

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 305**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 498/04 (2006.01)

C07D 513/04 (2006.01)

A61K 31/429 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2008 PCT/US2008/070348**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.02.2009 WO09023402**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2008 E 08827232 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.01.2017 EP 2188271**

54 Título: **Compuestos heterocíclicos y usos como agentes anticancerosos**

30 Prioridad:

17.07.2007 US 950191 P

17.07.2007 US 950197 P

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

16.06.2017

73 Titular/es:

**ACEA BIOSCIENCES, INC. (100.0%)
6779 MESA RIDGE ROAD, SUITE 100
SAN DIEGO, CA 92121, US**

72 Inventor/es:

**AN, HAoyun;
XI, BIAO;
ABASSI, YAMA;
WANG, XIAOBO y
XU, XIAO**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

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

ES 2 617 305 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 heterocíclicos y usos como agentes anticancerosos

Campo de la invención

5 El campo de la invención son compuestos heterocíclicos y composiciones farmacéuticas, y particularmente dado que están relacionados con composiciones para el tratamiento y la prevención del cáncer y enfermedades relacionadas.

Antecedentes de la invención

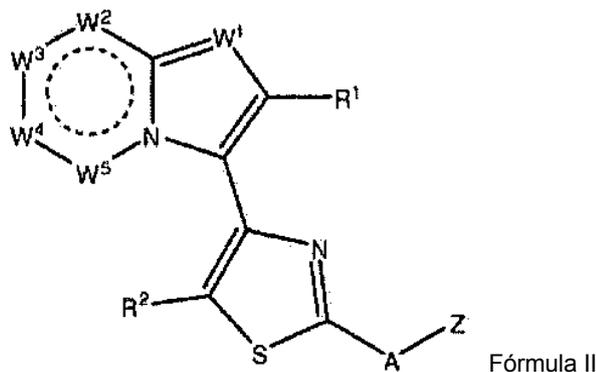
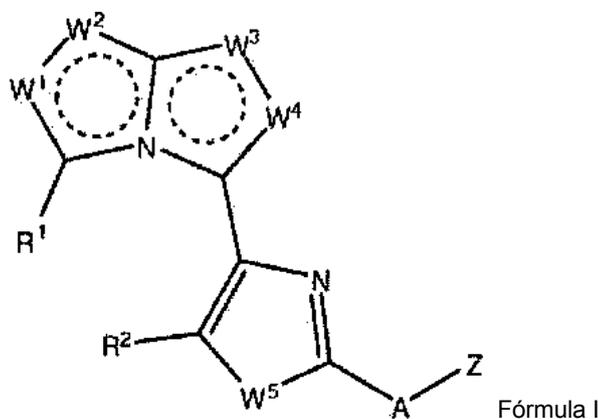
10 El cáncer, que incluye más de 200 enfermedades, es la segunda causa mayoritaria de muerte en los países desarrollados. Por lo tanto, el cáncer sigue siendo uno de los problemas médicos no resueltos más importantes para la humanidad. Existen diversas opciones para el tratamiento de tumores, que incluyen cirugía, radiación, quimioterapia o cualquier combinación de estos enfoques. Entre ellos, la quimioterapia se utiliza mucho para todos los tipos de cáncer, en particular, los inoperables o con características metastásicas. A pesar de la existencia de diversos compuestos quimioterapéuticos que se utilizan en la clínica para la mejora de los índices de supervivencia de distintos cánceres humanos, la quimioterapia en general no es curativa sino que simplemente retrasa el avance de la enfermedad. Comúnmente, los tumores y sus metástasis se vuelven refractarios a la quimioterapia, dado que las células tumorales desarrollan la capacidad de resistencia a múltiples fármacos. En algunos casos, los tumores son inherentemente resistentes a algunas clases de agentes quimioterapéuticos. En otros casos, se desarrolla resistencia adquirida contra agentes quimioterapéuticos durante la intervención quimioterapéutica. Por lo tanto, siguen existiendo limitaciones significativas en cuanto a la eficacia de los compuestos quimioterapéuticos disponibles para el tratamiento de distintas clases de tumores. Además, muchos agentes citotóxicos y citostáticos utilizados para el tratamiento quimioterapéutico de tumores presentan efectos secundarios graves, lo que genera la interrupción de la quimioterapia en algunos pacientes. Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de producir nuevos agentes quimioterapéuticos.

JP 2003 313176 describe derivados de amino azol con actividad inhibidora del crecimiento tumoral.

Breve compendio de la invención

25 La presente invención se refiere a un compuesto según la reivindicación independiente 1 y a una composición farmacéutica según la reivindicación independiente 2.

En general, se describen compuestos heterocíclicos que presentan una estructura de acuerdo con la Fórmula I y II:



en donde



en un anillo indica que el anillo es un anillo aromático o heteroaromático; cada uno de W^1 , W^2 , W^3 y W^4 es independientemente N, S, O o CR^3 ;

5 W^5 es S u O o CR^3 ;

A es NH, NR^4 , S, SO, SO_2 , O, Se, B (Boro), $NHSO_2$, NR^4SO_2 , SO_2NH , SO_2NR^4 , $OP(=O)(OR^4)$, $NR^4C(O)$, $C(O)NR^4$;

y Z es Ar, cualquier grupo heterocíclico fusionado, o CH_2Ar , en donde Ar es un grupo aromático monocíclico o bicíclico de 5-10 átomos que está opcionalmente sustituido con hasta cinco sustituyentes, y puede contener hasta cuatro heteroátomos que se seleccionan de N, O y S como miembros del anillo;

10 cada uno de R^1 , R^2 , R^3 y R^4 es H, OH, NHR, NRR' , OR, SR, alquilo sustituido o no sustituido, alquenilo, alquinilo, arilo, arilo fusionado, heteroarilo, heterociclo fusionado, un anillo carbocíclico o un anillo heterocíclico, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido y puede contener un heteroátomo que se selecciona de N, O y S en lugar de un átomo de carbono,

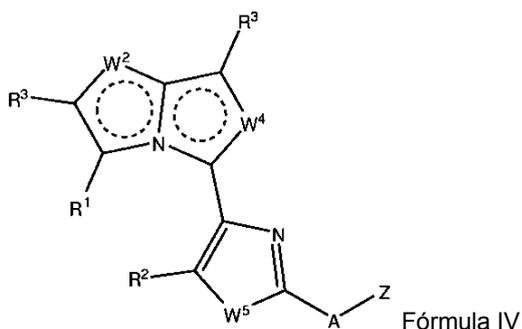
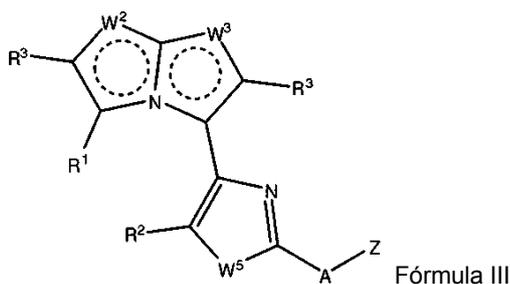
15 y dos R^1 , R^2 , R^3 o R^4 en el mismo átomo o átomos adyacentes se pueden unir entre sí opcionalmente para formar un anillo de 3-8 miembros que puede contener hasta dos heteroátomos que se seleccionan de N, O y S como miembros del anillo y que está opcionalmente sustituido;

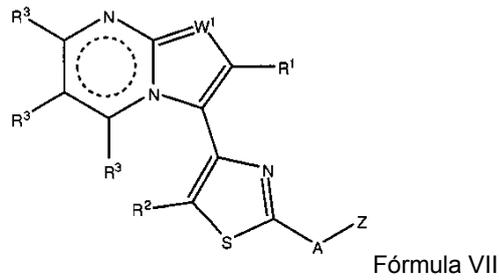
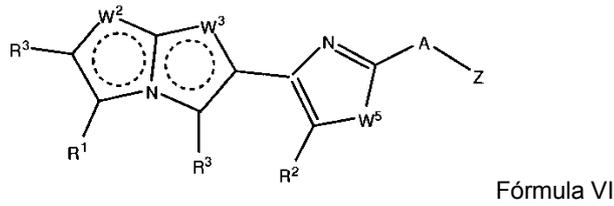
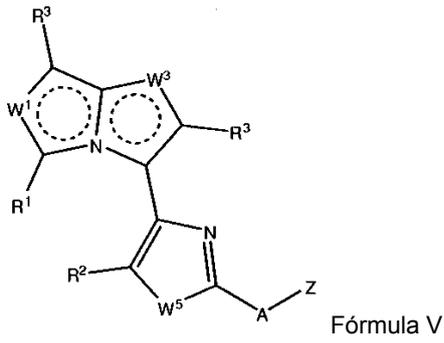
20 en donde cada R y R' es H, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo o heteroarilo, en donde cada alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo y heteroarilo está opcionalmente sustituido, y en donde R y R' , si se encuentran presentes en los mismos átomos o en átomos adyacentes, se pueden ciclar opcionalmente para formar un anillo de 3-8 miembros que contiene hasta dos heteroátomos que se seleccionan de N, O y S;

o una sal o metabolito farmacéuticamente aceptables de los mismos.

25 En los compuestos de fórmula (I), Z a veces se sustituye con hasta tres sustituyentes. En los compuestos de fórmula (II), preferentemente no más de uno de W^2 , W^3 , W^4 y W^5 es un enlace, y al menos uno de W^2 , W^3 , W^4 y W^5 no es CR^3 ; y no más de dos de W^2 , W^3 , W^4 y W^5 representan N, pero al menos uno de W^2 , W^3 , W^4 y W^5 es CR^3 . En estos compuestos, a veces es preferible que Z no es imidazopiridina no sustituida, y cuando A es NAc, Z no es piridinilo sustituido con metoxi. En algunas realizaciones, si W^1 es N, R^1 es Me y A es NH, entonces Z no es $-CH_2$ -(2-furanilo), fenilo no sustituido, bencilo no sustituido o fenilo sustituido con $-NO_2$, Br, -OH, -NHAc, SO_2NH -heteroarilo o COOH. En los compuestos de fórmula (II), cuando Z es S, SO o SO_2 , R^1 preferiblemente no es H cuando W^2 es CH.

También se describen compuestos generales con la fórmula III, IV, V, VI o VII:





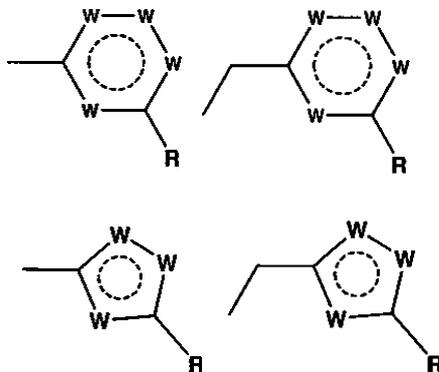
en donde

5



$W^1, W^2, W^3, W^4, W^5, Z, A$ y R^1, R^2, R^3 y R^4 son como se definió anteriormente.

En la fórmula que antecede I - VII, Z puede ser un resto aromático o heterocíclico que se selecciona de las siguientes estructuras:



10

en donde



es como se definió anteriormente;

cada W es independientemente CR', N, NR', S u O; y

cada R' es como se definió anteriormente;

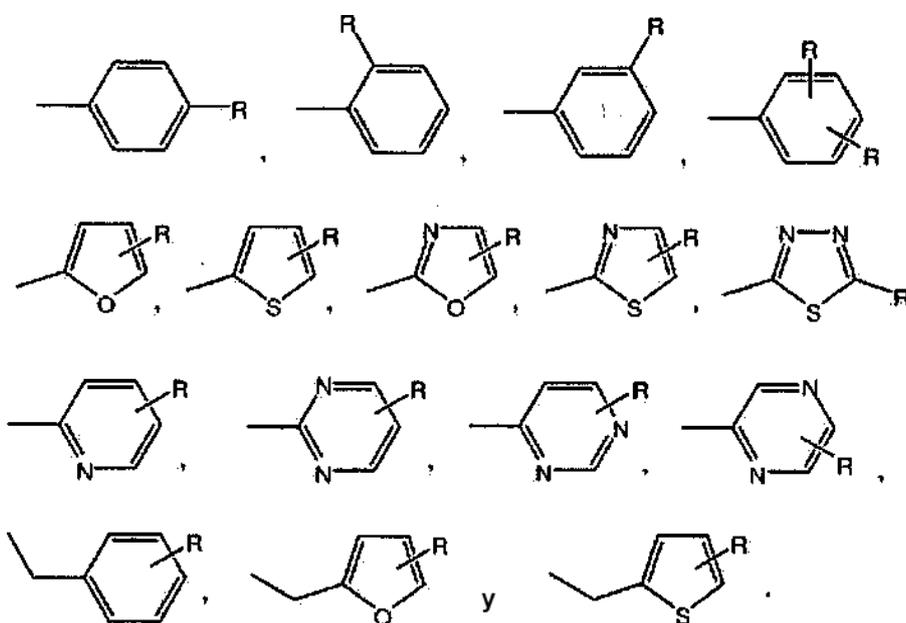
y R se selecciona de H, halo, OR', SR', CO₂R', C(O)NR'₂, C=O, CN, CF₃, OCF₃, NO₂, NR'R', OCOR', NR'SO₂R', SO₂NR'R', SO₃R', P(O₃R'), CH(COOR')₂, CH(PO₃R')₂, en donde R' es como se definió anteriormente,

- 5 o R es alquilo C₁₋₈, alquilo cíclico C₃₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, un arilo, heteroarilo, un anillo carbocíclico o un anillo heterocíclico, cada uno de los cuales puede contener un heteroátomo.

El o los anillos aromáticos que comprenden Z se pueden sustituir con hasta cinco grupos distintos de H, preferiblemente hasta cuatro de dichos grupos, y, en algunas realizaciones, con hasta tres grupos distintos de H. Preferiblemente, Z se sustituye con 1-3 grupos distintos de hidrógeno. Estos grupos pueden encontrarse en cualquier posición del anillo arilo/heteroarilo de Z. Cuando Z es un anillo de 6 miembros, en algunas realizaciones, al menos un sustituyente distinto de H está presente en la posición para del anillo, o en la posición meta del anillo.

10

Z se puede seleccionar de:



15 en donde cada grupo R es como se definió anteriormente. Algunos grupos preferidos que R puede representar se enumeran en la Tabla 1. Algunas variantes específicas de la parte de estos compuestos generales de fórmula I-VII que corresponden a -A-Z se establecen en las Tablas 3-7, y son variantes de -A-Z en cada clase de los compuestos generales que anteceden.

En algunas variantes de los compuestos generales de fórmula (I-VII), cuando W² es S y W³ es N y W⁴ es CMe, Z preferiblemente no es un grupo bencilo; un fenilo sustituido con más de un Br o con SO₂NRR; CH₂-(2-furanilo); o piridilo sustituido con metoxi. En otras variantes, sin embargo, por ejemplo, para el tratamiento del cáncer, estas limitaciones puede que no correspondan.

En la fórmula que antecede I - VII, Z puede ser benceno, piridina, piridazina, pirimidina, pirazina, triazina, oxazol, isoxazol, tiazol, isotiazol, oxadiazol, triazol, tiadiazol, pirazol, imidazol, benzoxazol, pirrol, furano, tiofeno, indolizina, indol, isoindol, indolina, benzofurano, benzotiofeno, indazol, bencimidazol, benzotiazol, purina, quinoxalina, quinolina, isoquinolina, cinolina, ftalazina, quinazolina, naftiridina, pteridina, acridina, fenazina, fenotiazina, indeno, naftaleno o benzoxadiazol mono-/di-/tri-sustituidos o no sustituidos, o cualquier resto heterocíclico fusionado. Cuando Z es el sistema aromático o heterocíclico que se describe en la presente, a veces se sustituye con halo, OR, SR, O((CH₂)_pO)qR, CO₂R, C(O)NR₂, C(=O)R, CN, CF₃, OCF₃, NO₂, NRR, OCOR, SO₃H, NRSO₂R, o SO₂NRR, en donde cada p es independientemente 1-4 y q es 1-6. Otros sustituyentes adecuados incluyen alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, alquilo cíclico C₃₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, un arilo, heteroarilo, un anillo carbocíclico o un anillo heterocíclico, cada uno de los cuales también se puede sustituir. En estos sustituyentes, cada R es alquilo C₁₋₈ que está opcionalmente sustituido con uno o más halo, -O, =N-CN, =N-OR', =NR' OR', NR'₂, SR', SO₂R', SO₂NR'₂, NR'SO₂R', NR'CONR'₂, NR'COOR', NR'COR', CN, COOR', CONR'₂, OOCR', COR', y NO₂, en donde cada R' es independientemente H, alquilo C₁₋₈, heteroalquilo C₂₋₈, acilo C₁₋₈, heteroacilo C₂₋₈, alqueno C₂₋₈, heteroalqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, heteroalquino C₂₋₈, arilo C₆₋₁₀, o heteroarilo C₅₋₁₀, y cada R' está opcionalmente sustituido con halo, =O, =N-CN, =N-OR'', =NR'', OR'', NR''₂, SR'', SO₂R'', SO₂NR''₂, NR''SO₂R'',

35

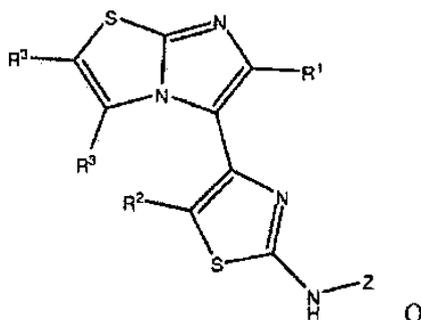
5 NR"CONR"2, NR"COOR", NR"COR", CN, COOR", CONR"2, OOCR", COR" y NO2, en donde cada R" es independientemente H, alquilo C1-C8, heteroalquilo C2-C8, acilo C1-C8, heteroacilo C2-C8, arilo C6-C10 o heteroarilo C5-C10; y cuando dos R' o R" están presentes en un átomo o en átomos adyacentes, pueden estar unidos para formar un anillo de 3-8 miembros que está opcionalmente sustituido y puede contener hasta dos heteroátomos que se seleccionan de N, O y S como miembros del anillo. Cada alquilo, alqueno y alquinilo descrito se puede sustituir con uno o más F. En algunas variantes de la Fórmula I o III, W² es S y W³ es N.

En algunos de los compuestos generales que anteceden, W⁵ es S.

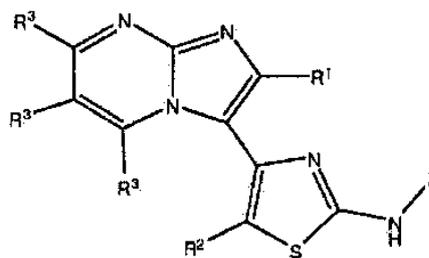
10 En algunos de los compuestos generales que anteceden, A es NR⁴, en donde R⁴ es como se definió anteriormente. En algunas de dichas variantes, R⁴ es un grupo acilo, por ejemplo, -C(=O)-(alquilo C1-8) o R⁴ es H. En algunas variantes, R⁴ es H.

15 En algunas variantes de los compuestos generales que anteceden, Z es Ar, en donde Ar representa fenilo sustituido o no sustituido. En algunas variantes, Z es -CH₂-Ar, en donde Ar es fenilo sustituido o no sustituido. En otras variantes, Ar se sustituye con al menos un grupo como halo, alcoxi C1-C4, OH, alquilo C1-C4 o alquilo C1-C4 sustituido con =O, o con uno o más F, Cl, CN, CF₃, Br, NRR, COOR y/o CONRR, en donde R es alquilo C1-C4 que está opcionalmente sustituido con uno o más F, Cl, CN, CF₃, Br o alcoxi C1-C4; y cuando hay dos R presentes en un átomo o en átomos adyacentes, se pueden unir entre sí para formar un anillo de 3-8 miembros que está opcionalmente sustituido y puede contener hasta dos heteroátomos que se seleccionan de N, O y S como miembros del anillo. Cuando dos sustituyentes en Ar se encuentran en átomos adyacentes, se pueden ciclar opcionalmente para formar un anillo de 5-8 miembros que se puede sustituir y puede contener hasta dos heteroátomos que se seleccionan de N, O y S como miembros del anillo.

También se describen los compuestos generales de fórmula IIIa o VIIa:



IIIa



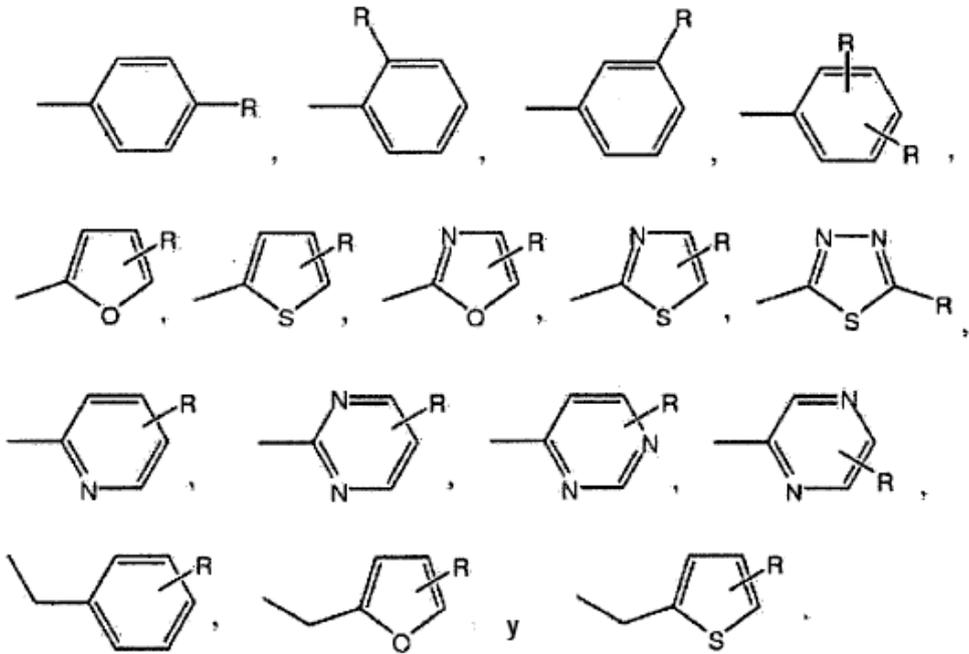
VIIa

en donde R¹ es alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido;

25 cada R³ es independientemente H, halo, alcoxi C1-C4 o alquilo C1-C4;

R² es H, halo, alcoxi C1-C4 o alquilo C1-C4;

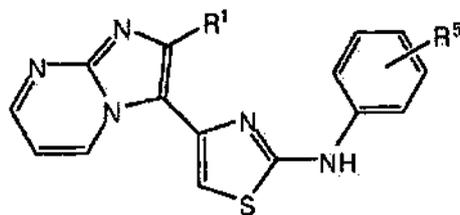
en donde Z se selecciona del grupo que consiste en:



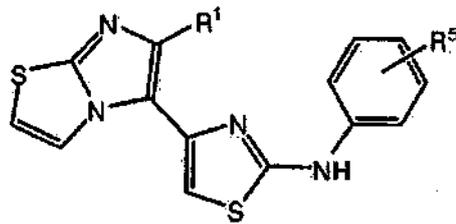
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Algunas variantes de estos compuestos generales tienen la fórmula VIII o IX:

5



Fórmula VIII



Fórmula IX

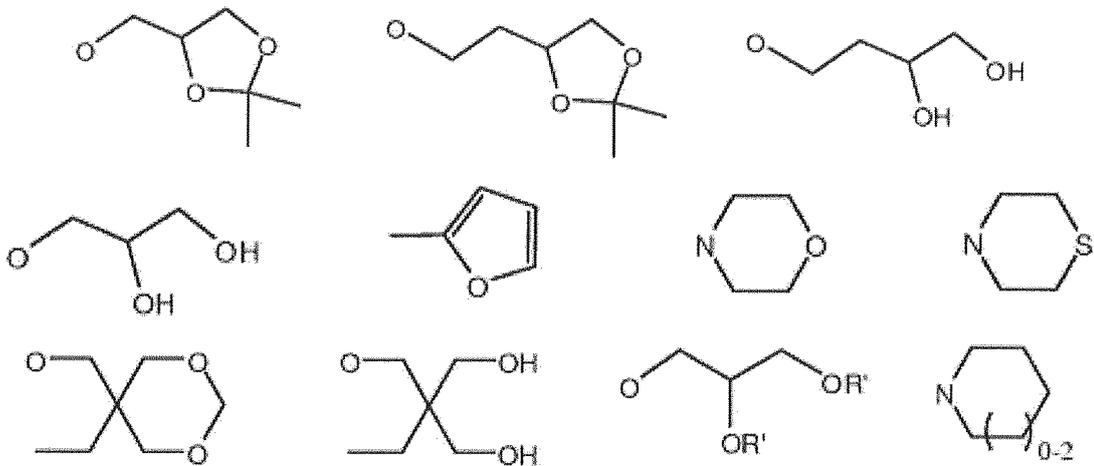
en donde cada R¹ es como se definió anteriormente;

y R⁵ es OR', SR', NR'₂, OCHF₂, OCF₃, CF₃, OCH₂CF₃, OCF₂CF₃, F, halo, (CF₂)₂₋₇CF₃, O(CH₂CH₂)R', O(CH₂CH₂)₀₋₆H, O(CH₂CH₂)₁₋₂R',

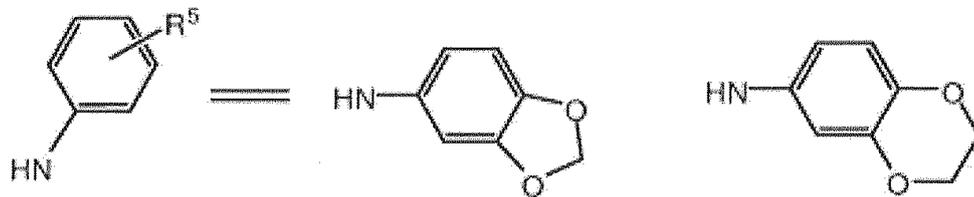
10

y R⁵ también se puede seleccionar de los siguientes grupos:





y

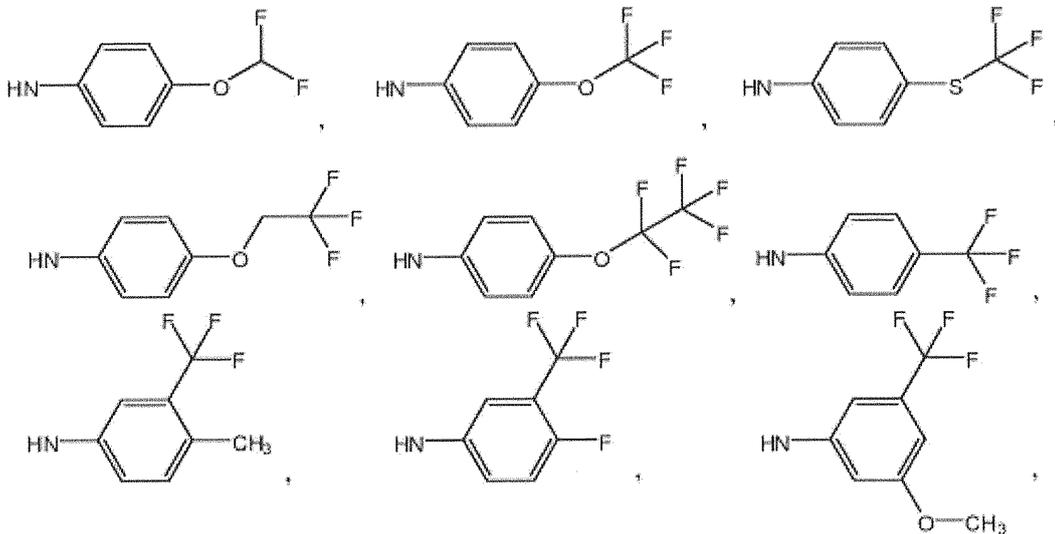


5

en donde R' es como se definió anteriormente;

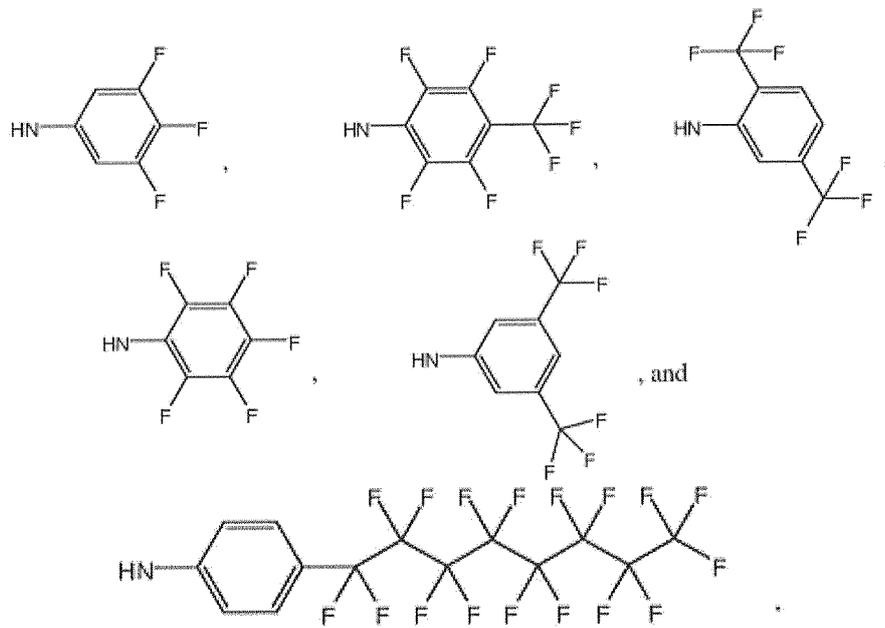
y 1-5 de dichos grupos R⁵ se pueden unir en el mismo anillo benceno.

En algunas de dichas variantes, el grupo que corresponde a -NH-Z en la fórmula IIIa o VII se selecciona del grupo que consiste en:



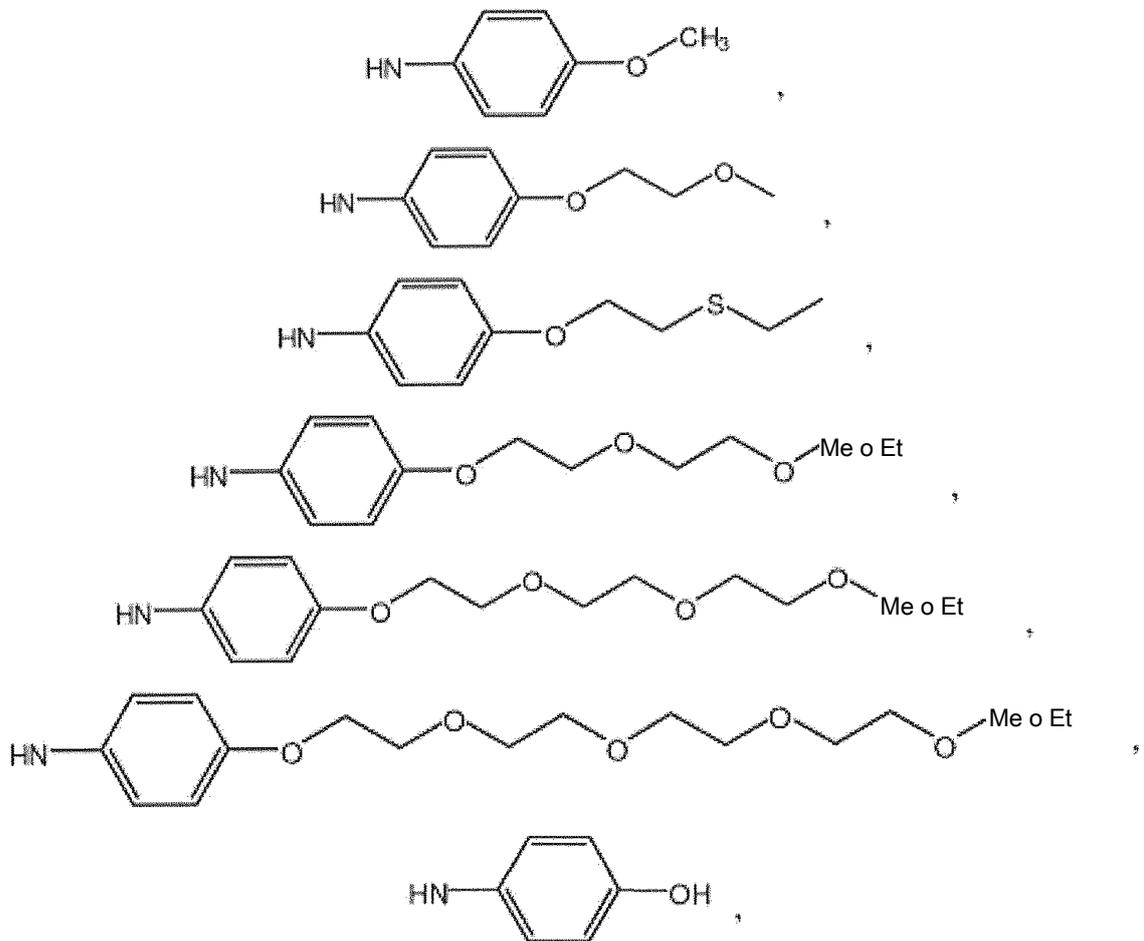
10

, y

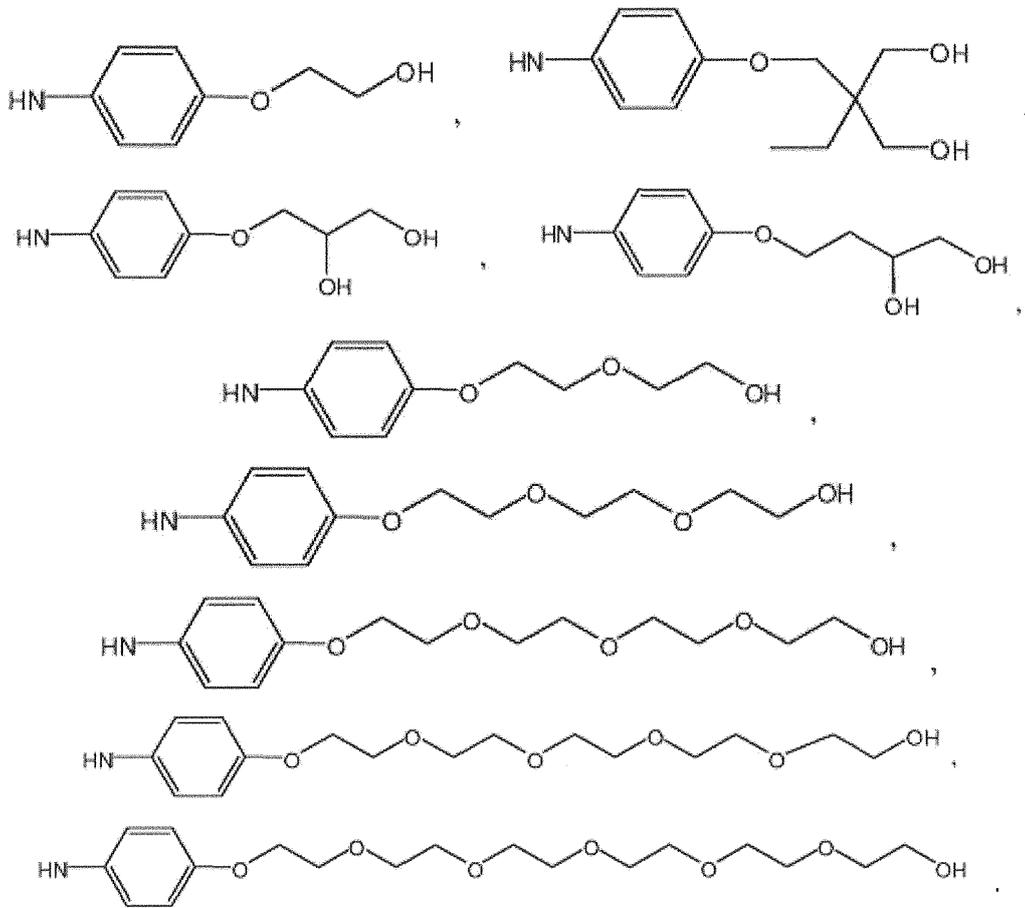


En algunas variantes, este grupo que corresponde a -NH-Z en la fórmula IIIa o VIIa se selecciona del grupo que consiste en:

5



10



5

En algunos de estos compuestos generales, R¹ es Metilo.

En algunos de estos compuestos generales, R² es H.

10 En algunos de estos compuestos generales, R³ es H.

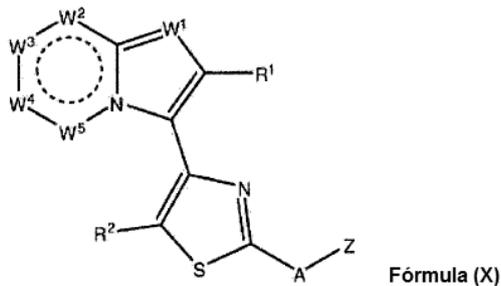
En otro aspecto, la descripción proporciona compuestos de fórmula (VI) como se indicó anteriormente, y composiciones que comprenden dichos compuestos generales, y métodos para utilizar dichos compuestos generales para el tratamiento de varias afecciones descritas en la presente, que incluyen cánceres.

En algunas variantes de los compuestos generales de fórmula (VI), W⁵ es S.

15 En algunas variantes de los compuestos generales de fórmula (VI), W² es S.

En algunas variantes de los compuestos generales de fórmula (VI), W³ es N.

En otro aspecto, la descripción proporciona compuestos generales, composiciones y usos de los mismos, en donde los compuestos tienen la siguiente estructura:



20

en donde



en un anillo indica que el anillo es un anillo aromático o heteroaromático;

W^1 es CR^3 o N;

5 cada uno de W^2, W^3, W^4 y W^5 es CR^3, N, O o S o un enlace,

con la condición de que no más de uno de W^2, W^3, W^4 y W^5 es un enlace, y al menos uno de W^2, W^3, W^4 y W^5 no es CR^3 ;

y no más de dos de W^2, W^3, W^4 y W^5 representan N;

y al menos uno de W^2, W^3, W^4 y W^5 es CR^3 ;

10 A es NH, $NR^5, S, SO, SO_2, O, Se, B$ (Boro), $NHSO_2, NR^5SO_2, SO_2NH, SO_2NR^5, OP(=O)OR^5, NHC(O)$ o $C(O)NH$;

Z es Ar o CH_2Ar , en donde Ar es un grupo aromático monocíclico o bicíclico de 5-10 átomos que contiene 0-4 heteroátomos que se seleccionan de N, O y S como miembros del anillo y se sustituyen opcionalmente con hasta cuatro R^4 ;

15 con la condición de que Z no es imidazopiridina no sustituida, y cuando A es NAc, Z no es piridinilo sustituido con metoxi.

cada uno de R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 es independientemente H, halo, OR, $NRR', S(O)_mR, COOR, SO_2NRR', NO_2, CN$, o un alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, arilo fusionado, heteroarilo, heterociclo fusionado, anillo carbocíclico o anillo heterocíclico sustituido o no sustituido,

20 y dos R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 en el mismo átomo o en átomos adyacentes se pueden unir entre sí opcionalmente para formar un anillo de 3-8 miembros que puede contener hasta dos heteroátomos que se seleccionan de N, O y S como miembros del anillo y que está opcionalmente sustituido;

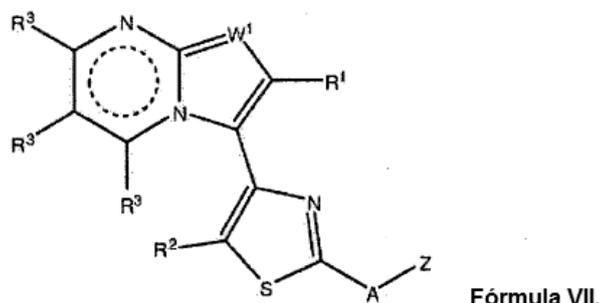
en donde cada R y R' es H, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo o heteroarilo,

25 en donde cada alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo y heteroarilo está opcionalmente sustituido, y en donde R y R' , si están presentes en los mismos átomos o en átomos adyacentes, pueden ciclarse opcionalmente para formar un anillo de 3-8 miembros que contiene hasta dos heteroátomos que se seleccionan de N, O y S;

m es 0-2;

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Las variantes particulares de estos compuestos generales tienen la fórmula:



30 Para estos compuestos generales, en determinadas variantes, Z no es imidazopiridina no sustituida, y cuando A es NAc, Z no es piridinilo sustituido con metoxi; y cuando W^1 es N, R^1 es Me y A es NH, Z no es $-CH_2-(2-furanilo)$, fenilo no sustituido, bencilo no sustituido o fenilo sustituido con $-NO_2, Br, -OH, -NHAc, SO_2NH$ -heteroarilo, o COOH. Preferiblemente, A y Z son como se describió anteriormente, entonces, los ejemplos de realizaciones de Z se describen en las Tablas 3-7, y A a veces es NH.

35 En algunas variantes de la Fórmula X o VII, Z se selecciona de las estructuras representadas en las Tablas 1-2. En

algunas variantes, Z se sustituye con uno o más, comúnmente hasta tres grupos que se seleccionan de halo, OR, SR, CO₂R, C(O)NR₂, C(=O)R, CN, CF₃, OCF₃, NO₂, NRR', OCOR, SO₃H, NRSO₂R, SO₂NRR'; o R es alquilo C₁₋₈, alquilo C₃₋₈ cíclico, alquenilo C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, un arilo, heteroarilo, un anillo carbocíclico o un anillo heterocíclico, cada uno de los cuales puede contener un heteroátomo;

5 en donde cada R y R' es H, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo o heteroarilo,

en donde cada alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo y heteroarilo está opcionalmente sustituido,

y en donde R y R', si están presentes en los mismos átomos o en átomos adyacentes, se pueden ciclizar opcionalmente para formar un anillo de 3-8 miembros que contiene hasta dos heteroátomos que se seleccionan de N, O y S.

10 En algunas variantes, Z se sustituye con al menos uno de dichos grupos.

En algunos de estos compuestos generales, W¹ es N o CH. Con frecuencia, W¹ es N.

En algunos de estos compuestos generales, R¹ es H, halo o alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido.

En algunas de las variantes que anteceden, cada R³ se selecciona de H, halo, CN, alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido y alcoxi C1-C4.

15 En algunas de las variantes que anteceden, R² es H, halo, CN, CONRR', COOR o CF₃, o un alcoxi o alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido.

En algunas de las variantes que anteceden, en donde A es NR⁵ u O o S, en donde R⁵ es como se definió anteriormente.

20 En algunas de las variantes que anteceden, A es NH o NR⁵, en donde R⁵ es alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido o un grupo acilo C1-C4.

En algunas de las variantes que anteceden, Z es un anillo aromático o heteroaromático de 5 miembros o un anillo aromático o heteroaromático de 6 miembros que se sustituye con 0-3 sustituyentes.

En algunas de las realizaciones que anteceden, Z es un anillo fenilo sustituido o un anillo 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo sustituido o no sustituido. A veces es preferible fenilo.

25 Los compuestos generales en la fórmula I-X que antecede se pueden usar como compuestos neutrales o como sus sales farmacéuticamente adecuadas con aniones inorgánicos y orgánicos. Sus sales incluyen, pero no se limitan a, haluros (Cl⁻, Br⁻, I⁻), nitrato, mesilato, p-tolueno, sulfonato/tosulato, oxalato, citrato, malato, maleato, tartrato, fumarato, formiato, acetato y los aniones similares en las clases.

30 Los compuestos heterocíclicos descritos anteriormente incluyen los compuestos en sí mismos, así como sus sales y sus profármacos, si corresponde. Dichas sales, por ejemplo, pueden formarse entre un grupo sustituido con carga positiva (por ejemplo, un grupo amino en anillos heterocíclicos o aromáticos) en un compuesto y un anión farmacéuticamente adecuado. Los aniones adecuados incluyen, pero no se limitan a, cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, nitrato, fosfato, citrato, metanosulfonato, trifluoroacetato, maleato y acetato. De manera similar, un grupo sustituido con carga negativa (por ejemplo, grupo carboxilato en anillos heterocíclicos o aromáticos) en un compuesto puede formar una sal con un catión. Los ejemplos no taxativos de cationes adecuados son ion de sodio, ion de potasio, ion de magnesio, ion de calcio y un ion de amonio orgánico tal como ion de teterametilamonio, ion de tetrabutilamonio y otros cationes orgánicos.

35 Los compuestos de la descripción pueden existir como isómeros, que incluyen isómeros ópticos, isómeros geométricos, tautómeros e isómeros giratorios. La descripción incluye cada uno de dichos isómeros de los compuestos generales de fórmula I-X y mezclas de los mismos. Cuando un compuesto tiene un centro quirral, por ejemplo, la descripción incluye cada isómero individual, así como mezclas de ambos isómeros en distintas cantidades, que incluyen una mezcla racémica con iguales cantidades de ambos isómeros. Dado que los compuestos de la invención son biarilos, estos pueden existir como isómeros giratorios alrededor del enlace biarilo también, y cada isómero, así como las mezclas de dichos isómeros, se incluyen en la descripción.

45 Los compuestos y las composiciones que comprenden el compuesto de la invención son útiles para tratar afecciones caracterizadas por proliferación celular no deesda. En particular, los compuestos son útiles para tratar el sarcoma, cáncer epidermoide, fibrosarcoma, cáncer de cuello uterino, leucemia, linfoma, cáncer pulmonar, cáncer pulmonar no microcítico, cáncer de colon, cáncer del SNC, melanoma, cáncer de ovario, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de mama, cánceres de cabeza y cuello, cáncer pancreático, y otros tipos de una enfermedad proliferativa.

50 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra el patrón de respuesta dinámica de células A549 (línea celular de cáncer pulmonar no microcítico

humano) a distintas concentraciones de los agentes antimitóticos clásicos paclitaxel y vinblastina, según se determina en el sistema de detección electrónica en tiempo real.

La Figura 2 muestra el patrón de respuesta dinámica de células A549 (línea celular de cáncer pulmonar no microcítico humano) a distintas concentraciones del Compuesto número 28 (2-(4-bromofenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]-tiazol-5-il)tiazol, ACEA100161) en la Tabla 8, según se determina en el sistema de detección electrónica de células en tiempo real.

La Figura 3 muestra el patrón de respuesta dinámica de células A549 a distintas concentraciones de paclitaxel y Compuesto 28 (ACEA100161) en la Tabla 8, según se determina en el sistema de detección electrónica en tiempo real. Evidentemente, se puede observar que las células A549 mostraron patrones de respuesta similares al compuesto número 28 (ACEA100161) en la Tabla 8 y al paclitaxel.

La Figura 4 muestra las curvas de respuesta a la dosis de células A549 al tratamiento del compuesto número 28 (2-(4-bromofenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]-tiazol-5-il)tiazol, ACEA100161) en la Tabla 8, en el periodo de tratamiento de 24 horas después del tratamiento.

La Figura 5 muestra el patrón de respuesta dinámica de células A549 a distintas concentraciones del compuesto número 26 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol, ACEA100160) en la Tabla 8, según se determina en el sistema de detección electrónica de células en tiempo real.

La Figura 6 muestra las curvas de respuesta a la dosis de células A549 al tratamiento del compuesto número 26 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol, ACEA100160) en la Tabla 8, en el periodo de tratamiento de 24 horas después del tratamiento.

La Figura 7 muestra el patrón de respuesta dinámica de células A549 a distintas concentraciones de paclitaxel y el compuesto número 26 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol, ACEA100160) en la Tabla 8, según se determina en el sistema de detección electrónica en tiempo real. Evidentemente, se puede observar que las células A549 mostraron patrones de respuesta similares a ACEA100160 en la Tabla 8 y al paclitaxel.

La Figura 8 muestra el patrón de respuesta dinámica de células A549 a distintas concentraciones del compuesto número 27 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol, ACEA100162) en la Tabla 8, según se determina en el sistema de detección electrónica de células en tiempo real.

La Figura 9 muestra las curvas de respuesta a la dosis de células A549 al tratamiento del compuesto número 27 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol, ACEA100162) en la Tabla 8, en el periodo de tratamiento de 24 horas después del tratamiento.

La Figura 10 muestra el índice celular dependiente del tiempo para diversas líneas celulares antes y después de la adición de ACEA100162 en varias concentraciones: (A) MCF7adr (adenocarcinoma de mama humano), (B) PC3 (cáncer de próstata humano), (C) KB (cáncer de cabeza y cuello humano), (D) KB200 (epitelioma oral humano) y (E) Bcap37 (adenocarcinoma de mama humano).

La Figura 11 muestra el índice celular dependiente del tiempo para diversas líneas celulares antes y después de la adición de ACEA100160 en varias concentraciones: (A) MCF7adr (adenocarcinoma de mama humano), (B) PC3 (cáncer de próstata humano), (C) KB (cáncer de cabeza y cuello humano), (D) KB200 (epitelioma oral humano) y (E) Bcap37 (adenocarcinoma de mama humano).

La Figura 12 muestra la supresión del crecimiento tumoral mediante ACEA100160 y ACEA100162 proporcionados como tratamiento en un modelo de carcinoma S180 de ratón. Los animales fueron tratados con ACEA100160 y ACEA100162 durante 9 días.

La Figura 13 muestra la supresión del crecimiento tumoral mediante ACEA100160 y ACEA100162 proporcionados como tratamiento en un modelo de cáncer pulmonar de Lewis de ratón. Los animales fueron tratados con ACEA100160 y ACEA100162 durante 12 días.

Realizaciones de la invención

A efectos de claridad de la descripción, y no a modo restrictivo, la siguiente descripción de realizaciones seleccionadas de la invención se divide en las subsecciones que figuran a continuación.

A. Definiciones

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Todas las patentes, solicitudes, solicitudes publicadas y otras publicaciones mencionadas en la presente se incorporan a la presente memoria en su totalidad por referencia. Si una definición establecida en esta sección es contraria o, de otro modo, no concuerda con una definición establecida en las patentes, solicitudes, solicitudes publicadas y otras publicaciones que se incorporan a la presente memoria por referencia, la definición que se establece en esta sección

prevalece sobre la definición incorporada a la presente memoria por referencia.

Como se usan en la presente memoria, "un" o "una" se refieren a "al menos uno/a" o "uno/a o más".

El término "alquilo", como se usa en la presente memoria, se refiere a grupos hidrocarburos saturados en una configuración lineal, ramificada o cíclica y, en particular, los grupos alquilo contemplados incluyen grupos alquilo inferiores (es decir, los que tienen diez o menos átomos de carbono). Ejemplos de grupos alquilo son metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, butilo terciario, pentilo, isopentilo, hexilo, etc. El término "alquenilo", como se usa en la presente memoria, se refiere a un alquilo como se definió anteriormente y con al menos un enlace doble. Por lo tanto, los grupos alquenilo particularmente contemplados incluyen grupos alquenilo lineales, ramificados o cíclicos que tienen dos a diez átomos de carbono (por ejemplo, etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, etc.). De manera similar, el término "alquinilo", como se usa en la presente memoria, se refiere a un alquilo o alquenilo como se definió anteriormente y con al menos un enlace triple. Los alquinilos particularmente contemplados incluyen alquinilos lineales, ramificados o cíclicos con dos a diez átomos de carbono totales (por ejemplo, etinilo, propinilo, butinilo, etc.).

El término "cicloalquilo", como se usa en la presente memoria, se refiere a un alcano cíclico (es decir, en donde una cadena de átomos de carbono de un hidrocarburo forma un anillo), que preferiblemente incluye tres a ocho átomos de carbono. Por lo tanto, ejemplos de cicloalcanos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. Los cicloalquilos también incluyen uno o dos enlaces dobles, que forman los grupos "cicloalquenilo". Los grupos cicloalquilo también se sustituyen adicionalmente con alquilo, alquenilo, alquinilo, halo y otros grupos generales.

El término "arilo" o "resto aromático", como se usa en la presente memoria, se refiere a un sistema de anillo aromático, que puede incluir además uno o más átomos distintos de carbono. Por lo tanto, los grupos arilo contemplados incluyen (por ejemplo, fenilo, naftilo, etc.) y piridilo. Los grupos arilo que se contemplan adicionalmente pueden fusionarse (es decir, unirse covalentemente a 2 átomos en el primer anillo aromático) a uno o dos grupos heterocíclicos o arilo de 5 o 6 miembros, y, por lo tanto, se denominan "arilo fusionado" o "aromático fusionado".

Como también se usan en la presente memoria, los términos "heterociclo", "cicloheteroalquilo" y "restos heterocíclicos" se usan de forma indistinta en la presente memoria y se refieren a cualquier compuesto en el cual múltiples átomos forman un anillo mediante diversos enlaces covalentes, en donde el anillo incluye al menos un átomo distinto de un átomo de carbono. Las bases heterocíclicas particularmente contempladas incluyen anillos de 5 y 6 miembros con nitrógeno, azufre u oxígeno como el átomo distinto de carbono (por ejemplo, imidazol, pirrol, triazol, dihidropirimidina, indol, piridina, tiazol, tetrazol, etc.). Los heterociclos contemplados adicionalmente se pueden fusionar (es decir, unir covalentemente a dos átomos en el primer anillo heterocíclico) a uno o dos anillos o heterociclos, y, por lo tanto, se denominan "heterociclo fusionado" o "base heterocíclica fusionada" o "restos heterocíclicos fusionados" como se usan en la presente memoria.

Como también se usan en la presente memoria, los términos "imidazotiazol" o "imidazo-imidazol" o "imidazooxazol" en la presente memoria se refieren a cualquier compuesto en el cual los dos anillos heterocíclicos designados se fusionan mediante dos átomos adyacentes cualesquiera en los dos anillos heterocíclicos.

El término "alcoxi", como se usa en la presente memoria, se refiere a un alquilo lineal o ramificado que se conecta con un átomo de oxígeno que se denomina alcóxido, en donde la parte de hidrocarburo puede tener cualquier cantidad de átomos de carbono, puede incluir además un enlace doble o triple y puede incluir uno o dos átomos de oxígeno, azufre o nitrógeno en las cadenas alquilo. Por ejemplo, los grupos alcoxi adecuados incluyen metoxi, etoxi, propiloxi, isopropoxi, metoxietoxi, etc. De manera similar, el término "alquiltio" se refiere a alquilsulfuro de cadena lineal o ramificado, en donde la parte de hidrocarburo puede tener cualquier cantidad de átomos de carbono, puede incluir además un enlace doble o triple y puede incluir uno o dos átomos de oxígeno, azufre o nitrógeno en las cadenas alquilo. Por ejemplo, los grupos alquiltio contemplados incluyen metiltio, etiltio, isopropiltio, metoxietiltio, etc.

Asimismo, el término "alquilamino" se refiere a alquilaminas lineales o ramificadas, en donde el nitrógeno amino "N" se puede sustituir con uno o dos alquilos y la parte de hidrocarburo puede tener cualquier cantidad de átomos de carbono y puede incluir además un enlace doble o triple. Además, el hidrógeno del alquilamino se puede sustituir con otro grupo alquilo. Por lo tanto, los ejemplos de grupos alquilamino incluyen metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino, etc.

El término "ariloxi", como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo arilo que se conecta con un átomo de oxígeno, en donde el grupo arilo se puede sustituir adicionalmente. Por ejemplo, los grupos ariloxi adecuados incluyen feniloxi, etc. De manera similar, el término "ariltio", como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo arilo que se conecta con un átomo de azufre, en donde el grupo arilo se puede sustituir adicionalmente. Por ejemplo, los grupos ariltio adecuados incluyen feniltio, etc.

El término "halógeno", tal como se usa en la presente memoria, se refiere al flúor, cloro, bromo y yodo.

También se debería reconocer que todos los grupos definidos anteriormente se pueden sustituir adicionalmente con uno o más sustituyentes, que a su vez también pueden sustituirse. Por ejemplo, un átomo de hidrógeno en un alquilo o arilo se sustituye con un amino, halo u otros grupos.

El término "sustituido", como se usa en la presente memoria, se refiere a un reemplazo de un átomo H con otro átomo o grupo. Los grupos alquilo, alqueno y alquino a menudo se sustituyen opcionalmente en la medida en que dicha sustitución tenga sentido en términos químicos. Los sustituyentes típicos incluyen, pero no se limitan a, halo, =O, =N-CN, =N-OR, =NR, OR, NR₂, SR, SO₂R, SO₂NR₂, NRSO₂R, NRCONR₂, NRCOOR, NRCOR, CN, COOR, CONR₂, OOCR, COR y NO₂, en donde cada R es independientemente H, alquilo C1-C8, heteroalquilo C2-C8, acilo C1-C8, heteroacilo C2-C8, alqueno C2-C8, heteroalqueno C2-C8, alquino C2-C8, heteroalquino C2-C8, arilo C6-C10 o heteroarilo C5-C10, y cada R está opcionalmente sustituido con halo, =O, =N-CN, =N-OR, =NR, OR, NR₂, SR, SO₂R, SO₂NR₂, NR'SO₂R', NR'CONR'₂, NR'COOR', NR'COR', CN, COOR', CONR'₂, OOCR', COR', y NO₂, en donde cada R' es independientemente H, alquilo C1-C8, heteroalquilo C2-C8, acilo C1-C8, heteroacilo C2-C8, arilo C6-C10 o heteroarilo C5-C10.

Los grupos alquilo, alqueno y alquino también pueden estar sustituidos por acilo C1-C8, heteroacilo C2-C8, arilo C6-C10 o heteroarilo C5-C10, cada uno de los cuales puede estar sustituido por los sustituyentes que son adecuados para el grupo particular.

"Heteroalquilo", "heteroalqueno" y "heteroalquino" y similares se definen de manera similar a los grupos hidrocarbilo (alquilo, alqueno y alquino) correspondientes, pero los términos "hetero" se refieren a los grupos que contienen 1-3 heteroátomos de O, S o N o combinaciones de los mismos dentro del residuo de la cadena principal; por lo tanto, al menos un átomo de carbono de un grupo alquilo, alqueno o alquino correspondiente se reemplaza con uno de los heteroátomos especificados para formar un grupo heteroalquilo, heteroalqueno o heteroalquino. Los tamaños típicos y preferidos de las heteroformas de los grupos alquilo, alqueno y alquino generalmente son los mismos que los de los grupos hidrocarbilo correspondientes y los sustituyentes que pueden estar presentes en las heteroformas son los mismos que se describieron anteriormente para los grupos hidrocarbilo. Por motivos de estabilidad química, también se entiende que, a menos que se especifique lo contrario, dichos grupos no incluyen más de dos heteroátomos contiguos excepto donde un grupo oxo se encuentra presente en N o S como en un grupo nitro o sulfonilo.

Si bien "alquilo", tal como se usa en la presente memoria, incluye los grupos cicloalquilo y cicloalquilalquilo, el término "cicloalquilo" se puede usar en la presente memoria para describir un grupo carbocíclico no aromático que está conectado mediante un átomo de carbono del anillo y "cicloalquilalquilo" se puede utilizar para describir un grupo carbocíclico no aromático que está conectado a la molécula mediante un enlace alquilo. De manera similar, "heterocicilo" se puede usar para describir un grupo ciclico no aromático que contiene al menos un heteroátomo como un miembro del anillo y que está conectado a la molécula mediante un átomo del anillo, que puede ser C o N; y "heterocicilalquilo" se puede usar para describir un grupo que esté conectado a otra molécula mediante un enlace. Los tamaños y sustituyentes que son adecuados para los grupos cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicilo y heterocicilalquilo son los mismos que los que se describieron anteriormente para los grupos alquilo. Como se usan en la presente memoria, estos términos también incluyen anillos que contienen un enlace doble o dos, siempre que el anillo no es aromático.

Como se usa en la presente memoria, "acilo" comprende grupos que comprenden un radical alquilo, alqueno, alquino, arilo o arilalquilo unido en una de las dos posiciones de valencia disponibles de un átomo de carbono carbonilo, y heteroacilo se refiere a los grupos correspondientes en donde al menos un carbono distinto del carbono carbonilo se ha reemplazado con un heteroátomo seleccionado de N, O y S. Por lo tanto, heteroacilo incluye, por ejemplo, -C(=O)OR y -C(=O)NR₂, así como -C(=O)-heteroarilo.

Los grupos acilo y heteroacilo están unidos a cualquier grupo o molécula a la cual están unidos mediante la valencia abierta del átomo de carbono de carbonilo. Comúnmente, son grupos acilo C1-C8, que incluyen formilo, acetilo, pivaloilo y benzoilo y grupos heteroacilo C2-C8, que incluyen metoxiacetilo, etoxicarbonilo y 4-piridinoilo. Los grupos hidrocarbilo, grupos arilo y las heteroformas de dichos grupos que comprenden un grupo acilo o heteroacilo pueden sustituirse con los sustituyentes descritos en la presente como sustituyentes generalmente adecuados para cada componente correspondiente del grupo acilo o heteroacilo.

El resto "aromático" o resto "arilo" se refiere a un resto monocíclico o bicíclico fusionado que tiene las características conocidas de aromaticidad; los ejemplos incluyen fenilo y naftilo. De manera similar, "heteroaromático" y "heteroarilo" se refieren a los sistemas de anillo monocíclico o bicíclico fusionado que contienen como miembros del anillo uno o más heteroátomos que se seleccionan de O, S y N. La inclusión de un heteroátomo permite la aromaticidad en anillos de 5 miembros, así como también en anillos de 6 miembros. Los sistemas heteroaromáticos típicos incluyen grupos aromáticos C5-C6 monocíclicos tales como piridilo, pirimidilo, pirazinilo, tienilo, furanilo, pirrolilo, pirazolilo, tiazolilo, oxazolilo e imidazolilo y los restos bicíclicos fusionados formados mediante la fusión de uno de estos grupos monocíclicos con un anillo de fenilo o con cualquiera de los grupos monocíclicos heteroaromáticos para formar un grupo bicíclico C8-C10 tal como indolilo, benzimidazolilo, indazolilo, benzotriazolilo, isoquinolilo, quinolilo, benzotiazolilo, benzofuranilo, pirazolopiridilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, cinolinilo y similares. Cualquier sistema bicíclico de anillo monocíclico o fusionado que tenga las características de aromaticidad en cuanto a la distribución de electrones a través del sistema de anillo se incluye en esta definición. También incluye grupos bicíclicos en los que al menos el anillo que se une directamente al resto de la molécula tiene las características de aromaticidad. Comúnmente, los sistemas de anillo contienen 5-12 átomos miembros del anillo. Preferentemente, los heteroarilos monocíclicos contienen 5-6 miembros del anillo y los heteroarilos bicíclicos contienen 8-10 miembros del anillo.

Los restos arilo y heteroarilo se pueden sustituir con una variedad de sustituyentes que incluyen alquilo C1-C8, alqueno C2-C8, alquino C2-C8, cicloalquilo C3-C8, arilo C5-C12, acilo C1-C8, y heteroformas de los mismos, cada uno de los cuales puede sustituirse adicionalmente con sustituyentes apropiados; otros sustituyentes para restos arilo y heteroarilo incluyen halo, $O((CH_2)_pO)_qR$, en donde cada p es independientemente 1-4 y q es 1-6, OR, NR₂, SR, SO₂R, SO₂NR₂, NRSO₂R, NRCONR₂, NRCOOR, NRCOR, CN, COOR, CONR₂, OOCR, COR y NO₂, en donde cada R es independientemente H, alquilo C1-C8, heteroalquilo C2-C8, alqueno C2-C8, heteroalqueno C2-C8, alquino C2-C8, heteroalquino C2-C8, cicloalquilo C3-C8, heterociclo C3-C8, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C10, arilalquilo C7-C12 o heteroarilalquilo C6-C12, y cada R está opcionalmente sustituido como se describió anteriormente para grupos alquilo. Los grupos sustituyentes en un grupo arilo o heteroarilo, por supuesto, pueden sustituirse adicionalmente con los grupos que se describen en la presente memoria como adecuados para cada tipo de dichos sustituyentes o para cada componente del sustituyente; y dichos sustituyentes se pueden sustituir con uno o más sustituyentes que se seleccionan de halo, CF₃, alquilo C1-4 y alcoxi C1-4. Por lo tanto, por ejemplo, un sustituyente arilalquilo se puede sustituir en la parte arilo con sustituyentes descritos en la presente memoria como habituales para grupos arilo, y se puede sustituir adicionalmente en la parte alquilo con sustituyentes descritos en la presente memoria como habituales o adecuados para grupos alquilo. De manera similar, "arilalquilo" y "heteroarilalquilo" se refieren a sistemas de anillo aromáticos y heteroaromáticos que se unen a su punto de unión a través de un grupo de enlace tal como un alqueno, que incluye enlazadores cíclicos o acíclicos, saturados o insaturados, sustituidos o no sustituidos. Comúnmente, el enlazador es alquilo C1-C8 o una heteroforma del mismo. Estos enlazadores también pueden incluir un grupo carbonilo, haciendo así que puedan proporcionar sustituyentes como un resto acilo o heteroacilo. Un anillo arilo o heteroarilo en un grupo arilalquilo o heteroarilalquilo se puede sustituir con los mismos sustituyentes descritos anteriormente para los grupos arilo. Preferiblemente, un grupo arilalquilo incluye un anillo fenilo opcionalmente sustituido con los grupos definidos anteriormente para los grupos arilo y un alqueno C1-C4 que no se sustituye o se sustituye con uno o dos grupos alquilo C1-C4 o grupos heteroalquilo, en donde los grupos alquilo o heteroalquilo opcionalmente pueden ciclizarse para formar un anillo tal como ciclopropano, dioxolano u oxaciclopentano. De manera similar, un grupo heteroarilalquilo preferiblemente incluye un grupo heteroarilo monocíclico C5-C6 que está opcionalmente sustituido con los grupos descritos anteriormente como sustituyentes típicos en grupos arilo y un alqueno C1-C4 que no se sustituye o se sustituye con uno o dos grupos alquilo C1-C4 o grupos heteroalquilo, o incluye un anillo fenilo opcionalmente sustituido o heteroarilo monocíclico C5-C6 y un heteroalqueno C1-C4 que no se sustituye o se sustituye con uno o dos grupos alquilo C1-C4 o heteroalquilo, en donde los grupos alquilo o heteroalquilo opcionalmente pueden ciclizarse para formar un anillo tal como ciclopropano, dioxolano u oxaciclopentano.

En los casos en que un grupo arilalquilo o heteroarilalquilo se describe como opcionalmente sustituido, los sustituyentes pueden estar en la parte de alquilo o heteroalquilo o en la parte de arilo o heteroarilo del grupo. Los sustituyentes opcionalmente presentes en la porción alquilo o heteroalquilo generalmente son los mismos que los descritos anteriormente para los grupos alquilo; los sustituyentes opcionalmente presentes en la porción arilo o heteroarilo generalmente son los mismos que los descritos anteriormente para los grupos arilo.

Los grupos "arilalquilo", como se usa en la presente memoria, son grupos hidrocarbilo si no están sustituidos, y se describen según el número total de átomos de carbono en el anillo y alqueno o un enlazador similar. Por lo tanto, un grupo bencilo es un grupo arilalquilo C7 y feniletilo es un arilalquilo C8.

"Heteroarilalquilo", como se describió anteriormente, se refiere a un resto que comprende un grupo arilo que está unido mediante un grupo de enlace, y difiere de "arilalquilo" en que al menos un átomo del anillo del resto arilo o un átomo en el grupo de enlace es un heteroátomo que se selecciona de N, O y S. Los grupos heteroarilalquilo se pueden describir en la presente memoria según el número total de átomos en el anillo y enlazador combinados e incluyen grupos arilo unidos mediante un enlazador heteroalquilo; grupos heteroarilo unidos mediante un enlazador hidrocarbilo tal como un alqueno y grupos heteroarilo unidos mediante un enlazador heteroalquilo. Por lo tanto, por ejemplo, heteroarilalquilo C7 incluiría piridilmetilo, fenoxi y N-pirrolilmetoxi. De manera alternativa, dichos grupos se pueden describir de otro modo, por ejemplo, como un arilo C5-C6-alquilo C1-C2, que se referiría a un anillo arilo de 5-6 miembros conectado a la molécula base a través de un enlazador C1-C2.

"Alqueno", como se usa en la presente, se refiere a un grupo hidrocarbilo divalente; debido a que es divalente, puede unir otros dos grupos. Comúnmente, se refiere a $-(CH_2)_n-$ en donde n es 1-8 y preferiblemente n es 1-4, aunque cuando se indique, un alqueno también puede sustituirse con otros grupos, y puede tener otras longitudes, y no es necesario que las valencias abiertas estén en extremos opuestos de una cadena. Por lo tanto, CH(Me)- y $-C(Me)_2-$ también pueden denominarse alquenos, así como también un grupo cíclico tal como ciclopropan-1,1-diilo. En los casos en que se sustituye un grupo alqueno, los sustituyentes incluyen aquellos comúnmente presentes en grupos alquilo como se describe en la presente.

En general, cualquier grupo alquilo, alqueno, alquino, acilo, arilo o arilalquilo o cualquier heteroforma de uno de estos grupos contenida en un sustituyente puede estar opcionalmente sustituida por sustituyentes adicionales. La naturaleza de estos sustituyentes es similar a la de aquellos descritos con relación a los sustituyentes primarios en sí mismos si los sustituyentes no se describen de otra manera. Por lo tanto, cuando una realización de, por ejemplo, R⁷ es alquilo, este alquilo puede estar opcionalmente sustituido por los sustituyentes restantes mencionadas como realizaciones para R⁷, cuando esto tenga sentido desde el punto de vista químico, y cuando esto no socave el límite de tamaño proporcionado para el alquilo *per se*; por ejemplo, el alquilo sustituido por alquilo o por alqueno simplemente extendería el límite superior de los átomos de carbono para estas realizaciones, y no está incluido. Sin embargo, el

alquilo sustituido con arilo, amino, alcoxi, =O, y similares estaría incluido en el alcance de la invención, y los átomos de estos grupos sustituyentes no se contabilizan en la cantidad utilizada para describir el grupo alquilo, alquenilo, etc. que se describe. Cuando no se especifica una cantidad de sustituyentes, cada uno de dichos grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, acilo o arilo se puede sustituir con una cantidad de sustituyentes de acuerdo con sus valencias disponibles; en particular, cualquiera de estos grupos se puede sustituir, por ejemplo, con átomos de flúor en cualquiera de sus valencias disponibles o todas ellas.

5 Los grupos funcionales particularmente contemplados incluyen grupos nucleofílicos (por ejemplo, -NH₂, -OH, -SH, -NC, etc.), grupos electrofílicos (por ejemplo, C(O)OR, C(X)OH, etc.), grupos polares (por ejemplo, -OH), grupos no polares (por ejemplo, heterociclo, arilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, etc.), grupos iónicos (por ejemplo, -NH₃⁺) y halógenos (por ejemplo, -F, -Cl), NHCOR, NHCONH₂, OCH₂COOH, OCH₂CONH₂, OCH₂CONHR, NHCH₂COOH, NHCH₂CONH₂, NHSO₂R, OCH₂-heterociclos, PO₃H, SO₃H, aminoácidos, y todas las combinaciones químicamente razonables de los mismos. Además, el término "sustituido" también incluye múltiples grados de sustitución, y cuando se describen o reivindican múltiples sustituyentes, el compuesto sustituido se puede sustituir independientemente con uno o más de los restos sustituyentes descritos o reivindicados. Además, el término "mono-/di-/tri-/tetra-sustituido" que se usa en la presente se refiere a uno, dos, tres o cuatro grupos funcionales descritos anteriormente que se sustituyeron en el resto aromático o heterocíclico o aromático o heterocíclico fusionado, donde dichos grupos multifuncionales se sustituyen en la combinación de cualquier posición *orto*, *para* o *meta* del resto aromático o heterocíclico.

En algunas variantes, W² es S y W³ es N. En determinadas variantes, W⁵ es S. En algunas variantes, A es NR⁴.

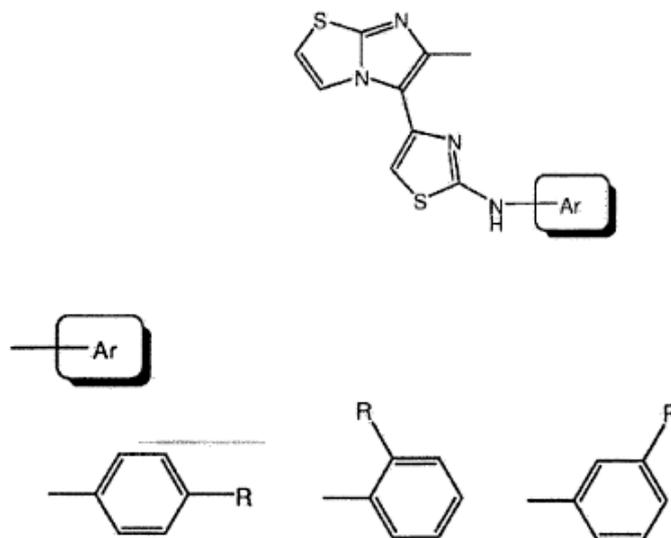
20 En algunas variantes, Z es CH₂-fenilo o fenilo, donde el anillo fenilo está opcionalmente sustituido. Los sustituyentes fenilo preferidos en estas variantes incluyen halo, alcoxi C1-C4, OH, alquilo C1-C4 o alquilo C1-C4 sustituido con =O o con uno o más F, Cl, CN, CF₃, Br, NRR, COOR y CONRR, donde R es como se define para las estructuras de grupo Z preferidas que se mostraron anteriormente.

B. Compuestos heterocíclicos y composiciones farmacéuticas de los mismos

25 B.1. Compuestos:

El compuesto de acuerdo con la invención se enumera en la Tabla 1.

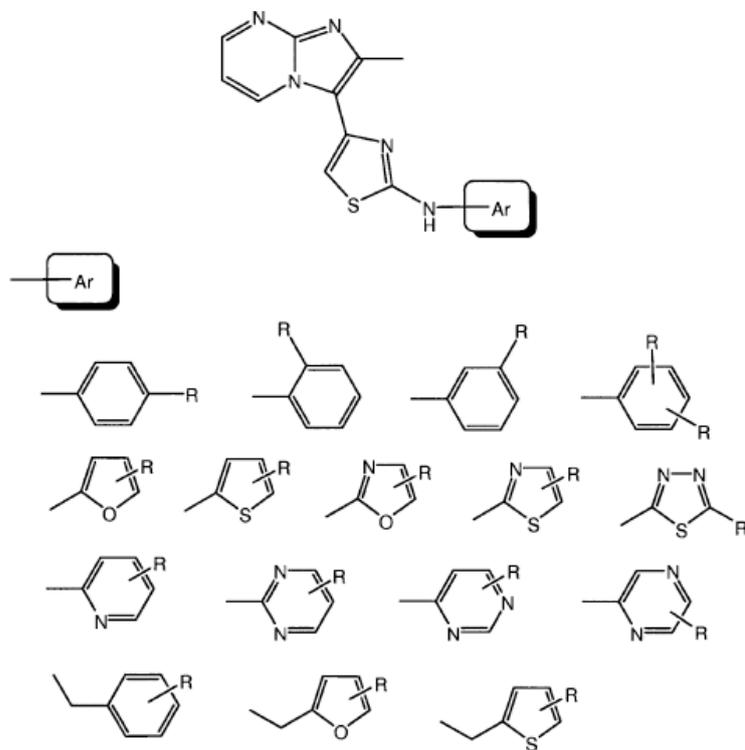
Tabla 1. Derivados de tiazolimidazotiazol sustituidos de acuerdo con la invención.



R = Br, Et, Propilo, Bu;

30

Tabla 2. Derivados de tiazol imidazopirimidina sustituidos representativos



R = H, F, Cl, Br, I, Me, Et, Propilo, Bu, CF₃, OMe, OEt, OiPr, OCF₃, COCH₃, NO₂, NMe₂, NEt₂, NHCOMe, SO₂NH₂, SO₂NHPh, SO₂NH-tiazol, SO₂NH-oxazol, SO₂NH-piridina, NH₂, OH, SMe, SET.

Tabla 3. Derivados sustituidos con fluoro representativos.

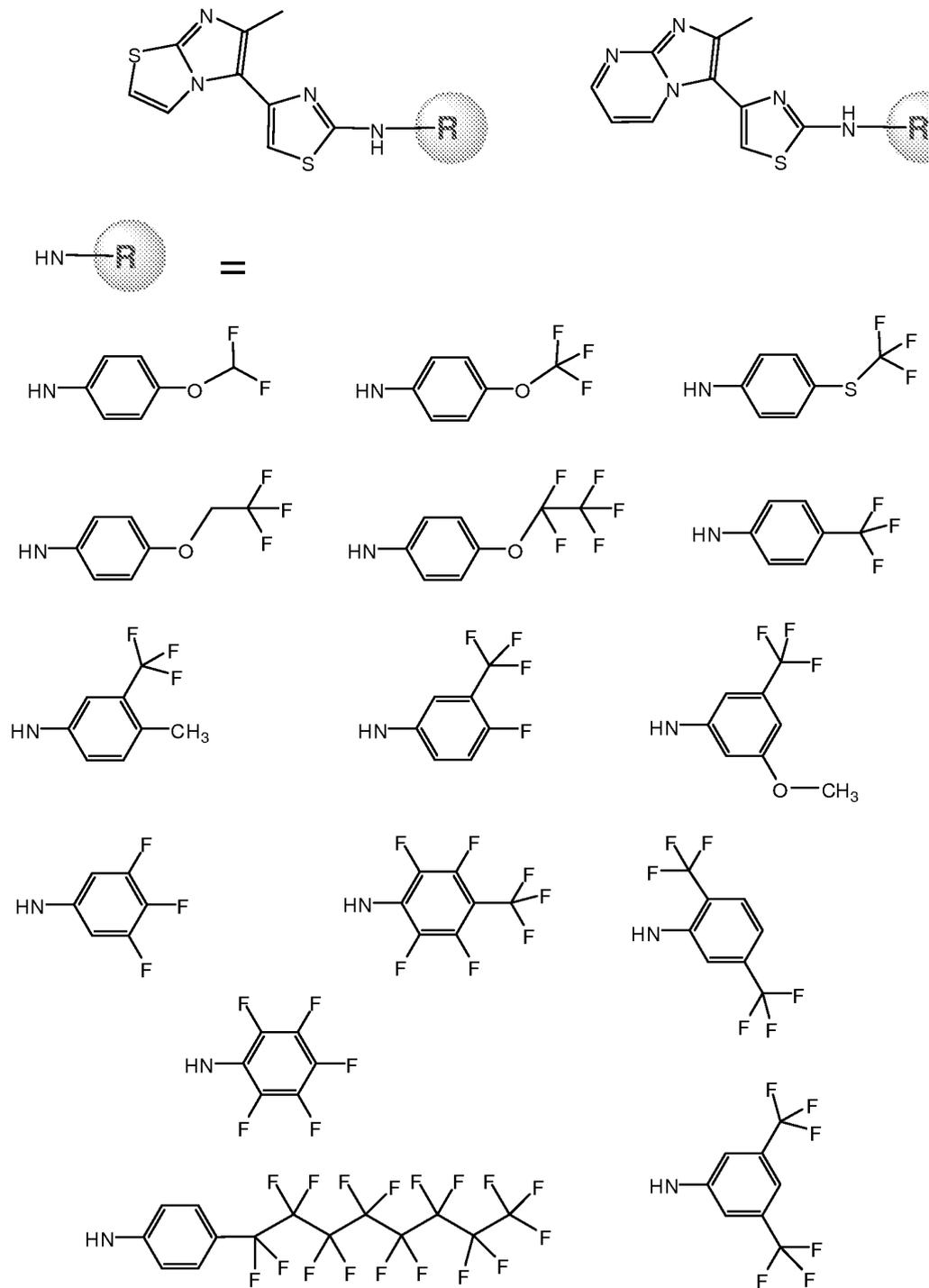


Tabla 4. Compuestos alcoxi éter sustituidos representativos.

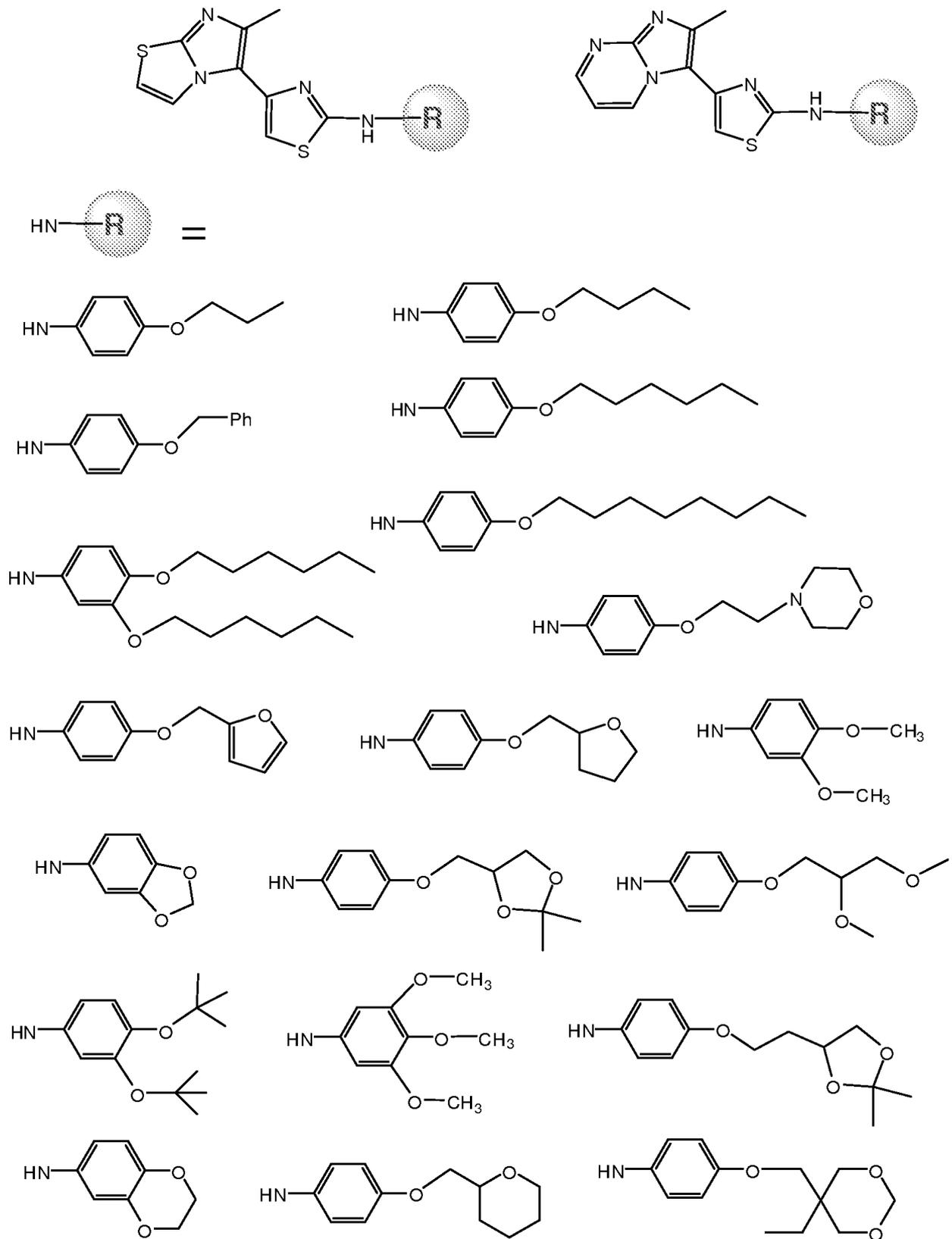


Tabla 5 Compuestos sustituidos con unidad PEG metoxi representativos.

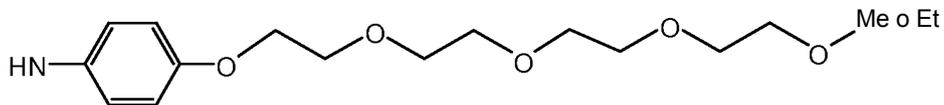
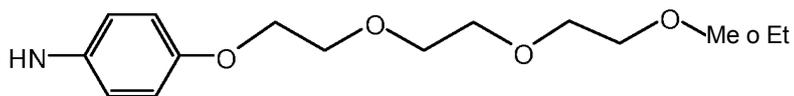
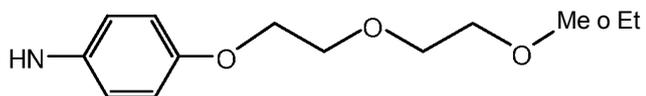
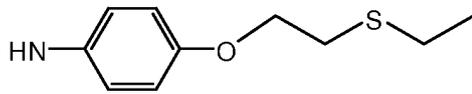
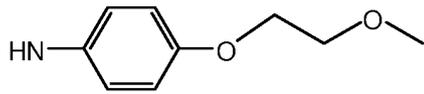
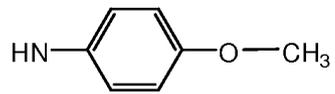
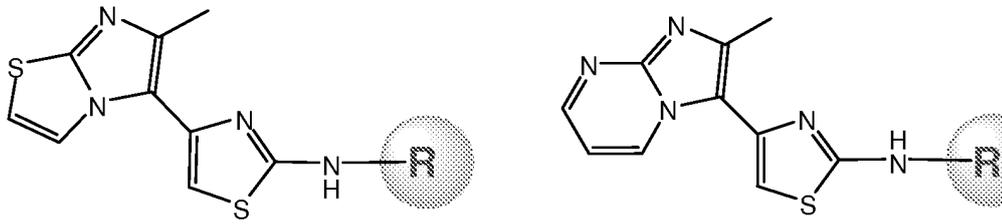


Tabla 6. Compuestos sustituidos con unidad PEG representativos.

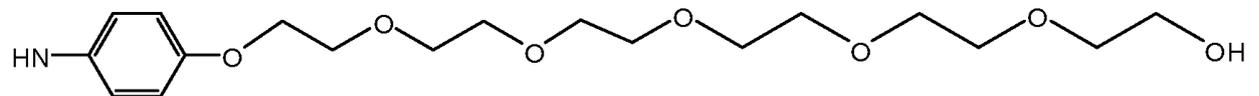
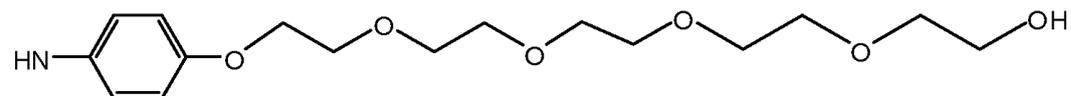
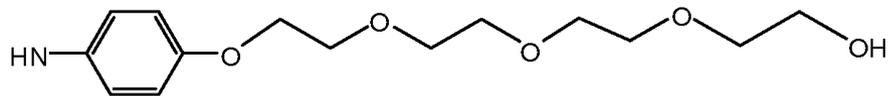
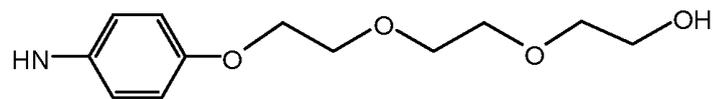
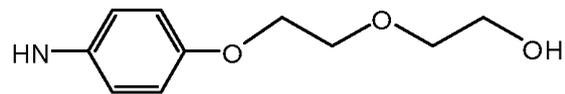
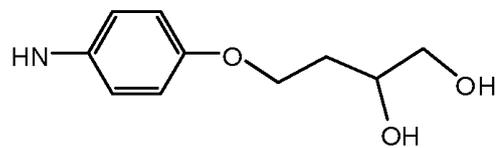
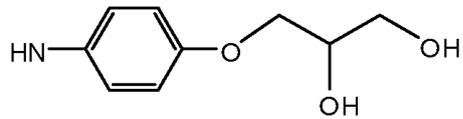
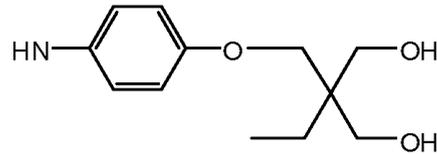
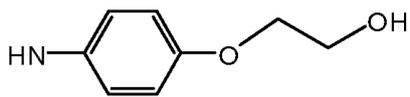
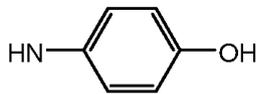
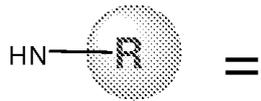
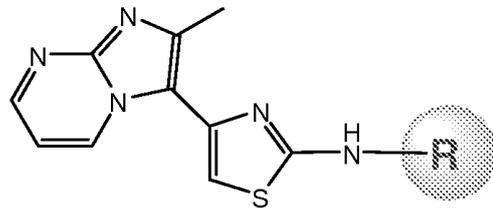
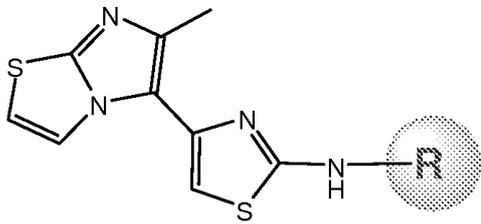
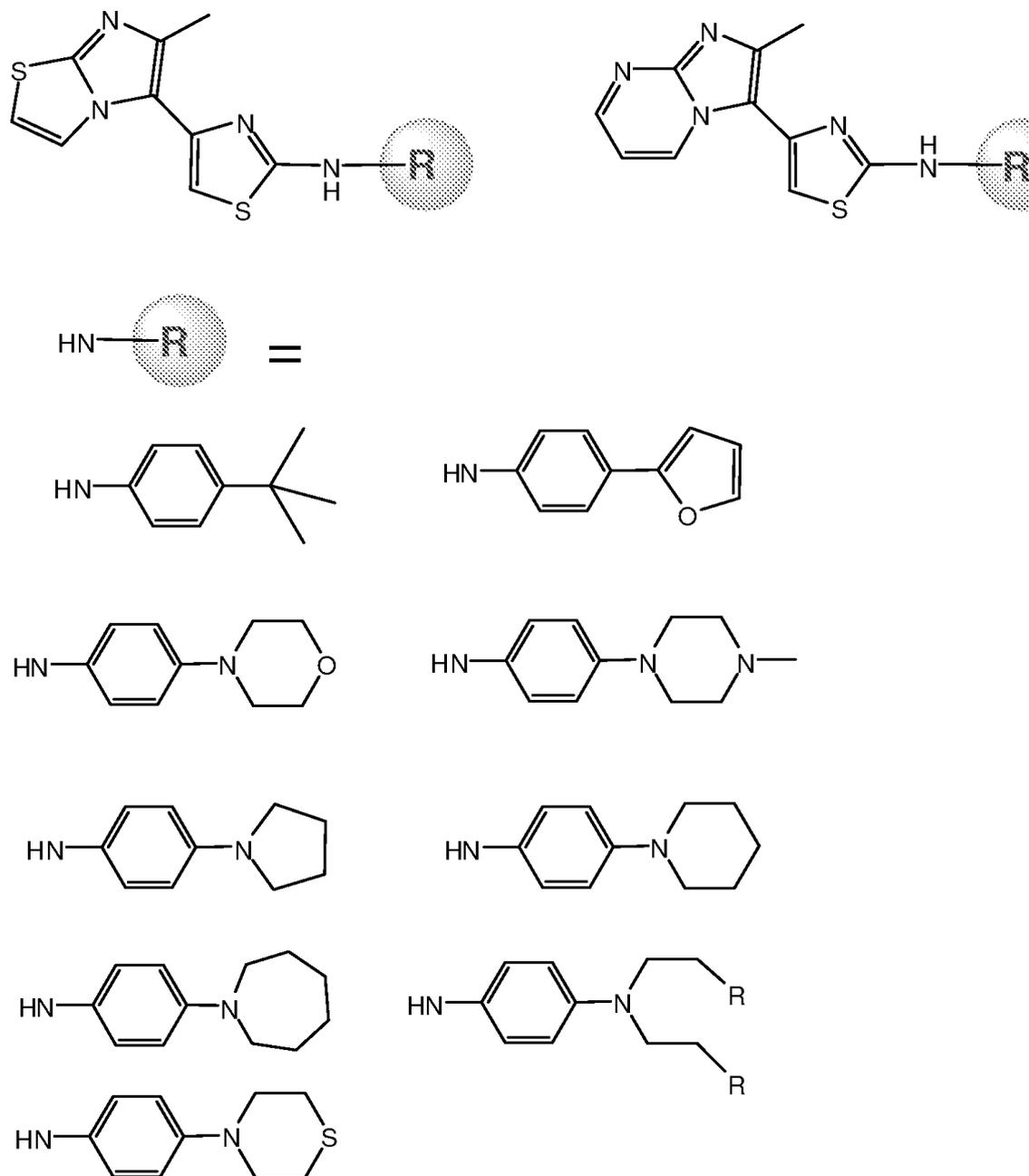


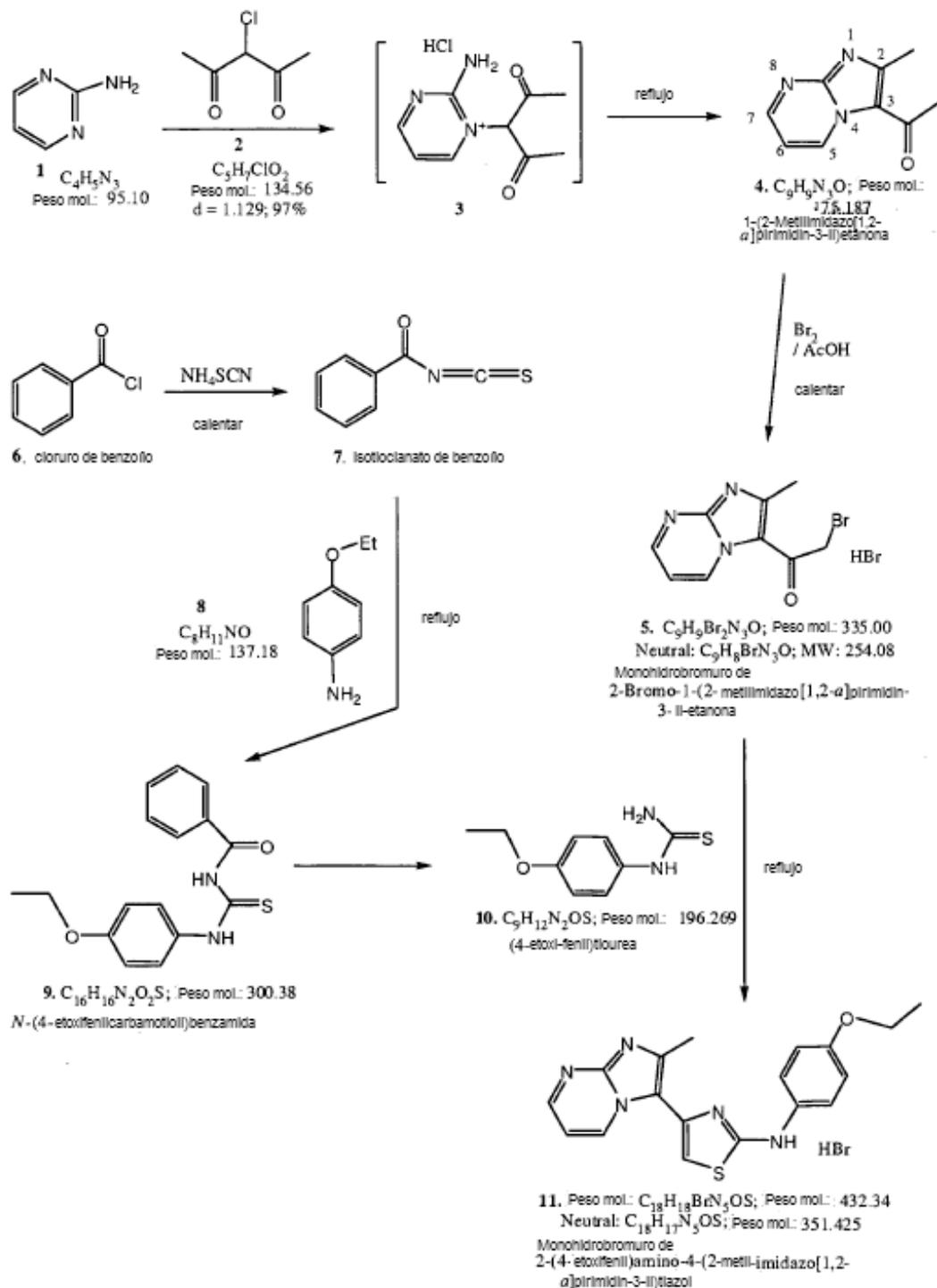
Tabla 7. Compuestos sustituidos con unidad cíclica representativos.



B.2. Síntesis ilustrativas:

- 5 Los compuestos ilustrativos se sintetizaron mediante las vías ilustradas en los Esquemas I, II y IV. Los métodos conocidos a partir de la técnica pueden ser usados y modificados por los expertos en la técnica para producir los compuestos de la invención a partir de los materiales iniciales disponibles. Se describen métodos de síntesis adicionales para los compuestos dentro del alcance de la invención, por ejemplo, en Hayakawa et ál., *Biorg. Med. Chem.* tomo 15, 403-12 (2007); Ermola'ev, et ál., *J. Comb. Chem.* tomo 8, 659-63 (2006); Carballares, et ál., *Tetrahedron Lett.* tomo 48, 2041-45 (2007); y Rupert, et ál., *Biorg. Med. Chem. Lett.* tomo 13, 347-50 (2003).
- 10

Esquema I. Síntesis de derivados de imidazopirimidina tiazol



Síntesis de 1-(2-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)etanon (4).

- 5 Se disolvió 3-cloro-2,5-pentanodiona (2) (106 mL, 119 g, 887 mmol, 1,2 eq) en 650 mL de etanol anhidro. Se agregó 2-aminopirimidina (1) (71,5 g x 97 % = 69,36 g, 729 mmol) a la solución agitada anterior. La mezcla resultante se sometió a reflujo durante 40 h a una temperatura de baño de aceite de 100-105 °C. La mezcla de reacción negra se enfrió y concentró a presión reducida. El residuo se trató con solución de bicarbonato de sodio saturado (~500 mL) en partes, y dilató el matraz para mezclarse bien. La mezcla se extrajo con diclorometano (x 6). Los extractos se lavaron con solución de bicarbonato de sodio y salmuera. La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (7 x 30 cm) mediante elución en gradiente usando
- 10

n-hexano-acetato de etilo (3:1, 2:1, 1:1, 1:2 y 0:1) y luego diclorometano-metanol (30:1, 20:1, 10:1 y 5:1). Se recogieron las fracciones de producto (TLC, R_f 0,36, acetato de etilo al 100 %) y se concentraron para proporcionar un sólido negro claro. Se recogieron otras fracciones que contenían productos y se volvieron a purificar de la misma manera. Se obtuvieron 27,84 g (21,8 %) del producto final. Una parte del producto se volvió a cristalizar a partir de una cantidad pequeña de acetonitrilo para proporcionar cristales de color rojo a pardo claro **4**, m.p. 255,6-256,6 °C. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2,65 (s, 3H, 3-COCH₃), 2,86 (s, 3H, 2-CH₃), 7,04-7,12 (m, 1H, 6-H), 7,70-7,74 (m, 1H), 9,96-10,00 (m, 1H).

Síntesis de monobromhidrato de 2-bromo-1-(2-metilimidazol[1,2-a]pirimidin-3-il)etanona (**5**) (bromación).

Se disolvió 1-(2-metilimidazol[1,2-a]pirimidin-3-il)etanona (**4**) (1,75 g, 10 mmol) en 20 mL de ácido acético glacial calentando suavemente el matraz, que luego se enfrió hasta temperatura ambiente. Se agregó una solución de bromo (0,6 mL, 1,85 g, 11,5 mmol, 1,15 eq) en 4 mL de ácido acético lentamente a la mezcla de reacción agitada anterior a temperatura ambiente durante más de 30 min. [Advertencia: el bromo es muy corrosivo. La manipulación del bromo debe realizarse con mucho cuidado en la campana extractora bien ventilada. El operario necesita utilizar guantes dobles o guantes largos. Evitar por completo que salpique sobre la piel y respirar el vapor]. Parte del sólido se precipitó antes de finalizar la adición. La mezcla de reacción se agitó a una temperatura de baño de aceite de 100-110 °C durante 3 horas, y luego se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El sólido se filtró y lavó varias veces con acetona, se lavó ocasionalmente con etanol anhidro en medio del lavado de acetona. El sólido pardo claro se absorbió con acetona que contenía una pequeña cantidad de etanol, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante más de 5 horas. El sólido se filtró, y el sólido se lavó como se mencionó anteriormente (se recomienda otro ciclo de absorción y lavado para una escala mayor). Después de secar al vacío, se obtuvieron 2,43 g (72,5 %) de producto sólido en polvo pardo pálido **5** como la sal de monobromhidrato. Se descompuso por encima de 250 °C. TLC, R_f 0,42 (acetato de etilo al 100 %). $^1\text{HNMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 2,82 (s, 3H, 2-CH₃), 4,83 (s, 2H, CH₂Br), 7,40-7,50 (m, 1H), 8,80-8,90 (m, 1H), 9,82-9,90 (m, 1H).

Síntesis de 1-benzoil-3-[4-(etoxifenil)]tiourea (**9**).

[Referencias: ARKIVOC 2003, 434-442; Bioorg. Med. Chem. 2000, 2663]. Se agregó cloruro de benzoilo (**6**) (14,0 mL, 16,95 g, 120 mmol) por goteo a temperatura ambiente a una solución agitada de tiocianato de amonio (10,26 g, 135 mmol, 1,125 eq) en 100 mL de acetona. Se precipitó algo de sólido blanco. La mezcla de reacción se calentó hasta reflujo durante 5 min (temperatura de aceite ~65-70 °C). El isotiocianato de benzoilo (**7**) obtenido de esa manera se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación. Se agregó una solución de 4-etoxianilina (**8**) (17,0 mL, 18,1 g, 132 mmol, 1,1 eq) en 25 mL de acetona lentamente a la mezcla de reacción agitada anterior mientras todavía se encontraba en el baño de aceite (65-70 °C). La adición se debe realizar muy lentamente durante ~1 h teniendo en cuenta la reacción exotérmica. Se precipitó bastante sólido blanco. La mezcla de reacción se dilató a mano y se sometió a reflujo adicionalmente durante 5 min. La mezcla de reacción enfriada se vertió en agua helada. El sólido se filtró y se lavó 3 veces con agua. El sólido se volvió a cristalizar a partir de etanol (~1,6 L) para proporcionar el producto deseado **9** como agujas largas de color amarillo claro, rendimiento 36 g (99 %), m.p. 151,0-153,5 °C.

Síntesis de (p-etoxifenil)tiourea (**10**).

Se agregó una solución acuosa de hidróxido de sodio (1 M, 60 mL, 60 mmol, 1,2 eq) a una mezcla agitada de 1-benzoil-3-[4-(etoxifenil)]tiourea (**9**) (16,5 g, 55 mmol) en 350 mL de etanol. La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 1 hora, se enfrió y se concentró. El sólido blanco se trató con agua (~200 mL). El sólido se filtró y se lavó con agua. El producto cristalino bruto se volvió a cristalizar a partir de etanol, se filtró y se secó al vacío para proporcionar 7,66 g (71,0 %) del producto deseado **10**, m.p. 176,5-178,5 °C. TLC, R_f 0,45 (n-hexano-acetato de etilo: 1:1). $^1\text{HNMR}$ ($\text{DMSO}-D_6$) δ 1,31 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz), 4,00 (q, 2H, $J = 6,8$ Hz), 6,80-6,90 (m, 2H), 7,15-7,25 (m, 2H), 9,50 (s, 1H, NH).

Síntesis de monobromhidrato de 2-(4-etoxifenilamino)-4-(2-metilimidazol[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol (**11**) (ciclización en el anillo tiazol).

Una mezcla de monobromhidrato de 2-bromo-1-(2-metilimidazol[1,2-a]pirimidin-3-il)etanona (**5**) (2,43 g, 7,25 mmol) y (p-etoxifenil)tiourea (**10**) (1,40 g, 7,1 mmol) en 140 mL de etanol anhidro se sometió a reflujo en agitación durante 15 h (temperatura de baño de aceite ~105 °C). Luego se agitó a temperatura ambiente durante 6 h o durante la noche. El sólido se filtró y se lavó con acetona. Los cristales blandos brutos se absorbieron con acetona-etanol (3:1) y se agitaron a temperatura ambiente durante más de 6 h o durante la noche. El sólido se filtró y se lavó como se indicó anteriormente. El producto bruto se absorbió con acetona-etanol (3:1) y se agitó a temperatura ambiente durante más de 6 h. El producto bruto se filtró, lavó y volvió a cristalizar a partir de metanol. La solución de metanol se filtró mientras se encontraba caliente para retirar el polvo negro, y luego se calentó en solución. Los cristales amarillos se filtraron y lavaron. Se volvió a cristalizar dos veces más a partir de metanol, y se secó al vacío para proporcionar el producto deseado **11** como agujas amarillas blandas largas, rendimiento 1,55 g (50,5 %), se descompusieron por encima de 240 °C. TLC R_f 0,32 (diclorometano-metanol: 20:1); R_f 0,46 (diclorometano-metanol que contenía: 20:1 que contenía solución acuosa de hidróxido de amonio al 1 %); R_f 0,30 (acetato de etilo al 100 % X2). Pureza de HPLC: 99 %. $^1\text{HNMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 1,32 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz), 2,67 (s, 3H), 4,00 (q, 2H, $J = 6,8$ Hz), 6,90-6,95 (m, 2H), 7,35 (s, 1H), 7,49-7,52 (m, 2H), 7,61-7,67 (m, 1H), 8,94-8,97 (m, 1H), 9,57 (d, 1H, $J = 6,8$ Hz), 10,28 (s, 1H, NH). ESI-MS, m/z 352 ($M + 1$)⁺.

Los derivados representativos enumerados en las Tablas 2-7 se sintetizan fácilmente mediante el uso de

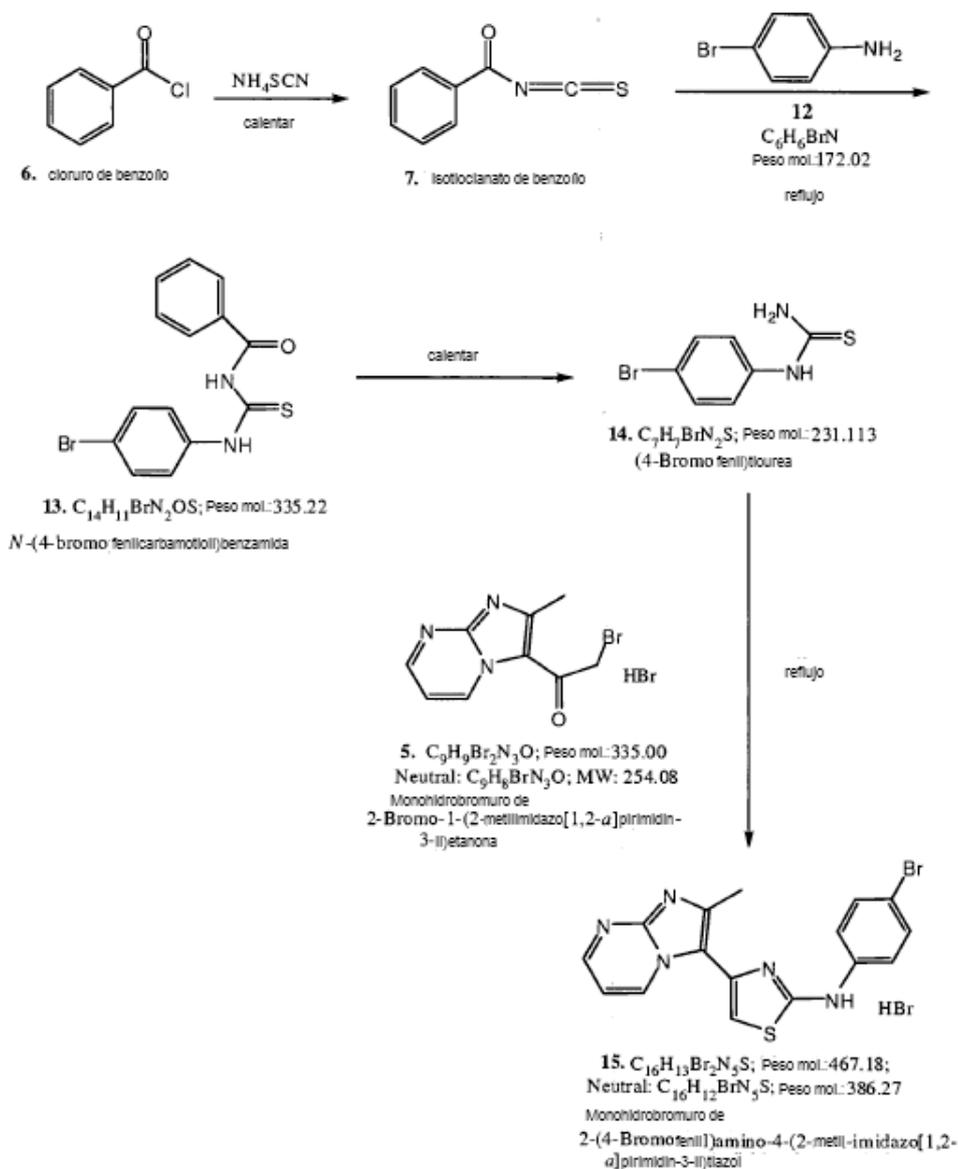
procedimientos similares a partir de los materiales iniciales conocidos o fácilmente disponibles.

Preparación de compuesto neutro a partir del compuesto 11 (sal de HBr).

- 5 La sal de HBr se suspendió en metanol, y se agregó la cantidad excesiva de bicarbonato de sodio con agitación vigorosa hasta que la sal de compuesto suspendida se disolvió por completo. Se retiró por filtración la cantidad excesiva de sal inorgánica. La solución se concentró, y el residuo se volvió a cristalizar a partir de metanol para proporcionar un material cristalino amarillo pálido como el compuesto neutro.

Preparación de distintas sales. El compuesto neutro obtenido y 1 cantidad equivalente de los ácidos seleccionados. La solución se concentró, y el residuo se volvió a cristalizar a partir de alcohol para proporcionar las sales de estas con los aniones seleccionados como se describió anteriormente.

- 10 Esquema II. Síntesis de nuevo derivado de imidazopirimidina tiazol



Síntesis de 1-benzoil-3-[4-(bromofenil)]tiourea (13).

- 15 Se agregó cloruro de benzoilo (6) (14,0 mL, 16,95 g, 120 mmol) por goteo a temperatura ambiente a una solución agitada de tiocianato de amonio (10,26 g, 135 mmol, 1,125 eq) en 100 mL de acetona. Se precipitó algo de sólido blanco. La mezcla de reacción se calentó hasta reflujo durante 5 min (temperatura de aceite ~65-70 °C). El isotiocianato de benzoilo (7) obtenido de ese modo se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación. Se agregó una solución de 4-bromoanilina (12) (22,71 g, 132 mmol, 1,1 eq) en 50 mL de acetona lentamente a la mezcla

de reacción agitada anterior mientras todavía se encontraba en el baño de aceite (65-70 °C). La adición se debe realizar muy lentamente durante ~1 h teniendo en cuenta la reacción exotérmica. Se precipitó bastante sólido blanco. La mezcla de reacción se dilató a mano y se sometió a reflujo adicionalmente durante 5 min. La mezcla de reacción enfriada se vertió en agua helada. El sólido se filtró y se lavó 3 veces con agua. El sólido se volvió a cristalizar a partir de etanol (~2 L) para proporcionar el producto deseado 13 como cristales de color amarillo claro, rendimiento 32,2 g (80,5 %), m.p. 150,0-152,7 °C.

Síntesis de (p-bromofenil)tiourea (14).

Se agregó una solución acuosa de hidróxido de sodio (1 M, 96 mL, 96 mmol, 1,2 eq) a una mezcla agitada de 1-benzoil-3-[4-(bromofenil)]tiourea (13) (26,72 g, 80 mmol) en 500 mL de etanol. La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 1 hora, se enfrió y se concentró. El sólido blanco se trató con agua (~ 300 mL). El sólido se filtró y se lavó con agua. El producto cristalino bruto se volvió a cristalizar a partir de etanol, se filtró y se secó al vacío para proporcionar 12,7 g (70 %) del producto deseado 14, TLC, R_f 0,45 (n-hexano-acetato de etilo: 1:1); m.p. 187,8-189,2 °C.

Síntesis de monobromhidrato de 2-(4-bromofenilamino)-4-(2-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol (15) (ciclización en el anillo tiazol).

Una mezcla de monobromhidrato de 2-bromo-1-(2-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)etanona (5) (1,28 g, 3,8 mmol) y (p-bromofenil)tiourea (14) (0,88 g, 3,8 mmol) en 80 mL de etanol anhidro se sometió a reflujo en agitación durante 20 h (temperatura de baño de aceite ~105 °C). Luego se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El sólido se filtró y lavó con acetona. Los cristales blandos brutos se absorbieron con acetona-etanol (3:1) y se agitaron a temperatura ambiente durante más de 6 h. El sólido se filtró y lavó como se indicó anteriormente. El producto bruto se absorbió con acetona-etanol (3:1) y se agitó a temperatura ambiente durante más de 6 h. El producto bruto se filtró, lavó y volvió a cristalizar a partir de metanol. La solución de metanol se filtró mientras aún se encontraba caliente para retirar el polvo negro, y luego se calentó en solución. El producto bruto se filtró y lavó. Se volvió a cristalizar dos veces más en metanol, y se secó al vacío para proporcionar el producto deseado 15 como cristales de color amarillo claro, rendimiento 1,448 g (81 %). TLC R_f 0,25 (diclorometano-metanol: 20:1); R_f 0,28 (acetato de etilo al 100 %, X2). $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 2,67 (s, 3H), 3,17 (s, 2H), 7,45 (s, 1H), 7,48-7,53 (m, 2H), 7,58-7,64 (m, 3H), 8,94 (d, 1H, $J = 3,6$ Hz), 9,46-9,50 (m, 1H), 10,65 (s, 1H, NH). ESI-MS, m/z 386 (M) $^+$, 388 (M + 1) $^+$.

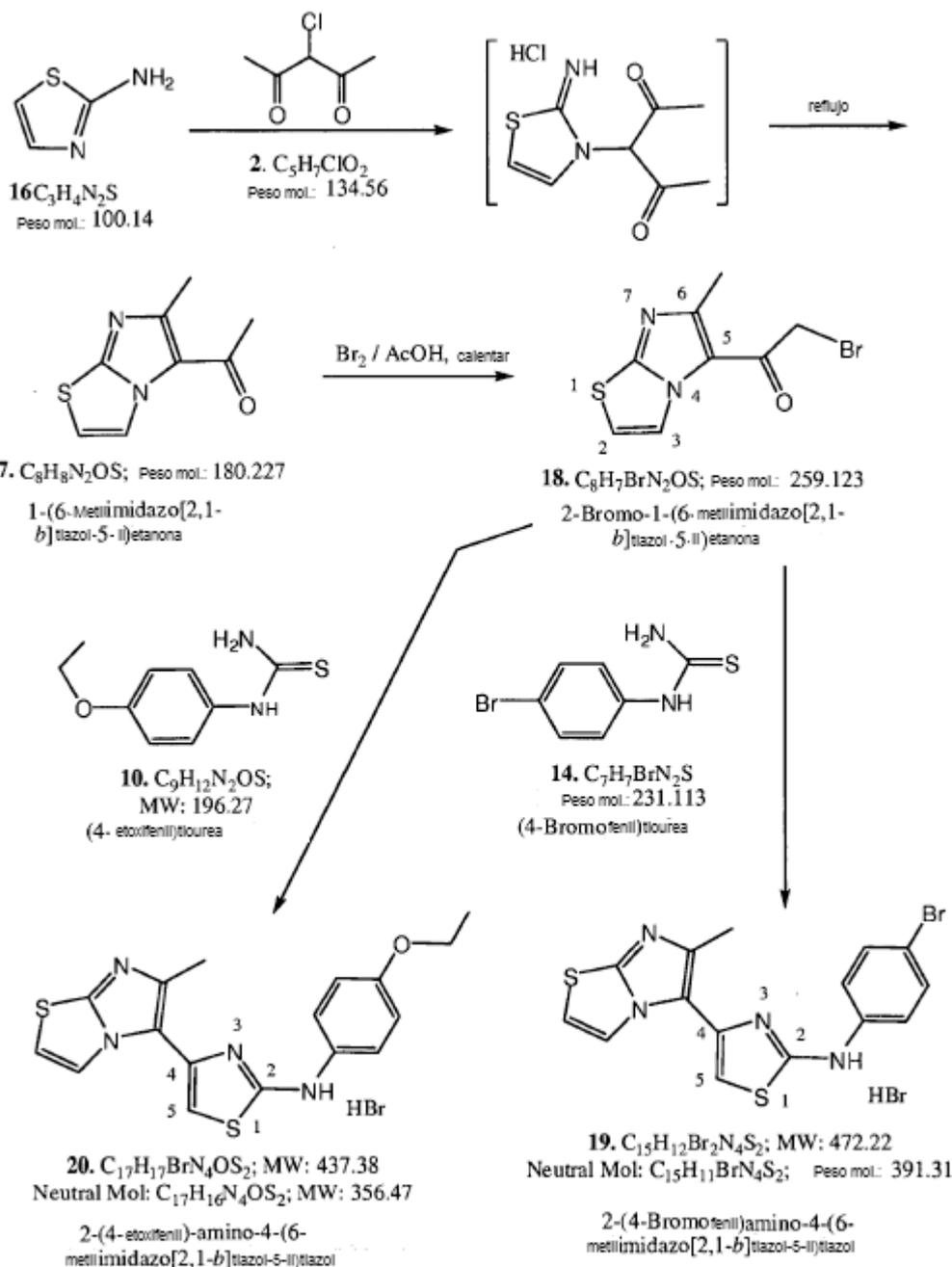
Los derivados representativos enumerados en las Tablas 2-7 se sintetizan fácilmente mediante el uso de procedimientos similares a partir de los materiales iniciales conocidos o fácilmente disponibles.

El compuesto neutro se preparó como se describió anteriormente.

Se prepararon otras sales como se describió anteriormente.

Los compuestos de la invención se pueden preparar mediante modificaciones de métodos sintéticos conocidos a partir de materiales iniciales conocidos o disponibles. Algunos compuestos ilustrativos se sintetizan como se ilustra en los Esquemas III y IV. Los métodos adicionales que se pueden utilizar para elaborar los productos o precursores para elaborarlos se describen en, por ejemplo, Andreani, et ál., *J. Med. Chem.* tomo 49, 7897-7901 (2006); Nafziger, et ál., *Cvtotechnology*, tomo 6, 227-32 (1991); Andreani, et ál., *ARKTVOG* 2004(v) 7684; Andreani, et ál., *Bioorg. Med. Chem.* tomo 8, 2359-66 (2000); Saldabol, et ál., *Engl. Transl. of Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii*, no. 1, 55-61 (1975); Andreani, et ál., *Collect. Czech. Chem. Commun.*, tomo 65, 267-79 (2000); y Andreani, et ál., *Bioorg. Med. Chem.*, tomo 12, 5525-32 (2004).

Esquema III. Síntesis de derivados de imidazotiazol tiazol



Síntesis de 1-(6-metilimidazo[2,1-*b*]tiazol-5-il)etanona (17). Se volvió a cristalizar 2-aminotiazol a partir de etanol anhidro, se filtró y se secó antes de su uso. Una solución de 2-aminotiazol (20,9 g, 202,4 mmol) y 3-cloro-2,5-pentanonodiona (2) (33,7 g, 97 %, 242,9 mmol, 1,2 eq) en 180 mL de etanol anhidro se sometió a reflujo durante 72 h en un baño de aceite. La mezcla de reacción negra se enfrió y concentró a presión reducida. El residuo se trató con solución de bicarbonato de sodio saturada en partes y luego se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice usando diclorometano-metanol (80:1). Las fracciones de producto se recogieron (TLC, R_f 0,60 forma neutra; R_f = 0,5 forma de sal, diclorometano-metanol 40:1) y se concentró para proporcionar un producto sólido blanco 17 en 11,7 % de rendimiento, 1,6 g de forma neutra y 3,2 g de forma de sal. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 2,55 (s, 3H, 5-COCH₃), 2,70 (s, 3H, 6-CH₃), 6,78 (d, 1H, J = 4,8 Hz), 8,39 (d, 1H, J = 4,8 Hz).

Síntesis de bromhidrato de 2-bromo-1-(6-metilimidazo[2,1-*b*]tiazol-5-il)etanona (18). Se disolvió 1-(6-metilimidazo[2,1-*b*]tiazol-5-il)etanona (17) (0,54 g, 3,0 mmol) en 7 mL de ácido acético glacial. Se agregó una solución de bromo (0,18

mL, 0,56 g, 3,5 mmol) en 3 mL de ácido acético glacial lentamente a la solución agitada anterior en 30 min. Apareció algo de sólido amarillo. La mezcla se calentó hasta reflujo en agitación durante 3 horas y luego se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El sólido se filtró y lavó tres veces con acetona, y fue necesaria la agitación durante 3-5 h para cada lavado. El sólido se filtró y secó al vacío para proporcionar 0,73 g (71,6 %) del producto deseado sólido blanco 18.

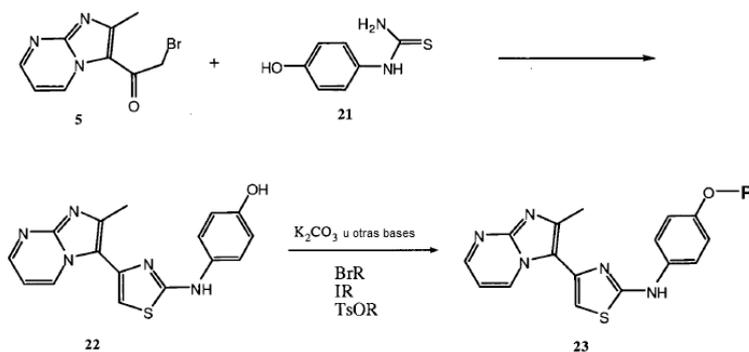
Síntesis de monobromhidrato de 2-(4-bromofenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)-tiazol (19). Una mezcla de bromhidrato de 2-bromo-1-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)etanona (18) (0,73 g, 2,0 mmol) y (p-bromofenil)tiourea (14) (0,50 g, 2,0 mmol) en 10 mL de etanol anhidro se sometió a reflujo en agitación durante 20 h, y luego se enfrió hasta temperatura ambiente. El sólido se filtró. El producto sólido blanco bruto se volvió a cristalizar a partir de metanol. La solución de metanol se filtró mientras aún se encontraba caliente para retirar el polvo que pudiera estar presente, y luego se calentó en solución. Se volvió a cristalizar dos veces más a partir de metanol, y se secó al vacío para proporcionar el producto deseado 19 como un sólido blanco, rendimiento 0,34 g (36 %), pureza de HPLC 98,49 %, mp > 250 °C. ¹HNMR (CD₃OD) δ 2,68 (s, 3H), 7,45 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 7,18-7,47 (m, 2H), 7,54-7,66 (m, 2H), 7,66 (d, 1H, J = 4,4 Hz), 8,94 (d, 1H, J = 4,4 Hz).

Síntesis de monobromhidrato de 2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)-tiazol (20). Una mezcla de bromhidrato de 2-bromo-1-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)etanona (18) (2,20 g, 6,5 mmol) y (p-etoxifenil)tiourea (10) (1,30 g, 6,5 mmol) en 40 mL de etanol anhidro se sometió a reflujo en agitación durante 20 h, y luego se enfrió hasta temperatura ambiente. El sólido se filtró. El producto sólido blanco bruto se volvió a cristalizar a partir de metanol. La solución de metanol se filtró mientras aún se encontraba caliente para retirar el polvo que pudiera estar presente, y luego se calentó en solución. Se volvió a cristalizar dos veces más a partir de metanol, y se secó al vacío para proporcionar el producto deseado 20 como un sólido blanco, rendimiento 0,64 g (22,4 %), pureza de HPLC 97,81 %, mp > 240 °C. ¹HNMR (CD₃OD) δ 1,27 (t, 3H, J = 6,8 Hz), 2,56 (s, 3H), 3,88-3,94 (m, 2H), 6,85 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 6,97 (s, 1H), 7,34 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,54 (d, 1H, J = 4,4 Hz), 8,44 (d, 1H, J = 4,4 Hz). ESI-MS m/z 357 (M + 1)⁺.

Los derivados representativos enumerados en las Tablas 1 y 3-7 se sintetizan fácilmente mediante el uso de procedimientos similares a partir de los materiales iniciales conocidos o fácilmente disponibles. El compuesto neutro se preparó como se describió anteriormente. Se prepararon otras sales como se describió anteriormente.

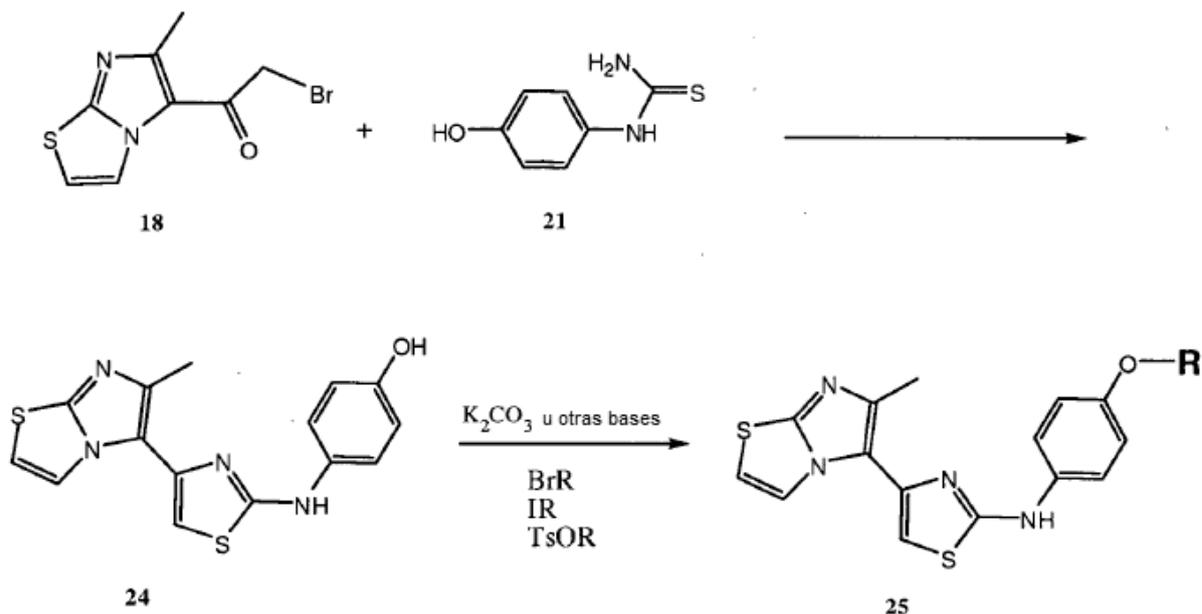
Los compuestos derivados de alquiloxi y alquiloxi sustituidos 25 y 26 también se sintetizan de acuerdo con los Esquemas IV y V mediante el uso del último método de combinación en paralelo.

Esquema IV



El bromuro intermedio 5 se condensa con tiourea 21 mediante el uso del mismo procedimiento que la síntesis de 11 y 15 que se describió anteriormente. El compuesto resultante 22 se hace reaccionar con electrófilos reactivos, tales como bromuros, yoduros o tosilatos, en condiciones básicas para proporcionar los productos deseados 23.

Esquema V



El bromuro intermedio 18 se condensa con tiourea 21 mediante el uso del mismo procedimiento que la síntesis de 19 y 20 que se describió anteriormente. El compuesto resultante 24 se hace reaccionar con electrófilos reactivos, tales como bromuros, yoduros o tosilatos, en condiciones básicas para proporcionar los productos deseados 25.

B.3. Formulación:

Cualquier formulación adecuada de los compuestos descritos en la presente se puede preparar. En los casos en los que los compuestos son lo suficientemente básicos o ácidos como para formar sales ácidas o básicas estables no tóxicas, puede resultar adecuada la administración de los compuestos como sales. Algunos ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son las sales de adición de ácidos orgánicos formadas con ácidos que forman un anión fisiológicamente aceptable, por ejemplo, tosilato, metanosulfonato, acetato, citrato, malonato, tartrato, succinato, benzoato, ascorbato, α -cetoglutarato y α -glicerofosfato. También pueden formarse sales inorgánicas adecuadas, inclusive sales de clorhidrato, sulfato, nitrato, bicarbonato y carbonato. Las sales farmacéuticamente aceptables se obtienen mediante el uso de procedimientos estándar conocidos en la técnica, por ejemplo, al poner en contacto un compuesto suficientemente básico, tal como una amina, con un ácido adecuado, lo que proporciona una sal fisiológicamente aceptable. Las sales de metal alcalino (por ejemplo, sodio, potasio o litio) o metal alcalinotérreo (por ejemplo, calcio) de ácidos carboxílicos también se incluyen, y se preparan mediante métodos convencionales.

La invención también incluye composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la invención mezclado con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente, al menos uno de dichos excipientes es un excipiente distinto de agua o un alcohol C1-C3 o un sulfóxido de dimetilo.

Los compuestos de la invención se pueden administrar mediante vías convencionales, que incluyen la vía oral, tópica, transdérmica, o mediante inhalación o inyección. Los compuestos de la invención pueden ser formulados por los expertos en la técnica mediante referencia a los métodos conocidos, y la formulación se puede ajustar de acuerdo con la vía de administración deseada. Los métodos adecuados para formular compuestos orgánicos se describen, por ejemplo, en REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18.^a ed. (1990), que se incorpora a la presente mediante referencia.

Cuando estos compuestos se administran en una composición farmacológica, se contempla que el compuesto se pueda formular mezclado con un portador farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, los compuestos contemplados se pueden administrar por vía oral como sales farmacológicamente aceptables, o por vía intravenosa en una solución salina fisiológica. Los amortiguadores convencionales tales como fosfatos, bicarbonatos o citratos se pueden usar con este propósito. Por supuesto, un experto en la técnica puede modificar las formulaciones según las indicaciones de la memoria descriptiva para proporcionar varias formulaciones para una vía de administración particular. En particular, los compuestos contemplados se pueden modificar para hacer que son más solubles en agua u otro vehículo, lo que, por ejemplo, se puede lograr fácilmente con pequeñas modificaciones (formulación de sal, esterificación, etc.) conocidas por los expertos en la técnica. El experto en la técnica también sabe cómo modificar la vía de administración y el régimen de dosificación de un compuesto particular para gestionar la farmacocinética de los compuestos de la presente para lograr un efecto beneficioso máximo en un paciente.

Los compuestos que tienen la fórmula I-X como se describe en la presente son generalmente solubles en solventes orgánicos tales como cloroformo, diclorometano, acetato de etilo, etanol, metanol, isopropanol, acetonitrilo, glicerol, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, dimetilsulfóxido, etc. En una realización, la presente invención proporciona formulaciones preparadas mediante la mezcla de un compuesto que tiene la fórmula I-X con un portador farmacéuticamente aceptable. En un aspecto, la formulación se puede preparar mediante el uso de un método que comprende: a) disolver un compuesto descrito en un solvente orgánico soluble en agua, un solvente no iónico, un lípido soluble en agua, una ciclodextrina, una vitamina tal como tocoferol, un ácido graso, un éster de ácido graso, un fosfolípido, o una combinación de los mismos, para proporcionar una solución; y b) agregar solución salina o un amortiguador que contenga 1-10 % de solución de carbohidrato. En un ejemplo, el carbohidrato comprende dextrosa. Las composiciones farmacéuticas obtenidas mediante el uso de los métodos de la presente son estables y útiles para aplicaciones clínicas y en animales.

Los ejemplos ilustrativos de solventes orgánicos solubles en agua para su uso en los métodos de la presente incluyen, pero no se limitan a, polietilenglicol (PEG), alcoholes, acetonitrilo, *N*-metil-2-pirrolidona, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, sulfóxido de dimetilo, o una combinación de los mismos. Los ejemplos de alcoholes adecuados incluyen, pero no se limitan a, metanol, etanol, isopropanol, glicerol o propilenglicol.

Los ejemplos ilustrativos de tensioactivos no iónicos solubles en agua para su uso en los métodos de la presente incluyen, pero no se limitan a, CREMOPHOR® EL, CREMOPHOR® modificado con polietilenglicol (polioxietilengliceroltricinoleat 35), CREMOPHOR® RH40 hidrogenado, CREMOPHOR® RH60 hidrogenado, PEG-succinato, polisorbato 20, polisorbato 80, SOLUTOL® HS (12-hidroxiestearato de polietilenglicol 660), monooleato de sorbitano, poloxámero, LABRAFIL® (aceite pérsico etoxilado), LABRASOL® (capril-caproil macrogol-8-glicérido), GELUCIRE® (gliceroléster), SOFTIGEN® (glicérido caprílico de PEG 6), glicerina, glicol-polisorbato, o una combinación de los mismos.

Los ejemplos ilustrativos de lípidos solubles en agua para su uso en los métodos de la presente incluyen, pero no se limitan a, aceites vegetales, triglicéridos, aceites de plantas, o una combinación de los mismos. Los ejemplos de aceites lípidos incluyen, pero no se limitan a, aceite de ricino, aceite de ricino polioxilo, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de algodón, aceite de maní, aceite de menta, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de soja, aceite vegetal hidrogenado, aceite de soja hidrogenado, un triglicérido de aceite de coco, aceite de palma y formas hidrogenadas de los mismos, o una combinación de los mismos.

Los ejemplos ilustrativos de ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos para su uso en los métodos de la presente incluyen, pero no se limitan a, ácido oleico, monoglicéridos, diglicéridos, un éster mono- o di-ácido graso de PEG, o una combinación de los mismos.

Los ejemplos ilustrativos de ciclodextrinas para su uso en los métodos de la presente incluyen, pero no se limitan a, alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina, hidroxipropil-beta-ciclodextrina o éter de sulfobutilo-beta-ciclodextrina.

Los ejemplos ilustrativos de fosfolípidos para su uso en los métodos de la presente incluyen, pero no se limitan a, fosfatidilcolina de soja, o diestearoil fosfatidilglicerol y formas hidrogenadas de los mismos, o una combinación de los mismos.

Un experto en la técnica puede modificar las formulaciones según las indicaciones de la memoria descriptiva para proporcionar varias formulaciones para una vía de administración particular. En particular, los compuestos se pueden modificar para hacerlos más solubles en agua u otro vehículo. El experto en la técnica también sabe cómo modificar la vía de administración y el régimen de dosificación de un compuesto particular para gestionar la farmacocinética de los compuestos de la presente para lograr un efecto beneficioso máximo en un paciente.

C. Métodos de uso de los compuestos inventados y las composiciones farmacéuticas de los mismos

C.1. Métodos de uso de los compuestos inventados

Los compuestos de la presente invención se pueden usar como agentes citotóxicos y/o citostáticos para tratar cánceres u otros tipos de enfermedades proliferativas. Estos compuestos pueden funcionar mediante cualquier tipo de mecanismos de acción. Por ejemplo, los compuestos pueden inhibir moléculas y/o vías de transducción de señales que conllevan la interrupción del ciclo celular en la fase G2/M, que finalmente podría inducir la apoptosis en células tumorales (véase, por ejemplo, Weung et ál. (1997) *Biochim. Biophys. Res. Comm.*, tomo: 263, pp 398-404). En otro ejemplo, los compuestos pueden alterar el montaje/desmontaje de tubulina, lo que puede inhibir la mitosis celular e inducir la apoptosis celular (véase, por ejemplo, Panda et ál., (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, tomo: 94, 10560-10564). Los compuestos también pueden inhibir la proliferación de células endoteliales y el efecto de la angiogénesis (véase, por ejemplo, Witte et ál., 1998, *Cáncer Metástasis Rev.*, tomo 17: 155-161).

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método de tratamiento de cánceres de todos los orígenes de tejido y órgano que incluyen, pero no se limitan a, sarcoma, cáncer epidermoide, fibrosarcoma, cáncer de cuello uterino, leucemia, linfoma, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de colon, cáncer de SNC, melanoma, cáncer de ovario, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de mama, cánceres de cabeza y cuello, cáncer pancreático y otros tipos de enfermedad proliferativa en un mamífero que comprende la administración de una

cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que presenta la Fórmula I-X como un agente citotóxico y/o citostático a dicho sujeto que necesita dicho tratamiento, en al menos un tratamiento.

5 En aun otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para fabricar una preparación farmacéutica para el tratamiento de cánceres de todos los orígenes de tejido y órgano que incluyen, pero no se limitan a, leucemia, linfoma, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de SNC, melanoma, cáncer de ovario, cáncer renal, cáncer de próstata o cáncer de mama, y otros tipos de una enfermedad proliferativa, que comprende mezclar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que presenta la Fórmula I-X con un portador farmacéuticamente aceptable.

10 Para poner en práctica el método de la presente invención, los compuestos que presentan la fórmula I-X y composiciones farmacéuticas de los mismos se pueden administrar por vía oral, parenteral, mediante aerosol para inhalación, por vía tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal, mediante un depósito implantado, u otros métodos de administración de fármacos. Tal como se usa en la presente, el término «parenteral» incluye técnicas de inyección o infusión subcutáneas, intracutáneas, intravenosas, intramusculares, intraarticulares, intraarteriales, intrasinoviales, intraesternales, intratecales, intralesionales e intracraneales. En algunas realizaciones, los compuestos de la invención se administran mediante inyección, es decir, por vía parenteral. En algunas realizaciones, la vía de administración preferida es mediante inyección intravenosa o intraperitoneal.

15 Es posible formular una composición inyectable estéril, tal como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril, de acuerdo con las técnicas conocidas en la técnica mediante el uso de agentes humectantes o dispersantes y de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable. Entre los solventes y vehículos aceptables que pueden ser empleados se encuentran el manitol, el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites estériles fijos se emplean convencionalmente como un solvente o medio de suspensión (por ejemplo, mono- o di-glicéridos sintéticos). Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados glicéridos, son útiles en la preparación de inyectables, ya que son aceites farmacéuticamente aceptables, tales como aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxiethyladas. Estas soluciones o suspensiones oleosas también pueden contener un diluyente o dispersante de alcohol de cadena larga, o carboximetilcelulosa o agentes dispersantes similares. A los efectos de la formulación, también pueden usarse varios agentes emulsionantes o potenciadores de la biodisponibilidad que se usan comúnmente en la fabricación de sólidos, líquidos u otras formas de dosificación farmacéuticamente aceptables.

20 Una composición para administración oral puede ser cualquier forma de dosificación oralmente aceptable, lo cual incluye, pero no se limita a, comprimidos, cápsulas, emulsiones y suspensiones, dispersiones y soluciones acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los portadores comúnmente utilizados incluyen lactosa y almidón de maíz. También se pueden añadir agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio. En el caso de la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se administran suspensiones o emulsiones acuosas en forma oral, el ingrediente activo puede suspenderse o disolverse en una fase oleosa combinada con agentes emulsionantes o de suspensión. Si se necesita, también pueden agregarse determinados agentes edulcorantes, saborizantes o colorantes. Se puede preparar una composición para inhalación o aerosol nasal conforme a las técnicas conocidas en la técnica de formulación farmacéutica y puede ser preparada como soluciones en, por ejemplo, solución salina que emplea conservantes adecuados (por ejemplo, alcohol bencílico), promotores de absorción para mejorar la biodisponibilidad y/u otros agentes de dispersión o disolución conocidos en la técnica.

25 Se puede determinar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención mediante experimentación habitual, como se sabe en la técnica. Comúnmente, esto implica la administración de una cantidad que se muestra que es bien tolerada, y aumentar gradualmente la dosificación hasta que se logra un efecto deseado, tal como la reducción de los síntomas, la reducción del tamaño del tumor o la interrupción del crecimiento del tumor. En algunas realizaciones, se usa una dosificación inicial de aproximadamente 5-10 mg/kg, y la dosificación aumenta de manera incremental una vez por semana en aproximadamente 50 % cada vez hasta que se observa un efecto deseado o problemas de tolerancia. En algunas realizaciones, una dosificación adecuada es de entre aproximadamente 5 y 250 mg/kg; o entre aproximadamente 10 y 150 mg/kg. A veces se prefieren las dosificaciones entre 10 y 100 mg/kg.

30 La dosificación se puede realizar una vez, una vez por semana, una vez por día o más de una vez por día. En algunas realizaciones, se administran 1-4 dosis por día a un sujeto que necesita tratamiento.

35 Además, los compuestos con la fórmula I-X se pueden administrar solos o junto con otros agentes anticancerosos para el tratamiento de varios cánceres o afecciones. Las terapias de combinación de acuerdo con la presente invención comprenden la administración de al menos un compuesto de la presente invención o un derivado funcional del mismo y al menos otro ingrediente farmacéuticamente activo. El o los ingredientes activos y agentes farmacéuticamente activos se pueden administrar por separado o en conjunto. La cantidad del o los ingredientes activos y agente o agentes farmacéuticamente activos y los momentos relativos de administración se seleccionarán para lograr el efecto terapéutico combinado deseado.

40 En aun otro aspecto, la presente invención se refiere a un método de tratamiento de restenosis después de la implantación de un estent coronario para pacientes con enfermedades arteriales coronarias con un compuesto que

presenta la fórmula I-X.

La principal causa de restenosis después de la implantación de un estent coronario para pacientes con enfermedad arterial coronaria es la hiperplasia neointimal generada a partir de la proliferación y migración de células de músculo liso y producción de matriz extracelular (véase, por ejemplo, "Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans", de Farb, A., Sangiorgi, G., Certer, A.J., et ál, en *Circulation*, tomo 99, pp 44-52, 1999). Los compuestos que tienen potencial antiproliferativo pueden afectar la reducción del riesgo de restenosis clínica y angiográfica cuando se administran dichos compuestos mediante un medio adecuado (véase, por ejemplo, "A polymer-based, paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease", de Stone, G.W., Ellis, S.G., Cox, D.A, et ál, en *New England Journal of Medicine*, tomo 350: pp 221-231, 2004). Por lo tanto, con los compuestos que presentan la fórmula I-IX para tratar un tumor, también pueden ser útiles para inhibir la proliferación de las células implicadas en la hiperplasia neointimal y, por lo tanto, reducir la incidencia de hiperplasia neointimal y restenosis. Se pueden usar varios métodos para administrar de forma eficaz los compuestos a estas células. Por ejemplo, se puede administrar una composición que comprende los compuestos descritos anteriormente que presentan la fórmula I-X por vía oral, parenteral, o mediante un depósito implantado. En otros ejemplos, también se pueden usar los enfoques descritos en los siguientes documentos: "A polymer-based, paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease", de Stone, G.W., Ellis, S.G., Cox, D.A. et ál, en *New England Journal of Medicine*, tomo 350: pp 221-231, 2004; "A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization", de Morice, M.-C., Serruys, P.W., Sousa, J.E., et ál, en *New England Journal of Medicine*, tomo 346: pp 1773-1780, 2002; "Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery", de Moses, J.W., León, M.B., Popma, J.J., et ál, en *New England Journal of Medicine*, tomo 349: pp 1315-1323, 2003.

C.2. Ensayo biológico y actividad anticancerosa:

C.2.1 Ensayo celular in vitro mediante el uso de un sistema de detección electrónica celular en tiempo real (RT-CES)

La actividad biológica de los compuestos descritos en la presente se controló y describió usando el sistema de detección electrónico celular en tiempo real (RT-CES®) de ACEA Biosciences, Inc. El sistema RT-CES utiliza tecnología de impedancia de sustrato celular para controlar el comportamiento celular dentro de pocillos de cultivo de tejido en un formato de placas de microtitulación. La tecnología forma parte de la integración de biología molecular y celular con microelectrónica y se basa en la detección electrónica del proceso de ensayo biológico. Los detalles de esta tecnología de detección electrónica celular y dispositivos asociados, sistemas y métodos de uso como se describe en la solicitud provisional de EE.UU. número 60/379,749, presentada el 20 de julio de 2002; solicitud provisional de EE.UU. número 60/435,400, presentada el 20 de diciembre de 2002; solicitud provisional de EE.UU. número 60/469,572, presentada el 9 de mayo de 2003, solicitud PCT número PCT/US03/22557, presentada el 18 de julio de 2003; solicitud PCT número PCT/US03/22537, presentada el 18 de julio de 2003; la solicitud de patente de EE.UU. número 10/705,447, presentada el 10 de noviembre de 2003; solicitud de patente de EE.UU. número 10/705,615, presentada el 10 de noviembre de 2003, cada una de las cuales se incorpora por referencia. Se describen detalles adicionales de tecnología RT-CES en la solicitud provisional de EE.UU. número 60/519,567, presentada el 12 de noviembre de 2003, y la solicitud provisional de EE.UU. número 60/542,927, presentada el 9 de febrero de 2004.

Para la medición de sustratos celulares o impedancia de electrodos celulares mediante el uso de tecnología RT-CES, se fabrican microelectrodos con geometría apropiada sobre las superficies inferiores de placas de microtitulación o un dispositivo similar, enfrentados a los pocillos. Las células se introducen en los pocillos de los dispositivos, y hacen contacto con y se unen a las superficies de los electrodos. La presencia, ausencia o cambio de propiedades de células afecta el pasaje electrónico e iónico en las superficies de detección de los electrodos. La medición de la impedancia entre los electrodos proporciona información importante acerca del estado biológico de las células presentes en los sensores. Cuando existen cambios en el estado biológico de las células, se miden las señales de lectura electrónica analógica de forma automática y en tiempo real, y se convierten en señales digitales para el procesamiento y análisis. En un sistema RT-CES, se obtiene y proporciona de forma automática un índice celular (representación arbitraria del cambio en la impedancia) en función de los valores de impedancia de electrodos medidos. El índice celular obtenido para un pocillo determinado refleja: 1) cuántas células se unen a las superficies de electrodos en este pocillo; 2) cómo se unen las células del pocillo a las superficies de los electrodos en este pocillo. Por lo tanto, cuantas más células del mismo tipo en condiciones fisiológicas similares se unen a las superficies de los electrodos, mayor será el índice celular. Y, cuanto mejor se unen las células a las superficies de los electrodos (por ejemplo, las células se expanden más para que tengan mayores áreas de contacto, o las células se unen de forma más estrecha a las superficies de los electrodos), mayor será el índice celular.

El sistema RT-CES comprende tres componentes, un analizador de detección electrónica, una estación de dispositivo y dispositivos de microtitulación de 16X o 96X. La red de sensores de microelectrodos se fabricó en portaobjetos de vidrio con métodos de microfabricación litográfica y los portaobjetos que contenían electrodos se montaron en bandejas de plástico para formar pocillos que contuvieran electrodos. La estación del dispositivo recibe los dispositivos de placas de microtitulación de 16X o 96X y puede cambiar electrónicamente cualquiera de los pocillos al analizador de detección para la medición de la impedancia. En funcionamiento, los dispositivos con células cultivadas en los pocillos se colocan en una estación de dispositivo que se ubica dentro de una incubadora. Los cables eléctricos conectan la estación del dispositivo al analizador de detección. Bajo el control del software de RT-CES, el analizador de detección puede seleccionar automáticamente los pocillos que se medirán y realiza de forma continua las

mediciones de impedancia. Los datos de impedancia del analizador se transfieren a un ordenador, se analizan y procesan mediante el software integrado.

La impedancia medida entre los electrodos en un pocillo individual depende de la geometría del electrodo, la concentración iónica en el pocillo y de si hay células unidas a los electrodos. En ausencia de células, se determina principalmente la impedancia de los electrodos según el entorno iónico en la interfaz de solución/electrodo y en la solución a granel. En presencia de células, las células unidas a las superficies de detección de electrodos modificarán el entorno iónico local en la interfaz de superficie/electrodo, lo que conlleva un aumento de la impedancia. Cuantas más células haya en los electrodos, mayor será el aumento de la impedancia de células-electrodos. Además, el cambio de impedancia también depende de la morfología celular y el alcance hasta el cual las células se unen a los electrodos.

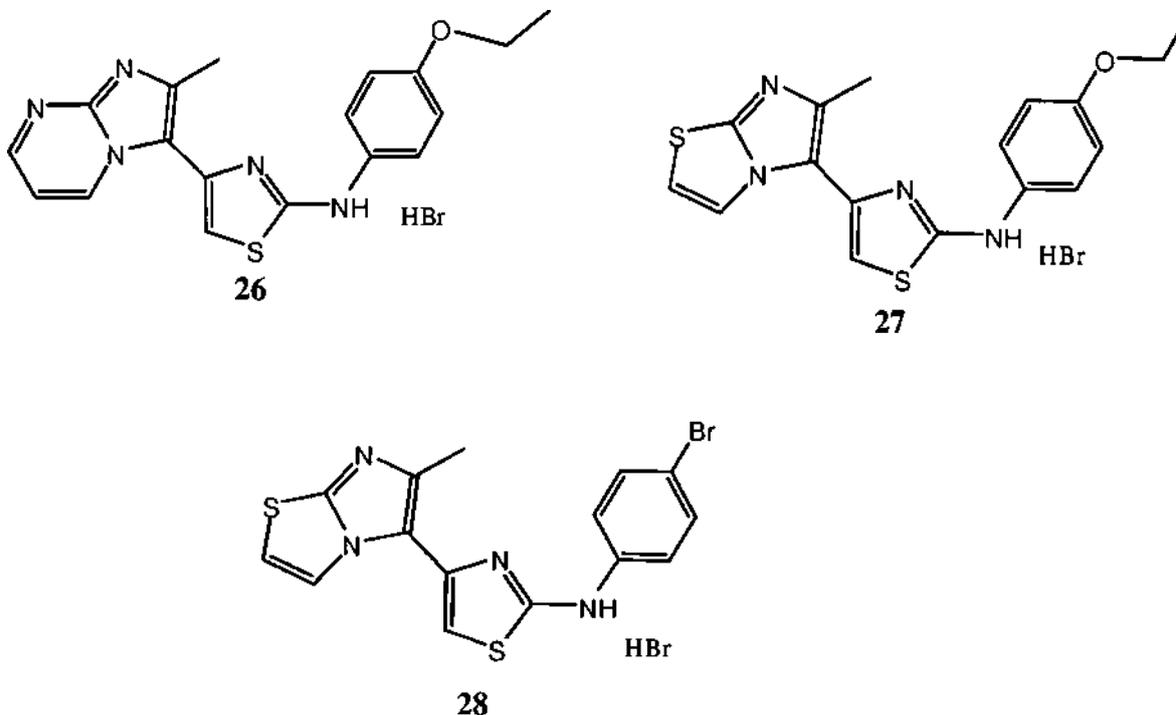
Para cuantificar el estado celular en función de la impedancia de células-electrodos medida, se obtiene un parámetro denominado índice celular. El índice celular es una medida cuantitativa del estado de las células en un pocillo que contiene electrodos. En las mismas condiciones fisiológicas, más células unidas a los electrodos conlleva un mayor valor de resistencia a células-electrodos, lo que conlleva un mayor valor de índice celular. Además, para la misma cantidad de células presentes en el pocillo, un cambio en el estado celular, tal como la morfología, conllevará un cambio en el índice celular. Por ejemplo, un aumento en la adhesión celular o expansión de células conlleva una mayor área de contacto de células-electrodos, lo que conllevará un aumento de resistencia a células-electrodos y, por lo tanto, un mayor valor de índice celular.

La interacción de los compuestos biológicamente activos con células que crecen dentro de los pocillos de las E-Plates genera patrones de actividad únicos (es decir, curvas de impedancia celular o curvas de índice celular únicas en respuesta a un tratamiento con el compuesto) que depende del mecanismo biológico del propio compuesto, la concentración, la duración de la incubación y el tipo celular. Los patrones de respuesta celular característicos de cada compuesto se correlacionan con fenómenos biológicos específicos como la interrupción del ciclo celular, el cambio de morfología y la muerte celular. La descripción de la respuesta celular en el sistema RT-CES ha resultado eficaz y se ha demostrado que los compuestos con un mecanismo de acción similar muestran patrones similares. Por lo tanto, la similitud en los patrones de respuesta celular al tratamiento con compuestos puede indicar la similitud en los mecanismos de acción, el modo de resistencia y posiblemente los objetivos moleculares. Se ha identificado un patrón característico de RT-CES único para células que experimentaron interrupción mitótica en respuesta al tratamiento con agentes antimitóticos. A modo de ejemplo, la Figura 1 muestra un perfil específico de células de cáncer de pulmón A549 tratadas con distintas concentraciones de agentes antimitóticos conocidos paclitaxel y vinblastina. Como se muestra en la Figura 1, los patrones de respuesta celular a los compuestos de paclitaxel y vinblastina son muy similares, aunque la potencia puede variar entre los dos compuestos.

Se ha evaluado la respuesta de una cantidad de líneas celulares cancerosas a algunos de los compuestos inventados que presentan la fórmula I-X mediante el uso del sistema RT-CES. Los patrones de respuesta celular dependientes del tiempo de algunos de los compuestos inventados (en determinadas concentraciones) fueron algo similares a los del paclitaxel y la vinblastina (en determinadas concentraciones). Por lo tanto, estos compuestos pueden presentar mecanismos de acción anticancerosa similares a los del paclitaxel y la vinblastina. Por otro lado, estos compuestos pueden actuar sobre las células cancerosas mediante otros mecanismos de acción, distintos de los de paclitaxel y vinblastina, si bien los patrones de respuesta celular dependientes del tiempo de estos compuestos inventados son similares a los de paclitaxel y vinblastina. También es posible que estos compuestos actúen sobre las células cancerosas a través de múltiples mecanismos de acción, que incluyen los mecanismos de acción similares a los de paclitaxel y vinblastina.

La Tabla 8 muestra algunos compuestos representativos de la presente invención cuyas actividades *in vitro* e *in vivo* contra el tumor se estudiaron. Para la presente invención, estos compuestos se numeran como n.º 26, 2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol (ACEA100160); n.º 27, (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol (ACEA100162); y n.º 28, 2-(4-bromofenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol (ACEA100161).

Tabla 8. Estructuras de algunos compuestos ilustrativos. El compuesto 26 es 2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol (ACEA100160). El compuesto 27 es 2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol (ACEA100162). El compuesto 28 es 2-(4-bromofenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol (ACEA100161).



5

10

En un ejemplo, la Figura 2 muestra el índice celular dependiente del tiempo para células A549 antes y después de la adición de distintas concentraciones del compuesto N.º 28 (2-(4-bromofenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol, o ACEA100161) en la Tabla 8, como se determina en el sistema de detección electrónica celular en tiempo real. Como se muestra en la Figura 2, el compuesto n.º 28 (ACEA100161) mostró una capacidad inhibitoria contra la proliferación de células A549 en varias concentraciones estudiadas. Además, la figura indica que después de la adición del compuesto (compuesto n.º 28, o ACEA100161) en una concentración de 0,14 μM o más, los índices celulares para células A549 en primer lugar disminuyeron con el tiempo y luego aumentaron, lo que muestra que las células A549 presentaron respuestas cinéticas complejas al compuesto n.º 28 (ACEA100161).

15

20

La Figura 3 muestra el índice celular dependiente del tiempo para células A549 antes y después de la adición de distintas concentraciones de paclitaxel y el compuesto n.º 28 (ACEA00161) en la Tabla 8, como se determina en el sistema de detección electrónica en tiempo real. Evidentemente, el patrón de respuesta de las células A549 a 560 nM del compuesto n.º 28 (ACEA100161) es algo similar al de las células A549 a 25 nM de paclitaxel. Además, el patrón de respuesta de las células A549 a 140 nM del compuesto n.º 28 (ACEA100161) es algo similar al de las células A549 a 12,5 nM de paclitaxel. Por lo tanto, el compuesto ACEA100161 puede presentar mecanismos de acción anticancerosa similares a los de paclitaxel. Por otro lado, el compuesto ACEA100161 puede actuar sobre las células cancerosas mediante otros mecanismos de acción, distintos de los de paclitaxel, si bien los patrones de respuesta celular dependientes del tiempo del compuesto ACEA100161 son similares a los de paclitaxel. También es posible que el compuesto n.º 28 (ACEA100161) actúe sobre las células cancerosas a través de múltiples mecanismos de acción, que incluyen los mecanismos de acción similares a los del paclitaxel.

25

30

La Figura 4 muestra las curvas de respuesta a la dosis de células A549 al tratamiento del compuesto n.º 28 (ACEA100161) en la Tabla 8, 24 h después del tratamiento. La curva de respuesta a la dosis se obtiene al trazar el valor de índice celular normalizado 24 h después del tratamiento con el compuesto en función de la concentración del compuesto, en función de los perfiles de respuesta dependientes de la dosis que se muestran en la Figura 2. A partir de la curva de respuesta a la dosis en la Figura 4, se pueden calcular los valores de IC₅₀ (es decir, la concentración del compuesto a la que se ha inhibido la proliferación celular en un 50 % debido al tratamiento con el compuesto durante un período de tiempo determinado) 24 h después del tratamiento con el compuesto. El valor de IC₅₀ calculado para el compuesto n.º 28 (ACEA100161) es de 86,4 nM.

35

En otro ejemplo, la Figura 5 muestra el índice celular dependiente del tiempo para células A549 antes y después de la adición de distintas concentraciones del compuesto n.º 26 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol, ACEA100160) en la Tabla 8, como se determina en el sistema de detección electrónica celular en tiempo real. Como se muestra en la Figura 5, ACEA100160 mostró una capacidad inhibitoria contra la proliferación de

células A549 en varias concentraciones estudiadas. Además, la figura indica que después de la adición del compuesto (ACEA100160) en una concentración de 4,38 nM o más, los índices celulares para células A549 en primer lugar disminuyeron con el tiempo y luego aumentaron, lo que muestra que las células A549 presentaron respuestas cinéticas complejas a ACEA100160.

5 La Figura 6 muestra las curvas de respuesta a la dosis de células A549 al tratamiento del compuesto número 26 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol, ACEA100160) en la Tabla 8, horas después del tratamiento. La curva de respuesta a la dosis se obtiene al trazar el valor de índice celular normalizado 24 h después del tratamiento con el compuesto en función de la concentración del compuesto, con base en los perfiles de respuesta dependientes de la dosis que se muestran en la Figura 5. A partir de la curva de respuesta a la dosis en la Figura 6, se pueden calcular los valores de IC50 (es decir, la concentración del compuesto a la que se ha inhibido la proliferación celular en un 50 % debido al tratamiento con el compuesto durante un período de tiempo determinado) 24 h después del tratamiento con el compuesto. El valor de IC50 calculado 24 h después del tratamiento con ACEA100160 es de 23,7 nM.

15 La Figura 7 muestra el índice celular dependiente del tiempo para células A549 antes y después de la adición de distintas concentraciones de paclitaxel y el compuesto n.º 26 (2-(4- etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol, ACEA100160) en la Tabla 8, como se determina en el sistema de detección electrónica en tiempo real. Evidentemente, el patrón de respuesta de las células A549 a 35 nM de ACEA100160 es algo similar al de las células A549 a 25 nM de paclitaxel. Además, el patrón de respuesta de las células A549 a 140 nM de ACEA100160 es algo similar al de las células A549 a 50 nM de paclitaxel. Por lo tanto, el compuesto ACEA100160 puede presentar mecanismos de acción anticancerosa similares a los de paclitaxel. Por otro lado, el ACEA100160 puede actuar sobre las células cancerosas mediante otros mecanismos de acción, distintos de los de paclitaxel, si bien los patrones de respuesta celular dependientes del tiempo del ACEA100160 son similares a los de paclitaxel. También es posible que el ACEA100160 actúe sobre las células cancerosas a través de múltiples mecanismos de acción, que incluyen el mecanismo de acción similar al de paclitaxel.

25 En aun otro ejemplo, la Figura 8 muestra el índice celular dependiente del tiempo para células A549 antes y después de la adición de distintas concentraciones del compuesto n.º 27 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol, ACEA100162) en la Tabla 8, como se determina en el sistema de detección electrónica celular en tiempo real. Como se muestra en la Figura 8, ACEA100162 mostró una capacidad inhibitoria contra la proliferación de células A549 en varias concentraciones estudiadas. Además, la figura indica que después de la adición del compuesto (ACEA100162) en una concentración de 62,5 nM o más, los índices celulares para células A549 en primer lugar disminuyeron con el tiempo y luego aumentaron, lo que muestra que las células A549 presentaron respuestas cinéticas complejas a ACEA100162.

30 La Figura 9 muestra las curvas de respuesta a la dosis de células A549 al tratamiento del compuesto n.º 27 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol, ACEA100162) en la Tabla 8, 24 horas después del tratamiento. La curva de respuesta a la dosis se obtiene al trazar el valor de índice celular normalizado 24 h después del tratamiento con el compuesto en función de la concentración del compuesto, en función de los perfiles de respuesta dependientes de la dosis que se muestran en la Figura 8. A partir de la curva de respuesta a la dosis en la Figura 9, se pueden calcular los valores de IC50 (es decir, la concentración del compuesto a la que se ha inhibido la proliferación celular en un 50 % debido al tratamiento con el compuesto durante un período de tiempo determinado) 24 h después del tratamiento con el compuesto. El valor de IC50 calculado 24 h después del tratamiento con ACEA100162 es de 57,4 nM.

45 Distintos tipos de células cancerosas humanas, que incluyen NCI-H460 (células de cáncer de pulmón no microcítico), MCF7 (células de cáncer de mama), SKOV3 (células de cáncer de ovario), Jurkat (leucemia), PC3 (células de cáncer de próstata), Panc-1 (carcinoma pancreático), SH-SY5Y (neuroblastoma), HepG2 (hepatosarcoma humano); GTL16 (carcinoma gástrico), B16-luc (melanoma), KB (células de cáncer de cabeza y cuello), HeLa (carcinoma de cuello uterino), HT1080 (células cancerosas de fibrosarcoma), MDCK (células renales), HT29 (células de cáncer de colon), A549 (células de cáncer de pulmón no microcítico) y otras líneas celulares (véase la Tabla 9), con distintas cantidades (2000 a 20 000 por pocillo) se sembraron en un dispositivo de E-Plate de microtitulación de 16X o 96X y se controlaron mediante un sistema RT-CES™. Se dejó que las células se desarrollaran durante aproximadamente 20 horas antes de la adición del compuesto 27 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6- metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol, ACEA100162)) disuelto en solución de DMSO (concentración de DMSO final: 0,2 %; concentración de ACEA100162 final: entre 3,13 nM y 200 nM). La impedancia de células-electrodos se midió de forma continua y se obtuvieron y registraron los valores de índices celulares dependientes de la dosis, dependientes del tiempo, correspondientes. En función de los perfiles de respuesta celular a distintas concentraciones del compuesto ACEA100162, se trazaron las curvas de respuesta a la dosis similares a las de la Figura 4 y la Figura 6 en los momentos seleccionados de 24 h y 48 h después del tratamiento con los compuestos. Luego, se calcularon los valores de IC50 en función de dichas curvas de respuesta a la dosis y se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9. Valores de IC50 para el compuesto 27 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol, ACEA100162) en varias líneas celulares.

Fuente celular	Línea celular	IC50 (24 h)	IC50 (48 h)
Cáncer de pulmón (humano)	H460	12,3 nM	16 nM
Cáncer de mama (humano)	MCF7	>200 nM	>200 nM
Cáncer de ovario (humano)	SKOV3	19,8 nM	11,5 nM
Leucemia (humana)	Jurkat	45,4 nM	N/C
Cáncer de próstata (humano)	PC3	10,9 nM	5,37 nM
Carcinoma pancreático (humano)	Panc-1	112. 8 nM	426,5 nM
	SH-		
Neuroblastoma (humano)	SY5Y	13,4 nM	6,7 nM
Hepatosarcoma (humano)	HepG2	>200 nM	>200 nM
Carcinoma gástrico (humano)	GTL16	138,5 nM	2,1 nM
Melanoma (rata)	B16-luc	705,3 nM	643,2 nM
Cabeza-cuello (humano)	KB	22,2 nM	18,1 nM
Carcinoma de cuello uterino (humano)	Hela	5,85 nM	6,95 nM
Cáncer de fibrosarcoma (humano)	HT1080	2,39 nM	2,69 nM
Tumor de riñón (mono)	MDCK	929,6 nM	1,87 uM
Cáncer de colon (humano)	HT29	53,6 nM	58,8 nM
fibroblasto (ratón)	3T3	20,6 nM	51,5 nM
Adenocarcinoma de ovario (humano)	ST30	38,8 nM	42,4 nM
Carcinoma epitelial oral (humano)	KB200	12,1 nM	4,28 nM
Adenocarcinoma de mama (humano)	Bcap37	27,3 nM	26 nM
Adenocarcinoma de mama (humano)	MCF7adr	12,3 nM	12,5 nM
Cáncer gástrico (humano)	MKN45	>200 nM	>200 nM
Carcinoma de pulmón (humano)	A549	57,4 nM	29,1 nM

5 La Figura 10 muestra el índice celular dependiente del tiempo para diversas líneas celulares antes y después de la adición del compuesto 27 (ACEA100162) en varias concentraciones: Como se muestra en las Figuras, el ACEA100162 presentó efecto inhibitor en la proliferación de una cantidad de líneas celulares de cáncer. La susceptibilidad al ACEA100162 difiere entre los tipos de células cancerosas. Para algunos tipos de células cancerosas, una dosificación baja de ACEA100162 es suficiente para inhibir significativamente la proliferación de células cancerosas, mientras que para otros tipos de células cancerosas, se necesita una dosificación superior para lograr un grado de inhibición similar.

10

Tabla 10. Valores de IC50 para el compuesto 26 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6- metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol, ACEA100160) en varias líneas celulares.

Distintos tipos de células cancerosas	Línea celular	IC50 (24 h)	IC50 (48 h)
Cáncer de pulmón (humano)	H460	30,7nM	34,0 nM
Cáncer de mama (humano)	MCF7	>1 uM	>1 uM
Cáncer de ovario (humano)	SKOV3	104,5 nM	82,1 nM
Leucemia (humana)	Jurkat	27,2 nM	N/C
Cáncer de próstata (humano)	PC3	10,6nM	78,9 nM (42h)
Carcinoma pancreático (humano)	Panc-1	130,5 nM	164,6 nM
Neuroblastoma (humano)	SH-	49,7nM	41,4 nM (42h)
Hepatosarcoma (humano)	SY5Y HepG2	>2 uM	>2 uM
Carcinoma gástrico (humano)	GTL16	147,6 nM	0,4 nM
Melanoma (rata)	B16-luc	3,88 uM	100 nM
Cabeza-cuello (humano)	KB	12,5 nM	83,4nM
Carcinoma de cuello uterino (humano)	Hela	31,7 nM	56,7 nM (42hr)
Cáncer de fibrosarcoma (humano)	HT1080	17,7 nM	25,5 nM
Tumor de riñón (mono)	MDCK	2,0 uM	5,09 uM
Cáncer de colon (humano)	HT29	61. 3 nM	69,3 nM
Adenocarcinoma de ovario (humano)	ST30	67,3 nM	19,1 nM
Epitelioma oral (humano)	KB200	15,7nM	48,6 nM
Adenocarcinoma de mama (humano)	Bcap37	N/A	87,1 nM
Adenocarcinoma de mama (humano)	MCF7adr	11,7 nM	44,9 nM
Cáncer gástrico (humano)	MKN45	597,9nM	2,18 uM (42h)
Glioblastoma de cerebro (humano)	A172	32,3 nM	93,4 nM (42h)
Meduloblastoma cerebeloso desmoplásico (humano)	Daoy	25,5 nM	36,2 nM (42h)
Riñón transformado con ADN de adenovirus 5 (humano)	HEK-293	24,1 nM	25,1 nM (42h)
Mioblasto (ratón)	C2C12	153,3 nM	356,8 nM (42h)
Riñón transformado con SV40 (mono)	COS1	120,7nM	304,5 nM (42h)
Carcinoma de pulmón (humano)	A549	23,7 nM	91,1 nM

La Figura 11 muestra el índice celular dependiente del tiempo para diversas líneas celulares antes y después de la adición de ACEA100160 en varias concentraciones. Como se muestra en la Figura 11, ACEA100160 presentó un efecto inhibitorio en la proliferación de una cantidad de líneas celulares de cáncer. La susceptibilidad al ACEA100160 difiere entre los tipos de células cancerosas. Para algunos tipos de células cancerosas, una dosificación baja de ACEA100160 es suficiente para inhibir significativamente la proliferación de células cancerosas, mientras que para otros tipos de células cancerosas, se necesita una dosificación superior para lograr un grado de inhibición similar.

EJEMPLO 1

- 5 Inhibición de proliferación celular mediante el compuesto n.º 28 (2-(4-bromofenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol, ACEA100161) en células A549.

- 15 El sistema RT-CES para dicho estudio incluye un analizador RT-CES, una estación de Mult-E-Plate, un dispositivo E-Plate y software RT-CES. Se cosecharon células A549 (células de cáncer de pulmón humano) a una densidad de 5000 células en los pocillos de dispositivos E-Plate de 96 pocillos. Las E-Plates que contenían las células se colocaron en una estación de Mult-E-Plate dentro de la incubadora de CO₂. La resistencia a células-electrodos para cada pocillo de los dispositivos E-Plate es controlada de forma continua por un analizador RT-CES controlado por el software RT-CES cada 30 minutos. Después de aproximadamente 20 horas, se pausó la medición en el sistema RT-CES; se

retiró la E-Plate de la estación Mult-E-Plate para la adición del compuesto. El compuesto ACEA100161 (u otro compuesto analizado) que se disolvió en dimetil-sulfóxido (DMSO) se diluyó en serie con BSA al 0,1 % en PBS y se agregó a los pocillos que contenían las células en una concentración final indicada en la Figura 2. La solución de DMSO diluida sirvió como control del solvente y el paclitaxel sirvió como control positivo en el experimento. Después de la adición del compuesto, las E-Plates con células agregadas se volvieron a cargar en la estación Mult-E-Plate para una medición continua hasta las 72 horas. La Figura 2 muestra el índice celular normalizado en función del tiempo antes y después de la adición del compuesto para distintas concentraciones del Compuesto 28 (ACEA 100161). Se normalizaron los datos del índice celular en el momento inmediatamente anterior a la adición del compuesto (aproximadamente 20 h después de cosechar las células). A los efectos de evaluar la potencia del compuesto n.º 28 (ACEA100161), se trazaron los valores de índice celular normalizados en un período de 24 h después de la adición del compuesto en función de la concentración del compuesto en la Figura 4, en función de los perfiles de respuesta celular dependiente de la dosis, que se muestran en la Figura 2. A partir de la curva de respuesta a la dosis en la Figura 4, se pueden calcular los valores de IC50 (es decir, la concentración del compuesto a la que se ha inhibido la proliferación celular en un 50 % debido al tratamiento con el compuesto durante un período de tiempo determinado) 24 h después del tratamiento con el compuesto. El valor de IC50 calculado para el compuesto n.º 28 (ACEA100161) es de 86,4 nM.

EJEMPLO 2

Inhibición de proliferación celular mediante el Compuesto 26 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol, ACEA100160) en células A549.

El sistema RT-CES para dicho estudio incluye un analizador RT-CES, una estación de Mult-E-Plate, un dispositivo E-Plate y software RT-CES. Se cosecharon células A549 (células de cáncer de pulmón humano) a una densidad de 5000 células en los pocillos de dispositivos E-Plate de 96 pocillos. Las E-Plates que contenían las células se colocaron en una estación de Mult-E-Plate dentro de la incubadora de CO₂. La resistencia a células-electrodos para cada pocillo de los dispositivos E-Plate es controlada de forma continua por un analizador RT-CES controlado por el software RT-CES cada 30 minutos. Después de aproximadamente 20 horas, se pausó la medición en el sistema RT-CES; se retiró la E-Plate de la estación Mult-E-Plate para la adición del compuesto. El compuesto 26 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol, ACEA100160) que se disolvió en dimetil-sulfóxido (DMSO) se diluyó en serie con BSA al 0,1 % en PBS y se agregó a los pocillos que contenían las células en una concentración final indicada en la Figura 5. La solución de DMSO diluida sirvió como control del solvente y el paclitaxel sirvió como un control positivo en el experimento. Después de la adición del compuesto, las E-Plates con células agregadas se volvieron a cargar en la estación Mult-E-Plate para una medición continua hasta las 72 horas. La Figura 5 muestra el índice celular normalizado en función del tiempo antes y después de la adición del compuesto para distintas concentraciones de ACEA100160. Se normalizaron los datos del índice celular en el momento inmediatamente anterior a la adición del compuesto (aproximadamente 20 h después de cosechar las células). A los efectos de evaluar la potencia de ACEA100160, se trazaron los valores de índice celular normalizados en un período de 24 h después de la adición del compuesto en función de la concentración del compuesto en la Figura 6, en función de los perfiles de respuesta celular dependiente de la dosis, que se muestran en la Figura 5. A partir de la curva de respuesta a la dosis en la Figura 6, se pueden calcular los valores de IC50 (es decir, la concentración del compuesto a la que se ha inhibido la proliferación celular en un 50 % debido al tratamiento con el compuesto durante un período de tiempo determinado) 24 h después del tratamiento con el compuesto. El valor de IC50 calculado para ACEA100160 es de 23,7 nM.

EJEMPLO 3

Inhibición de proliferación celular mediante 27 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol, ACEA100162) en células A549.

El sistema RT-CES para dicho estudio incluye un analizador RT-CES, una estación de Mult-E-Plate, un dispositivo E-Plate y software RT-CES. Se cosecharon células A549 (células de cáncer de pulmón humano) a una densidad de 5000 células en los pocillos de dispositivos E-Plate de 96 pocillos. Las E-Plates que contenían las células se colocaron en una estación de Mult-E-Plate dentro de la incubadora de CO₂. La resistencia a células-electrodos para cada pocillo de los dispositivos E-Plate es controlada de forma continua mediante un analizador RT-CES controlado por el software RT-CES cada 30 minutos. Después de aproximadamente 20 horas, se pausó la medición en el sistema RT-CES; se retiró la E-Plate de la estación Mult-E-Plate para la adición del compuesto. El compuesto 27 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol, ACEA100162) que se disolvió en dimetil-sulfóxido (DMSO) se diluyó en serie con BSA al 0,1 % en PBS y se agregó a los pocillos que contenían las células en una concentración final indicada en la Figura 8. La solución de DMSO diluida sirvió como un control del solvente y el paclitaxel sirvió como un control positivo en el experimento. Después de la adición del compuesto, las E-Plates con células agregadas se volvieron a cargar en la estación Mult-E-Plate para una medición continua hasta las 72 horas. La Figura 8 muestra el índice celular normalizado en función del tiempo antes y después de la adición del compuesto para distintas concentraciones del ACEA100162. Se normalizaron los datos del índice celular en el momento inmediatamente anterior a la adición del compuesto (aproximadamente 20 h después de cosechar las células). A los efectos de evaluar la potencia del ACEA100162, se trazaron los valores de índice celular normalizados en un período de 24 h después de la adición del compuesto en función de la concentración del compuesto en la Figura 9, en función de los perfiles de respuesta celular dependiente de la dosis, que se muestran en la Figura 8. A partir de la curva de

respuesta a la dosis en la Figura 9, se pueden calcular los valores de IC50 (es decir, la concentración del compuesto a la que se ha inhibido la proliferación celular en un 50 % debido al tratamiento con el compuesto durante un período de tiempo determinado) 24 h después del tratamiento con el compuesto. El valor de IC50 calculado para el ACEA100162 es de 57,4 nM.

5 C.2.1 Eficacia anticancerosa in vivo

Ejemplo 1. Actividad antitumoral de ACEA100160 y ACEA100162 con respecto a un modelo de ratón con S180

A. Materiales y métodos

A.1 Compuesto y solución

10 Se preparó ACEA100160 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2- a]pirimidin-3-il)tiazol) y ACEA100162 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol) a una concentración de 8 mg/ml en solución que contenía HP-beta-CD dextrosa (D5W) al 20 %. El solvente, solución HP-beta-CD, se usa como un control de vehículo negativo.

A.2 Animales

Ratones ICR, machos, 21,4 ± 1,5 g

15 A.3 Líneas celulares

Sarcoma SI80: línea celular de cáncer murino SI80.

El modelo de ascitis maligno de ratón ICR se indujo mediante células SI80.

A.4 Procedimientos

20 En condición esterilizada, se sacrificaron los ratones que presentaban SI80 murino ICR, se extrajo la ascitis y se diluyeron con NS hasta determinada cantidad de células. Se inyectaron 0,2 ml de suspensión celular (10⁶ células) por vía subcutánea en el costado izquierdo en ratones ICR. El primer día de tratamiento antes de iv o ip, los animales implantados se dividieron al azar en diez grupos, de la siguiente manera. Los fármacos se administraron según el Plan de la Tabla 11, respectivamente. El solvente, solución HP-beta-CD, se usa como control de vehículo negativo. Se observaron los síntomas clínicos al menos una vez al día.

25 Tabla 11. Plan de administración.

N.º de Grupo	N.º de ratones	Vía de fármaco	Compuesto	Vol. (mL/10g)	Dosis (mg/kg)	Plan de tratamiento	Diluyente
1	14	IV	solución de HP-beta-CD	0,1		qd, durante 9 días	1:1
2	6	IP	ACEA 100160	0,1	40	qd, durante 9 días	
3	6	IV	ACEA 100160	0,1	40	qd, durante 9 días	1:1
4	6	IP	ACEA 100162	0,1	40	qd, durante 9 días	
5	6	IP	ACEA 100162	0,2	80	qd, durante 9 días	
6	6	IV	ACEA 100162	0,1	40	qd, durante 9 días	

A.5 Estadística

30 Se registró el peso del tumor. Se calculó el índice de inhibición del tumor de la siguiente manera: índice de inhibición = 1-Wt/WO, en donde Wt es el peso promedio de cada grupo de tratamiento con fármaco y WO es el peso promedio del grupo de control negativo. Los resultados se proporcionan como valores ± SD de n animales. Las comparaciones entre los grupos se realizaron con la prueba t de dos colas de Student y un P < 0,05 se consideró significativo.

B. Resultados

En el modelo con cáncer murino S180, los grupos ACEA100160 40 mg/kg (qd, ip) y 40 mg/kg (qd, iv) inhiben el crecimiento del tumor S180, con un valor de índice de inhibición de 52,7 % y 52,2 %, respectivamente. Los grupos ACEA100162 40 mg/kg (qd, ip), ACEA100162 80 mg/kg (qd, ip) y ACEA100162 40 mg/kg (qd, iv) mostraron actividades antitumorales con un valor de índice de inhibición de 59,3 %, 77,2 % y 60,7 %, respectivamente.

Tabla 12. Efectos de ACEA100160 y ACEA100162 sobre el peso corporal de ratones ICR y peso del tumor antes de la dosis y después de la dosis. Se trataron ratones ICR con cáncer S180 con ACEA100160 y ACEA100162 durante 9 días (\bar{x} + SD).

Grupos	N.º de animales		Peso corporal (g)		Peso tumoral (g)	Índice de inhibición (%)
	Comienzo	Fin	Comienzo	Fin		
	IP vehículo, qd	14	12	21,7 + 1,2	29,5 + 2,8	1,49 + 0,38
IP 160, 40 mg/kg	6	6	21,5+0,9	27,1+2,2	0,70 + 0,18**	52,7
160 IV, 40 mg/kg	6	5	21,6 + 1,0	27,0 + 3,7	0,71 +0,17**	52,2
IP 162, 40mg/kg	6	5	20,6 + 0,4	27,4 + 1,5	0,61 +0,21**	59,3
IP 162, 80mg/kg	6	6	21,8 + 1,5	24,8 + 2,0*	0,34 + 0,16**	77,2
162 IV, 40 mg/kg	6	6	21,0 + 0,4	27,3 + 1,2	0,59 + 0,24**	60,7

*: $P < 0,05$; **: $P < 0,001$; control VS

Ejemplo 2. Actividad antitumoral de ACEA100160 y ACEA100162 con respecto a un modelo de ratón con LLC

A. Materiales y métodos

A.1 Compuesto y solución

Se preparó ACEA100160 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[1,2-a]pirimidin-3-il)tiazol) y ACEA100162 (2-(4-etoxifenil)amino-4-(6-metilimidazo[2,1-b]tiazol-5-il)tiazol) en una concentración de 8 mg/ml en solución que contenía HP-beta-CD dextrosa (D5W) al 20 %. El solvente, solución HP-beta-CD, se usa como control de vehículo negativo.

A.2 Animales

Ratones C57 BL/6, machos, $19,1 \pm 1,0$ g

A.3 Líneas celulares

LLC: línea celular de cáncer de pulmón de Lewis murino.

Se cultivaron células LLC en medio DMEM con FBS al 10 % para obtener la cantidad necesaria de células para inyección por vía subcutánea (10^7 células).

A.4 Procedimientos

En condición esterilizada, se sacrificaron los ratones con LLC murino C57 BL/6, se separó el tumor y se colocó en NS. Se cortó el tumor en partes finas con tijeras esterilizadas y luego el homogenado se colocó en suspensión celular. Se inyectaron 0,2 ml de suspensión celular (10^6 células) por vía subcutánea en el costado izquierdo en ratones C57 BL/6. El primer día de tratamiento antes de iv o ip, los animales implantados se dividieron al azar en siete grupos, de la

siguiente manera. Los fármacos se administraron según el Plan de la Tabla 13, respectivamente. El solvente, solución HP-beta-CD, se usó como un control de vehículo negativo. Se observaron los síntomas clínicos al menos una vez al día.

Tabla 13. Plan de administración.

N.º de Grupo	N.º de ratones	Vía de fármaco	Compuesto	Vol. (mL/10 g)	Dosis (mg/kg)	Plan de tratamiento	Diluyente
1	10	IV	solución HP-beta-CD	0,1	—	qd, durante 10 veces	1:1
3	6	IP	ACEA100160	0,1	40	qd, durante 10 veces	
4	6	IP	ACEA 100162	0,1	40	qd, durante 10 veces	1:1
4	6	IV	ACEA100162	0,1	40	qd, durante 10 veces	

A.5 Estadística

- 5 Se registró el peso del tumor. Se calculó el índice de inhibición del tumor de la siguiente manera: índice de inhibición = $1 - Wt/WO$, en donde Wt es el peso promedio de cada grupo de tratamiento con fármaco y WO es el peso promedio del grupo de control negativo. Los resultados se proporcionan como valores \pm SD de n animales. Las comparaciones entre los grupos se realizaron con la prueba t de dos colas de Student y un $P < 0,05$ se consideró significativo.

B. Resultados

- 10 En el modelo con cáncer de pulmón de Lewis murino, el grupo ACEA 100160 40 mg/kg (qd, ip) mostró actividades antitumorales, con un valor de índice de inhibición de 27,13 %, respectivamente. Los grupos ACEA100162 40 mg/kg (qd, ip) y ACEA100162 40 mg/kg (qd, iv) mostraron actividades antitumorales, con un valor de índice de inhibición de 39,15 %, y 25,5 %, respectivamente (Tabla 14 y Figura 13).

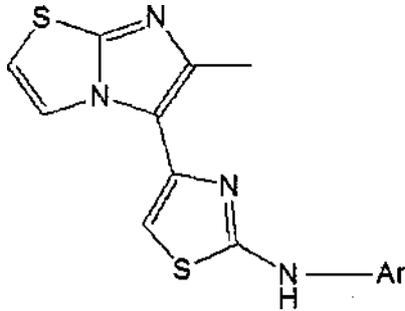
- 15 Tabla 14. Efectos de ACEA100160 y ACEA100162 sobre el peso corporal de ratones C57 BL/6 y peso del tumor antes de la dosis y después de la dosis. Los ratones C57 BL/6 con cáncer LLC se trataron con ACEA100160, ACEA100162 y control de vehículo negativo durante 12 días ($\bar{x} \pm SD$)

Grupos	N.º de animales		Peso corporal (g)		Peso tumoral (g)	Índice de inhibición (%)
	Comienzo	Fin	Comienzo	Fin		
IP vehículo, qod	10	10	19,5 + 1,1	21,1+0,9	1,49 + 0,30	—
IP 160, qod	6	6	19,2 + 0,9	21,2 + 0,8	0,86 + 0,37	27,1
IP 162, qod	6	6	19,0 + 0,8	21,1+0,8	0,70 + 0,46*	39,2
162 IV, qod	6	6	18,5 \pm 1,3	21,1 + 1,5	0,91+0,18	25,5

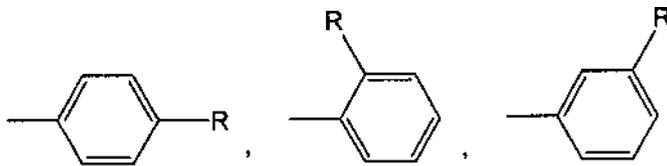
*: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; VS control

REIVINDICACIONES.

1. Un compuesto de la siguiente fórmula:



en donde Ar se selecciona del grupo que consiste en



5

y

R se selecciona del grupo que consiste en Et, Propilo, Bu y Br; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1 combinado con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso para tratar el cáncer.

4. El compuesto de la reivindicación 3, en donde el cáncer es sarcoma, cáncer epidermoide, fibrosarcoma, cáncer de cuello uterino, leucemia, linfoma, cáncer pulmonar, cáncer pulmonar no microcítico, cáncer de colon, cáncer del SNC, melanoma, cáncer de ovario, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de mama, cánceres de cabeza y cuello o cáncer pancreático.

15

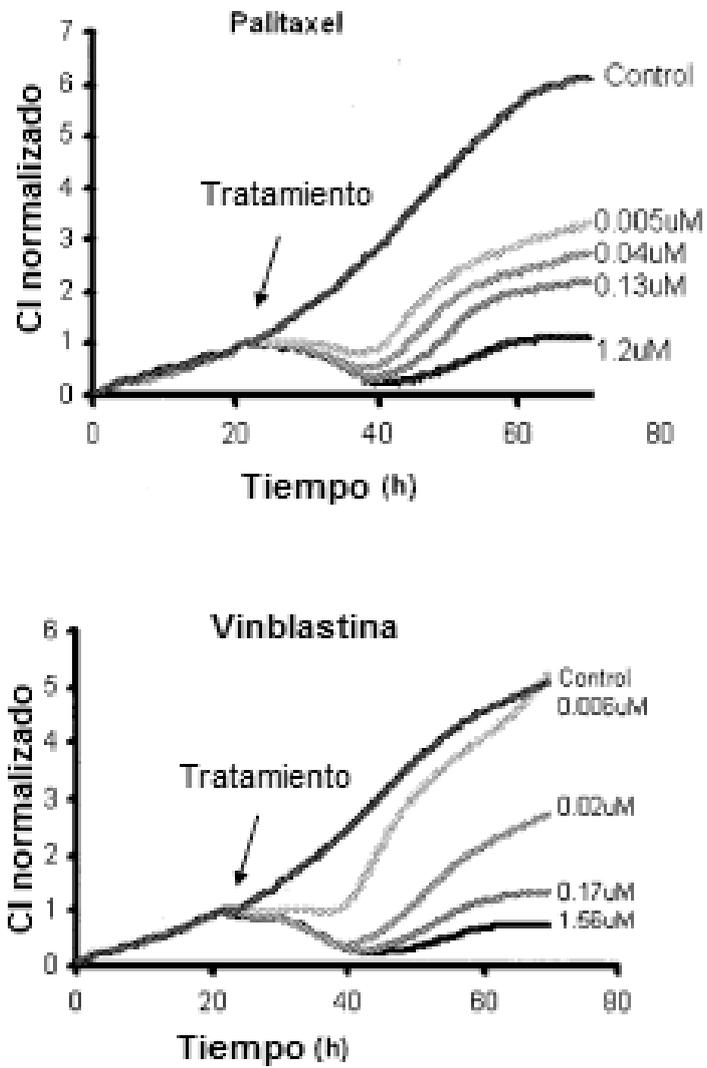


Figura 1.

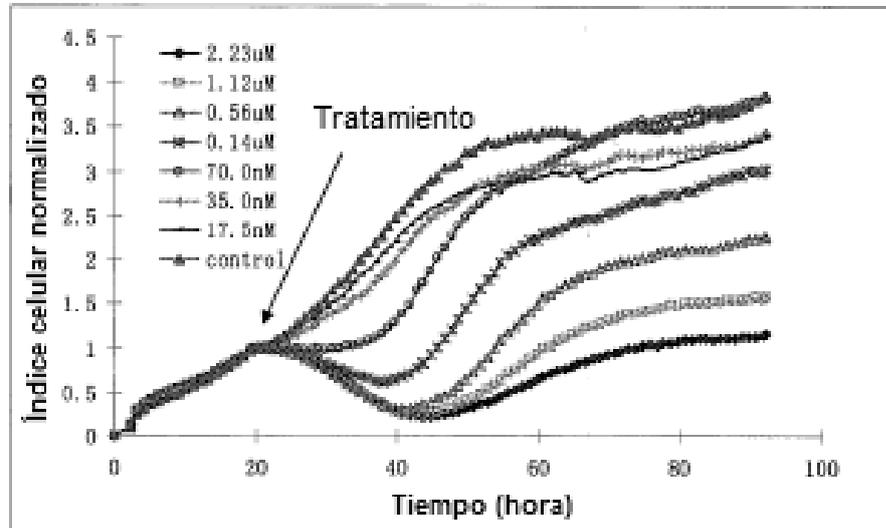


Figura 2.

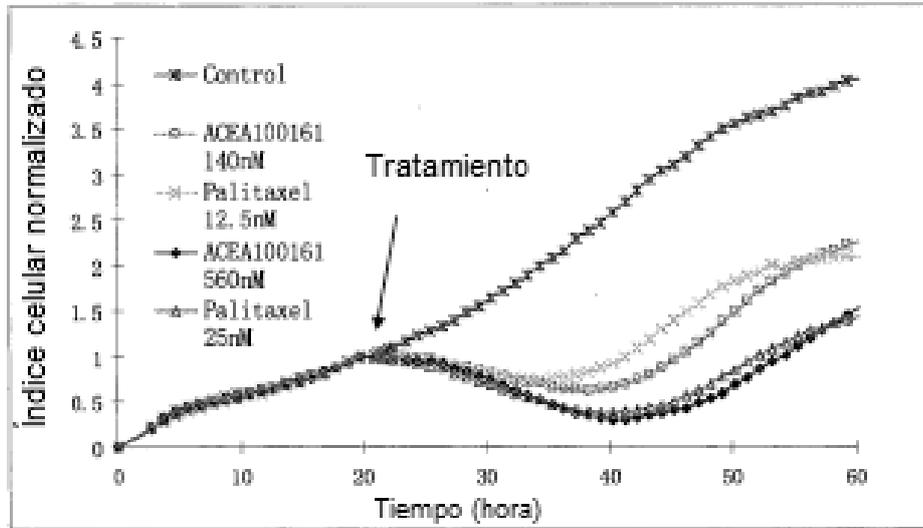


Figura 3.

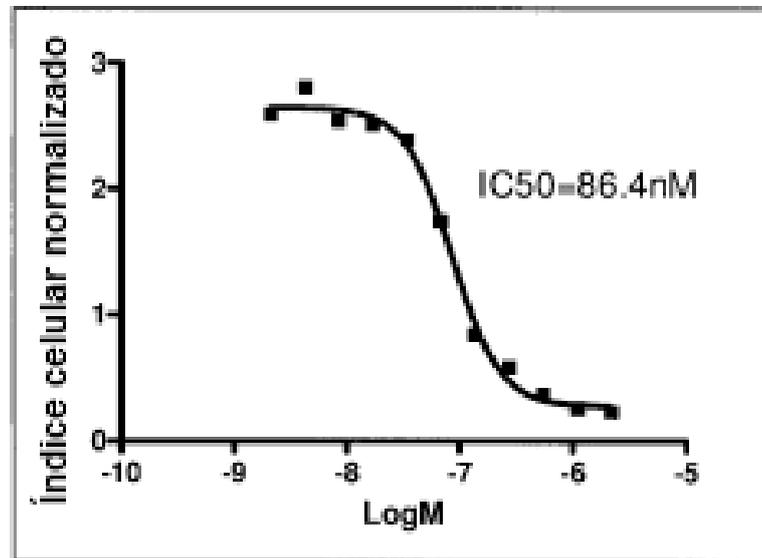


Figura 4.

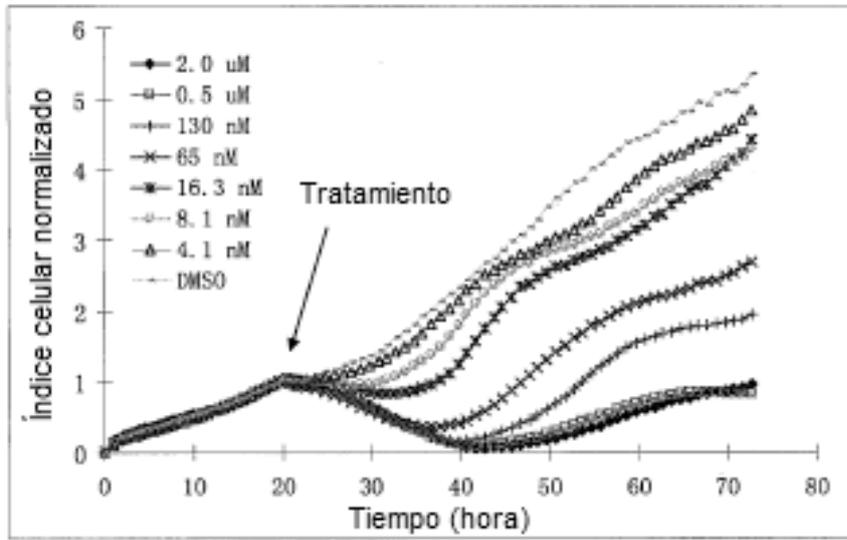


Figura 5.

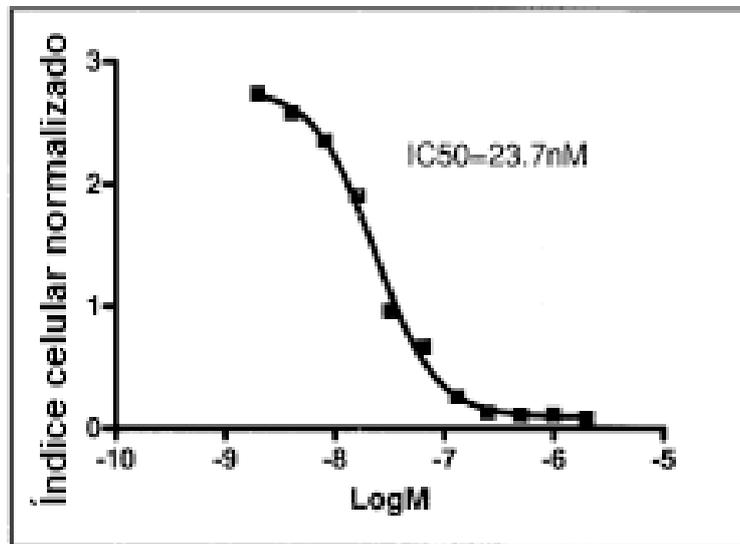


Figura 6.

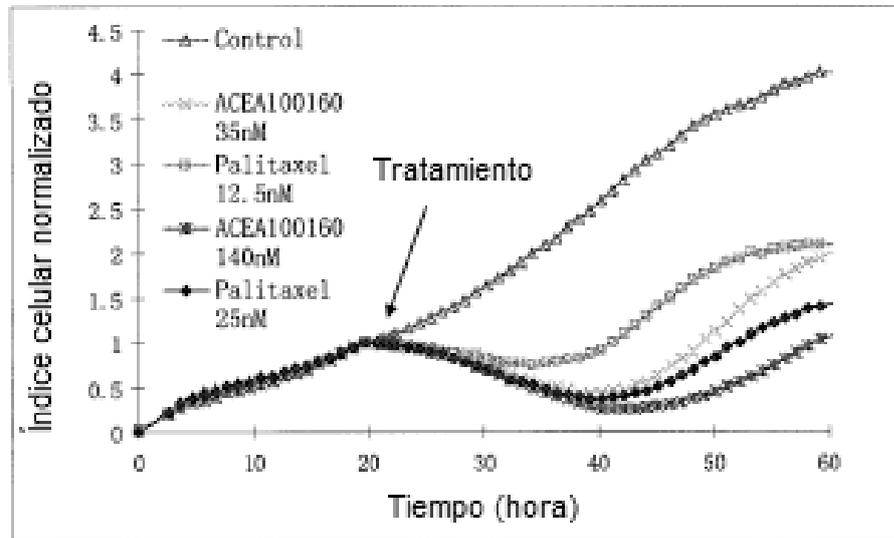


Figura 7.

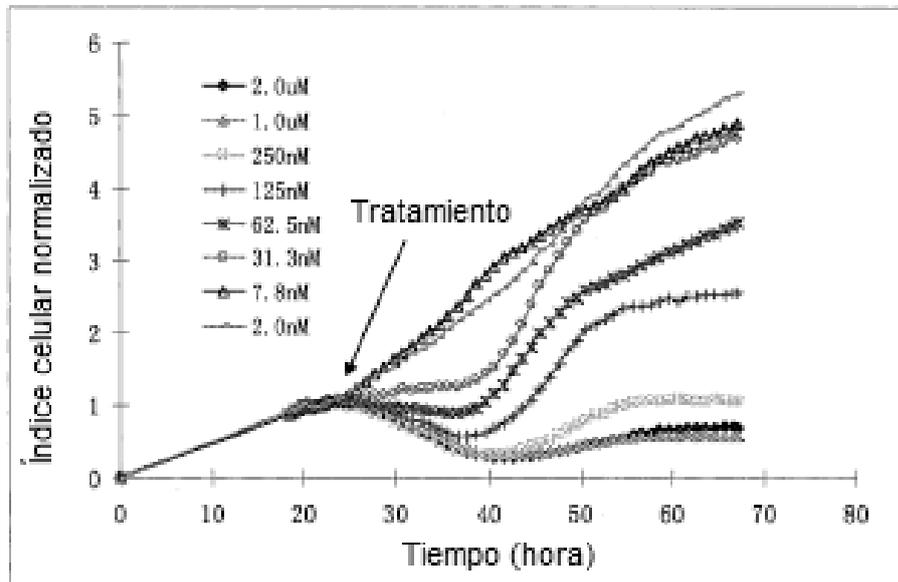


Figura 8.

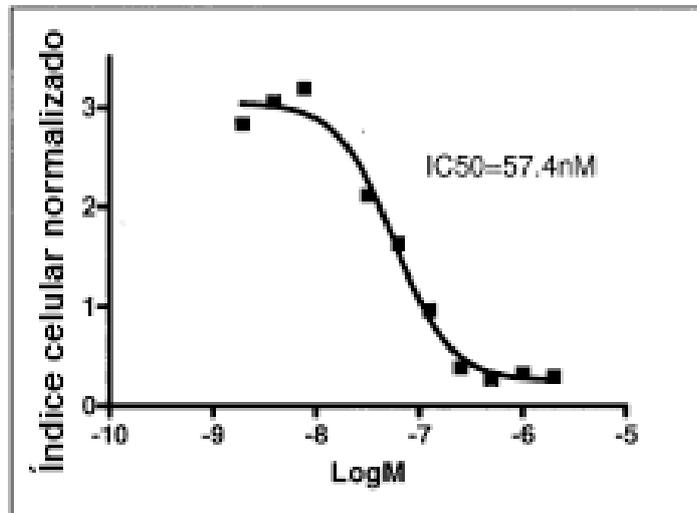


Figura 9.

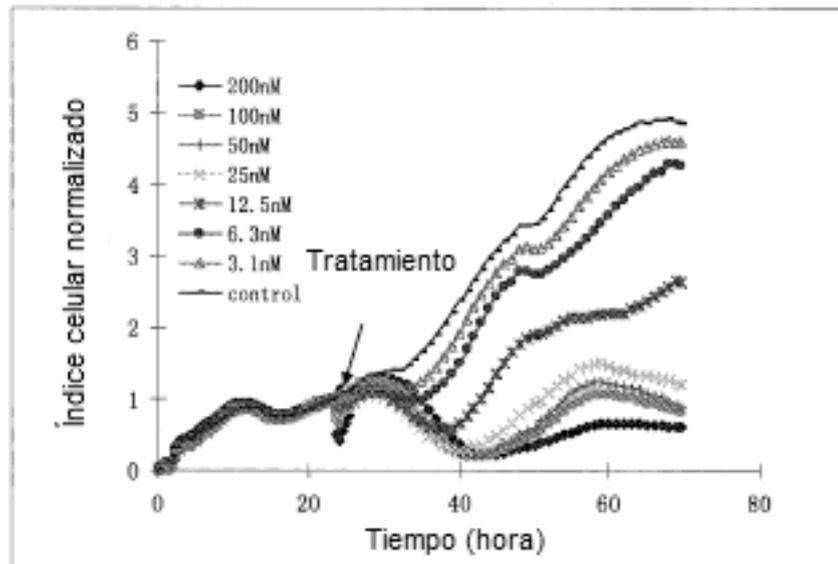


Figura 10 (A)

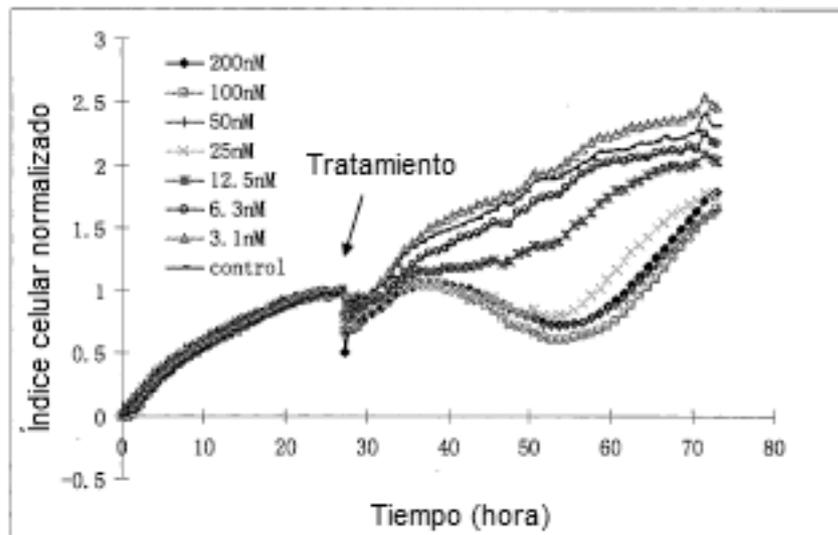


Figura 10 (B)

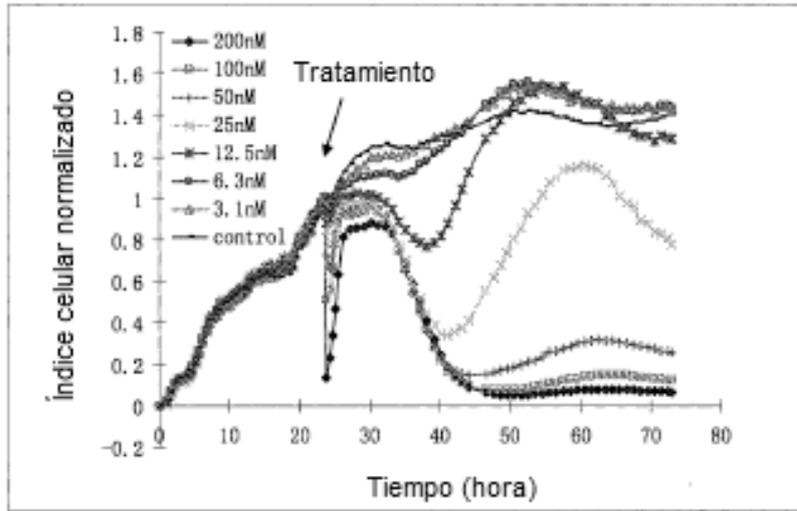


Figura 10 (C)

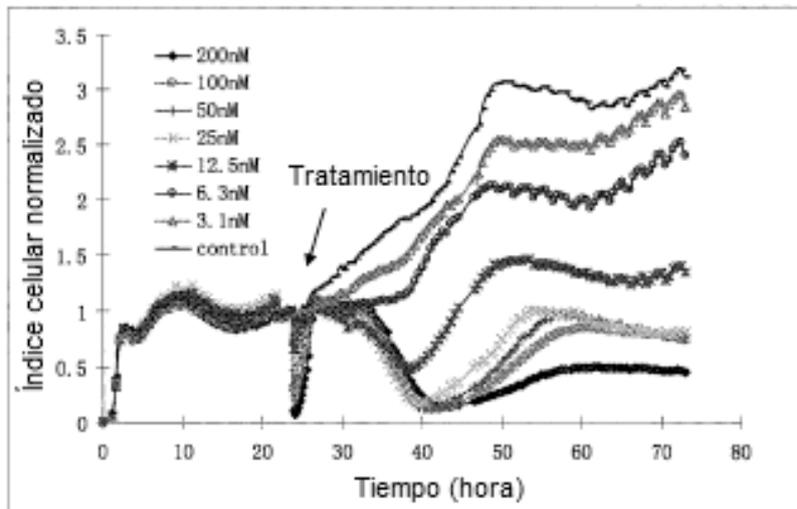


Figura (D)

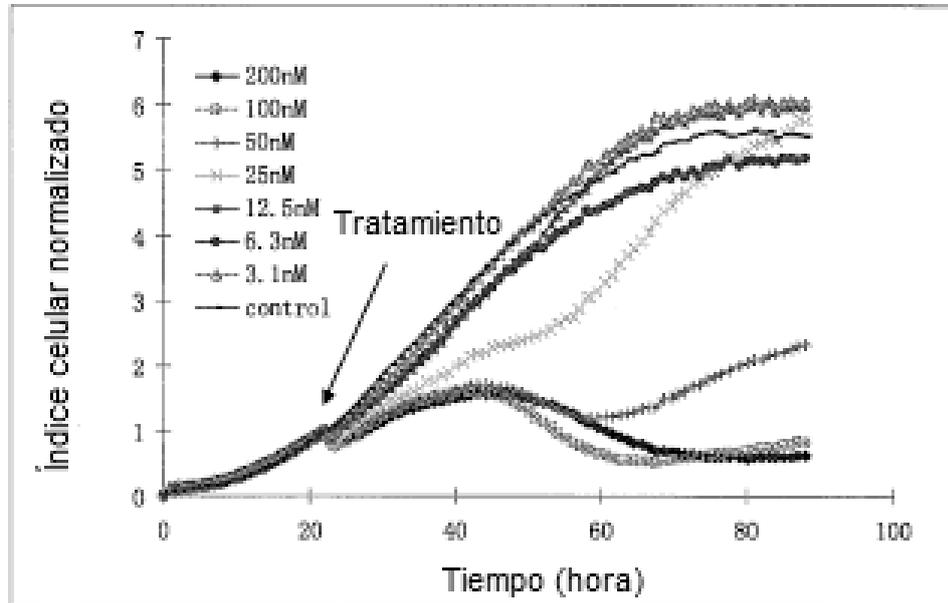


Figura 10 (E)

Figura 10.

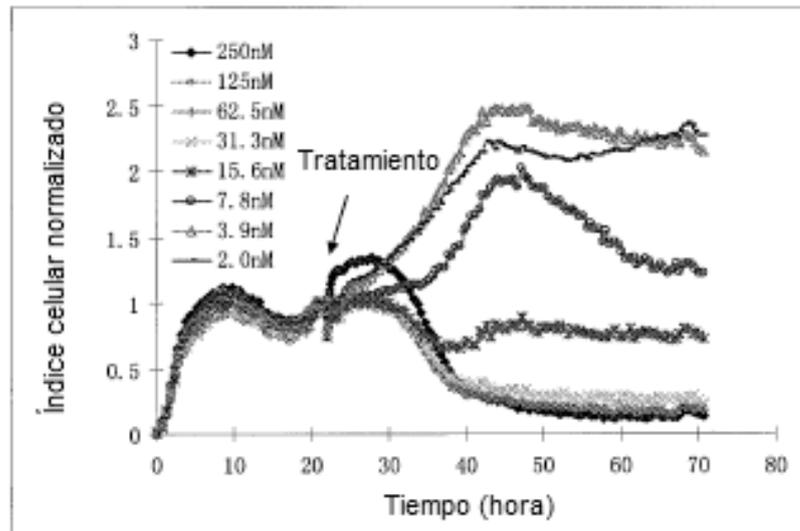


Figura 11 (A)

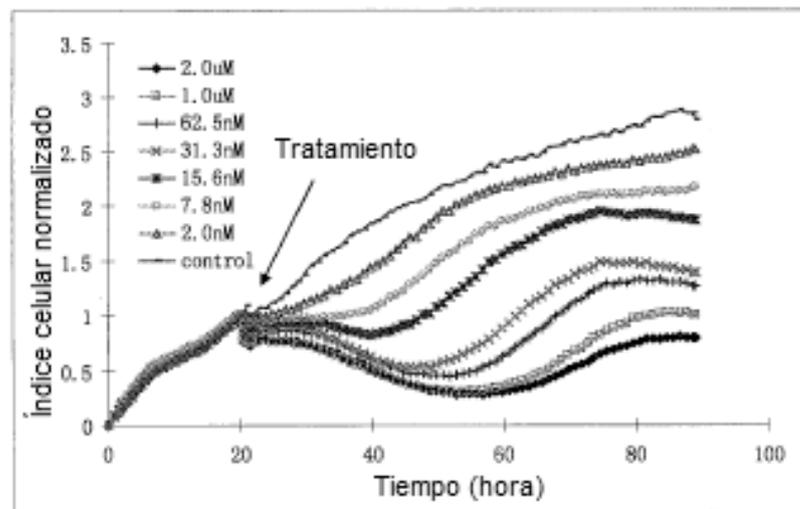


Figura 11 (B)

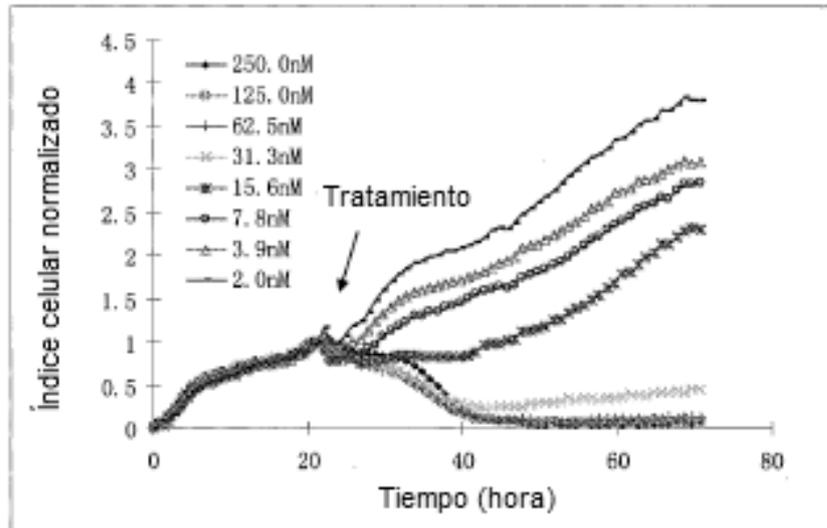


Figura 11 (C)

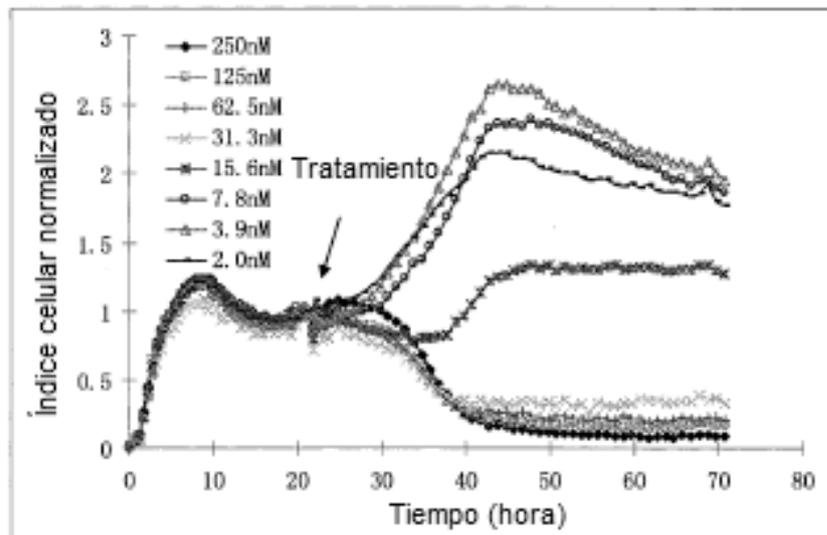


Figura 11 (D)

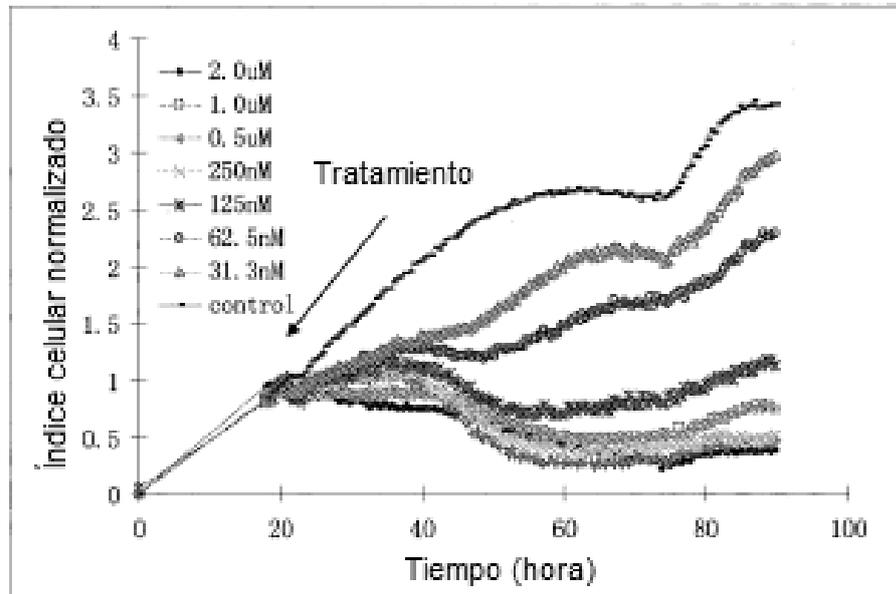


Figura 11 (E)

Figura 11.

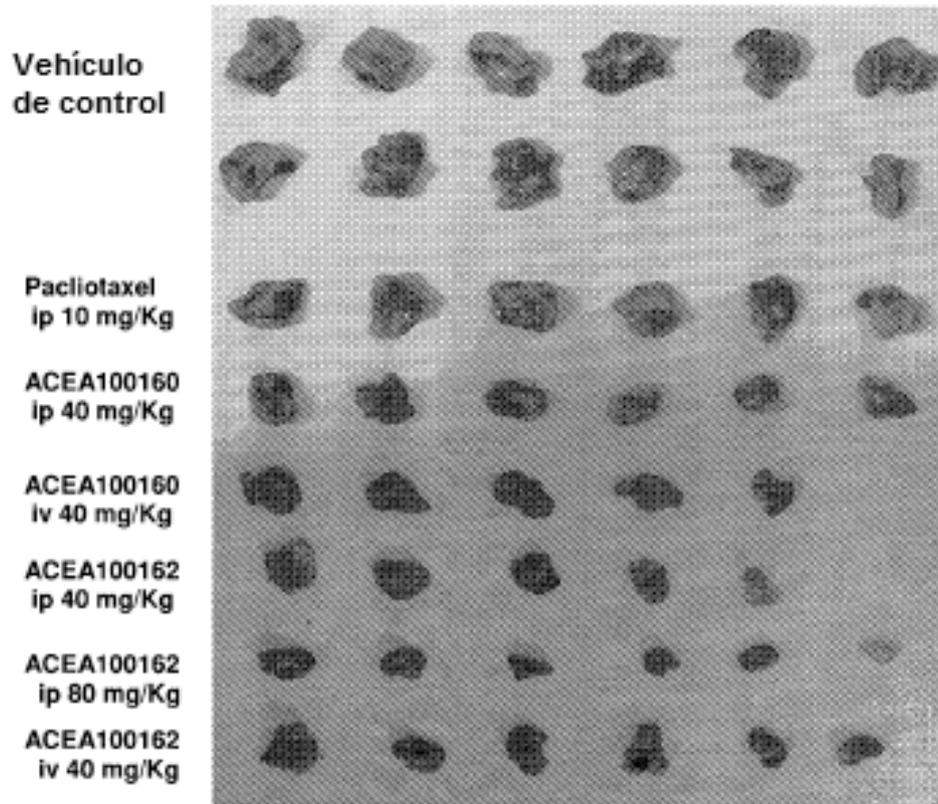


Figura 12

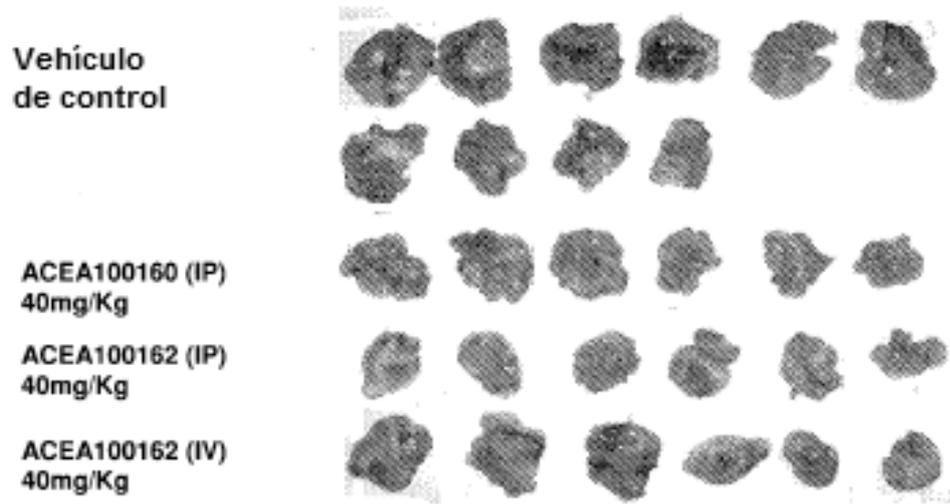


Figura 13.