetizó WP1026: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 300 MHz, δ): 8,30 (s, 1H, H-3), 8,01 (s, 1H, H-6'), 7,89 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H-4'), 7,66 (d, 1H, J = 8,1 Hz, H-2'), 7,40 - 7,30 (m, 6H, H-3' y H aromático de bencilo), 6,68 (bs, 1H, NH), 4,61 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH_2). P.f. 150- 151°C.

35 Se sintetizó WP1027: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 300 MHz, δ): 8,81 (bs, 1H, OH), 8,74 (t, 1H, J = 5,8 Hz, NH), 7,32-7,09 (m, 5H, H aromático de bencilo), 6,66 (d, 1H, J = 2,3 Hz, H-2'), 6,64 (d, 1H, J = 8,3 Hz, H-5'), 6,50 (dd, 1H, J = 8,1 Hz, J = 2,1 Hz, H-6'), 4,32 (dd, 1H, J = 15,2 Hz, J = 6,3 Hz, CH_2), 4,22 (dd, 1H, J = 15,2 Hz, J = 5,5 Hz, CH_2), 3,87 (dd, 1H, J = 7,1 Hz, CH), 2,98 (dd, 1H, J = 13,4 Hz, J = 7,3 Hz, 3- CH_2), 2,90 (dd, 1H, J = 13,4 Hz, J = 8,2 Hz, 3' CH_2). P.f. 131- 132°C.

Se sintetizó WP1034: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz, δ): 8,41 (s, 1H, H-3), 8,33 (d, 2H, J = 8,8 Hz, H - 3', 5'), 8,05 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H - 2',6'), 7,41-7,26 (m, 5H, H-aromático de bencilo), 6,60 (d, 1H, J = 7,6 Hz, NH), 5,28-5,21 (m, 1H, CH), 1,62 (d, 3H, J = 6,9 Hz, CH_3). P.f.172-173°C.

40 Se sintetizó WP1035: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 300 MHz, δ): 11,07 (s, 1H, OH), 8,90 (t, 1H, J = 5,8 Hz, NH), 8,10 (s, 1H, H-3), 7,85 (dd, 1H, J = 12,5 Hz, J = 2,1 Hz, H - 6'), 7,69 (dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,0 Hz, H - 5'), 7,37-7,22 (m, 5H, H-aromático de bencilo), 7,12 (d, 1H, J = 8,8 Hz, H-2'), 4,41 (d, 2H, J = 5,9 Hz, CH_2). P.f. 211-212°C.

45 Se sintetizó WP1036: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz, δ): 10,71 (bs, 1H, OH), 8,86 (t, 1H, J = 6,2 Hz, NH), 8,05 (s, 1H, H-3); 7,96 (d, 1H, J = 1,9 Hz, H - 2'), 7,66 (d, 1H, J = 2,0 Hz, H - 6'), 7,34-7,21 (m, 5H, H aromático de bencilo), 4,40 (d, 2H, J = 5,8 Hz, CH_2), 3,85 (s, 3H, OMe). P.f. 206-207°C.

Se sintetizó WP1037: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 500 MHz, δ): 7,37-7,21 (m, 5H, H aromático de bencilo), 7,11 (d, 1H, J = 11,4 Hz, H - 3) 6,40 (bs, 1H, NH), 4,56 (d, 1H, J = 5,8 Hz, CH_2), 2,10-2,03 (m, 1H, H-1'), 1,30 (ddd, 2H, J = 12,8 Hz, J = 7,6 Hz, J = 5,0 Hz, CH_2), 0,98 (ddd, 2H, J = 8,9 Hz, J = 7,3 Hz, J = 4,6 Hz, CH_2). P.f. 106-107°C.

50 Se sintetizó WP1038: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 400 MHz, δ): 10,54 (s, 1H, OH), 8,27 (s, 1H, H-3), 8,21 (d, 1H, J = 8,8 Hz, H-5'), 7,60 (d, 1H, J = 2,2 Hz, H-2'), 7,50 (dd, 1H, J = 8,9 Hz, J = 2,0 Hz, H-6'), 7,40 - 7,20 (5H, H aromático de bencilo), 6,60 (d, 1H, J = 6,5 Hz, NH), 5,28- 5,21 (m, 1H, CH), 1,60 (d, 1H, J = 6,9 Hz, CH_3). P.f. 178-179°C.

Se sintetizó WP1040: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz, δ): 10,07, 9,54 (2s, 1H ea, OH), 8,62 (d, 1H, J = 7,8 Hz, NH), 7,92 (s, 1H, H-3), 7,52 (d, 1H, J = 2,0 Hz, H-2'), 7,37 - 7,20 (5H, H aromático de bencilo), 7,26 (dd, 1H, J = 8,3 Hz, J = 2,1 Hz, H-6').

= 2,1 Hz, H - 6'), 6,86 (d, 1H, J = 8,3 Hz, H-5'), 5,06-4,99 (m, 1H, CH), 1,45 (d, 1H, J = 7 Hz, CH₃). P.f. 141-142°C.

Se sintetizó WP1041: ¹H-NMR(C_DC₁₃, 500 MHz, δ): 8,20 (s, 1H, H-3), 7,98 (d, 2H, J = 9 Hz, H - 2', 6'), 7,37-7,28 (m, 5H, H-aromático de bencilo), 6,69 (d, 2H, J = 9 Hz, H - 3', 5'), 6,54 (bs, 1H, NH), 4,59 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂), 3,09 (s, 6H, CH₃N). P.f. 185-186°C.

- 5 Se sintetizó WP1042: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 8,27 (s, 1H, H-3), 7,69 (d, 1H, J = 2,1 Hz, H - 6'), 7,44 - 7,26 (12H, H-2', 5' y H aromático de bencilos), 6,95 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H - 3'), 6,6 (t, 1H, J = 5,7 Hz, NH), 5,24 (s, 2H, H-7'), 4,61 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂), 3,94 (s, 3H, OMe). P.f. 132-133°C.

- 10 Se sintetizó WP1043: ¹H-NMR(C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 8,72 (d, 1H, J = 1,7 Hz, H - 4'), 8,55 (s, 1H, H-3), 8,15 (m, 2H, H-5, H - 2'), 7,54 (ddd, 1H, J = 8,2 Hz, J = 1,3 Hz, H 6'), 7,46 (m, 2H, H - 8'), 7,38 - 7,29 (m, 6H, H - 7' y H aromático de bencilo), 6,66 (t, 1H, J = 5,0 Hz, NH), 4,65 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂), 4,40 (q, 2H, J = 7,3 Hz, H - 10'), 1,47 (t, 3H, H - 11'). P.f. 182-183°C.

Se sintetizó WP1044: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 8,25 (s, 1H, H-3), 8,00 (s, 1H, H - 2'), 7,54 (d, 1H, J = 2 Hz, H - 5'), 7,39 - 7,29 (5H, H aromático de bencilo), 7,18 (d, 1H, J = 2 Hz, H - 4'), 6,56 (bs, 1H, NH), 4,59 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂). P.f. 188-189°C.

- 15 Se sintetizó WP1049: ¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz, δ): 8,75 (t, 1H, J = 5,8 Hz, NH), 8,26 (dd, 2H, J = 8,8 Hz, J = 1,9 Hz, H - 3', 5'), 7,84 (dd, 2H, J = 8,7 Hz, J = 2,4 Hz, H - 2', 6'), 7,59 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H - 3), 7,38-7,24 (m, 5H, H aromático de bencilo), 6,89 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H - 2), 4,43 (d, 2H, J = 5,9 Hz, CH₂). P.f. 193-194°C.

- 20 Se sintetizó WP1050: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 8,38 (s, 1H, H-3), 8,33 (d, 2H, J = 8,9 Hz, H - 3', 5'), 8,04 (d, 2H, J = 8,9 Hz, H - 2', 6'), 7,41 - 7,29 (5H, H aromático de bencilo), 6,60 (d, 1H, J = 8,2 Hz, NH), 5,28-5,21 (m, 1H, CH), 1,62 (d, 3H, J = 7,0 Hz, CH₃). P.f. 173-174°C.

Se sintetizó WP1051: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 10,56 (bs, 1H, OH), 8,28 (s, 1H, H-3), 8,21 (d, 1H, J = 8,8 Hz, H-5'), 7,61 (d, 1H, J = 1,8 Hz, H - 2'), 7,50 (dd, 1H, J = 8,8 Hz, J = 1,8 Hz, H - 6'), 7,41 - 7,30 (5H, H aromático de bencilo), 6,62 (d, 1H, J = 8,0 Hz, NH), 5,27-5,21 (m, 1H, CH), 1,61 (d, 3H, J = 6,9 Hz, CH₃). P.f. 176-177°C.

- 25 Se sintetizó WP1052: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 10,93 (s, 1H, OH), 8,64 (d, 1H, J = 2,3 Hz, H - 2'), 8,25 (s, 1H, H-3), 8,24 (dd, 1H, J = 8,9 Hz, J = 2,3 Hz, H - 6'), 7,40 - 7,28 (6H, H - 5' y H aromático de bencilo), 6,54 (d, 1H, J = 6,4 Hz, NH), 5,28-5,21 (m, 1H, CH), 1,61 (d, 3H, J = 6,9 Hz, CH₃). P.f. 182-183°C.

Se sintetizó WP1053: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 8,34 (s, 1H, H-3), 8,57 (dd, 1H, J = 2,1 Hz, H - 6'), 7,50 (d, 1H, J = 7,8 Hz, H - 2'), 7,40 - 7,30 (10H, H aromático de bencilos), 7,16 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, J = 2,4 Hz, H - 3'), 6,67 (bs, 1H, NH), 5,12 (s, 2H, H - 7'), 4,62 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂). P.f. 190-191°C.

- 30 Se sintetizó WP1054: ¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz, δ): 11,4 (s, 1H, OH), 8,89 (t, 1H, J = 5,8 Hz, NH), 8,09 (s, 1H, H-3), 8,05 (d, 1H, J = 2,2 Hz, H - 2'), 7,83 (dd, 1H, J = 8,7 Hz, J = 2,2 Hz, H - 6'), 7,40 - 7,22 (5H, H aromático de bencilo), 7,12 (d, 1H, J = 8,6 Hz, H - 5'), 4,41 (d, 1H, J = 5,9 Hz, CH₂). P.f. 213-214°C.

- 35 Se sintetizó WP1055: ¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, δ): 9,06 (t, 1H, J = 5,8 Hz, NH), 8,77 (d, 1H, J = 4,6 Hz, H - 3'), 8,18 (s, 1H, H - 3), 7,99 (ddd, 1H, J = 7,8 Hz, J = 2,2 Hz, H - 5'), 7,85 (d, 1H, J = 7,7 Hz, H - 6'), 7,55 (dd, J = 7,5 Hz, J = 4,9 Hz, H - 4'), 7,38 - 7,23 (5H, H aromático de bencilo), 4,44 (d, 1H, J = 5,9 Hz, CH₂). P.f. 184-185°C.

Se sintetizó WP1060: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 300 MHz, δ): 8,13 (dd, 2H, J = 8,7 Hz, J = 2,4 Hz, H - 3', 5'), 7,42 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H-2', 2', 6'), 7,37-7,17 (m, 5H, H aromático de bencilo), 6,78 (bs, 1H, NH), 4,69 (dd, 1H, J = 7,1 Hz, J = 4,5 Hz, H - 2), 4,49 (dd, 1H, J = 14,2 Hz, J = 6,1 Hz, CH₂), 4,39 (dd, 1H, J = 14,7 Hz, J = 5,7 Hz, CH₂), 3,55 (dd, 1H, J = 14,2 Hz, J = 4,5 Hz, H-3), 3,46 (dd, 1H, J = 14,2 Hz, J = 7,1 Hz, H-3). P.f. 129-130°C.

- 40 Se sintetizaron WP1063 y WP1064: ¹H-NMR(DMSO-d₆, 300 MHz, δ): 8,23 (t, 1H, J = 6,1 Hz, NH), 8,16 (d, 2H, J = 8,8 Hz, H - 3', 5'), 7,64 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H - 2', 6'), 7,29 - 7,18 (m, 5H, H aromático de bencilo), 5,68 (d, 1H, J = 6,2 Hz, OH), 5,49 (d, 1H, J = 6,9 Hz, OH), 5,07 (dd, 1H, J = 6,1 Hz, J = 2,9 Hz, CH), 4,31 (d, 2H, J = 3,9 Hz, CH₂), 4,09 (dd, 1H, J = 7,0 Hz, J = 2,9 Hz, CH). P.f. 160-161°C.

- 45 Se sintetizó WP1065: ¹H-NMR(C_DC₁₃, 300 MHz, δ): 8,81 (d, 1H, J = 4,3 Hz, H - 3'), 8,30 (s, 1H, H - 3), 7,80 (ddd, 1H, J = 7,7 Hz, J = 0,8 Hz, H - 5'), 7,61 (d, 1H, J = 7,7 Hz, H - 6'), 7,42-7,28 (m, 6H, H - 4' y H aromático de bencilo), 6,79 (d, 1H, J = 6,8 Hz, NH), 5,30 - 5,21 (m, 1H, CH), 1,61 (d, 3H, J = 6,9 Hz, CH₃). P.f. 153-154°C.

Se sintetizó WP1066: ¹H-NMR (C_DC₁₃, 300 MHz, δ): 8,20 (s, 1H, H-3), 7,66 (dd, 1H, J = 7,6 Hz, H - 5'), 7,59-7,56 (m, 2H, H - 4', 6'), 7,37 - 7,26 (m, 5H, H aromático de bencilo), 6,80 (d, 1H, J = 7,0 Hz, NH), 5,29-5,20 (m, 1H, CH), 1,61 (d, 3H, J = 6,9 Hz, CH₃). P.f. 143-144°C.

- 50 Se sintetizó WP1067: ¹H-NMR(C_DC₁₃, 400 MHz, δ): 8,80 (s, 1H, H-3), 8,27 (dd, 1H, J = 7,8 Hz, J = 0,6 Hz, H - 3'), 7,80 - 7,76 (m, 2H, H - 5', 6'), 7,72 - 7,67 (m, 1H, H - 4'), 7,41 - 7,26 (m, 5H, H aromático de bencilo), 6,69 (bs, 1H, NH), 4,62 (d, 1H, J = 5,7 Hz, CH₂).

Se sintetizó WP1069: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 300 MHz, δ): 9,09 (d, 1H, J = 2,2 Hz, H - 3'), 3'), 8,80 (s, 1H, H - 3), 8,62 (dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,3 Hz, H - 5'), 7,97 (d, 1H, J = 8,5 Hz, H - 6'), 7,42-7,31 (m, 6H, H aromático de bencilo), 6,69 (bs, 1H, NH), 4,63 (d, 2H, CH_2).

5 Se sintetizó WP1076: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 400 MHz, δ): 8,59 (s, 1H, H - 3), 8,01 (d, 1H, J = 9,0 Hz, H - 6'), 7,39 - 7,31 (m, 5H, H aromático de bencilo), 4,77 (d, 1H, J = 2,7 Hz, H - 3'), 6,89 (dd, 1H, J = 8,9 Hz, J = 2,7 Hz, H - 5'), 6,58 (bs, 1H, NH), 4,60 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH_2), 3,13 (s, 6H, 2 CH_3).

Se sintetizó WP1074: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 400 MHz, δ): 8,71 (dd, 1H, J = 1,9 Hz, H - 2'), 8,44 (s, 1H, H - 3), 8,38 (ddd, 1H, J = 8,2 Hz, J = 2,1 Hz, J = 0,8 Hz, H - 4'), 8,27 (d, 1H, J = 7,8 Hz, H - 6'), 7,72 (dd, J = 8,0 Hz, H - 5'), 7,40 - 7,30 (m, 5H, H aromático de bencilo), 6,71 (bs, 1H, NH), 4,63 (d, 1H, J = 5,8 Hz, CH_2).

10 Se sintetizó WP1073: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz, δ): 11,44 (bs, 1H, OH), 9,07 (dd, 1H, J = 5,9 Hz, NH), 8,59 (s, 1H, H - 3), 8,22 (d, 1H, J = 9,0 Hz, H - 3'), 7,38 - 7,25 (m, 5H, H aromático de bencilo), 7,12 (d, 1H, J = 2,6 Hz, H - 6'), 7,08 (dd, J = 9,1 Hz, J = 2,6 Hz, H - 4'), 4,44 (d, 2H, J = 5,9 Hz, CH_2).

15 Se sintetizó WP1077: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 400 MHz, δ): 8,35 (d, 1H, J = 2 Hz, H - 2'), 8,34 (s, 1H, H - 3), 8,09 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, J = 2,4 Hz, H - 6'), 7,70 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H - 5'), 7,40 - 7,26 (m, 5 H, H aromático de bencilo), 6,68 (bs, 1H, NH), 4,62 (d, 2H, J = 5,6 Hz, CH_2).

Se sintetizó WP1075: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz, δ): 9,08 (dd, 1H, J = 6,1 Hz, NH), 8,98 (d, 1H, J = 2,3 Hz, H - 2'), 4,96 (dd, 1H, J = 4,8 Hz, J = 1,6 Hz, H - 4'), 8,37 (ddd, 1H, J = 8,2 Hz, J = 2,0 Hz, H - 6'), 8,26 (s, 1H, H - 3), 7,60 (dd, 1H, J = 8,2 Hz, J = 4,8 Hz, H - 5'), 7,35 - 7,23 (m, 5H, H aromático de bencilo), 4,43 (d, 2H, J = 6,0 Hz, CH_2).

20 Se sintetizó WP1119: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 300 MHz, δ): 8,20 (s, 1H, H-3), 7,70-7,62 (m, 2H, H-4', H-6'), 7,59-7,56 (m, 1H, H-5'), 7,14 (m, 1H, NH), 5,54 (d, 1H, H-1", J=4,97 Hz), 4,63 (dd, 1H, H-3", J=2,23, J=7,94 Hz), 4,32 (dd, 1H, H-2", J=2,23, J=4,97 Hz), 4,29-4,26 (m 1H, H-4"), 4,03-4,00 (m, 1H, H-5"), 3,93-3,85 (m, 1H, H-6"), 3,54-3,45 (m, 1H, H-6"), 1,51 (s, 3H CH_3 "), 1,49 (s, 3H, CH_3 "), 1,36 (s, 3H CH_3 "), 1,32 (s, 3H, CH_3 ").

25 Se sintetizó WP1126: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO , 300 MHz, δ): 8,42 (m, 1H, NH), 8,10 (s, 1H, H-3), 7,97-7,88 (m, 2H, H-4', H-6'), 7,82-7,79 (m, 1H, H-5'), 5,75-6,50 (bs, 1H, OH), 4,94 (d, 1H, H-1", J=2,66 Hz), 4,49-3,77 (m, 3H, OH), 4,02-3,98 (m, 1H), 3,67 (m, 1H), 3,60-3,50 (m 2H), 3,40-3,36 (m, 2H, H-6").

Se sintetizó WP1127: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_\text{D}\text{Cl}_3$, 300 MHz, δ): 8,21 (s, 1H, H-3), 7,72-7,59 (m, 3H, H-4', H-6'), 6,95-6,91 (m, 1H, NH), 6,41 (m, 1H, H-1"), 5,48 (m, 1H), 5,37 (m, 2H), 4,34-4,29 (m, 1H, H-5"), 3,66-3,47 (m, 2H, H-6"), 2,24 (s, 3H, CH_3), 2,17 (s, 3H, CH_3), 2,04 (s, 3H, CH_3), 2,03 (s, 3H, CH_3).

Ejemplo 3

30 **Los Compuestos Exhiben Efectos Anti-Cáncer Potentes**

35 IL-6 estimula la fosforilación de Stat3 en células de mieloma múltiple (MM) y linfoma no-Hodgkin (NHL). En la Figura 1, se trataron células MM (MM-1, 8226, 8226/S, U266) o NHL (DBr, DB, DS, LP, LR, Mino, MS, FN, Jeko, JM) con IL-6 (10 ng/ml) durante 10 min antes de preparar los lisados de células y evaluarse respecto a fosforilación de la tirosina de Stat3 por inmunotransferencia (anti-pY705-Stat3 de Cell Signaling). IL-6 estimulaba la fosforilación de Stat3 en todas las líneas de células MM y en 5 de 10 líneas de células NHL (específicamente, en las células DB, DS, LP, FN, y JM). Debe indicarse que las células U266 expresaban Stat3 activado constitutivamente, que era estimulado ulteriormente por la adición exógena de IL-6.

40 Para examinar el efecto de los compuestos AG y WP de nueva síntesis sobre la activación de Stat mediada por citoquinas, se pretrataron células de mieloma múltiple (MM-1) con AG490 o AG1801 a concentraciones de 2,5, 12, y 25 μM (durante 2 horas) antes de estimular las células con IL-6 o IFN- α durante 10 min. Se examinaron la expresión y activación de Stat3 y Stat1 por inmunotransferencia. AG1801 (a 12 y 25 μM) era eficaz en la supresión de la señalización de IL-6 sin afectar a la señalización de IFN- α . AG2019 tenía actividad similar a 12 y 25 μM . AG490 era inactivo en estas condiciones.

45 Para determinar si AG1801 afecta a la activación de las caspasas en las células MM, se trataron células OCI-My5 como se ha descrito arriba antes de examinar los lisados de células respecto a activación de las caspasas y escisión de PARP. A 12,5 y 25 μM , AG1801 activaba las caspasas tanto aguas arriba como aguas abajo (*es decir*, la caspasa 3 y la caspasa 8), y AG1801 aumentaba la escisión de PARP. A 12,5 y 25 μM , AG490 era ineficaz en activación de las caspasas y escisión de PARP en estas células.

50 Para determinar si estos compuestos afectan fundamentalmente al crecimiento de colonias MM, se purificaron parcialmente aspirados de médula ósea de pacientes de MM por separación con perlas magnéticas y se analizaron respecto al reordenamiento del gen de la cadena pesada de inmunoglobulina por PCR. Las células se dejaron crecer como colonias en metil-celulosa en presencia o ausencia de compuesto AG como se indica durante 7 a 10 días. Se examinaron colonias de control respecto al reordenamiento del gen de la cadena pesada de Ig para confirmar la

naturaleza clonal de la población. Como se muestra en FIG. 1, Ag1801 y AG2019 inhibían por completo la formación de colonias MM, mientras que AG490 era menos eficaz a mayores concentraciones.

5 Para determinar el efecto de los compuestos tanto sobre la activación de Stat3 como respecto a la expresión de la proteína c-myc, se incubaron células MM-1, OCI-My5 y U266 con 25 μM de AG1801, AG490, WP1038, WP1039, WP1051, o WP1052 durante 2 horas antes de estimular las células con 2 ng/ml de IL-6 durante 10 min. Se prepararon lisados de células y se sometieron a inmunotransferencia para p-Stat3, Stat3, c-myc y actina (como control). Tanto la activación de Stat3 como la expresión de c-myc se veían afectadas por los compuestos WP y AG. IL-6 estimulaba la activación de Stat3, pero no afectaba significativamente a la expresión de c-myc.

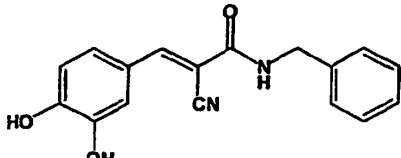
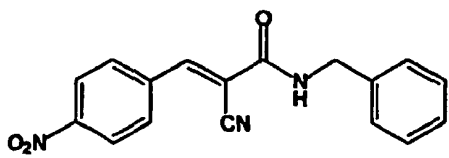
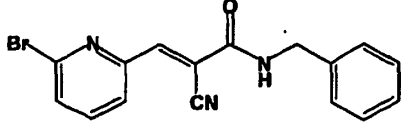
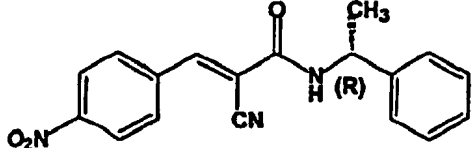
10 Para determinar el efecto de los compuestos AG y WP sobre el crecimiento/supervivencia de las células MM, se incubaron células MM con la concentración indicada de AG o WP durante 72 horas antes de estimar el crecimiento y la supervivencia de las células por el ensayo MTT. Como se muestra en FIGS. 2A-C, los compuestos activos en la regulación decreciente de c-myc y el bloqueo de la activación de Stat3 mediada por IL-6 eran eficaces en la reducción del crecimiento y la supervivencia de las líneas de células MM.

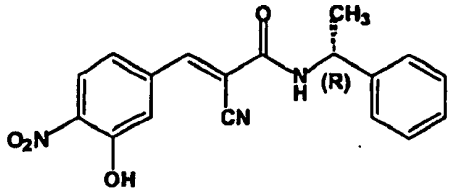
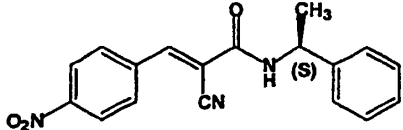
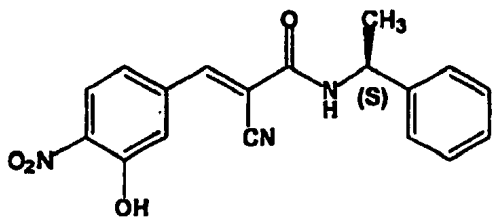
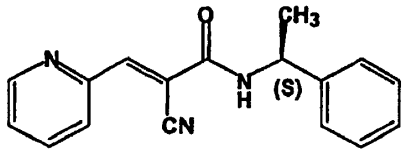
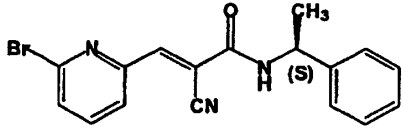
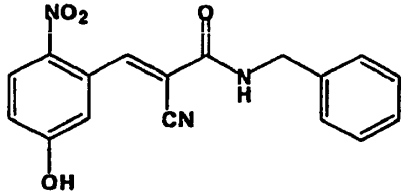
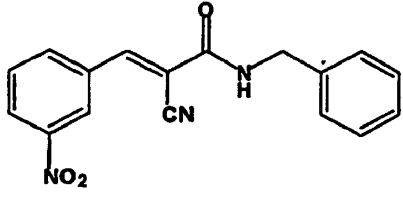
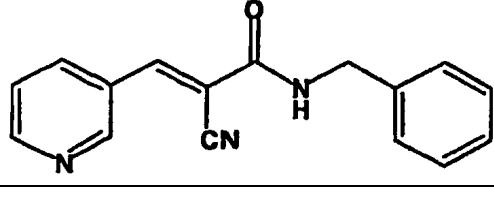
15 Para determinar los efectos temporales y el mecanismo de acción de la acción de AG490 y la acción de AG1801 sobre la expresión de c-myc en las células MM, se incubaron células MM-1 con 0, 25, ó 50 μM de AG490 o AG1801 y se cosecharon al cabo de 30, 60, ó 120 min. Los lisados se sometieron a inmunotransferencia respecto a c-myc o actina como control de carga de proteína. AG1801 reducía rápidamente la expresión de c-myc en las células MM-1 a 25 y 50 μM para todas las duraciones de incubación medidas. En contraste, AG490 era completamente incapaz de afectar a la expresión de c-myc a las concentraciones y duraciones de incubación testadas. Se utilizó PCR semicuantitativa para medir los cambios en el mRNA de c-myc extraído de las células tratadas durante 30 min con AG1801 a 25 μM . Se utilizó como control PCR de GAPDH. AG1801 tenía efectos mínimos sobre la expresión de mRNA de c-myc cuando se evaluó por esta técnica.

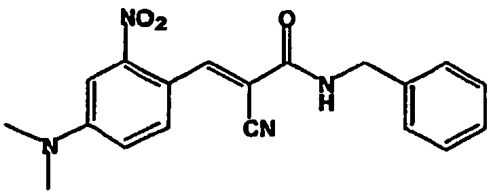
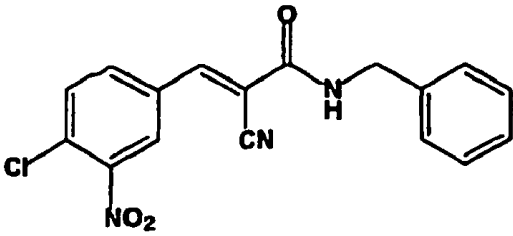
25 Para determinar el efecto de los compuestos AG y WP sobre el crecimiento/supervivencia de las células MM, se incubaron células MM con la concentración indicada de AG o WP durante 72 horas antes de estimar el crecimiento y la supervivencia de las células por el ensayo MTT. Los resultados de este estudio se muestran en FIGS. 3A-C.

Una tabla actualizada que resume datos adicionales para otros compuestos de la presente invención se incluye a continuación en la Tabla 1. La SAR para la regulación decreciente de c-myc y la inhibición de Stat3, así como los valores IC₅₀ para cada compuesto se muestran a continuación en la

TABLA 1 Lista de Tirfostinas Inhibidoras de Quinasas - Evaluación Biológica

V. ESTRUCTURA		IC ₅₀ (μM) OCI	IC ₅₀ (μM) MM1	IC ₅₀ (μM) U266	C-Myc	Ⓢ-Stat 3
	AG 490	>12.5	>12.5	>12.5	↓	>25 μM ↓
	AG 1801	12.0	7.5	9.0	↓	↓
	WP 1015	ND	1.9	ND	↓	ND
	WP 1034	6.3	3.5	4.5	↓	ND

V. ESTRUCTURA		IC50 (μ M) OCI	IC50 (μ M) MM1	IC50 (μ M) U266	C-Myc	Ⓢ-Stat 3
	WP 1038	>12.5	6.2	11.8	↓	↓
	WP 1050	>12.5	2.1	5.0	↓	ND
	WP 1051	>12.5	5.5	11.1	↓	↓
	WP 1065	ND	3.0	ND	ND	ND
	WP 1066	ND	1.3	ND	↓	ND
	WP 1073	ND	>2.5	ND	ND	ND
	WP 1074	ND	>2.5	ND	ND	ND
	WP 1075	ND	>2.5	ND	ND	ND

V. ESTRUCTURA		IC50 (μ M) OCI	IC50 (μ M) MM1	IC50 (μ M) U266	C-Myc	Stat 3
	WP 1076	ND	>2.5	ND	ND	ND
	WP 1077	ND	2.5	ND	ND	ND
SÍMBOLOS: (más de) = > (menos de) = < (no realizado) = ND (inhibición) = ↓ (sin efecto) = --						

Se sintetizaron dos nuevos compuestos (WP1015 y WP1066) basados en estudios SAR previos, como se muestra en la FIG. 4. Estos compuestos se evaluaron en cuanto a sus propiedades inhibitoras de señales y anti-proliferativas/apoptóticas en líneas de células de mieloma múltiple, linfoma y leucemia mielógena crónica. Se testaron WP1015, WP1034, AG1801 y AG490 en una gama de concentraciones (6, 12, y 25 μ M) en cuanto a su capacidad para inhibir la expresión de c-myc utilizando inmunotransferencias. WP1015 era más activo que los compuestos WP sintetizados anteriormente en la inhibición de la expresión de la proteína c-myc. AG490 tenía poco o ningún efecto sobre la expresión de c-myc a concentraciones hasta 50 μ M. Análogamente, WP1015 era más efectivo en la inhibición de la fosforilación de Stat3 en células MM-1 que los compuestos anteriores.

Se sintetizó luego WP1066; la modificación adicional en WP1066 (comparado con WP1015) dio como resultado actividad mejorada. Como se demostró utilizando inmunotransferencias, WP1066 era más activo en la supresión de la expresión de la proteína c-myc que WP1015. Estas inmunotransferencias se testaron en una gama de concentraciones (1,56-25 μ M para los compuestos WP) y se utilizó β -actina como control. Las células se trataron también durante 0-30 min con el potente inhibidor de la traducción cicloheximida (CHX) para determinar si WP1066 media efectos similares sobre la expresión de la proteína c-myc. CHX a concentraciones mucho mayores no dio como resultado la reducción rápida de c-myc que se observa en las células tratadas con WP1066, sugiriendo posibles efectos sobre la traducción y/o la degradación de c-myc por WP1066.

Se examinaron tipos adicionales de células en relación con la respuesta al tratamiento con WP1066. Como se demostró utilizando inmunotransferencias, WP1066 causaba una regulación decreciente rápida de la proteína c-myc en las células del linfoma LP no-Hodgkin así como en las células MM, demostrando que la actividad reguladora decreciente de c-myc no está restringida exclusivamente a las células de mieloma múltiple. Se testaron periodos múltiples de incubación para WP1066 (5, 15, 30, y 60 min); se observó una fuerte reducción en c-myc en el periodo de incubación más corto (5 min).

Se condujeron estudios adicionales para determinar los efectos dependientes de la dosis y el tiempo de estos nuevos compuestos sobre la activación de Stat3 mediada por IL-6, la expresión de la proteína c-myc y los efectos antiproliferativos de LP y otros tipos de células. Como se demostró utilizando inmunotransferencias con una gama (3-25 μ M) de compuestos WP, tanto WP1066 como WP1015 bloqueaban la activación de Stat3 mediada por IL-6 y reducían la expresión de c-myc en las células LP. WP1066 tenía una actividad ligeramente mejor que WP1015, lo que demostraba una mejora coincidente de la acción del compuesto sobre tipos de células múltiples.

Las acciones anti-proliferativas/apoptóticas de WP1066 se examinaron también en líneas de células que se sabe sobreexpresan c-myc. Como se muestra en FIG.5, el tratamiento con WP1066 inducía efectos anti-tumorales dependientes de la dosis en líneas de células de mieloma múltiple (MM-1), linfoma de las células del manto (Mino) y

CML (WDT-2, WDT-3, K562, K562-R), incluyendo las resistentes al inhibidor de las quinasas Imatinib-mesilato (K562-R). Así pues, WP1066 ejerce claramente una inhibición potente de la proliferación y/o supervivencia de las células en líneas de células cancerosas múltiples, y WP1066 será útil como agente terapéutico.

Ejemplo 4

5 **Los Compuestos Exhiben Efectos Anticáncer Potentes In Vivo**

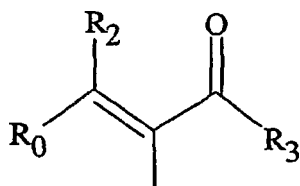
10 Se sintetizaron los compuestos WP1129 y WP1130 por el método descrito en el Ejemplo 1. Las estructuras de WP1129 y WP1130 se muestran en FIG.6. Los valores IC50 para estos compuestos contra tumores de mieloma MM-1 se muestran también en FIG. 6, y estos compuestos exhiben valores IC50 mejores incluso que el compuesto WP1066. La potencia incrementada de WP1129 y WP1130 respalda el uso de estos compuestos para tratar enfermedades celulares proliferativas tales como el cáncer.

Se observó una inhibición mejorada de c-myc/Stat3 por WP1066, WP1130, y WP1129 (FIG. 7). Los compuestos se compararon con respecto a su actividad inhibidora de Stat3/c-myc en células MM-1. Se observó una fuerte inhibición de c-myc/Stat3 para WP1066, WP1130 y WP1129.

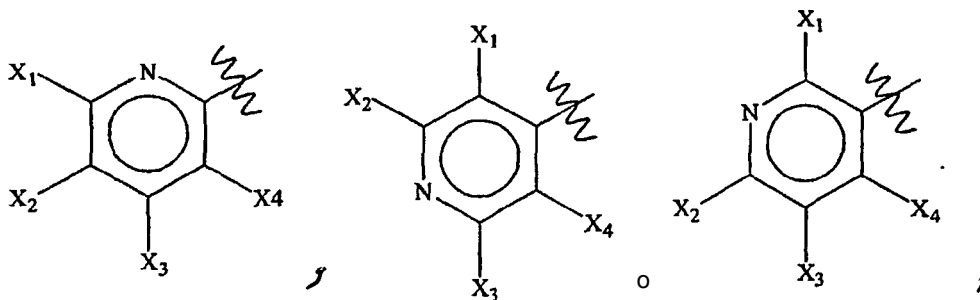
15 Se encontró que WP1066 reducía el tamaño de los tumores *in vivo*. Los resultados de estudios con animales de los tumores del melanoma humano A375 que crecían en ratones lampiños, tratados con WP1066 después que los tumores alcanzaran un tamaño palpable, se muestran en FIG. 8. Se utilizó el modelo animal siguiente para evaluar los efectos anti-tumorales y anti-cáncer de los compuestos: el día 0, se suspendieron células A375 a razón de 20×10^6 células/ml en medio RPMI 1640. El día 0, se inyectaron 0,2 ml de esta suspensión que contenía células A375
20 (por vía subcutánea) en ratones lampiños Suizos hembra de 6-7 semanas de edad. El día 7, se inyectaron 40 mg/kg de WP1066 (i.p.) en los ratones anteriores en una suspensión de 0,1 ml de DMSO/PEG300 (50/50) con arreglo a un protocolo qd, en días alternos para 8 inyecciones. Se utilizaron 5 ratones por grupo experimental, incluyendo un grupo de control de vehículo (DMSO/PEG300). Los animales recibieron 40 mg/kg de WP1066 en días alternos (QID) para un total de 8 inyecciones. El grupo de control alcanzó una carga máxima de tumor el día 21, y por esta razón se paró el experimento. WP1066 exhibía efectos anticáncer y anti-tumorales fuertes *in vivo*. Estos resultados indican
25 que WP1066, y otros compuestos descritos en esta memoria, pueden utilizarse para tratar enfermedades hiperproliferativas tales como el cáncer.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende la fórmula química.



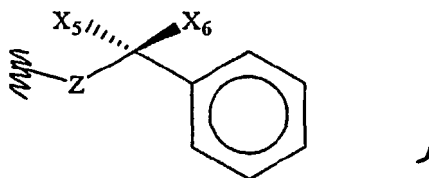
en donde R₀ es



5

donde X₁, X₂, X₃ y X₄ se seleccionan cada uno independientemente del grupo constituido por hidrógeno, halógeno, C₁₋₇ alquilo, C₁₋₇ alcoxi, OH, trihalometilo, y NO₂;

R₂ se selecciona del grupo constituido por C₁₋₇ alquilo, C₁₋₇ alquenilo, C₁₋₇ alquinilo, C₁₋₇ alcoxi, halógeno, hidrógeno, OH, NO₂, SH, y NH₂;



10 R₃ es

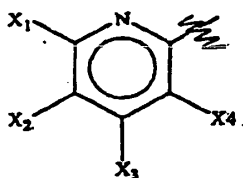
R₄ es CN;

donde Z es NH, y

donde X₅ y X₆ se seleccionan cada uno independientemente del grupo constituido por hidrógeno y C₁₋₇ alquilo inferior.

15 2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R₂ es hidrógeno.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R₀ es:



4. El compuesto de la reivindicación 3, en donde X₁ es un halógeno.

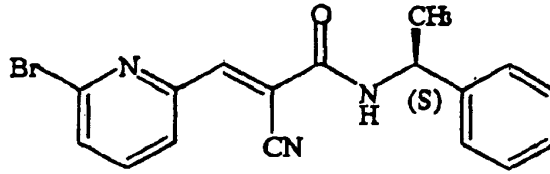
5. El compuesto de la reivindicación 4, en donde X₁ es Br.

20 6. El compuesto de la reivindicación 1, en donde X₁, X₂, X₃ y X₄ son hidrógeno.

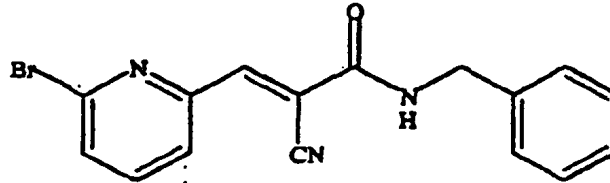
7. El compuesto de la reivindicación 1, en donde X₅ o X₆ es C₁₋₄ alquilo.

8. El compuesto de la reivindicación 7, en donde R₂ es hidrógeno.

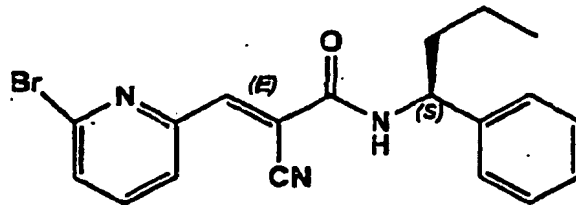
9. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



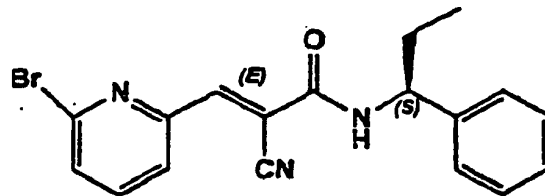
10. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



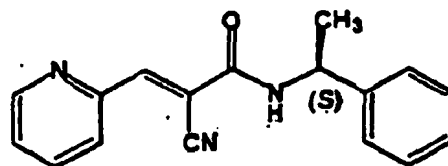
5 11. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



12. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:

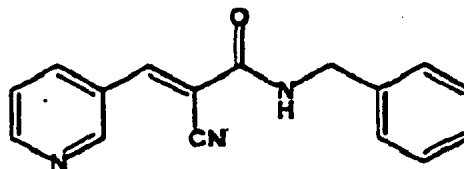


13. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



10

14. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



15. Uso de un primer compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 para la fabricación de un medicamento para tratamiento de una enfermedad celular proliferativa en un individuo.

15 16. El uso de la reivindicación 15, en donde el individuo es un mamífero.

17. El uso de la reivindicación 16, en donde el mamífero es un humano.

18. El uso de la reivindicación 15, en donde el primer compuesto está comprendido en un excipiente, diluyente, o vehículo farmacéuticamente aceptable.
19. El uso de la reivindicación 15, en donde la enfermedad celular proliferativa es cáncer.
- 5 20. El uso de la reivindicación 19, en donde el cáncer es melanoma, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico, cáncer pulmonar, hepatocarcinoma, retinoblastoma, astrocitoma, glioblastoma, leucemia, cáncer de la sangre, del cerebro, de la piel, oftálmico, de la lengua, de las encías, neuroblastoma, de cabeza, de cuello, de mama, pancreático, renal, óseo, testicular, ovárico, mesotelioma, cervical, gastrointestinal, linfoma, de colon, o de vejiga.
- 10 21. El uso de la reivindicación 15, en donde la enfermedad celular proliferativa es artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, osteoartritis, leiomiomas, adenomas, lipomas, hemangiomas, fibromas, oclusión vascular, restenosis, aterosclerosis, una lesión pre-neoplásica, carcinoma *in situ*, leucoplasia oral vellosa, o psoriasis.
22. El uso de la reivindicación 15, en donde la activación de Stat3 está reducida en una célula del individuo.
23. El uso de la reivindicación 15, en donde la expresión de c-myc está reducida en una célula del individuo.
- 15 24. El uso de la reivindicación 15, en donde el primer compuesto se administra en combinación con una cantidad terapéuticamente relevante de un segundo compuesto.
25. El uso de la reivindicación 24, en donde el segundo compuesto es un compuesto anti-cáncer.
26. El uso de la reivindicación 15, en donde el primer compuesto se administra en combinación con cirugía, terapia de radiación, o terapia génica.
27. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de las reivindicaciones 1 a 14.
- 20 28. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 o una composición farmacéutica de la reivindicación 27, para uso en el tratamiento de una enfermedad celular proliferativa.

Efecto de los Compuestos AG sobre la Formación de Colonias MM

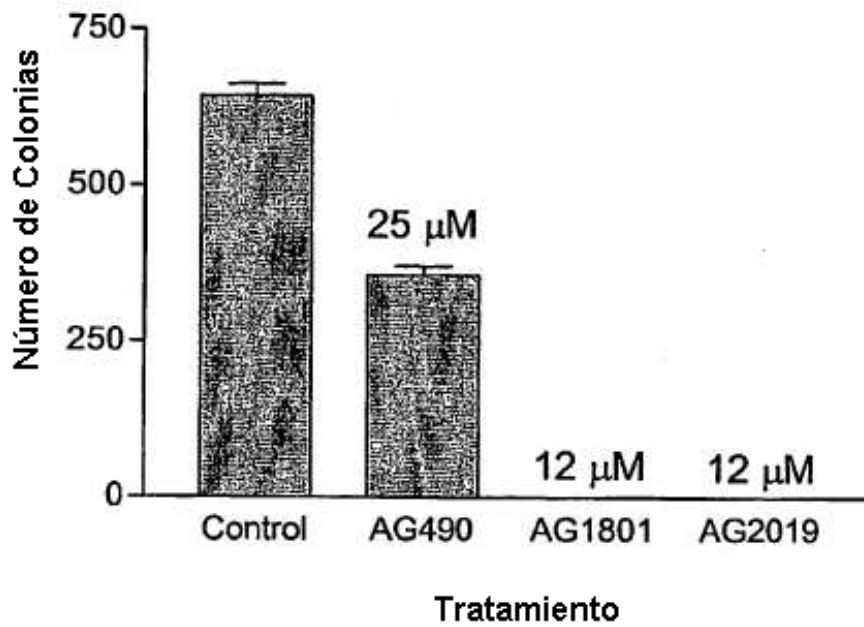


FIG. 1

FIG. 2A

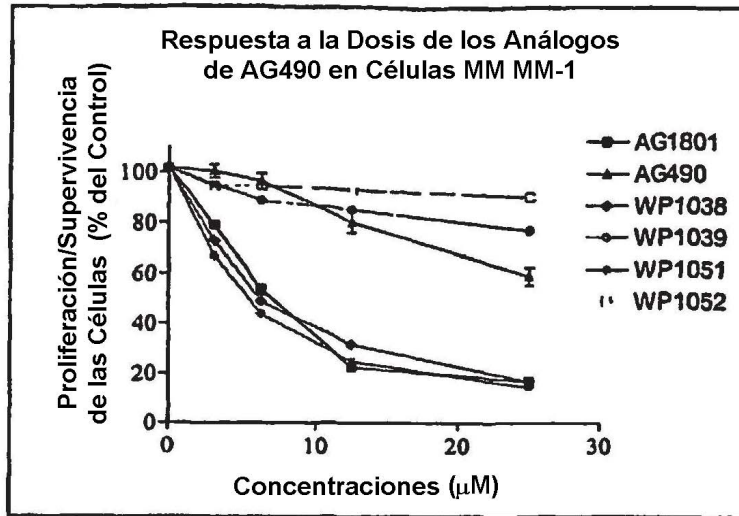


FIG. 2B

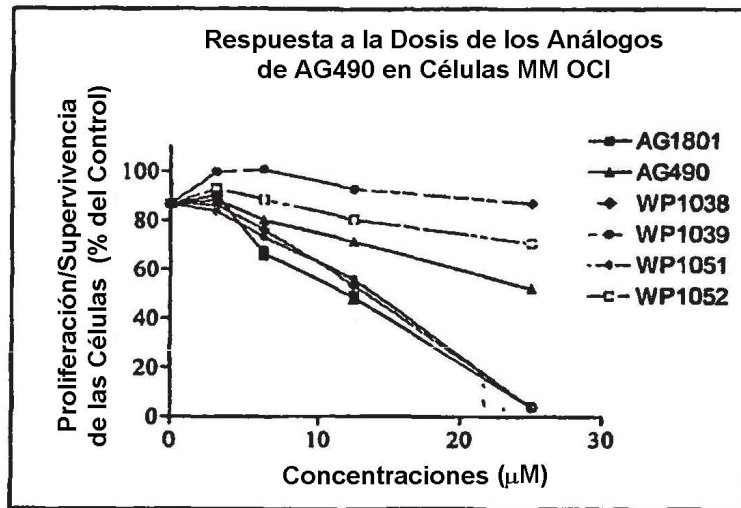
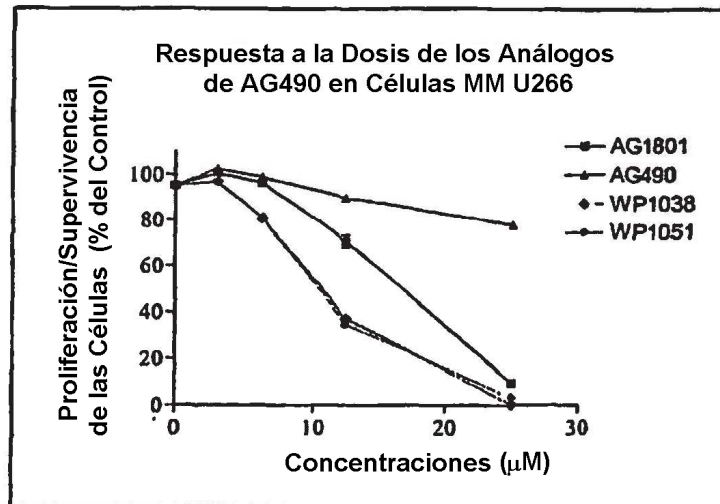


FIG. 2C



FIGS. 2A-C

FIG. 3A

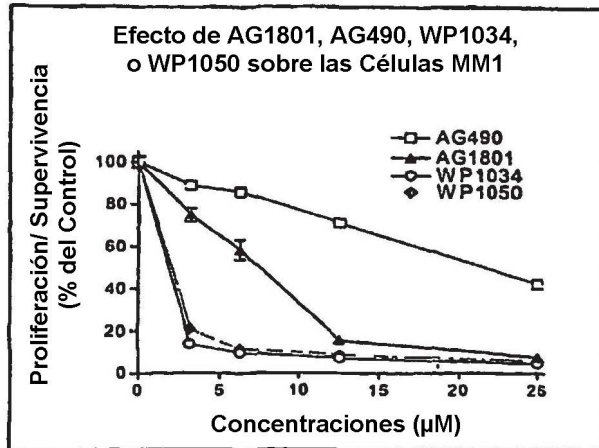


FIG. 3B

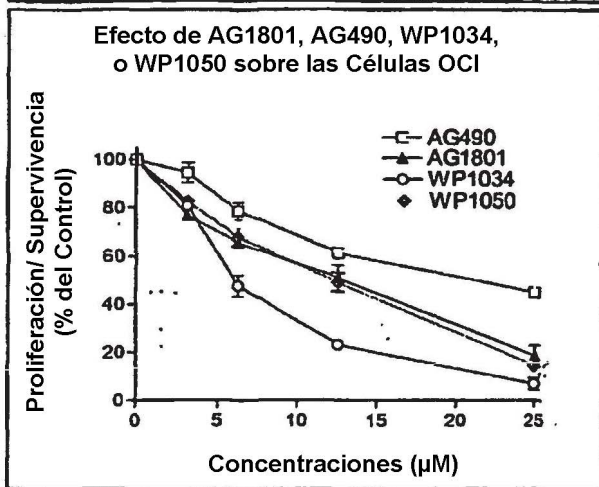
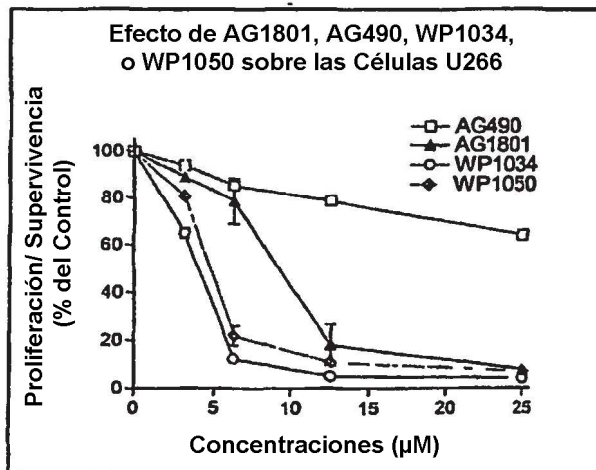


FIG. 3C



FIGS. 3A-C

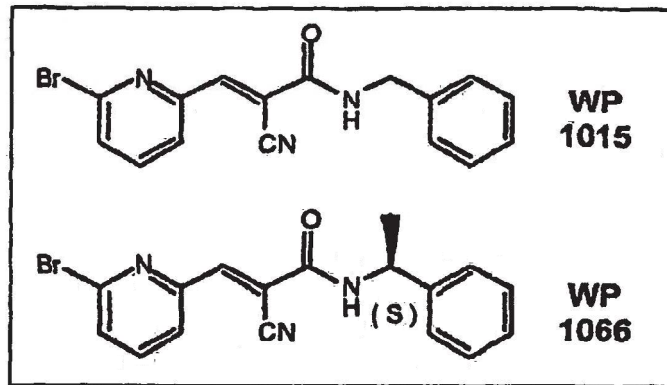


FIG. 4

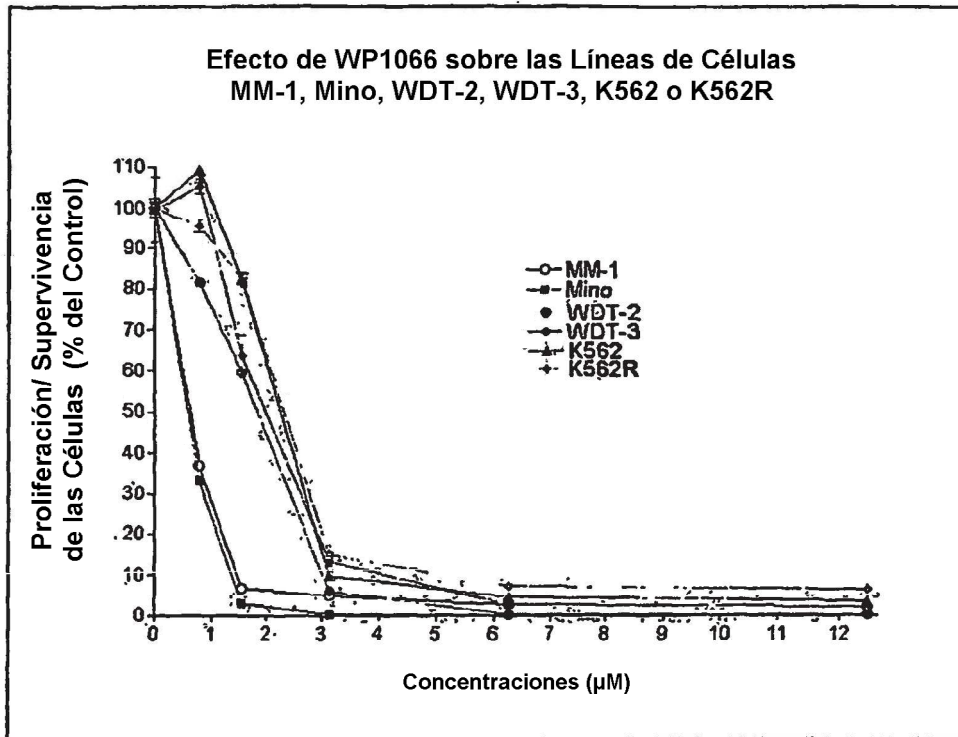
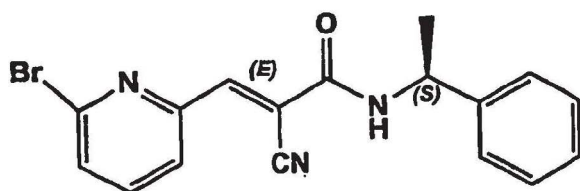
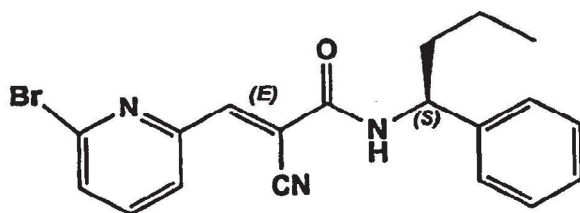


FIG. 5



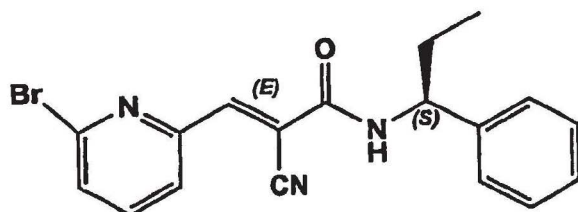
IC₅₀ = ~1300 nM

WP1066
C₁₇H₁₄BrN₃O
P. Mol.: 356,217



IC₅₀ = ~950 nM

WP1130
C₁₉H₁₈BrN₃O
P. Mol.: 384,27



IC₅₀ = ~800 nM

WP1129
C₁₈H₁₆BrN₃O
P. Mol.: 370,243

FIG. 6

La Actividad Mejorada está Asociada con la Inhibición Mejorada de c-myc/Stat3

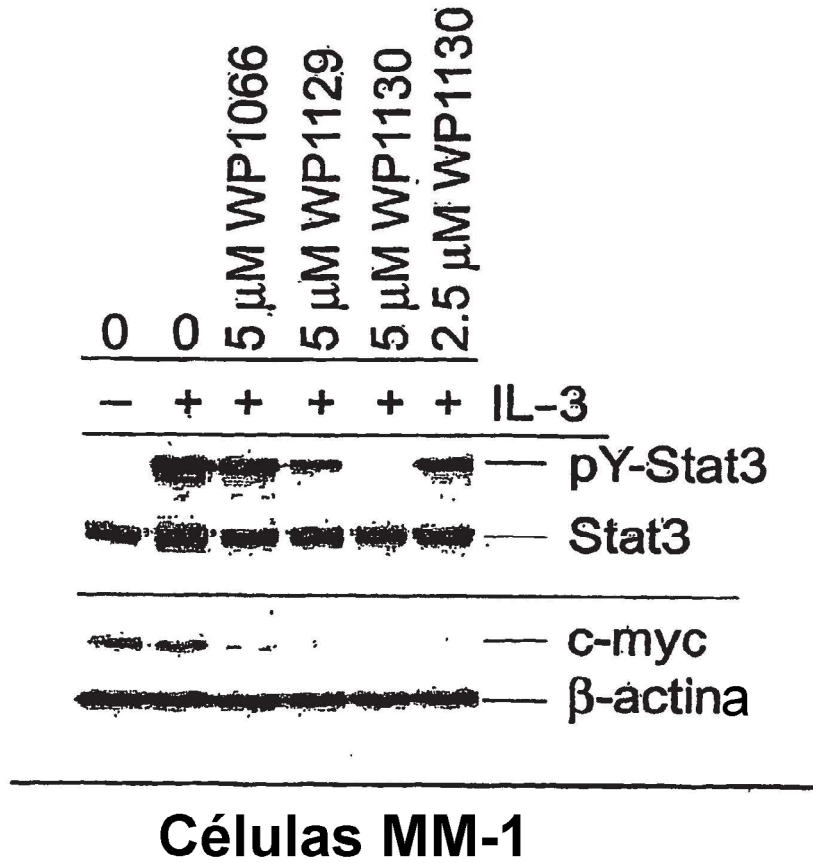


FIG. 7

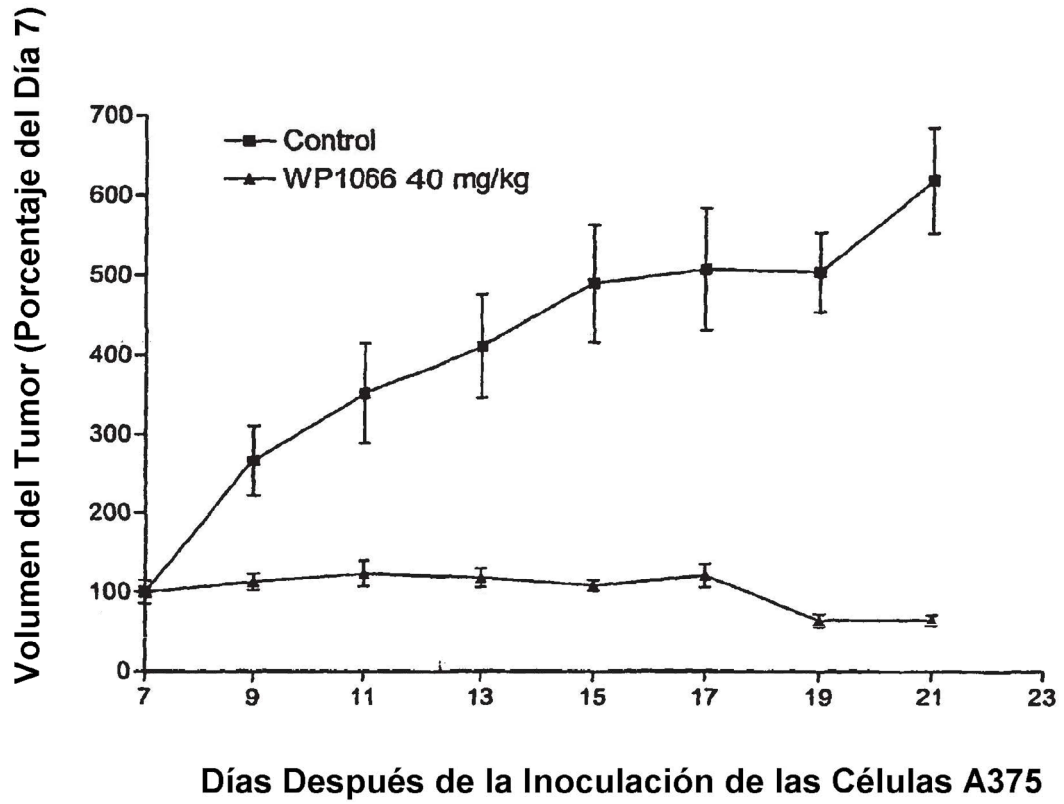
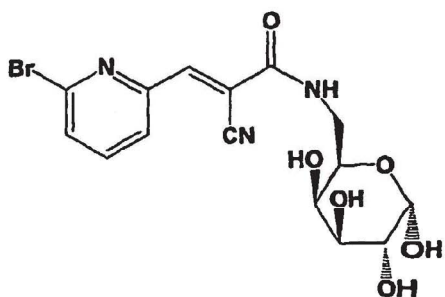
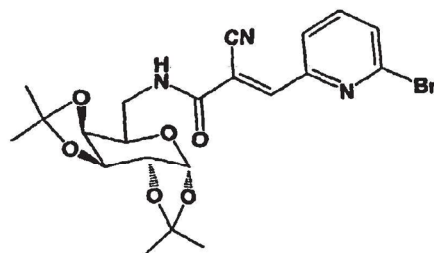


FIG. 8



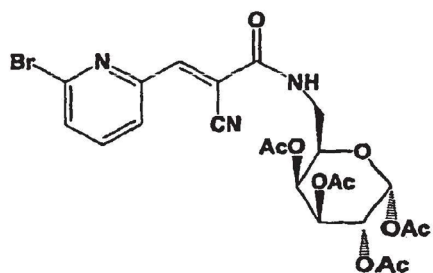
WP 1126

$C_{15}H_{16}BrN_3O_6$
 P. Mol.: 414,21
 C, 43.50; H, 3.89; Br, 19.29; N, 10.14; O, 23.18



WP 1119

$C_{21}H_{24}BrN_3O_6$
 P. Mol.: 494,34
 C, 51.02; H, 4.89; Br, 16.16;
 N, 8.50; O, 19.42



WP 1127

$C_{23}H_{24}BrN_3O_{10}$
 P. Mol.: 582,35
 C, 47.44; H, 4.15; Br, 13.72; N, 7.22; O, 27.47

FIG. 9