

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 629 927**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4178 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07D 403/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2009 E 15168526 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.03.2017 EP 2959900**

54 Título: **Compuesto para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

16.06.2008 US 61875 P

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

16.08.2017

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF TENNESSEE RESEARCH
FOUNDATION (50.0%)
211 Conference Center Building, 600 Henley
Street
Knoxville, TN 37996, US y
THE OHIO STATE UNIVERSITY RESEARCH
FOUNDATION (50.0%)**

72 Inventor/es:

**MILLER, DUANE D.;
WEI, LI;
WANG, ZHAO;
LU, YAN;
CHEN, JIANJUN;
DALTON, JAMES T. y
LI, CHIEN-MING**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 629 927 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

Compuesto para el tratamiento del cáncer

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un nuevo compuesto que tiene actividad anticancerosa, a métodos para elaborar estos compuestos y a su uso para tratar diversas formas de cáncer.

Antecedentes de la invención

10 El cáncer es la segunda causa de muerte más común en los Estados Unidos, superada solamente por las enfermedades cardíacas. En los Estados Unidos, el cáncer supone 1 de cada 4 muertes. El grado de supervivencia relativo de 5 años para todos los pacientes de cáncer diagnosticados en 1996-2003 es 66%, hasta 50% en 1975-1977 (*Cancer Facts & Figures American Cancer Society: Atlanta, GA (2008)*). Esta mejora en la supervivencia refleja un avance en el diagnóstico en una fase temprana y mejoras en el tratamiento. El descubrimiento de agentes anticancerosos altamente eficaces con baja toxicidad es un objetivo principal de la investigación del cáncer.

15 El documento WO 2008/038955 divulga derivados de benzofenona útiles para inhibir la formación de microtúbulos. Las amidas de ácido 2-aril-tiazolidino-4-carboxílico se han descrito como agentes citotóxicos potentes tanto para el cáncer de próstata como para el melanoma (Li et al., "Synthesis and Antiproliferative Activity of Thiazolidine Analogs for Melanoma," *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17:4113-7 (2007); Li et al., "Structure-Activity Relationship Studies of Arylthiazolidine Amides as Selective Cytotoxic Agents for Melanoma," *Anticancer Res.* 27:883-888 (2007); Lu et al., "Synthesis and Biological Evaluation of 2-Arylthiazolidine-4-Carboxylic Acid Amides for Melanoma and Prostate Cancer," *Abstracts of Papers, 234th ACS National Meeting, Boston, MA, Estados Unidos, 19-23 de agosto de 2007*, MEDI-304; Gududuru et al., "SAR Studies of 2-Arylthiazolidine-4-Carboxylic Acid Amides: A Novel Class of Cytotoxic Agents for Prostate Cancer," *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15:4010-4013 (2005); Gududuru et al., "Discovery of 2-Arylthiazolidine-4-Carboxylic Acid Amides as a New Class of Cytotoxic Agents for Prostate Cancer," *J. Med. Chem.* 48:2584-2588 (2005)). Estas amidas de ácido 2-ariltiazolidino-4-carboxílico se diseñaron a partir de la estructura del ácido lisofosfatídico (LPA) con una cadena lipídica. Esta elección de diseño se dirigía hacia la inhibición de la señalización de GPCR (receptor acoplado a proteína que se une a guanina), que está implicado en la proliferación y la supervivencia del cáncer de próstata (Raj et al., "Guanosine Phosphate Binding Protein Coupled Receptors in Prostate Cancer: A Review," *J. Urol.* 167:1458-1463 (2002); Kue et al., "Essential Role for G Proteins in Prostate Cancer Cell Growth and Signaling," *J. Urol.* 164:2162-7 (2000); Guo et al., "Expression and Function of Lysophosphatidic Acid LPA1 Receptor in Prostate Cancer Cells," *Endocrinology* 147:4883-4892 (2006); Qi et al., "Lysophosphatidic Acid Stimulates Phospholipase D Activity and Cell Proliferation in PC-3 Human Prostate Cancer Cells," *J. Cell. Physiol.* 174:261-272 (1998)).

25 Las más potentes de las amidas de ácido 2-aril-tiazolidino-4-carboxílico podrían inhibir células de cáncer de próstata con una IC₅₀ media en el intervalo de 0,7 a 1,0 μM y los valores de IC₅₀ medios contra células de melanoma eran 1,8~2,6 μM (Li et al., "Synthesis and Antiproliferative Activity of Thiazolidine Analogs for Melanoma," *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17:4113-7 (2007)). Un compuesto preferido, la hexadecilamida de ácido (2RS, 4R)-2-fenil-tiazolidino-4-carboxílico, se envió al cribado de fármacos anticancerosos para la línea celular humana 60 de the United States National Cancer Institute (NCI-60). Los resultados del ensayo NCI-60 mostraban que este compuesto podía inhibir el crecimiento de los nueve tipos de células cancerosas con valores de IC₅₀ en el intervalo de 0,124 μM (leucemia, CCRF-CEM) a 3,81 μM (cáncer de pulmón no microcítico, NCI-H522). Sería deseable una mejora adicional en la actividad anticancerosa de estos compuestos, en lo relativo a sus valores de IC₅₀.

La presente invención se dirige a vencer estas y otras deficiencias de la técnica anterior.

Resumen de la invención

45 Un primer aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto, en donde el compuesto es (2-(1H-indol-3-il)imidazol-4-il)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona. El compuesto se puede proporcionar en la forma de sales farmacéuticamente aceptables, hidratos o profármacos del mismo.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que incluye un portador farmacéuticamente aceptable y el compuesto según el primer aspecto de la presente invención.

La invención también proporciona el compuesto según el primer aspecto de la invención para el uso como un medicamento.

50 La invención también proporciona el compuesto según el primer aspecto de la invención para la preparación de un medicamento para tratar cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de colon, leucemia, cáncer renal o cáncer del SNC, o una combinación de los mismos, en un sujeto.

La invención también proporciona el compuesto según el primer aspecto de la invención para el uso en el tratamiento de cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de

colon, leucemia, cáncer renal o cáncer del SNC, o una combinación de los mismos, en un sujeto.

5 En una realización, el compuesto se administra sistémicamente. En una realización adicional, el compuesto se puede administrar oralmente, tópicamente, transdérmicamente, parenteralmente, subcutáneamente, intravenosamente, intramuscularmente, intraperitonealmente, mediante instalación intranasal, mediante instilación intracavitaria o intravesical, intraocularmente, intraarterialmente, intralesionalmente o mediante la aplicación a membranas mucosas.

En una realización, el compuesto se administra directamente a una zona en la que están presentes células cancerosas.

10 En una realización, el compuesto se administra en un grado de dosificación de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg del compuesto por kg de peso corporal.

En una realización, el compuesto se administra periódicamente.

En una realización, el compuesto se administra en combinación con otra terapia para el cáncer.

15 La presente solicitud divulga una nueva clase de compuestos que poseen potencia y selectividad mejoradas (en comparación con las tiazolidinocarboxamidas de ácido graso anteriores) durante estudios in vitro contra varias líneas celulares de cáncer diferentes, incluyendo células de cáncer de próstata y melanoma. Usando un miembro preferido de esta clase, también se demuestra en los ejemplos adjuntos que estos compuestos son inhibidores de la polimerización de tubulina. Se demuestra que uno de estos compuestos posee una actividad anticancerosa significativa durante estudios de xenoinjertos in vivo de melanoma en ratones. Basándose en estos datos, y la demostración de su modo de acción, se cree que el compuesto de la presente invención tiene una actividad significativa contra un número de formas de cáncer.

20

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un dibujo de ORTEP del compuesto **8f** con elipsoides térmicos representados con un nivel de probabilidad del 50%. El dibujo se generó siguiendo estudios de cristalografía de rayos X.

25 La Figura 2 ilustra estudios de NMR que miden la autodeshidrogenación de tiazolina hasta el compuesto de tiazol **8f**. El día 0, la muestra de NMR contenían mezclas de tiazolina y tiazol en CDCl₃; la relación es aproximadamente 3:2. El 9º día, el compuesto de tiazolina casi se convertía completamente en el compuesto de tiazol **8f**.

30 Las Figuras 3A-B ilustran el efecto del compuesto **8f** sobre la distribución del ciclo celular de células de cáncer de próstata LNCaP. Las Figuras 3A ilustran el efecto de diversas dosificaciones (10 nM, 50 nM, 200 nM y 500 nM) del compuesto **8f** con relación al control. Las cantidades por encima del valor de IC₅₀ ilustran un cambio significativo en la distribución del ciclo celular. La Figura 3B ilustra gráficamente el cambio en la distribución del ciclo celular G2/M frente a G1.

La Figura 4 es una gráfica que ilustra el efecto del compuesto **8f** sobre el ensamblaje de tubulina.

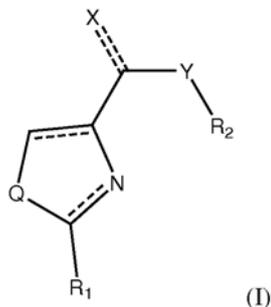
35 Las Figuras 5A-B son gráficas que ilustran la capacidad de los compuestos **8f** y **8n** para inhibir significativamente la formación de colonias de melanoma A375 en un ensayo in vitro. Con 0,3 µM o más, la formación de colonias se inhibe completamente.

La Figura 6 es una gráfica que ilustra la capacidad del compuesto **8n** (6 mg/kg, inyección IP diaria) para inhibir el crecimiento de tumor de melanoma B16 in vivo.

Descripción detallada de la invención

40 La presente invención se refiere a un compuesto, en donde el compuesto es (2-(1*H*-indol-3-il)imidazol-4-il)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona.

También se divulgan en la presente compuestos según la fórmula (I)



en la que

Q es S, N u O;

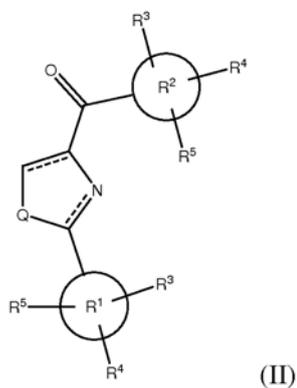
5 X es opcional y puede ser S=, O=, =N-NH₂, =N-OH o -OH;

Y es opcional y puede ser -N(H)-, O un hidrocarburo C₁ a C₂₀; y

R₁ y R₂ son cada uno independientemente sistemas anulares arílicos o (hetero)cíclicos de un solo anillo, de anillos condensados o de múltiples anillos, sustituidos o no sustituidos, incluyendo N-heterociclos saturados e insaturados, S-heterociclos saturados e insaturados y O-heterociclos saturados e insaturados, hidrocarburos cíclicos saturados e insaturados, heterociclos mixtos saturados o insaturados, hidrocarburos alifáticos C₁ a C₃₀ de cadena lineal o ramificada.

10

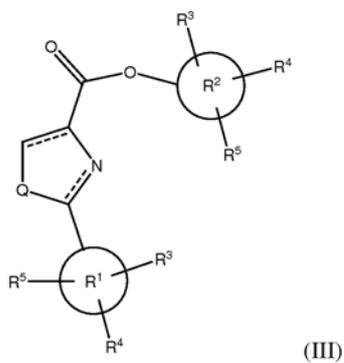
Según se divulga en la presente, la clase de compuestos puede tener una estructura según la fórmula (II):



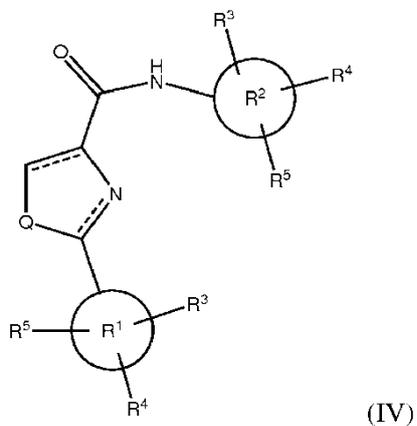
donde X es O=, Y se omite y Q y R¹-R⁵ se definen como anteriormente para la fórmula (I).

15 Compuestos ejemplares de fórmula (II) incluyen (2-(1H-indol-3-il)imidazol-4-il)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona, que es el compuesto de la presente invención.

También se divulgan en la presente memoria clases de compuestos que tienen una estructura según la fórmula (III):

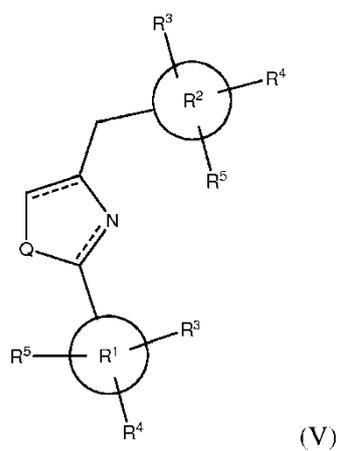


donde X es O=, Y es O y Q y R¹-R⁵ se definen como anteriormente para la fórmula (I), o que tienen una estructura según la fórmula (IV):

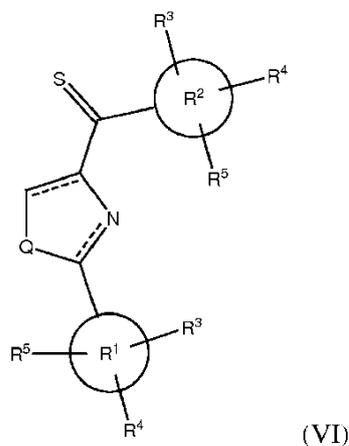


5

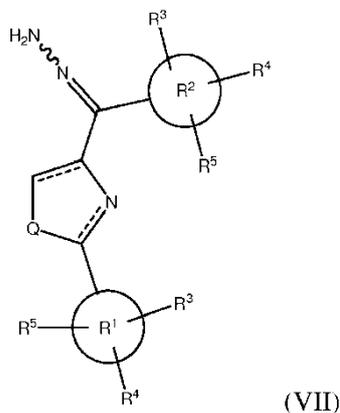
donde X es O=, Y es -NH- y Q y R¹-R⁵ se definen como anteriormente para la fórmula (I), o que tienen una estructura según la fórmula (V):



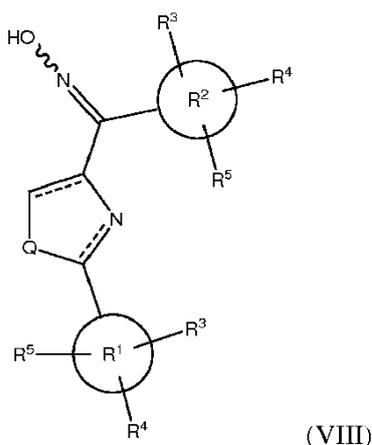
donde X e Y se omiten y Q y R¹-R⁵ se definen como anteriormente para la fórmula (I), o que tienen una estructura según la fórmula (VI):



5 donde X es S=, Y se omite y Q y R¹-R⁵ se definen como anteriormente para la fórmula (I), o que tienen una estructura según la fórmula (VII):



donde X es =N-NH₂, Y se omite y Q y R¹-R⁵ se definen como anteriormente para la fórmula (I), o que tienen una estructura según la fórmula (VIII):



10 donde X es =N-OH, Y se omite y Q y R¹-R⁵ se definen como anteriormente para la fórmula (I).

Ciertos compuestos, particularmente los que poseen grupos ácidos o básicos, también pueden estar en forma de sal, preferiblemente una sal farmacéuticamente aceptable. El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales que retienen la eficacia biológica y las propiedades de las bases libres o los ácidos libres, que no sean indeseables biológicamente o de otro modo. Las sales se forman con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico,

15

ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, N-acetilcisteína y similares. Otras sales son conocidas por los expertos en la técnica y se pueden adaptar fácilmente para el uso según la presente invención.

5 El compuesto de la presente invención también se puede administrar como un profármaco. Así, ciertos derivados que pueden tener poca o ninguna actividad farmacológica por sí mismos, cuando se administran en o sobre el cuerpo, se pueden convertir en el compuesto de la presente invención que tiene la actividad deseada, por ejemplo, mediante escisión hidrolítica. Información adicional sobre el uso de profármacos se puede encontrar en *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, Vol. 14, ACS Symposium Series (Higuchi y Stella); y *Bioreversible Carriers in Drug Design*, Pergamon Press (ed. E B Roche, American Pharmaceutical Association) (1987).

10 Por ejemplo, se pueden producir profármacos al reemplazar funcionalidades apropiadas presentes en los compuestos de la presente invención por ciertos restos conocidos por los expertos en la técnica como prorestos. Ejemplos de estos profármacos incluyen, sin limitación, la sustitución del hidrógeno en una funcionalidad alcohol (-OH) por un alquilo C1 a C6 para formar un éter; y (ii) la sustitución de hidrógeno en una funcionalidad amino secundario por un alcanóilo C1 a C10 para formar una amida.

15 El compuesto de la presente invención también puede estar en la forma de un hidrato, lo que significa que el compuesto incluye además una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida por fuerzas intermoleculares no covalentes.

20 El compuesto de la presente invención también puede estar presente en la forma de una mezcla racémica, que contiene cantidades sustancialmente equivalentes de los estereoisómeros. En otra realización, el compuesto de la presente invención se puede preparar o aislar de otro modo, usando procedimientos conocidos, para obtener un estereoisómero sustancialmente libre de su estereoisómero correspondiente (es decir, sustancialmente puro). Por sustancialmente puro, se entiende que un estereoisómero es al menos aproximadamente 95% puro, más preferiblemente al menos aproximadamente 98% puro, lo más preferiblemente al menos aproximadamente 99% puro.

También se divulga en la presente memoria un método para elaborar los compuestos según la fórmula (I). Por otra parte, la presente invención divulga metodologías sintéticas para la preparación de derivados de amida, alcoxiámida, cetona, hidracina y oxima de tiazolidinas, tiazolinas, tiazoles, imidazolidinas, imidazoles, oxazolidinas, oxazolidinas y oxazoles.

30 Según se divulga en la presente memoria, para sintetizar compuestos de la serie de la tiazolina y el tiazol, L- o D-cisteína se puede hacer reaccionar con benzonitrilo sustituido o no sustituido en metanol y solución tamponadora de fosfato de pH 6,4 a temperatura ambiente durante varios días (Bergeron et al., "Evaluation of Desferrithiocin and its Synthetic Analogs as Orally Effective Iron Chelators," *J. Med. Chem.* 34:2072-8 (1991); Bergeron et al., "Desazadesmethyldeferrithiocin Analogues as Orally Effective Iron Chelators," *J. Med. Chem.* 42:95-108 (1999); Zamri et al., "An Improved Stereocontrolled Synthesis of Pyochelin, Siderophore of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*," *Tetrahedron* 56:249-256 (2000)). Los productos intermedios de ácido carboxílico resultantes se pueden convertir fácilmente en las amidas de Weinreb correspondientes (Nahm et al., "N-Methoxy-N-methylamides as Effective Acylating Agents," *Tetrahedron Lett.* 22:3815-18 (1981)) usando EDCI/HOBt como reactivos de acoplamiento. Los productos intermedios de tiazol se pueden obtener a partir de deshidrogenación con $\text{BrCCl}_3/\text{DBU}$ de las amidas de Weinreb. Los productos intermedios de tiazol se pueden hacer reaccionar con reactivos de litio o reactivos de Grignard apropiados (es decir, que tienen el anillo "C" correspondiente, véase el Esquema 3 posteriormente) en THF anhidro para dar los tiazoles finales (Nahm et al., "N-Methoxy-N-methylamides as Effective Acylating Agents," *Tetrahedron Lett.* 22:3815-18 (1981)). Alternativamente, las amidas de Weinreb de tiazolina se pueden hacer reaccionar directamente con reactivos de litio o reactivos de Grignard apropiados, después de desactivar con solución saturada de NH_4Cl , lo que proporciona mezclas de compuestos de tiazolina y los compuestos de tiazol correspondientes.

50 Según se divulga en la presente memoria, cuando mezclas de tiazolina/tiazol se ponen en el disolvente y se exponen a aire bajo atmósfera ambiente durante algún tiempo (de durante la noche a varios días), el anillo de tiazolina se deshidrogena espontáneamente hasta tiazoles. Como un ejemplo, en solución con cloroformo deuterado, las mezclas de compuestos de tiazolina/tiazol se pueden convertir lentamente en compuestos de tiazol casi puros después de alrededor de 9 días (véase, p. ej., la Figura 2).

La formación de compuestos de tiazolidina se describe en la Patente de EE. UU. N° 7.307.093 de Miller et al. y la Publ. de Solicitud de Patente de EE. UU. N° 2007/0155807 de Miller et al.

55 Según se divulga en la presente memoria, los derivados de oxazolina (ácidos carboxílicos, carboxamidas, metanonas) según la presente invención se preparan a través de la condensación de derivados de imina (benzonitrilo y 1-fenil-2-metoxi-etanimina) con éster de cisteína o serina enantiómero (L o D) o racémico mientras se usa trietilamina como una base (Meyer et al., *Tetrahedron: Asymmetry* 14:2229-2238 (2003))

Los derivados de imidazolina, tales como el compuesto de la presente invención, se preparan usando ácido L-

tartárico en una reacción de condensación con arilaldehído sustituido o no sustituido para formar el sistema anular de imidazolina (Anderson et al., *J. Med. Chem.* 32(1),119-127 (1989)).

5 Las síntesis de tiazol, oxazol e imidazol se pueden llevar a cabo mediante deshidrogenación de la tiazolina, oxazolina e imidazolina correspondiente. La deshidrogenación según la presente invención se puede alcanzar mediante la halogenación inicial de estos sistemas anulares centrales (tiazolina, imidazolina y oxazolina) seguida por eliminación para dar los derivados de tiazol, oxazol e imidazol deseados.

La formación del grupo conector tiocarbonilo (a partir de carbonilo) se puede llevar a cabo usando el reactivo de Lawesson (Jesberger et al., *Synthesis* 1929-1958 (2003)). La estructura de tiocetona con anillos aromáticos conjugados es estable con relación a las tiocetonas no impedidas.

10 El grupo conector carbonilo también se puede reducir con un alcohol usando la reacción de Grignard de un aldehído intermedio con reactivos de Grignard adecuados. Alternativamente, el grupo carbonilo se puede retirar completamente con reducción de Clemmensen para formar el hidrocarburo correspondiente (p. ej., el grupo metileno). Cuando el carbonilo se reduce hasta un alcohol o metileno, el aceptor de hidrógeno fuerte C=O se invierte al donante de hidrógeno fuerte O-H o hidrocarburo, que pierde totalmente los efectos de enlace de hidrógeno.

15 Los enlaces éster y carboxamida se pueden preparar a partir de los mismos ácidos intermedios usados para formar el enlace cetona, excepto que los reaccionantes (ácido y precursor del anillo "C") se exponen a condiciones adecuadas para la formación de los enlaces éster (DCC, NMM) o amida (EDC1, HOBt, Et₃N) respectivos. Los enlaces carboxamida también se enseñan en la Patente de EE. UU. N° 7.307.093 de Miller et al. y la Publ. de Solicitud de Patente de EE. UU. N° 2007/0155807 de Miller et al.

20 También se aprecia que los compuestos y los productos intermedios sintéticos divulgados en la presente memoria se pueden preparar mediante procedimientos sintéticos conocidos por los expertos en la técnica. Puede ser necesario proteger los grupos funcionales de los productos intermedios y los compuestos de la presente invención mediante grupos protectores adecuados. Dichos grupos funcionales incluyen hidroxilo, amino, mercapto y ácido carboxílico. Grupos protectores adecuados para hidroxilo incluyen trialkilsililo o diarilalkilsililo (p. ej. *t*-butildimetilsililo, *t*-butildifenilsililo o trimetilsililo), tetrahidropiranilo, bencilo y similares. Grupos protectores adecuados para amino, amidino y guanidino incluyen *t*-butoxicarbonilo (*t*-Boc o Boc), benciloxicarbonilo y similares. Grupos protectores adecuados para mercapto incluyen -C(O)-R (donde R es alquilo, arilo o aralquilo), *p*-metoxibencilo y similares. Grupos protectores adecuados para ácido carboxílico incluyen ésteres alquílicos, arílicos o aralquílicos.

30 Los grupos protectores se pueden añadir o retirar según técnicas estándar, que son conocidas para un experto en la especialidad y que se describen en la presente memoria. El uso de grupos protectores se describe con detalle en Green et al., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2ª Ed., Wiley-Interscience (1991).

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que incluye un portador farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la presente invención. Típicamente, la composición farmacéutica de la presente invención incluirá un compuesto de la presente invención o su sal farmacéuticamente aceptable, así como un portador farmacéuticamente aceptable. El término "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualesquiera adyuvantes, portadores, excipientes o estabilizantes adecuados, y pueden estar en forma sólida o líquidas, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, soluciones, suspensiones o emulsiones.

40 Típicamente, la composición contendrá de aproximadamente 0,01 a 99 por ciento, preferiblemente de aproximadamente 20 a 75 por ciento del compuesto o los compuestos activos, junto con los adyuvantes, portadores y/o excipientes. Aunque las necesidades individuales pueden variar, la determinación de los intervalos óptimos de las cantidades eficaces de cada componente está dentro de los conocimientos de la técnica. Dosificaciones típicas comprenden de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal. Las dosificaciones preferidas comprenden de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal. Las dosificaciones más preferidas comprenden de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal.

45 El régimen de tratamiento para la administración de los compuestos de la presente invención también puede ser determinado fácilmente por los expertos normales en la técnica. Esto es, la frecuencia de administración y el tamaño de la dosis se pueden establecer mediante optimización habitual, preferiblemente mientras se minimiza cualquier efecto secundario.

50 Las formas de dosificación unitaria sólidas pueden ser del tipo convencional. La forma sólida puede ser una cápsula y similares, tales como un tipo de gelatina normal que contiene los compuestos de la presente invención y un portador, por ejemplo, lubricantes y cargas inertes tales como lactosa, sacarosa o almidón de maíz. En otra realización, estos compuestos se comprimen con bases de comprimidos convencionales tales como lactosa, sacarosa o almidón de maíz en combinación con aglutinantes como goma arábiga, almidón de maíz o gelatina, agentes desintegrantes, tales como almidón de maíz, almidón de patata o ácido algínico, y un lubricante, como ácido esteárico o estearato magnésico.

Los comprimidos, las cápsulas y similares también pueden contener un aglutinante tal como goma de tragacanto, goma arábiga, almidón de maíz o gelatina; excipientes tales como fosfato dicálcico; un agente desintegrante tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico; un lubricante tal como estearato magnésico; y un agente

edulcorante tal como sacarosa, lactosa o sacarina. Cuando la forma unitaria de dosificación es una cápsula, puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un portador líquido tal como un aceite graso.

5 Varios otros materiales pueden estar presentes como revestimientos o para modificar la forma física de una unidad de dosificación. A modo de ejemplo, los comprimidos se pueden revestir con goma laca, azúcar o ambos. Un jarabe puede contener, además del ingrediente activo, sacarosa como un agente edulcorante, metil- y propilparabenos como conservantes, un colorante y un aromatizante, tal como aroma de cereza o naranja.

10 Para la administración terapéutica oral, estos compuestos activos se pueden incorporar con excipientes y usar en la forma de comprimidos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes y similares. Dichas composiciones y preparaciones deben contener al menos 0,1% del compuesto activo. Por supuesto, el porcentaje del compuesto en estas composiciones se puede variar y convenientemente puede estar entre aproximadamente 2% y aproximadamente 60% del peso de la unidad. La cantidad del compuesto activo en estas composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtendrá una dosificación adecuada. Las composiciones preferidas según la presente invención se preparan de modo que una unidad de dosificación oral contenga entre aproximadamente 1 mg y 800 mg de compuesto activo.

15 El compuesto activo de la presente invención se puede administrar oralmente, por ejemplo, con un diluyente inerte, o con un portador comestible asimilable, o se puede encerrar en cápsulas de envuelta dura o blanda, o se puede incorporar directamente en el alimento de la dieta.

20 Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida hasta el grado en el que exista una fácil inyectabilidad. Debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe conservarse frente a la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un disolvente o un medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (p. ej., glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), mezclas adecuadas de los mismos, y aceites vegetales.

25 Los compuestos o las composiciones farmacéuticas de la presente invención también se pueden administrar en dosificaciones inyectables mediante la disolución o suspensión de estos materiales en un diluyente fisiológicamente aceptable con un adyuvante, portador o excipiente farmacéutico. Estos adyuvantes, portadores y/o excipientes incluyen, pero no se limitan a, líquidos estériles, tales como agua y aceites, con o sin la adición de un tensioactivo y otros componentes farmacéuticamente y fisiológicamente aceptables. Son aceites ilustrativos los del petróleo, los de origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soja o aceite mineral. En general, agua, solución salina, dextrosa acuosa y soluciones de azúcar relacionadas, y glicoles, tales como propilenglicol o polietilenglicol, son portadores líquidos preferidos, particularmente para soluciones inyectables.

35 Estos compuestos activos también se pueden administrar parenteralmente. Las soluciones o suspensiones de estos compuestos activos se pueden preparar en agua adecuadamente mezclada con un tensioactivo tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones también se pueden preparar en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos en aceites. Son aceites ilustrativos los del petróleo, los de origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soja o aceite mineral. En general, agua, solución salina, dextrosa acuosa y soluciones de azúcar relacionadas, y glicoles, tales como propilenglicol o polietilenglicol, son portadores líquidos preferidos, particularmente para soluciones inyectables. En condiciones ordinarias de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

40 Para el uso como aerosoles, los compuestos de la presente invención en solución o suspensión se pueden envasar en un recipiente para aerosol presurizado junto con propelentes adecuados, por ejemplo, propelentes hidrocarbonados como propano, butano o isobutano con adyuvantes convencionales. Los materiales de la presente invención también se pueden administrar en una forma no presurizada tal como en un nebulizador o atomizador.

45 Otro aspecto más de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable para el uso en el tratamiento del cáncer de próstata, el cáncer de mama, el cáncer ovárico, el cáncer de piel, el cáncer de pulmón, la leucemia, el cáncer renal o el cáncer del SNC, o una combinación de los mismos, en un sujeto que lo necesite.

50 Cuando se administran los compuestos de la presente invención, se pueden administrar sistémicamente o, alternativamente, se pueden administrar directamente a una zona específica en la que están presentes células cancerosas o células precancerosas. Así, la administración se puede efectuar de cualquier modo eficaz para aportar los compuestos o las composiciones farmacéuticas a las células cancerosas o las células precancerosas. Modelos ejemplares de administración incluyen, sin limitación, administrar los compuestos o las composiciones oralmente, tópicamente, transdérmicamente, parenteralmente, subcutáneamente, intravenosamente, intramuscularmente, intraperitonealmente, mediante instilación intranasal, mediante instilación intracavitaria o intravesical, intraocularmente, intraarterialmente, intralesionalmente o mediante la aplicación a membranas mucosas, tales como las de la nariz, la garganta y los conductos bronquiales.

55 Los compuestos de la presente invención son útiles en el tratamiento o la prevención de diversas formas de cáncer, particularmente cáncer de próstata, cáncer de mama, ovárico, cáncer de piel (p. ej., melanoma), cáncer de pulmón,

cáncer de colon, leucemia, cáncer renal, cáncer del SNC (p. ej., glioma, glioblastoma). El tratamiento de estos cánceres diferentes está soportado por los Ejemplos de la presente invención. Por otra parte, basándose en su modo de acción pensado como inhibidores de tubulina, se cree que otras formas de cáncer puedan asimismo tratarse o prevenirse con la administración de los compuestos o las composiciones de la presente invención a un paciente. Los compuestos preferidos de la presente invención son perturbadores selectivamente para células cancerosas, provocando la eliminación de células cancerosas pero preferiblemente no células normales. Significativamente, el daño a las células normales se minimiza debido a que las células cancerosas son sensibles a la perturbación a concentraciones muy inferiores de los compuestos de la presente invención.

Así, un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un método *ex vivo* para destruir una célula cancerosa que incluye: proporcionar un compuesto de la presente invención y a continuación poner en contacto una célula cancerosa con el compuesto bajo condiciones para destruir la célula cancerosa puesta en contacto *ex vivo* (es decir, en cultivo).

Según una realización, el paciente que se va a tratar se caracteriza por la presencia de una afección precancerosa, y la administración del compuesto es eficaz para prevenir el desarrollo de la afección precancerosa en la afección cancerosa. Esto se puede producir al destruir la célula precancerosa antes de o simultáneamente con su desarrollo adicional en un estado canceroso.

Según otra realización, el paciente que se va a tratar se caracteriza por la presencia de una afección cancerosa, y la administración del compuesto es eficaz bien para provocar la regresión de la afección cancerosa o bien para inhibir el crecimiento de la afección cancerosa, es decir, detener su crecimiento totalmente o reducir su velocidad de crecimiento. Preferiblemente, esto se produce al destruir células cancerosas, independientemente de su localización en el cuerpo del paciente, esto es, ya estén las células cancerosas situadas en una zona de tumor primario o ya se hayan metastasizado las células cancerosas y creado tumores secundarios dentro del cuerpo del paciente.

Según se usa en la presente memoria, sujeto o paciente se refiera a cualquier paciente mamífero, incluyendo sin limitación seres humanos y otros primates, perros, gatos, caballos, vacas, ovejas, cerdos, ratas, ratones y otros roedores.

Cuando los compuestos o las composiciones farmacéuticas de la presente invención se administran para tratar o prevenir una afección cancerosa, la composición farmacéutica también puede contener, o se puede administrar junto con, otros agentes terapéuticos o un régimen de tratamiento actualmente conocidos o desarrollados posteriormente en la presente memoria para el tratamiento de diversos tipos de cáncer. Ejemplos de otros agentes terapéuticos o régimen de tratamiento incluyen, sin limitación, radioterapia, inmunoterapia, quimioterapia, un intervención quirúrgica y combinaciones de las mismas.

Ejemplos

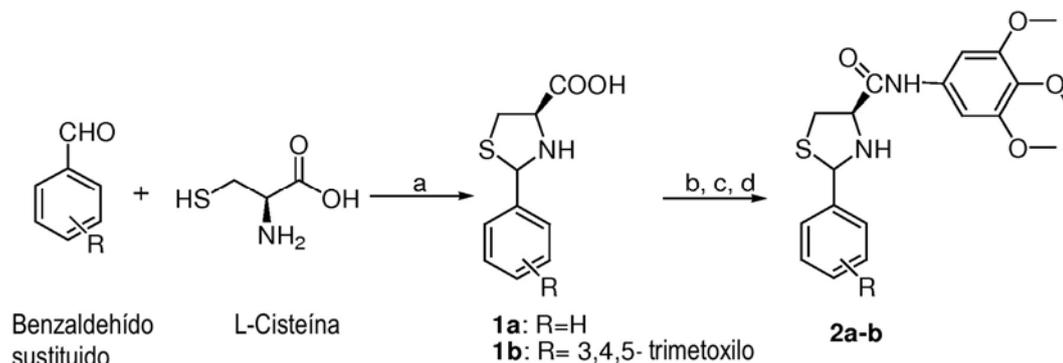
En la medida en que los siguientes ejemplos no se refieran al compuesto (2-(1*H*-indol-3-il)imidazol-4-il)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona, son ejemplos comparativos.

Todos los reactivos se adquirieron de Sigma-Aldrich Chemical Co., Fisher Scientific (Pittsburgh, PA), AK Scientific (Mountain View, CA), Oakwood Products (West Columbia, SC), etc. y se usaron sin purificación adicional. Las reacciones sensibles a la humedad se llevaron a cabo bajo una atmósfera de argón. La cromatografía en capa fina (TLC) habitual se realizó sobre Uniplates revestidas de aluminio (Analtech, Newark, DE). Los puntos de fusión se midieron con un aparato para determinar el punto de fusión de Fisher-Johns (sin corregir). Los espectros de NMR se obtuvieron en un espectrómetro Bruker ARX 300 (Billerica, MA) o un espectrómetro Varian Inova-500. Los desplazamientos químicos se presentan como partes por millón (ppm) relativas a TMS en CDCl₃. Los datos espectrales de masas se recogieron en un instrumento de electropulverización/trampa de iones Bruker ESQUIRE en modos iónicos positivo y negativo. Los análisis elementales fueron realizados por Atlantic Microlab Inc., (Norcross, GA).

Ejemplo 1 - Síntesis de tiazol-, tiazolino- y tiazolidinocarboxamidas

La síntesis de tiazol- y tiazolidinocarboxamidas se divulga generalmente en la Patente de EE. UU. N° 7.307.093 de Miller et al. y la Publ. de Solicitud de Patente de EE. UU. N° 2007/0155807 de Miller et al. La síntesis de diversos compuestos de tiazol-, dihidrotiazol- y tiazolidinocarboxamida también se ilustra en el Esquema 1 posteriormente.

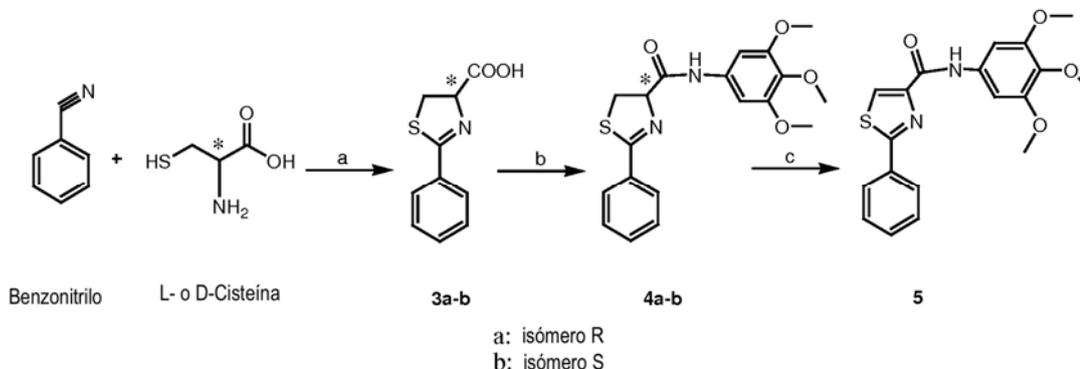
Esquema 1



Reactivos y condiciones: (a) C₂H₅OH, H₂O, t. a.; (b) Boc₂O, NaOH 1 N, 1,4-dioxano, H₂O; (c) EDCI, HOBT, 3,4,5-trimetoxianilina; (TFA, CH₂Cl₂)

- 5 Procedimiento general para la preparación de ácido (2RS,4R)-2-aryl-tiazolidino-4-carboxílico **1**: Una mezcla de L-cisteína (3,16 g, 26,11 mmol) y el aldehído apropiado (26,15 mmol) en etanol (300 ml) y agua (30 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 6-15 h y el sólido que precipitaba se recogió, se lavó con éter dietílico y se secó para proporcionar el ácido (2RS,4R)-2-aryl-tiazolidino-4-carboxílico **1** pertinente con rendimientos de 70-99%. A 0°C, **1** (5,95 mmol) se disolvió en NaOH 1 N (6 ml) y 1,4-dioxano (15 ml), a continuación se añadió lentamente dicarbonato de di-*tert*-butilo (2,80 g, 12,80 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se lavó con acetato de etilo (20 ml). La fase acuosa se ajustó hasta pH=4 al añadir HCl 1 N o KHSO₄ al 5%, a continuación se extrajo con acetato de etilo, se secó con sulfato magnésico, se filtró y se concentró a vacío para dar los ácidos protegidos con BOC correspondientes como sólidos espumosos blancos, que se usaron para la siguiente etapa sin purificación adicional.
- 10
- 15 Procedimiento general para la preparación de (2RS, 4R)-2-aryl-N-(3,4,5-trimetoxifenil)tiazolidino-4-carboxamidas **2a**, **2b**: Una mezcla de los ácido carboxílicos protegidos con BOC apropiados (0,3-0,5 g), EDCI (1,2 equiv) y HOBT (1,05 equiv) en CH₂Cl₂ (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadieron a esta solución 3,4,5-trimetoxianilina (1,05 equiv) y Et₃N (1,2 equiv) y la agitación continuó a temperatura ambiente durante 6-8 h. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (30 ml) y se lavó secuencialmente con agua, NaHCO₃ saturado, salmuera y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se retiró bajo presión reducida para dar un aceite en bruto, que se agitó con TFA (0,6-1 ml) en 20 ml de CH₂Cl₂ a t. a. durante 1-8 h para escindir el grupo BOC. La mezcla de reacción se concentró, se lavó con NaHCO₃ saturado y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se retiró para dar un sólido en bruto, y los compuestos **2a-2b** se purificaron mediante cromatografía en columna. El rendimiento se presentó como rendimiento en dos etapas.
- 20
- 25 (2RS,4R)-2-Fenil-N-(3,4,5-trimetoxifenil)tiazolidino-4-carboxamida (**compuesto 2a**): Rendimiento: 69,5%. p. f. 158-159°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,14 (s, 0,8 H), 8,61 (s, 0,2 H), 7,58-7,32 (m, 5 H), 6,90 (s, 1,6 H), 6,71 (s, 0,4H), 5,71 (dd, 0,2 H, J = 9,0 Hz), 5,42 (dd, 0,8 H, J = 11,7 Hz), 4,53 (dt, 0,8 H), 4,19 (m, 0,2 H), 3,87, 3,80 (s, s, 6 H), 3,82, 3,78 (s, s, 3 H), 3,80-3,78 (m, 0,4 H), 3,62-3,42 (m, 1,6 H), 2,96 (t, 0,2 H, J = 9,0 Hz), 2,74 (dd, 0,8 H, J = 11,7 Hz). MS (ESI) *m/z* 375,1 [M + H]⁺, 397,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₉H₂₂N₂O₄S) C, H, N.
- 30 (2RS,4R)-N,2-bis(3,4,5-trimetoxifenil)tiazolidino-4-carboxamida (**compuesto 2b**): Rendimiento: 34,5%. p. f. 147-149°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,10 (s, 0,7 H), 8,59 (s, 0,3 H), 6,90 (s, 1,4 H), 6,80 (s, 0,6 H), 6,74 (s, 1,4H), 6,71 (s, 0,6 H), 5,66 (an, 0,3 H), 5,35 (d, br, 0,7 H, J = 7,5 Hz), 4,52 (an, 0,7 H), 4,21 (an, 0,3 H), 3,90, 3,87, 3,86, 3,84, 3,82, 3,81, 3,79, 3,78 (todos s, 18 H), 3,66-3,61, 3,54-3,38 (m, 1,6 H), 2,98, 2,72 (an, 1 H), MS (ESI) *m/z* 465,1 [M + H]⁺, 487,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₂₂H₂₈N₂O₇S) C, H, N.
- 35 Para potenciar la actividad y desarrollar agentes más selectivos, esta síntesis se extendió y, como se analiza en los ejemplos posteriores, se realizaron estudios biológicos para examinar la naturaleza de los sustituyentes ligados al carbonilo en la posición 4. La síntesis de estos compuestos adicionales se muestra en el Esquema 2 posteriormente.

Esquema 2



Reactivos y condiciones: (a) MeOH / tampón de fosfato pH=6,4, t. a.; (b) EDCI, HOBt, TEA, 3,4,5-trimetoxianilina; (c) CBrCl₃, DBU.

5 **Síntesis de 2-fenil-N-(3,4,5-trimetoxifenil)-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamidas 4a-4b, 5:** Se combinó benzonitrilo sustituido (40 mmol) con L- o D-cisteína (45 mmol) en 100 ml de MeOH/tampón de fosfato pH 6,4 1:1. La reacción se agitó a 40°C durante 3 días (Bergeron et al., "Evaluation of Desferriethiocin and its Synthetic Analogs as Orally Effective Iron Chelators," *J. Med. Chem.* 34:2072-8 (1991)). El precipitado se retiró a través de filtración y el MeOH se retiró usando evaporación giratoria. Se añadió a la solución restante HCl 1 M para ajustar el pH=4 bajo 0°C. El precipitado resultante se extrajo en CH₂Cl₂, se secó y se concentró (Esquema 2). Los ácidos carboxílicos **3a, 3b** se hicieron reaccionar con 3,4,5-trimetoxianilina usando los mismos procedimientos que se describieron para la preparación de los compuestos **2a, 2b**, formando de ese modo los compuestos **4a, 4b**. La conversión de los dihidrotiazoles **4a, 4b** en la tiazolidina **5** se llevó a cabo mediante oxidación con BrCCl₃/DBU (Williams et al., "Studies of Mild Dehydrogenations in Heterocyclic Systems," *Tetrahedron Lett.* 38:331-334 (1997)).

15 **Ácido (4R)-2-fenil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxílico (compuesto 3a):** Rendimiento: 58,3 %. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,31 (an, 1 H), 7,88-7,85 (m, 2 H), 7,55-7,41 (m, 3 H), 5,38 (t, 1 H, J = 9,6 Hz), 3,75 (dt, 2 H, J = 9,6 Hz, 2,7 Hz). MS (ESI) *m/z* 162,0 [M - COOH]⁻.

20 **Ácido (4S)-2-fenil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxílico (compuesto 3b):** Rendimiento: 53,9 %. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,89-7,85 (m, 2 H), 7,55-7,41 (m, 3 H), 5,38 (t, 1 H, J = 9,3 Hz), 3,75 (dt, 2 H, J = 9,3 Hz, 2,7 Hz). MS (ESI) *m/z* 162,0 [M - COOH]⁻.

(4R)-2-Fenil-N-(3,4,5-trimetoxifenil)-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (compuesto 4a): Rendimiento: 98,7 %. p. f. 121-122°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,98 (s, 1 H), 8,02-7,94, 7,62-7,48 (m, 5 H), 6,93 (s, 2 H), 5,38 (t, 1 H, J = 9,6 Hz), 3,92-3,85 (m, 2 H), 3,87 (s, 6 H), 3,82 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 373,1 [M + H]⁺. Anal. (C₁₉H₂₀N₂O₄S) C, H, N.

25 **(4R)-2-Fenil-N-(3,4,5-trimetoxifenil)-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (compuesto 4b):** Rendimiento: 70,7 %. p. f. 122-123°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,62 (s, 1 H), 7,93-7,90 (m, 2 H), 7,55-7,45 (m, 3 H), 6,88 (s, 2 H), 5,31 (t, 1 H, J = 9,6 Hz), 3,86 (s, 6 H), 3,79 (s, 3 H), 3,83-3,70 (m, 2 H). MS (ESI) *m/z* 395,1 [M + Na]⁺, 370,9 [M - 1]⁻. Anal. (C₁₉H₂₀N₂O₄S) C, H, N.

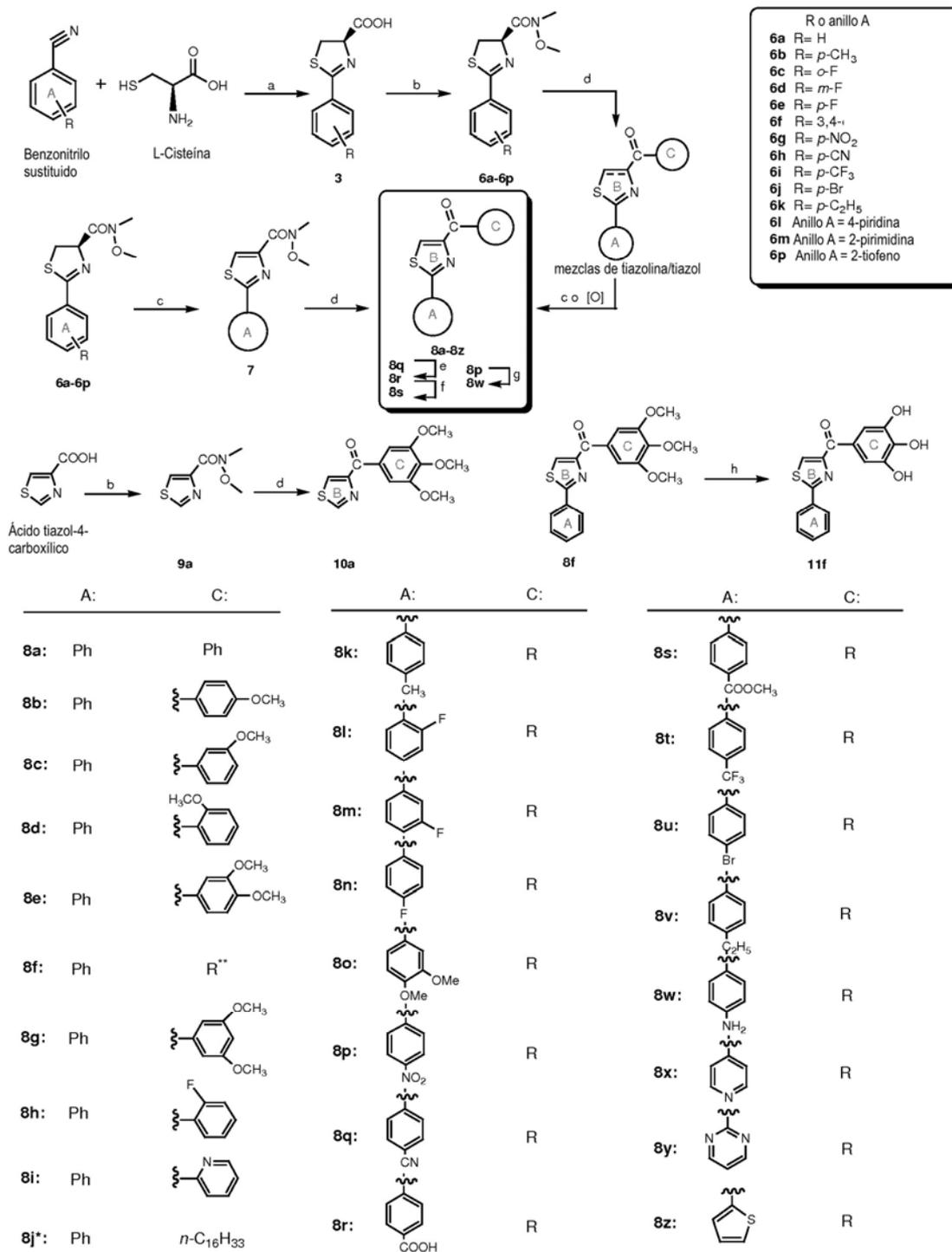
30 **2-Fenil-N-(3,4,5-trimetoxifenil)tiazol-4-carboxamida (compuesto 5):** Rendimiento: 89,7 %. p. f. 157-158°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,30 (s, 1 H), 8,20 (s, 1 H), 8,04-8,01 (m, 2 H), 7,53-7,51 (m, 3 H), 7,08 (s, 2 H), 3,92 (s, 6 H), 3,86 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 393,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₉H₁₈N₂O₄S) C, H, N.

Ejemplo 2 - Síntesis de derivados de tiazol- y tiazolidinometanona

35 **Productos intermedios de metoximetilamida de ácido 2-(fenil sustituido)-4,5-dihidrotiazol-4-carboxílico:** Como se muestra en el Esquema 3 posterior, se prepararon ácidos 2-(fenil sustituido)- y 2-fenil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxílicos no sustituidos **3** a partir de nitrilos apropiados (p. ej., benzonitrilo, piridinil-nitrilo, pirimidinil-nitrilo, tiofenil-nitrilo) y L-cisteína según se describe anteriormente. Los ácidos carboxílicos obtenidos se usaron a continuación para la síntesis de los productos intermedios de metoximetilamida. Una mezcla del ácido carboxílico **3** apropiado (5 mmol), EDCI (6 mmol) y HOBt (5 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se agitó durante 10 min. Se añadieron a esta solución NMM (5 mmol) y HNCH₃OCH₃ (5 mmol) y la agitación continuó a temperatura ambiente durante 6-8 horas. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (100 ml) y se lavó secuencialmente con agua, NaHCO₃ saturado, salmuera y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se retiró bajo presión reducida para dar un producto **2** en bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna.

40

Esquema 3



* El compuesto **8j** contiene un lípido en la posición "C"

** R = 3,4,5-trimetoxifenilo

- 5 Reactivos y condiciones: (a) MeOH/tampón de fosfato pH = 6,4, t. a.; (b) EDCI, HOBt, NMM, HNCH₃OCH₃; (c) CBrCl₃, DBU; (d) ArBr/BuLi o ArMgBr, THF; (e) HCl/HOAc; (f) MeOH/CH₃COCl; (g) Fe/HOAc; (h) BBr₃, CH₂Cl₂.

(*R*)-*N*-Metoxi-*N*-metil-2-fenil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6a**). Rendimiento: 92,0%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,85-7,83 (m, 2 H), 7,48-7,36 (m, 3 H), 5,66 (t, 1 H, J = 9,0 Hz), 3,90 (s, 3 H), 3,88-3,80 (an, 1 H), 3,55-3,47 (dd, 1 H, J = 10,8 Hz, 9,0 Hz), 3,30 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 251,0 [M + H]⁺, 273,0 [M + Na]⁺.

- 10 (*R*)-*N*-Metoxi-*N*-metil-2-*p*-tolil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6b**). Rendimiento: 55,8%. ¹H NMR (300

MHz, CDCl₃) δ 7,79 (d, 2 H, J = 7,8 Hz), 7,22 (d, 2 H, J = 7,8 Hz), 5,68 (t, 1 H, J = 8,7 Hz), 3,91 (s, 3 H), 3,80 (t, 1 H, J = 9,3 Hz), 3,55 (t, 1 H, J = 9,3 Hz), 3,30 (s, 3 H), 2,93 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 265,0 [M + H]⁺, 287,0 [M + Na]⁺.

5 (R)-2-(2-Fluorofenil)-N-metoxi-N-metil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6c**). Rendimiento: 39,6%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,91 (dt, 1 H, J = 7,5 Hz, 1,8 Hz), 7,43 (m, 1 H), 7,19-7,09 (m, 2 H), 5,63 (t, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,83 (an, 1 H), 3,48 (dd, 1 H, J = 11,1 Hz, 9,6 Hz), 3,30 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 291,0 [M + Na]⁺.

(R)-2-(3-Fluorofenil)-N-metoxi-N-metil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6d**). Rendimiento: 84,3%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,60-7,56 (m, 2 H), 7,38 (dt, 1 H, J = 8,1 Hz, 6,0 Hz), 7,16 (dt, 1 H, J = 8,1 Hz, 2,4 Hz), 5,67 (t, 1 H), 3,90 (s, 3 H), 3,86-3,83 (an, 1 H), 3,52 (dd, 1 H, J = 10,8 Hz, 9,3 Hz), 3,30 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 291,0 [M + Na]⁺.

10 (R)-2-(4-Fluorofenil)-N-metoxi-N-metil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6e**). Rendimiento: 66,0%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,90 (d, 2 H), 7,13 (d, 2 H), 5,63 (t, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 3,83 (an, 1 H), 3,46 (dd, 1 H), 3,31 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 269,0 [M + H]⁺.

15 (R)-2-(3,4-Dimetoxifenil)-N-metoxi-N-metil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6f**). Rendimiento: 36,7%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,11 (d, 1 H), 7,93 (s, 1 H), 7,19-7,09 (d, 1H), 5,41 (t, 1 H), 3,97 (s, 6H), 3,89 (s, 3 H), 3,73 (an, 1 H), 3,39 (dd, 1 H), 3,31 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 333,1 [M + Na]⁺.

(R)-N-Metoxi-N-metil-2-(4-nitrofenil)-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6g**). Rendimiento: 53,7%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,25(d, 2 H, J = 9,0 Hz), 8,01 (d, 2 H, J = 9,0 Hz), 5,73 (t, 1 H), 3,90 (s, 3 H), 3,87 (an, 1 H), 3,59 (dd, 1 H, J = 11,1 Hz, 9,3 Hz), 3,31 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 318,1 [M + Na]⁺.

20 (R)-2-(4-Cianofenil)-N-metoxi-N-metil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6h**). Rendimiento: 26,7%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,94(d, 2 H, J = 8,1 Hz), 7,69 (d, 2 H, J = 8,1 Hz), 5,71 (t, 1 H, J = 9,3 Hz), 3,89 (s, 3 H), 3,87 (an, 1 H), 3,56 (dd, 1 H, J = 10,8 Hz, 9,3 Hz), 3,30 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 298,0 [M + Na]⁺.

(R)-N-Metoxi-N-metil-2-(4-trifluorometilfenil)-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6i**). Rendimiento: 62,0%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,95 (d, 2 H, J = 8,1 Hz), 7,65 (d, 2 H, J = 8,1 Hz), 5,70 (t, 1 H, J = 9,6 Hz), 3,89 (s, 3 H), 3,85 (an, 1 H), 3,55 (dd, 1 H, J = 10,8 Hz, 9,6 Hz), 3,30 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 341,0 [M + Na]⁺.

25 (R)-2-(4-Bromofenil)-N-metoxi-N-metil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6j**). Rendimiento: 20,0%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,71, 7,53 (d, d, 4 H, J = 8,4 Hz), 5,63 (t, 1 H, J = 9,6 Hz), 3,88 (s, 3 H), 3,84 (t, 1 H, J = 9,6 Hz), 3,52 (dd, 1 H, J = 10,8 Hz, 9,6 Hz), 3,30 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 351,0 [M + Na]⁺.

30 (R)-N-Metoxi-N-metil-2-(4-etil)-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6k**). Rendimiento: 77,7%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,75(d, 2 H, J = 8,4 Hz), 7,21 (d, 2 H, J = 8,4 Hz), 5,64 (t, 1 H), 3,89 (s, 3 H), 3,81 (m, 1 H), 3,48 (dd, 1 H, J = 10,8 Hz, 9,3 Hz), 3,29 (s, 3 H), 2,67 (q, 2 H), 1,24 (t, 3 H). MS (ESI) *m/z* 301,0 [M + Na]⁺.

(R)-N-Metoxi-N-metil-2-(piridin-4-il)-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6l**). Rendimiento: 66,6%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,70 (d, 2 H, J = 9,0 Hz), 7,67 (d, 2 H, J = 9,0 Hz), 5,71 (t, 1 H, J = 9,6 Hz), 3,90 (s, 3 H), 3,73 (t, 1 H), 3,55 (dd, 1 H, J = 10,8 Hz, 9,6 Hz), 3,30 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 252,1 [M + H]⁺, 274,0 [M + Na]⁺.

35 (R)-N-Metoxi-N-metil-2-(pirimidin-2-il)-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6m**). Rendimiento: 32,5 %. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,88 (d, 2 H, J = 4,8 Hz), 7,38 (t, 1 H, J = 4,8 Hz), 5,83 (t, 1 H, J = 9,0 Hz), 3,87 (s, 3 H), 3,56 (dd, 2 H, J = 9,0 Hz), 3,30 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 275,0 [M + Na]⁺.

(R)-N-Metoxi-N-metil-2-(tiofen-2-il)-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**compuesto 6p**). Rendimiento: 58,5%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,57 (an, 1 H), 7,49 (d, 1 H, J = 4,8 Hz), 7,09 (dd, 1 H, J = 3,6 Hz, 4,8 Hz), 5,64 (t, 1 H, J = 9,0 Hz), 3,90 (s, 3 H), 3,85 (an, 1 H), 3,57 (dd, 1 H, J = 9,9, 9,0Hz), 3,29 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 279,0 [M + Na]⁺.

40 N-Metoxi-N-metiltiazol-4-carboxamida (**compuesto 9a**): Rendimiento: 58,7%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,82 (d, 1 H, J = 2,1 Hz), 8,10 (d, 1 H, J = 2,1 Hz), 3,79 (s, 3 H), 3,45 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 194,9 [M + Na]⁺.

45 Metoximetilamidas de ácido 2-(fenil sustituido)-tiazol-4-carboxílico **7a-p**: Una solución de las metoximetilamidas de ácido dihidrotiazol-4-carboxílico **6a-6p** resultantes (1 equiv) en CH₂Cl₂ se enfrió hasta 0°C y se añadió DBU destilado (2 equiv). A continuación, se introdujo gota a gota bromotriclorometano (1,7 equiv) a través de una jeringa a lo largo de 10 min. Las mezclas de reacción se dejaron calentar hasta temperatura ambiente y se agitaron durante la noche. Después del lavado con NH₄Cl acuoso saturado (2 x 50 ml), la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido según fuera necesario proporcionando los compuestos **7a-p**.

50 Metoximetilamida de ácido 2-fenil-tiazol-4-carboxílico (**compuesto 7a**): Rendimiento: 73,6%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,01 (s, 1 H), 7,99-7,96 (m, 2 H), 7,47-7,44 (m, 3 H), 3,88 (s, 3 H), 3,49 (s, 3 H). MS (ESI) *m/z* 271,0 [M + Na]⁺.

(2-(Fenil sustituido)-tiazol-4-il)-(fenil sustituido)-metanonas: Según se muestra en el Esquema 3 anterior, se utilizaron tres métodos diferentes para la síntesis de las metanonas **8a-8z**.

Método 1: Se añadió una solución de 3,4,5-trimetoxibromobenceno (1,09 mmol) en 3 ml de THF bajo -78°C a una solución de *n*-BuLi (1,6 M, 0,713 ml) en 8 ml de THF. La mezcla se agitó durante 2 h y se cargó una solución de las amidas **6** o **7** (1,14 mmol) en 3 ml de THF. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se desactivó con NH_4Cl saturado, se extrajo con éter etílico, se secó con MgSO_4 y se expuso a atmósfera de aire durante la noche. El disolvente se retiró bajo presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna para obtener los compuestos **8a-8z** puros.

Método 2: Se cargó una solución de las amidas **6** o **7** (1 mmol) en 3 ml de THF a 0°C a una solución de los reactivos de Grignard correspondientes (0,5 M, 3 ml) en 2 ml de THF. Las mezclas se agitaron durante de 30 min a 2 horas hasta que las amidas desaparecían de las placas de TLC. La mezcla de reacción se desactivó con NH_4Cl saturado, se extrajo con éter etílico, se secó con MgSO_4 se dejó reposar en atmósfera de aire durante la noche para dar **6** como materia prima. El disolvente se retiró bajo presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto **8a-8z** puro.

También se prepararon sales de hidrocloreto de los compuestos **8i**, **8x** y **8w**. A 0°C , se añadió **8i**, **8x** o **8w** (100 mg) en 5 ml de CH_2Cl_2 (5 ml) a una solución de 10 ml de HCl en solución de éter etílico (2 M) y se agitó durante la noche. El precipitado de hidrocloreto se filtró y se lavó con éter etílico. El secado bajo alto vacío daba las sales correspondientes.

Fenil-(2-feniltiazol-4-il)-metanona (compuesto 8a): Rendimiento: 76,3%. p. f. $65-66^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,32-8,29 (m, 2 H), 8,24 (s, 1 H), 8,04-8,00 (m, 2 H), 7,64-7,52 (m, 3 H), 7,50-7,46 (m, 3 H). MS (ESI) m/z 288,0 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{NOS}$) C, H, N.

(4-Metoxifenil)(2-feniltiazol-4-il)-metanona (compuesto 8b): Rendimiento: 74,8 %. p. f. $105-106^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,41 (d, 2 H), 8,22 (s, 1 H), 8,02 (dd, 2 H), 7,47 (m, 3 H), 7,01 (d, 2 H), 3,80 (s, 3 H). MS (ESI) m/z 318,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Anal. ($\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}_2\text{S}$) C, H, N.

(3-Metoxifenil)(2-feniltiazol-4-il)-metanona (compuesto 8c): Rendimiento: 58,8 %. p. f. $43-44^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,23 (s, 1 H), 8,05-8,01 (m, 2 H), 7,93 (d, 1 H), 7,84 (m, 1 H), 7,49-7,40 (m, 4 H), 7,16-7,15 (m, 1 H), 3,89 (s, 3 H). MS (ESI) m/z 318,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Anal. ($\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}_2\text{S}$) C, H, N.

(2-Metoxifenil)(2-feniltiazol-4-il)-metanona (compuesto 8d): Rendimiento: 57,4%. Aceite incoloro. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,03 (s, 1 H), 7,98-7,95 (m, 2 H), 7,57-7,47 (m, 2 H), 7,47-7,42 (m, 3 H), 7,08-7,01 (m, 2 H), 3,78 (s, 3 H). MS (ESI) m/z 318,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Anal. ($\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}_2\text{S}$) C, H, N.

(3,4-Dimetoxifenil)(2-feniltiazol-4-il)-metanona (compuesto 8e): Rendimiento: 15,3 %. p. f. $89-91^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,24 (s, 1 H), 8,22 (dd, 1 H, $J = 8,5$ Hz, 2,0 Hz), 8,04-8,02 (m, 2 H), 7,99 (d, 1 H, $J = 2,0$ Hz), 7,49-7,47 (m, 3 H), 6,98 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 3,99 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 348,0 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Anal. ($\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_3\text{S}$) C, H, N.

(2-Fenil-tiazol-4-il)-(3,4,5-trimetoxi-fenil)-metanona (compuesto 8f): Rendimiento: 27,3 %. p. f. $133-135^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,29 (s, 1 H), 8,03 (q, 2 H), 7,80 (s, 2 H), 7,49-7,47 (m, 3 H), 3,96 (s, 6 H), 3,97 (s, 3 H). MS (ESI) m/z 378,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Anal. ($\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{S}$) C, H, N.

(3,5-Dimetoxifenil)(2-feniltiazol-4-il)-metanona (compuesto 8g): Rendimiento: 41,5%. p. f. $84-85^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,23 (s, 1 H), 8,04-8,01 (m, 2 H), 7,99 (d, 2 H, $J = 2,4$ Hz), 7,49-7,43 (m, 3 H), 6,72 (t, 1 H, $J = 2,4$ Hz), 3,87 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 348,3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Anal. ($\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_3\text{S}$) C, H, N.

(2-Fluorofenil)(2-feniltiazol-4-il)-metanona (compuesto 8h): Rendimiento: 66,4%. p. f. $77-79^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,48-8,41 (m, 2 H), 8,28 (s, 2 H), 8,04-7,98 (m, 2 H), 7,50-7,46 (m, 3 H), 7,26-7,16 (m, 2 H). MS (ESI) m/z 306,0 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 283,9 $[\text{M} - \text{H}]^+$. Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{FNOS}$) C, H, N.

(2-Feniltiazol-4-il)-(piridin-2-il)-metanona (compuesto 8i): Rendimiento: 20,7%. p. f. $95-97^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,01 (s, 1 H), 8,77 (d, 1 H, $J = 4,8$ Hz), 8,28 (d, 1 H, $J = 7,8$ Hz), 8,08-8,05 (m, 2 H), 7,92 (dt, 1 H, $J = 7,8$ Hz, 1,2 Hz), 7,52 (ddd, 1 H, $J = 7,8$ Hz, 4,8 Hz, 1,2 Hz), 7,48-7,46 (m, 3 H). **(sal de HCl del compuesto 8i)**: Rendimiento: 70,6%. p. f. $105-107^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,03 (s, 1 H), 8,79 (d, 1 H, $J = 4,8$ Hz), 8,10 (an, 1 H), 8,08 (an, 1 H), 8,03-8,00 (m, 2 H), 7,73-7,69 (m, 1 H), 7,56-7,54 (m, 3 H). MS (ESI) m/z 267,0 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS}$, $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS} \cdot \text{HCl}$) C, H, N.

1-(2-Feniltiazol-4-il)-heptadecan-1-ona (compuesto 8j): Rendimiento: 66,4%. p. f. $63-64^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,12 (s, 1 H), 8,02-7,99 (m, 2 H), 7,49-7,47 (m, 3 H), 3,16 (t, 2 H, $J = 7,5$ Hz), 1,82-1,72 (m, 2 H), 1,26 (s, 26 H), 0,88 (t, 3 H, $J = 6,9$ Hz). MS (ESI) m/z 414,4 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. ($\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NOS}$) C, H, N.

*(2-*p*-Toliltiazol-4-il)-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (compuesto 8k)*: Rendimiento: 53,2 %. p. f. $116-119^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,25 (s, 1 H), 7,91 (d, 2 H, $J = 8,1$ Hz), 7,80 (s, 2 H), 7,28 (d, 2 H, $J = 8,1$ Hz), 3,96 (s, 3 H), 3,95 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 392,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Anal. ($\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{S}$) C, H, N.

[2-(2-Fluorofenil)-tiazol-4-il)-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (compuesto 8l): Rendimiento: 39,6%. p. f. $90-102^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,40 (s, 1 H), 8,33 (dt, 1 H, $J = 1,5$ Hz, 8,0 Hz), 7,78 (s, 2 H), 7,49-7,44 (m, 1 H), 7,30-7,23

(m, 2 H), 3,97 (s, 3 H), 3,95 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 396,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₉H₁₆FNO₄S) C, H, N.

[2-(3-Fluorofenil)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8m**): Rendimiento: 14,1%. p. f. 122-124°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,31 (s, 1 H), 7,79 (s, 2 H), 7,76-7,74 (m, 2 H), 7,45 (dt, 1 H, J = 6,0 Hz, 8,4 Hz), 7,18 (dt, 1 H, J = 1,8 Hz, 8,4 Hz), 3,97 (s, 3 H), 3,96 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 396,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₉H₁₆FNO₄S) C, H, N.

5 [2-(4-Fluorofenil)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8n**): Rendimiento: 40,2%. p. f. 153-155°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,27 (s, 1 H), 8,04-8,00 (dd, 2 H, J = 8,4 Hz, 5,7 Hz), 7,75 (s, 2 H), 7,21-7,15 (t, 3 H, J = 8,4 Hz), 3,97 (s, 3 H), 3,95 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 396,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₉H₁₆FNO₄S) C, H, N.

10 [2-(3,4-Dimetoxifenil)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8o**): Rendimiento: 46,6%. p. f. 145-147°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,20 (s, 1 H), 7,76 (s, 2 H), 7,58-7,54 (m, 2 H), 6,94 (d, 2 H, J = 8,1 Hz), 3,96 (s, 6 H), 3,95 (s, s, 9H). MS (ESI) m/z 438,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₂₁H₂₁NO₆S·1/4H₂O) C, H, N.

[2-(4-Nitrofenil)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8p**): Rendimiento: 46,4%. p. f. 199-200°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,38 (d, 2 H, J = 8,7 Hz), 8,34 (s, 1 H), 8,20 (d, 2 H, J = 8,7 Hz), 7,73 (s, 2 H), 3,98 (s, 3 H), 3,95 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 423,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₉H₁₆N₂O₆S) C, H, N.

15 4-[4-(3,4,5-Trimetoxibenzoil)-tiazol-2-il]-benzonitrilo (**compuesto 8q**): Rendimiento: 45,9 %. p. f. 181-182°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,37 (s, 1 H), 8,13 (d, 2 H, J = 8,4 Hz), 7,78 (d, 2 H, J = 8,4 Hz), 7,72 (s, 2 H), 3,97 (s, 3 H), 3,94 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 403,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₂₀H₁₆N₂O₄S) C, H, N.

Ácido 4-[4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)-tiazol-2-il]-benzoico (**compuesto 8r**): Rendimiento: 61,9 %. p. f. >220 °C (desc.). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,65 (s, 1 H), 8,00 (d, d, 4 H), 7,65 (s, 2 H), 3,88 (s, 6 H), 3,80 (s, 3 H). MS (ESI) m/z 397,9 [M - H]⁻, 353,9 [M - COOH]⁻. Anal. (C₂₀H₁₇NO₆S) C, H, N.

20 4-[4-(3,4,5-Trimetoxibenzoil)-tiazol-2-il]-benzoato de metilo (**compuesto 8s**): Rendimiento: 72,5 %. p. f. 172-174°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,35 (s, 1 H), 8,12 (dd, 4 H, J = 8,4 Hz), 7,78 (s, 2 H), 3,97 (s, 3 H), 3,96 (s, 3H), 3,95 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 436,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₂₁H₁₉NO₆S) C, H, N.

25 (2-(4-(Trifluorometil)-fenil)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8t**): Rendimiento: 45,5%. p. f. 144-145°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,35 (s, 1 H), 8,14, 7,65 (d, d, 4 H, J = 8,1 Hz), 7,76 (s, 2 H), 3,97 (s, 3 H), 3,95 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 446,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₂₀H₁₆F₃NO₄S) C, H, N.

[2-(4-Bromofenil)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8u**): Rendimiento: 51,8%. p. f. 149-150°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,28 (s, 1 H), 7,89, 7,62 (d, d, 4 H, J = 8,1 Hz), 7,75 (s, 2 H), 3,97 (s, 3 H), 3,94 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 456,0, 458,0 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₉H₁₆BrNO₄S) C, H, N.

30 [2-(4-Etil-fenil)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8v**): Rendimiento: 40,0%. p. f. 86-87°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,25 (s, 1 H), 7,93, 7,31 (d, d, 4 H, J = 8,4 Hz), 7,81 (s, 2 H), 3,97 (s, 3 H), 3,95 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 406,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₂₁H₂₁NO₄S) C, H, N.

35 [2-(4-Amino-fenil)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8w**): Rendimiento: 61,8%. p. f. 177-179°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,14 (s, 1 H), 7,82, 7,65 (d, d, 4 H, J = 8,4 Hz), 7,78 (s, 2 H), 3,96 (s, 3 H), 3,94 (s, 6 H). (**sal de HCl del compuesto 8w**): Rendimiento: 50,1%. p. f. 166-169°C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,49 (s, 1 H), 7,84, 6,94 (d, d, 4 H, J = 8,4 Hz), 7,62 (s, 2 H), 3,86 (s, 3 H), 3,79 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 393,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₉H₁₈N₂O₄S, C₁₉H₁₈N₂O₄S·HCl) C, H, N.

40 [2-(Piridin-4-il)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8x**): Rendimiento: 29,3%. p. f. 178-180°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,77 (dd, 2 H, J = 6,0 Hz, 1,5 Hz), 8,40 (s, 1 H), 7,87 (dd, 2 H, J = 6,0 Hz, 1,8 Hz), 7,75 (s, 2 H), 3,98 (s, 3 H), 3,95 (s, 6 H). (**sal de HCl del compuesto 8x**): Rendimiento: 92,7%. p. f. 182-184°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,85 (an, 2 H), 8,52 (s, 1 H), 8,22 (an, 2 H), 7,66 (s, 2 H), 3,98 (s, 3 H), 3,94 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 379,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₈H₁₆N₂O₄S, C₁₈H₁₆N₂O₄S·HCl) C, H, N.

[2-(Pirimidin-2-il)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8y**): Rendimiento: 51,9%. p. f. 190-191°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,88 (d, 2 H, J = 4,8 Hz), 8,44 (s, 1 H), 7,73 (s, 2 H), 7,37 (t, 1 H, J = 4,8 Hz), 3,95 (s, 3 H), 3,94 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 380,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₇H₁₅N₃O₄S) C, H, N.

45 [2-(Tiofen-2-il)-tiazol-4-il]-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 8z**): Rendimiento: 30,5%. p. f. 111-113°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,25 (s, 1 H), 7,90 (s, 2 H), 7,58 (dd, 1 H, J = 3,6, 0,9 Hz), 7,46 (dd, 1 H, J = 5,4, 0,9 Hz), 7,12 (dd, 1 H, J = 5,4, 3,6 Hz), 3,98 (s, 6 H), 3,97 (s, 3 H). MS (ESI) m/z 384,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₇H₁₅NO₄S₂) C, H, N.

50 Tiazol-4-il-(3,4,5-trimetoxifenil)-metanona (**compuesto 10a**): Rendimiento: 49,4 %. p. f. 106-108°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,92 (d, 1 H, J = 2,1 Hz), 8,34 (d, 1 H, J = 2,1 Hz), 7,61 (s, 2 H), 3,94 (s, 3 H), 3,93 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 302,0 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₃H₁₃NO₄S) C, H, N.

Método 3: Se sintetizó (2-fenil-tiazol-4-il)-(3,4,5-trihidroxi-fenil)-metanona (**11f**) empezando con el compuesto **8f**. Se añadió BBr₃ (solución 1 M en CH₂Cl₂, 1,75 ml, 5 mmol) bajo -78°C a una solución del compuesto **8f** (123 mg, 0,35

mmol) en 5 ml de CH₂Cl₂ anh. La mezcla se agitó durante 2 h y se cargó una solución de la amida **7** (1,14 mmol) en 3 ml de THF. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente lentamente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se desactivó con NH₄Cl saturado, se extrajo con acetato de etilo, se secó con MgSO₄. El disolvente se retiró bajo presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto puro como un sólido cristalino rojo. Rendimiento: 50,9%. p. f. 175-176°C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,44 (d, 1 H), 8,07-8,04 (m, 2 H), 7,57-7,55 (m, 3 H), 7,33 (s, 2 H). MS (ESI) *m/z* 336,1 [M + Na]⁺. Anal. (C₁₆H₁₁NO₄S) C, H, N.

Ejemplo 3 - Determinación de la estructura por cristalografía de rayos X para el compuesto **8f**

El compuesto **8f** se recrystalizó en hexano y acetato de etilo, y se obtuvieron cristales incoloros individuales adecuados para difracción de rayos X. Se recogieron los datos cristalográficos de rayos X para **8f** a partir de un solo cristal montado con aceite de paratona en un criocircuito de nailon. Los datos se recogieron a 100 K en un detector de área Bruker Proteum CCD, controlado por el software Proteum2 (Proteum2, Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, EE. UU. de A. (2005)), usando un generador de ánodo giratorio y espejos Osmic para generar radiación de Cu (λ=1,54178Å). Los datos se redujeron usando SAINT (SAINT, Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, EE. UU. de A. (1998)), con una corrección de la absorción aplicada usando SADABS (SADABS, Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, EE. UU. de A. (2000)) basándose en reflexiones redundantes; esta corrección incluía un componente esférico. Las estructuras se resolvieron usando métodos directos (SHELXS⁴), que revelaban la totalidad de los átomos pesados. Se llevó a cabo un refinado de la estructura con SHELXL (SHELXL-97, G.M. Sheldrick, University of Göttingen, Alemania (1997)) usando métodos de matriz completa basados en F², y se avanzó suavemente. Se añadieron átomos de hidrógeno al modelo estructural suponiendo distancias C-H ideales y ADP isótropos restringidos para ser similares a los del átomo de carbono unido. En el modelo final, los ADP anisótropos se refinaron para todos los átomos pesados, y los ADP isótropos para hidrógenos químicamente similares (p. ej. H de metilo) se restringieron para ser idénticos. Los parámetros de refinado finales son: wR₂=0,084 para 228 parámetros y 3066 observaciones independientes, R₁=0,031, S (bondad de ajuste)=1,057.

Un dibujo ORTEP de **8f** con el esquema de marcaje del átomo se muestra en la Figura 1. La estructura de rayos X mostraba que la molécula de **8f** contenía un sistema conjugado compuesto por tres anillos aromáticos y un conector de grupo carbonilo entre el anillo "B" y el "C" según se espera (anillo "A" = fenilo; anillo "B" = tiazol; anillo "C" = 3,4,5-trimetoxifenilo). Como resultado, dos enlaces C-C adyacentes al enlace C=O y C-C- entre el fenilo "A" y el anillo de tiazol "B" presentan (C1-C7 = 1,496(2) Å; C7-C8 = 1,492(2) Å; C10-C11 = 1,471(2) Å) longitudes de enlace más cortas que el enlaces sencillo C-C normal (1,54 Å) y más largas que el doble enlace C=C normal (1,34 Å) (véase la Tabla 1 posteriormente). Así, la conjugación del sistema π es posible para los anillos "A", "B", "C" y el grupo carbonilo. El grupo carbonilo es casi coplanar con el anillo de tiazol "B" adyacente (O-C7-C1-C6 16,2(2)°, O-C7-C8-C9 9,7(2)°).

Tabla 1: Parámetros geométricos seleccionados del compuesto **8f** (Å, °)

C1-C7	1,496(2)	O-C7-C1	120,1(2)
C7-O	1,224(2)	C8-C7-C1	121,9(2)
	1,492(2)	C9-C8-N	115,1(2)
	1,371(2)	C9-C8-C7	121,7(2)
C8-N	1,380(2)	N-C8-C7	123,0(2)
C9-S	1,711(2)	C8-C9-S	110,0(1)
S-C10	1,747(2)	C9-S-C10	89,6(1)
C10-N	1,303(2)	N-C10-C11	123,5(2)
C10-C11	1,471(2)	N-C10-S	113,9(1)
C2-C1-C6	121,2(2)	C11-C10-S	122,6(1)
C2-C1-C7	122,3(2)	C10-N-C8	111,4(2)
C6-C1-C7	116,4(2)	C12-C11-C10	122,3(2)
O-C7-C8	118,0(2)	C16-C11-C10	118,5(2)

Ejemplo 4 - Ensayos in vitro para citotoxicidad anticancerosa

Se probaron ensayos in vitro tanto contra líneas celulares de melanoma como contra líneas celulares de cáncer de próstata. En cada caso, se usó un ensayo de sulforrodamina B estándar. Las células se sembraron en placas de 96 pocillos a de 1.000 a 5.000 células/pocillo dependiendo de las velocidades de crecimiento. Después de 12 horas, los medios se cambiaron y se añadieron diluciones en serie de los compuestos. Las células se incubaron con cada compuesto durante 48 horas. Medios recientes que contenían el compuesto de prueba se cargaron cada 24 horas. Posteriormente, la proteína celular total correspondiente a los números de células (tanto células viables como no viables) se midió usando el ensayo de sulforrodamina B estándar (SRB) según el protocolo del fabricante (Sigma-Aldrich, Inc.) (Rubinstein et al., "Comparison of in vitro Anticancer Drug-screening Data Generated with a Tetrazolium Assay Versus a Protein Assay Against a Diverse Panel of Human Tumor Cell Lines," *J. Natl. Cancer Inst.* 82:1113-1118 (1990); Dothager et al., "Synthesis and Identification of Small Molecules that Potently Induce Apoptosis in Melanoma Cells Through G1 Cell Cycle Arrest," *J. Am. Chem. Soc.* 127:8686-8696 (2005)).

Para ensayos de melanoma, se usaron una línea celular de melanoma humano (A375) y una línea celular de melanoma de ratón (B16-F1). Las células A375 y las células B16-F1 se adquirieron del ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, VA, EE. UU. de A.). Se usaron fibroblastos como un control para determinar la selectividad de estos compuestos contra el melanoma. Los fibroblastos dérmicos humanos se adquirieron de Cascade Biologics, Inc., Portland, OR, EE. UU. de A.. Todas las líneas celulares se cultivaron en DMEM (Cellgro Mediatech, Inc., Herndon, VA, EE. UU. de A.), complementado con 5% de FBS (Cellgro Mediatech), 1% de mezcla de antibióticos/antimicóticos (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EE. UU. de A.) e insulina bovina (5 µg/ml; Sigma-Aldrich). Los cultivos se mantuvieron a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía 5% de CO₂. Las células se expusieron a un amplio intervalo de concentraciones durante 48 h en placas de 96 pocillos de fondo redondo. Las células se fijaron con ácido tricloroacético al 10% y se lavaron cinco veces con agua. Después de que las células se secaran al aire durante la noche y se tiñeran con solución de SRB, las proteínas totales se midieron a 560 nm con un lector de placas. Los valores de IC₅₀ (es decir, la concentración que inhibía el crecimiento celular en 50% de controles sin tratamiento) se obtuvieron mediante análisis de regresión no lineal con GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA).

Para ensayos de cáncer de próstata, se seleccionaron cuatro líneas celulares de cáncer de próstata humano (LNCaP, DU 145, PC-3 y PPC-1). Las células LNCaP, PC-3 y DU 145 se adquirieron de ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, VA, EE. UU. de A.). El Dr. Mitchell Steiner de la University of Tennessee Health Science Center proporcionó amablemente células PPC-1. Todas las líneas celulares de cáncer de próstata se cultivaron en RPMI 1640 (Cellgro Mediatech, Inc., Herndon, VA, EE. UU. de A.), complementado con 10% de FBS (Cellgro Mediatech). Los cultivos se mantuvieron a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía 5% de CO₂. De 1.000 a 5.000 células se dispusieron en cada pocillo de placas de 96 pocillos dependiendo de la velocidad de crecimiento y se expusieron a diferentes concentraciones de un compuesto de prueba durante 96 h en de tres a cinco réplicas. Los números de células al final del tratamiento farmacológico se midieron mediante el ensayo de SRB. Brevemente, las células se fijaron con 10% de ácido tricloroacético y se tiñeron con SRB al 0,4% y las absorbancias a 540 nm se midieron usando un lector de placas (DYNEX Technologies, Chantilly, VA). Los porcentajes de supervivencia celular frente a concentraciones de fármaco se representaron y los valores de IC₅₀ (concentración que inhibía el crecimiento celular en 50% del control no tratado) se obtuvieron mediante análisis de regresión no lineal usando WinNonlin (Pharsight Corporation, Mountain View, CA).

Los resultados de estos ensayos se proporcionan en las Tablas 2-4 posteriormente.

Modificaciones del anillo "B" desde un sistema de tiazolidina hasta uno de tiazol y el conector desde una amida hasta una cetona. En los compuestos ATCAA anteriores, se observaba que el anillo de tiazolidina, que contenía un NH libre en su posición 3, era importante para la citotoxicidad. Una vez que el resto de tiazolidina del anillo "B" se reemplazaba por un anillo de tiazolina, la actividad antiproliferativa disminuía bruscamente desde 0,6 µM hasta más de 50 µM en líneas celulares WM-164 (Li et al., "Synthesis and Antiproliferative Activity of Thiazolidine Analogs for Melanoma," *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17:4113-7 (2007)). El derivado de amida grasa ATCAA-1 que era el más eficaz contra líneas celulares de melanoma y cáncer de próstata se examinó y se observó que tenía una IC₅₀ 0,4-2,2 µM (véase la Tabla 2). La sustitución de la cadena grasa larga con un cierto sustituyente voluminoso aromático tal como fluoreno (ATCAA-2) mostraba una actividad inhibitoria sobre ambas células cancerosas (IC₅₀ = 1,6 - 3,9 µM). El grupo fluoreno en la posición de la amida carboxílica en 4 también se reemplazó por un grupo 3,4,5-trimetoxifenilo (**2a** y **2b**), pero se perdía la potencia contra ambas líneas celulares cancerosas. La posterior modificación del anillo "B" desde el compuesto de tiazolidina saturado **2a** hasta el tiazol insaturado **5** no mostraba ninguna citotoxicidad contra ninguna línea celular cancerosa probada. Pero los enantiómeros de tiazolina **4a** y **4b** (isómero *R* e isómero *S*, con actividades antiproliferativas similares) mostraban una actividad mejorada (IC₅₀ = 3,4 - 38,3 µM) en comparación con **2a**, **2b** y **5**. Cuando el enlace CONH de amida entre el anillo "B" y el anillo "C" se reemplazaba por un conector carbonilo, se obtenían mezclas de tiazolin/tiazol-cetona **8f** en lugar de la tiazolino-cetona deseada, debido a que se producía la autodeshidrogenación entre tiazolina y tiazol (la conversión se mostraba en la Figura 2). Sorprendentemente, la introducción del conector de grupo carbonilo y el anillo de tiazol "B" conducía a una potenciación significativa de la inhibición del crecimiento de las líneas celulares cancerosas examinadas con un nivel nanomolar bajo (**8f**, IC₅₀ = 0,021 - 0,071 µM) que es comparable con el agente anticanceroso natural colchicina. Por consiguiente, una serie de los compuestos relacionados con "B" como un anillo

de tiazol se diseñó y se sintetizó basándose en el descubrimiento de **8f**. Su actividad anticancerosa también se evaluó contra melanoma y cáncer de próstata.

Las modificaciones del anillo "C" también tenían efectos significativos. La variación de los sustituyentes fenilo tiene un cambio notable en el efecto sobre la potencia. Los resultados de ensayos in vitro mostrados en la Tabla 3 proporcionan resultados interesantes, pero solo el anillo "C" de 3,4,5-trimetoxifenilo (**8f**) mostraba una excelente inhibición contra todas las células cancerosas (IC_{50} = 21 - 71 nM, IC_{50} media = 41 nM). El compuesto **8g**, con un grupo 3,5-dimetoxifenilo, mostraba una citotoxicidad media 6 veces menor que **8f** contra seis líneas celulares diferentes (IC_{50} = 170-424 nM, IC_{50} media calculada = 261 nM). Las modificaciones de **8f** mediante la retirada de un metoxi en la posición *meta* (**8e**) o dos grupos metoxi (**8b**, **8c** y **8d**) de **8f** conducía a una pérdida drástica en la actividad (IC_{50} >20 μ M). Aunque el compuesto de monometoxi sustituido en orto **8d** exhibía una actividad débil contra ciertas líneas celulares en comparación con los **8c/8b** y el compuesto de dimetoxifenilo **8e**, ninguno de ellos mostraba una potencia significativa en la inhibición en comparación con **8f**. También se observaron tendencias similares en **8h** y **8j** con 2-fluorofenilo y hexadecilo en las modificaciones del anillo "C".

Las modificaciones del anillo "A" usando diferentes grupos ávidos de electrones (EWG) y grupos donantes de electrones (EDG) sustituidos en *para* no mostraban una influencia clara sobre la actividad antiproliferativa. La introducción de un EWG débil (4-F en **8n**, valores de IC_{50} : 6 - 43 nM) o EDG débil (4-CH₃ en **8k**, IC_{50} s: 5 - 21 nM), incrementaba la potencia en comparación con **8f** (véase la Tabla 4). La sustitución de la posición *para* con un EWG fuerte tal como NO₂ (**8p**), CN (**8q**), CF₃ (**8t**) o la introducción de un EDG fuerte (3,4-dimetoxi) en un anillo fenílico "A" (**8o**) exhibían una actividad antiproliferativa comparable.

Para comparar los efectos de las sustituciones en *orto*, *meta* y *para*, un átomo de fluoro se introdujo en diferentes posiciones del anillo fenílico "A" (**8i**, **8m** y **8n**). Los diversos sustituyentes *o*, *m*, *p* no exhibían actividades iguales. El **8n** sustituido con fluoro en *p* tiene la mejor actividad para células de cáncer de próstata examinadas (6-13 nM) mientras que **8i** sustituido con fluoro en *o* mostraba los valores de IC_{50} más bajos (27 - 30 nM) contra células de melanoma. **8n** tiene valores de IC_{50} medios similares (33 - 43 nM) contra melanoma en comparación con **8i**. Pero **8i** sustituido con fluoro en *o* tiene la menor potencia (valores de IC_{50} : 52-114 nM) entre los tres compuestos sustituidos sobre células de cáncer de próstata. El compuesto **8m** sustituido en *meta* mostraba la menor actividad sobre células de melanoma (valores de IC_{50} : 287-304 nM) pero mostraba una inhibición moderada sobre células de cáncer de próstata (valores de IC_{50} : 23-46 nM).

Volviendo a los efectos del grupo de impedimento estérico sobre los sustituyentes del anillo fenílico "A", se encontró que el bromo en *p* (**8u**, valores de IC_{50} : 18-44 nM) provocaba una disminución en la actividad antiproliferativa con relación a la posición fluoro en *p* (**8n**, valores de IC_{50} : 6-12 nM) pero solo contra células de cáncer de próstata. Se producía una actividad reducida contra ambas líneas celulares cancerosas cuando el metilo en *p* (**8k**, valores de IC_{50} : 5-21 nM) se reemplazaba por un grupo etilo en *p* (**8v**, valores de IC_{50} : 17-70 nM).

Para investigar si el anillo fenílico representaba un papel esencial en el sitio del anillo "A", el fenilo en la posición 2 del tiazol se retiraba y se obtenía el compuesto **10**. Esta modificación provocaba una pérdida total de actividad en comparación con **8f**. La sustitución del anillo "A" por piridina (compuesto **8x**) tenía el mismo efecto. Por otra parte, sustituir la 2-pirimidina en el anillo "A" (compuesto **8y**) también provocaba una pérdida de actividad significativa (IC_{50} s: 11,8 - 41,0 μ M). Sin embargo, introducir la sustitución de tiofeno del fenilo (**8z**) en la posición "A" mejoraba la potencia calculada 1-3 veces en todas las líneas celulares examinadas (IC_{50} s: 9-38 nM) en comparación con **8f** (IC_{50} s: 21-71 nM).

Debido a que muchos de los compuestos muestran una escasa hidrosolubilidad, se prepararon tres sales hidrosolubles después de introducir un grupo hidrófilo tal como NH₂ (**8w**) y COOH (**8r**) en el anillo "A" para formar sales de HCl o sódicas. Otra modificación es reemplazar los anillos "A" / "C" en **8a** por anillos de piridina (**8i**, **8x**, **8y**) o pirimidina, que también se podrían convertir en sales de HCl. Estas modificaciones reducían los valores de LogP calculados (LogP = 2,74 - 3,90) en comparación con **8a** y **8f** (LogP = 4,46 y 4,08; véase la tabla 5). Introducir amino en *p* en el fenilo "A" (**8w**) es el único caso de incremento de la actividad antiproliferativa (sal de HCl, valores de IC_{50} : 11-29 nM) en comparación con **8f** contra todas las líneas celulares. Aunque reemplazar el fenilo por pirimidina (**8y**) mantiene la actividad parcial contra ambas células cancerosas, el intervalo de potencia se reducía notablemente de nM a μ M en comparación con **8f**. Desgraciadamente, introducir COOH en el anillo "A" fenílico en *para* y la piridina en los anillos "A" o "C" (**8i**, **8r**, **8x**) daban todos como resultado una pérdida total de actividad anticancerosa. Se observaba una pérdida de potencia total en el éster metílico **8s** del ácido **8r** contra ambos tipos de líneas celulares cancerosas. La desmetilación del compuesto **8f** proporcionaba 3,4,5-trihidroxifenilo hidrosoluble en el compuesto del anillo "C" **11f**, pero esta desmetilación da como resultado la pérdida completa de actividad antiproliferativa contra todas las células cancerosas probadas, lo que apunta a la importancia del 3,4,5-trimetoxifenilo en la posición "C" de las metanonas.

Dados estos resultados, el compuesto **8f** también se sometió a una prueba in vitro en un ensayo de cribado NCI-60, que mide la capacidad del compuesto para actuar contra seis líneas celulares de leucemia, ocho líneas celulares de cáncer pulmonar no microcítico, siete líneas celulares de cáncer de colon, seis líneas celulares de cáncer del SNC (p. ej., glioma/glioblastoma), ocho líneas celulares de melanoma, seis líneas celulares de cáncer ovárico, siete líneas celulares de cáncer renal, dos líneas celulares de cáncer de próstata y ocho líneas celulares de cáncer de mama.

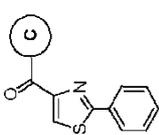
5 Los resultados del ensayo NCI-60 mostraban una amplia actividad contra todos estos cánceres, con valores de GI₅₀ en el intervalo nanomolar ($< 1,0 \times 10^{-8}$) contra la mayoría de las líneas celulares y valores de TGI en el intervalo micromolar contra la mayoría de las líneas celulares. Se obtuvieron valores de TGI en el intervalo nanomolar contra varias líneas celulares de leucemia, una línea celular de cáncer de pulmón, varias líneas celulares de cáncer de colon, varias líneas celulares de cáncer ovárico y varias líneas celulares de cáncer de mama.

Tabla 2: Efectos inhibidores in vitro de compuestos ATCAA modificados contra la proliferación de melanoma (A375, B16-F1) y células de cáncer de próstata (DU145, PC-3, LNCaP, PPC-1)

	Anillo A	Anillo B ^a	Anillo C ^b	X	IC ₅₀ ± EEM (µM)	B16-F1	A375	DU145	PC-3	LNCaP	PPC-1
ATCAA-1	p-NHAc-Ph	TZD	C ₁₆ H ₃₃	CONH	2,2±0,3	2,1±0,2	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,0±0,1	0,4±0,1	
ATCAA-2	p-NHAc-Ph	TZD	9H-fluoren-1-ilo	CONH	3,9±0,3	2,1±0,1	1,9 ± 0,3	2,1 ± 0,1	3,5±0,7	1,6±0,1	
2a	Ph	TZD	3,4,5-triMeO-Ph	CONH	>100	>100	>20	>20	>20	>20	
2b	3,4,5-triMeO-Ph	TZD	3,4,5-triMeO-Ph	CONH	>100	>100	>20	>20	>20	>20	
4a(4R)	Ph	TZL	3,4,5-triMeO-Ph	CONH	38,3± 3,2	22,8±1,6	>20	>20	>20	5,3±0,3	
4b(4S)	Ph	TZL	3,4,5-triMeO-Ph	CONH	30,4±2,8	13,6±1,2	>20	13,2± 2,1	16,8±1,8	3,4±0,2	
5	Ph	TZ	3,4,5-triMeO-Ph	CONH	>100	>100	>20	>20	>20	>20	
8f	Ph	TZ	3,4,5-triMeO-Ph	CO	0,055± 0,005	0,028± 0,005	0,071±0,004	0,028±0,004	0,028±0,004	0,043±0,005	
Colchicina					0,029± 0,005	0,020± 0,003	0,010±0,002	0,011± 0,001	0,016±0,004	0,020±0,001	

a. TZD=Tiazolidina, TZL=Tiazolina, TZ= Tiazol; ^bPara **ATCAA-1**, la posición "C" contiene una cadena lipídica. **ATCAA-1** y **ATCAA-2** se prepararon usando materias primas apropiadas según el Esquema 1 del Ejemplo 1 (véanse además Li et al., "Synthesis and Antiproliferative Activity of Thiazolidine Analogs for Melanoma," *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17:4113-7 (2007); Gududuru et al., "Discovery of 2-Aryltiazolidin-4-Carboxylic Acid Amides as a New Class of Cytotoxic Agents for Prostate Cancer," *J. Med. Chem.* 48:2584-2588 (2005)).

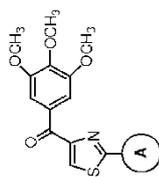
Tabla 3: Efectos inhibidores del crecimiento in vitro de los compuestos 8a-8j con diferentes anillos "C" contra la proliferación de melanoma (A 375, B16-F1) y células de cáncer de próstata (DU145, PC-3, LNCaP, PPC-1)

Compuestos 8	Anillo C	IC ₅₀ ± EEM (µM)					
		B16-F1	A375	DU145	PC-3	LNCaP	PPC-1
	8a Ph	>100	>100	>20	>20	>20	>20
	8b 4-MeO-Ph	>100	>100	>20	>20	>20	>20
	8c 3-MeO-Ph	>100	>100	>20	>20	>20	>20
	8d 2-MeO-Ph	59,4 ± 21,2	70,3 ± 32,5	>20	>20	>20	>20
	8e 3,4-diMeO-Ph	>100	>100	>20	>20	>20	>20
	8f 3,4,5-triMeO-Ph	0,055 ± 0,005	0,028 ± 0,005	0,071 ± 0,004	0,021 ± 0,001	0,028 ± 0,004	0,043 ± 0,005
	8g 3,5-diMeO-Ph	0,350 ± 0,2	0,170 ± 0,1	0,424 ± 0,098	0,301 ± 0,030	0,323 ± 0,041	0,242 ± 0,014
	8h 2-Fluoro-Ph	>100	>100	>20	>20	>20	>20
	8j Hexadecilo ^a	18,6±17,5	16,0 ± 15,2	>20	>20	>20	>20

^a el compuesto **8j** tiene una cadena lipídica en la posición del anillo "C"

Tabla 4: Efectos inhibidores in vitro de los compuestos 8f, 8k-8q, 8t-v, 8x-z y 10 con diferentes anillos "A" contra la proliferación de melanoma (A 375, B16-F1) y células de cáncer de próstata (DU145, PC-3, LNCaP, PPC-1)

Compuestos 8	Anillo A	IC ₅₀ ± EEM (nM)					
		B16-F1	A375	DU145	PC-3	LNCaP	PPC-1
8f	Ph	55 ± 5	28 ± 5	71 ± 4	21 ± 1	28 ± 4	43 ± 5
8k	4-Metil-Ph	21 ± 10	11 ± 5	7 ± 1	5 ± 1	6 ± 1	6 ± 1
8l	2-Fluoro-Ph	27 ± 11	30 ± 9	114 ± 3	82 ± 9	53 ± 4	52 ± 3
8m	3-Fluoro-Ph	287 ± 36	304 ± 25	35 ± 3	24 ± 2	11 ± 2	21 ± 1
8n	4-Fluoro-Ph	43 ± 21	33 ± 14	12 ± 1	13 ± 1	6 ± 1	8 ± 1
8o	3, 4-dimetil-O-Ph	161 ± 29	34 ± 10	102 ± 2	69 ± 3	38 ± 6	56 ± 2
8p	4-Nitro-Ph	56 ± 12	38 ± 9	95 ± 5	56 ± 1	39 ± 4	34 ± 1
8q	4-Ciano-Ph	53 ± 16	59 ± 24	52 ± 2	30 ± 7	15 ± 4	19 ± 2
8t	4-Trifluorometil-Ph	92 ± 16	23 ± 5	50 ± 5	58 ± 4	94 ± 1	76 ± 1
8u	4-Bromo-Ph	32 ± 5	13 ± 2	21 ± 4	18 ± 3	44 ± 3	21 ± 5
8v	4-etil-Ph	70 ± 8	17 ± 2	31 ± 4	27 ± 4	60 ± 5	22 ± 3
8x	4-Piridina	>100000	>100000	>20,000	>20,000	>20,000	>20,000
8y	2-Pirimidina	2300 ± 860	4100 ± 740	2813 ± 92	2657 ± 40	2370 ± 85	1186 ± 22
8z	2-Tienilo	38 ± 15	20 ± 7	22 ± 1	17 ± 2	9 ± 1	13 ± 1
10	H ^a	>100000	>100000	>20,000	>20,000	>20,000	>20,000



a. El compuesto **10** tiene un protón en la posición del anillo "A".

Ejemplo 5 - Síntesis y citotoxicidad in vitro de compuestos de metanona adicionales

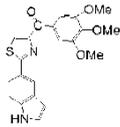
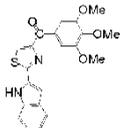
El indol del anillo A de los compuestos **31** y **32** se sintetizó usando el mismo enfoque que **8f** descrito en el Esquema 3 anteriormente a partir de 1H-indol-5-carbonitrilo o 1H-indol-2-carbonitrilo como materia prima. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna.

5 (2-(1H-Indol-5-il)tiazol-4-il)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona (**compuesto 31**): Rendimiento: 36,3%. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,36 (an, 1H), 8,31 (an, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,92-7,89 (dd, 1H), 7,83 (s, 2H), 7,47 (d, 1H), 7,29 (t, 1H), 6,64 (t, an, 1H), 3,98 (s, 3 H), 3,97 (m, 6 H). MS (ESI) *m/z* 417,1 [M + Na]⁺, 392,9 [M - H]⁻.

10 (2-(1H-Indol-2-il)tiazol-4-il)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona (**compuesto 32**): Rendimiento: 45,8%. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9,26 (an, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,67 (d, 2H), 7,46 (s, 2H), 7,42 (d, 1H), 7,29 (t, 1H), 7,16 (t, 1H), 7,10 (s, 1H), 3,97 (s, 3 H), 3,93 (m, 6 H). MS (ESI) *m/z* 417,1 [M + Na]⁺, 392,9 [M - H]⁻.

La actividad del compuesto **31** se determinó mediante un ensayo de citotoxicidad in vitro según se describe en el Ejemplo 4 anteriormente. Se determinó que el compuesto **31** exhibía una actividad potenciada cintra las líneas celulares PC-3, A375 y B16.

15 Tabla 5: Efectos inhibidores del crecimiento in vitro de los compuestos 31-32 contra la proliferación de células de cáncer de próstata y melanoma

Compuesto	Estructura	IC ₅₀ (nM)						
		RH7777	DU145	PC-3	LNCaP	PPC-1	A375	B16
31	 <chem>COC1=CC=C(C=C1)C(=O)N2C=NC=C2C3=CC=CC=C3N</chem> C ₂₁ H ₁₈ N ₂ O ₄ S Peso Mol.: 394,44 C, 63,94; H, 4,60; N, 7,10; O, 16,22; S, 8,13	ND	ND	7,6	ND	ND	25,0	8,3
32	 <chem>COC1=CC=C(C=C1)C(=O)N2C=NC=C2C3=CC=CC=C3N</chem> C ₂₁ H ₁₈ N ₂ O ₄ S Peso Mol.: 394,44 C, 63,94; H, 4,60; N, 7,10; O, 16,22; S, 8,13	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND = no determinado.

E6 - Determinación del mecanismo de acción para el compuesto **8f**

20 Para entender el objetivo para estos compuestos muy potentes, el análisis del ciclo celular se realizó usando el compuesto **8f**. Las células de cáncer de próstata LNCaP eran extremadamente sensibles al compuesto **8f** (IC₅₀ = 29 nM). Las células LNCaP se trataron con el compuesto **8f** (de 10 a 500 nM) durante 24 h antes de la tinción con yoduro de propidio y la realización del análisis del ciclo celular. Aunque el compuesto **8f** no tenía efecto sobre la distribución del ciclo celular a 10 nM (por debajo de la IC₅₀), la proporción de células en fase G2/M se incrementaba en proporción a la concentración del compuesto **8f** a concentraciones superiores. Aproximadamente 10% de células no tratadas se observaban en la fase G2/M, mientras que las células tratadas con más de 50 nM mostraban una mayor proporción de células en fase G2/M (57, 63 y 49%, respectivamente, para 50, 200 y 500 nM). Los resultados se muestran en las Figuras 3A-B. El incremento en células en fase G2/M estaba acompañado por una disminución en las poblaciones G1, con relación al control. Estos datos indican que el compuesto **8f** puede inhibir la acción de la

tubulina de un modo similar al paclitaxel, los alcaloides de las vincas y la cochicina (Margolis et al., "Addition of Colchicine--Tubulin Complex to Microtubule Ends: The Mechanism of Substoichiometric Colchicine Poisoning," *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 74:3466-70 (1977)).

5 Basándose en estos resultados, se realizó un ensayo de polimerización de microtúbulos in vitro. Tubulina cerebral
 bovina (0,4 mg) (Cytoskeleton, Denver, CO) se mezcló con diversas concentraciones (0,625-20 μM) de compuesto
8f y se incubó en 120 μl de tampón para tubulina general (80 mM de PIPES, 2,0 mM de MgCl_2 , 0,5 mM de EGTA,
 pH 6,9 y 1 mM de GTP). La absorbancia de la longitud de onda a 340 nm se verificó cada 60 s durante 20 min
 10 mediante el lector de microplacas SYNERGY 4 (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT). El espectrofotómetro se graduó
 a 37°C para la polimerización de tubulina. El valor de IC_{50} se definió como la concentración que puede inhibir 50%
 de la polimerización de los microtúbulos. Se muestran los resultados en la Figura 4. En comparación con el control
 no tratado, el compuesto **8f** inhibe la polimerización de tubulina. El efecto de **8f** sobre el ensamblaje de tubulina se
 examinó a concentraciones de 0,625 μM a 20 μM . Los resultados observados demuestran que el compuesto **8f**
 inhibía la polimerización de tubulina de un modo dependiente de la dosis con un valor de la IC_{50} de 4,23 μM .

Ejemplo 7 - Citotoxicidad in vitro de los compuestos **8f** y **8n** contra la línea celular de melanoma A375

15 Células de melanoma maligno A375 humano se sembraron a una densidad de formación de colonias (200 células
 por pocillo en placas de seis pocillos). Las células se hicieron crecer en medio DMEM (GIBCO, Invitrogen Corp.,
 Carlsbad, CA) complementado con suero bovino fetal separado con carbón vegetal (HyClone, Logan, UT) y una
 solución antibiótica-antimicótica (Sigma, St. Louis, MO) a 37°C en una atmósfera de 95% de aire y 5% de CO_2 . Las
 20 células se trataron con los compuestos **8f** y **8n** a diferentes concentraciones (0, 0,03, 0,3 y 3 μM). Las células se
 hicieron crecer durante 10 días y las colonias se fijaron con paraformaldehído al 4% en PBS a 4°C. Las colonias
 fijadas se lavaron con agua destilada, se tiñeron con azul cristal al 0,1% durante 30 min y se enjuagaron con agua
 destilada para retirar el exceso del colorante. Las placas se fotografiaron y las formaciones de colonias se
 examinaron a simple vista y bajo el microscopio. Ambos compuestos **8f** y **8n** inhiben significativamente la formación
 25 de colonias de melanoma a 0,03 μM . A las dos concentraciones más altas probadas (0,3 y 3 μM), las formaciones
 de colonias se inhibían completamente, sin colonias visibles bajo el microscopio (Figuras 5A-B).

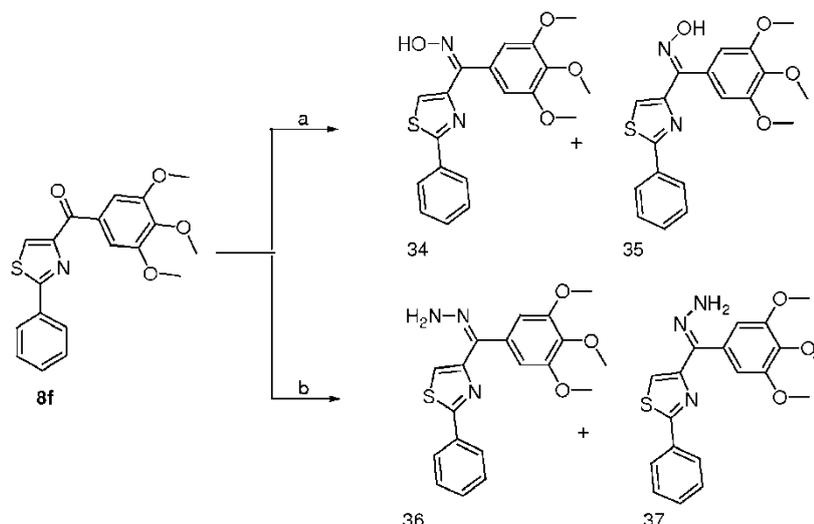
Ejemplo 8 - Citotoxicidad in vivo del compuesto **8n** contra tumor de xenoinjerto de melanoma

La eficacia del compuesto **8n** se determinó usando células de melanoma de ratón B16-F1 inyectadas en ratones
 negros C57. Los tumores B16 crecerán en un hospedador completamente inmunocompetente, en cuyo caso el
 avance del tumor puede replicar más exactamente el crecimiento del melanoma. Células B16-F1 en fase de
 30 crecimiento logarítmico ($3,8 \times 10^5$) se inyectaron s.c. en el flanco dorsal derecho de ratones C57BL/6. Cuando los
 tumores eran palpables, los ratones se aleatorizaron en un grupo de control y un grupo de tratamiento (n = 9). Los
 ratones fueron dosificados mediante una inyección i. p. diaria con 30 μl de vehículo (grupo de control) o solución de
8n (grupo de tratamiento, 6 mg/kg). El volumen de tumor se midió una vez al día con un calibre digital electrónico
 Traceable® y se calculó usando la fórmula $a \times b^2 \times 0,5$, donde *a* y *b* representaban los diámetros mayor y menor,
 35 respectivamente. También se registraron los pesos corporales. El volumen del tumor se expresó como milímetros
 cúbicos. Los datos se expresaron como media \pm EE para cada grupo y se representaron como una función del
 tiempo. Al final del tratamiento, todos los ratones se sometieron a eutanasia mediante inhalación de CO_2 seguida por
 dislocación cervical. El compuesto **8n** mostraba una inhibición del crecimiento del tumor significativa a esta dosis
 40 (<5%) y todos los ratones tenían actividades normales durante los experimentos.

Ejemplo 9 - Síntesis de derivados del compuesto **8f** con hidracina u oxima

Los conectores de grupo carbonilo se modificaron en conectores de oxima e hidracina (compuestos **33-36**) según se
 ilustra en el Esquema 4. El compuesto **8f** se usó como materia prima.

Esquema 4



Reactivos (a) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, H_2O , NaOH , 51%; (b) $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, CH_2Cl_2 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 57%.

- 5 Se añadió una solución acuosa de 0,5 ml de 34 mg de hidrocloreto de hidroxilamina a una suspensión de 50 mg de **8f** en 2 ml de alcohol etílico. A continuación, se añadieron 13 mg de hidróxido sódico en 0,5 ml de H_2O y se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. A continuación, se calentó hasta 60°C y se agitó durante 3 h. Los isómeros de oxima **33** y **34** se separaron de las mezclas de reacción mediante cromatografía de desarrollo rápido como cristales blancos con un rendimiento global de 50%.

- 10 Oxima de (Z)-(2-feniltiazol-4-il)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona (**compuesto 33**): P. f. $150\text{-}153^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 11,94 (an, 1H), 8,35 (an, 1H), 7,91-7,89 (m, 2H), 7,81-7,75 (d, 1H), 7,50-7,49 (m, 3H), 6,85 (s, 2H), 3,73 (s, 6 H), 3,71 (s, 3 H). MS (ESI) m/z 393,3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 368,9 $[\text{M} - \text{H}]^-$.

Oxima de (E)-(2-feniltiazol-4-il)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona (**compuesto 34**): P. f. $176\text{-}177^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ 11,48 (an, 1H), 7,92-7,90 (m, 2H), 7,64 (an, 1H), 7,52-7,48 (d, 1H), 7,52-7,48 (m, 3H), 6,75 (s, 2H), 3,75 (s, 6 H), 3,72 (s, 3 H). MS (ESI) m/z 393,1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 368,9 $[\text{M} - \text{H}]^-$.

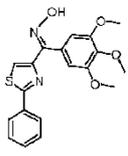
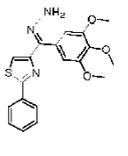
- 15 Se añadió una solución de 230 mg de **8f** en 2 ml de cloruro de metileno a una solución de 2 ml de hidracina en 6 ml de alcohol etílico. Las mezclas se sometieron a reflujo durante la noche y se absorbieron sobre gel de sílice. Los isómeros de hidrazona **35** y **36** se separaron de la cromatografía de desarrollo rápido como cristales blancos con un rendimiento global de 56,9%.

- 20 (Z)-4-(Hidrazono(3,4,5-trimetoxifenil)metil)-2-feniltiazol (**compuesto 35**): P. f. $117\text{-}119^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 8,01-7,98 (m, 2H), 7,49-7,46 (m, 5H), 7,33 (s, 1H), 6,82 (s, 2H), 3,87 (s, 3 H), 3,85 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 370,1 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

(E)-4-(Hidrazono(3,4,5-trimetoxifenil)metil)-2-feniltiazol (**compuesto 36**): P. f. $65\text{-}66^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 8,04-8,00 (m, 2H), 7,44-7,40 (m, 3H), 6,95 (s, 1H), 6,62 (s, 2H), 5,62 (s, 2H), 3,93 (s, 3 H), 3,87 (s, 6 H). MS (ESI) m/z 370,1 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

- 25 Tabla 6: Efectos antiproliferativos de los compuestos 33-36

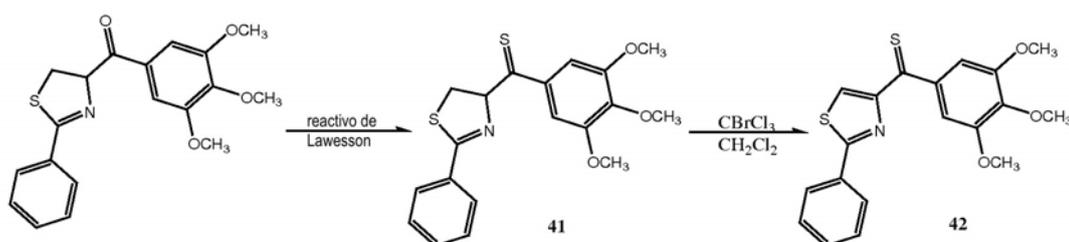
Compuesto	CI_{50} (μM)						
	B16	A375	Fibroblasto	DU145	PC-3	LNCaP	PPC-1
33	0,32	0,18	0,36	0,10	0,12	0,19	0,16
34	11,4	7,8	10,1	> 1	> 1	> 1	> 1

Compuesto	CI ₅₀ (μM)						
	B16	A375	Fibroblasto	DU145	PC-3	LNCaP	PPC-1
							
35	2,0	0,9	1,9	1,21	1,12	1,80	0,87
							
36	1,8	0,6	1,0	1,21	1,04	1,30	0,97

Ejemplo 10 - Diseño de derivados adicionales

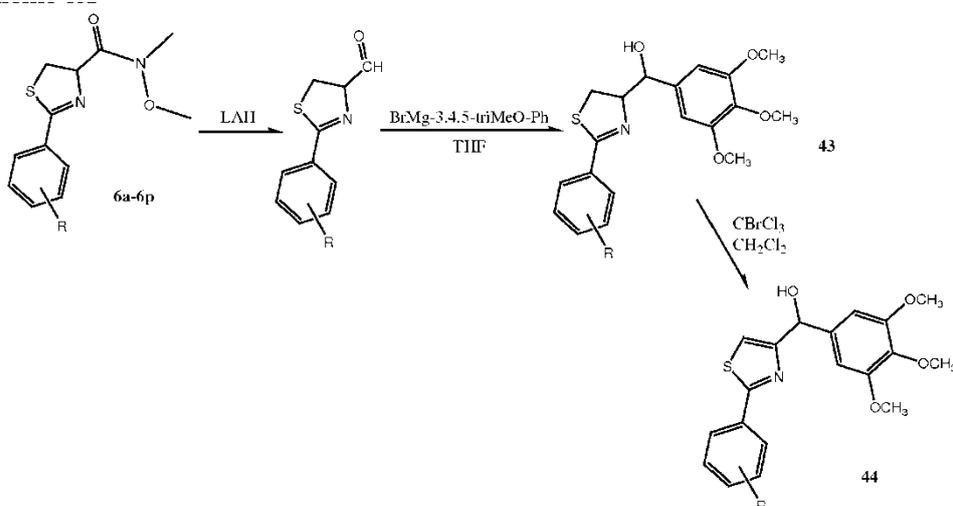
El compuesto **8f** se modificará adicionalmente hasta los análogos de tiocetona **41** y **42** (Esquema 5 posterior). Los compuestos **8a-z** se modificarán de forma similar. El grupo carbonilo se puede convertir en un grupo tiocarbonilo mediante la acción del reactivo de Lawesson (Jesberger et al., *Synthesis* 1929-1958 (2003)). La estructura de tiocetona con anillos aromáticos conjugados es estable con relación a las tiocetonas no impedidas. El compuesto de tiazol se puede obtener después de la deshidronación. (Riedrich et al., *Angewandte Chemie, International Edition*, 46(15):2701-2703 (2007)). Esta conversión disminuirá la capacidad del aceptor de enlace de hidrógeno desde O···H en la cetona hasta S···H en la tiona. Será útil examinar la importancia de la posición del aceptor de hidrógeno en estas moléculas.

Esquema 5

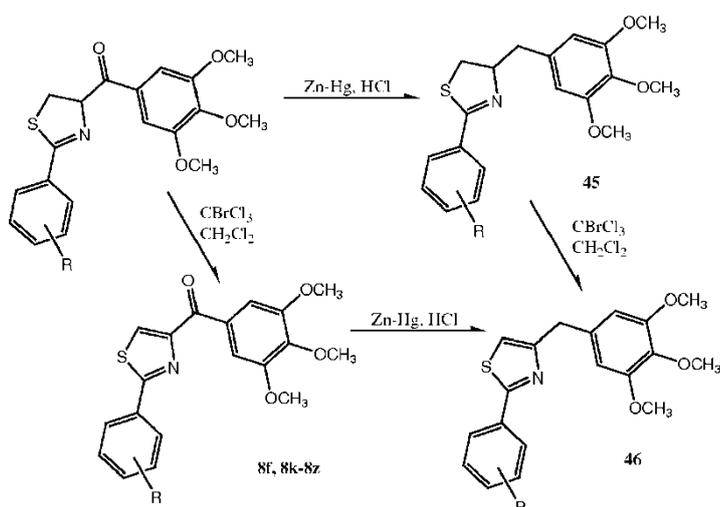


Se sintetizarán nuevos análogos en los que el carbonilo se ha reducido hasta un alcohol (**43** y **44**, Esquema 6A posterior) o se ha reducido hasta metileno (**45** y **46**, Esquema 6B posterior). El alcohol **43** y **44** se puede obtener usando una reacción de Grignard del aldehído intermedio con reactivos de Grignard adecuados. Los análogos **45** y **46** se pueden preparar con reducción de Clemmensen del grupo funcional cetona para producir el hidrocarburo correspondiente. Cuando el carbonilo se reduce hasta un alcohol o metileno, el aceptor de hidrógeno fuerte C=O se invierte al donante de hidrógeno fuerte O-H o hidrocarburo, que pierde totalmente los efectos de enlace de hidrógeno. Esta modificación proporcionará una nueva percepción de la importancia del grupo carbonilo y si tiene una función específica en la actividad anticancerosa.

Esquema 6A

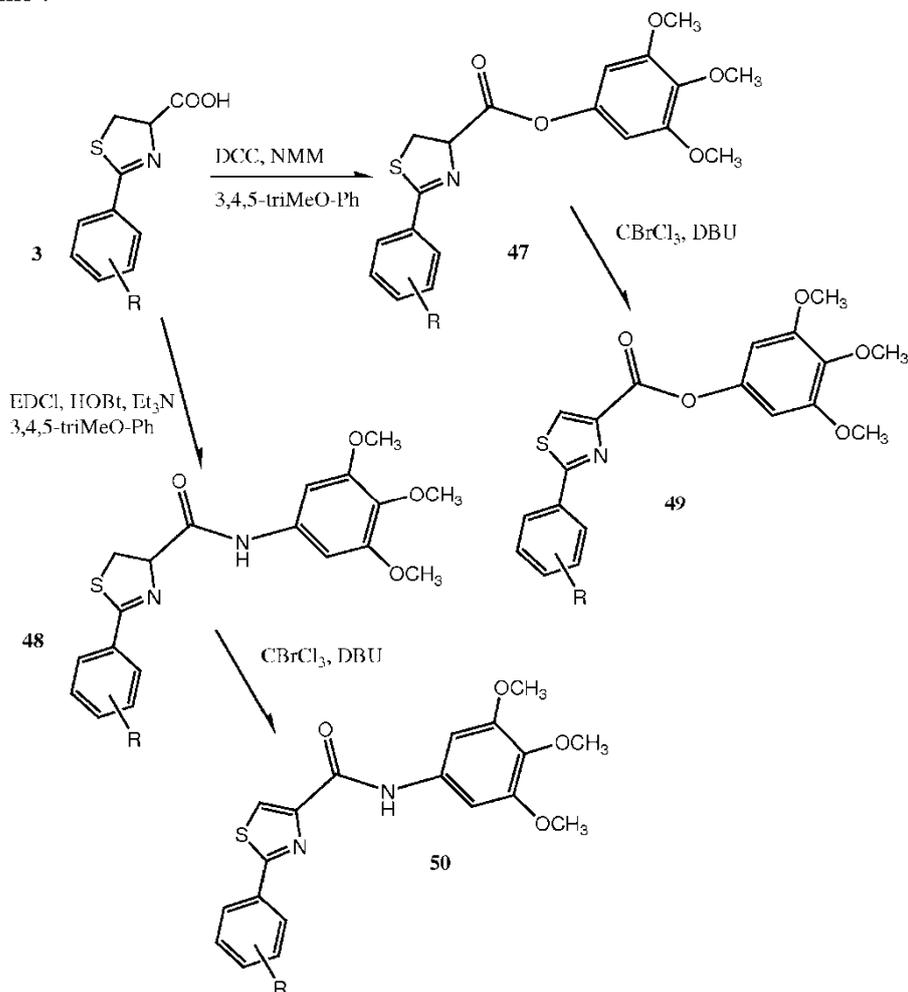


Esquema 6B



- 5 Para examinar la importancia de la cetona sobre la antiproliferación en células cancerosas, este conector se convertirá en los análogos de amida y éster (**47-50**, Esquema 7 posterior). Encontrando la actividad en cualquiera de estas series de análogos, los diferentes enlaces entre los anillos se optimizarán para potenciar la actividad y la estabilidad metabólica. Como muestra el Esquema 7 posterior, de acuerdo con los resultados mostrados en los ejemplos precedentes, se obtendrán anillos de tiazolina y tiazol a partir de la reacción de benzonitrilo (incluyendo benzonitrilo sustituido) y cisteína (Bergeron et al., *J. Med. Chem.* 48:821-831 (2005)). Los productos intermedios ácidos resultantes se usarán para preparar los enlaces éster y amida. Estos análogos se compararán con respecto a la actividad antiproliferativa sobre células de cáncer de próstata y/o células de melanoma y células de control y se comparan con los compuestos **8f** y **8n**.
- 10

Esquema 7

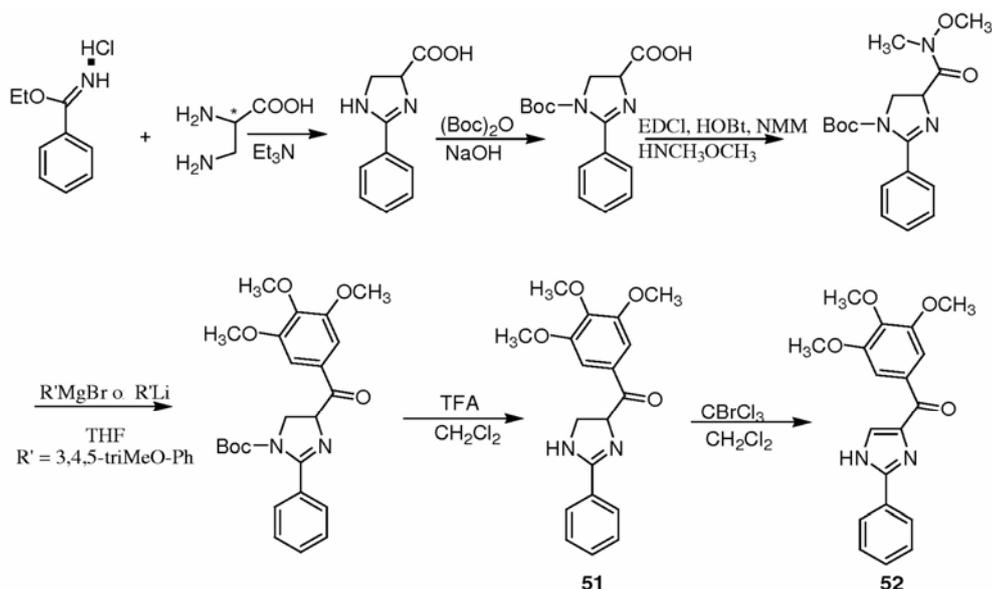


5 Los compuestos también se prepararán con el grupo trimetoxifenilo reemplazado por diferentes anillos aromáticos sustituidos, alquilo saturados o insaturados y diversos grupos heterocíclicos como los definidos en la presente memoria. Esto se puede efectuar al usar diferentes reactivos de Grignard. Estos análogos permitirán la optimización del anillo "C" con las mejores actividades, la menor toxicidad y la mejor estabilidad metabólica para el cáncer de próstata, el melanoma y otros cánceres.

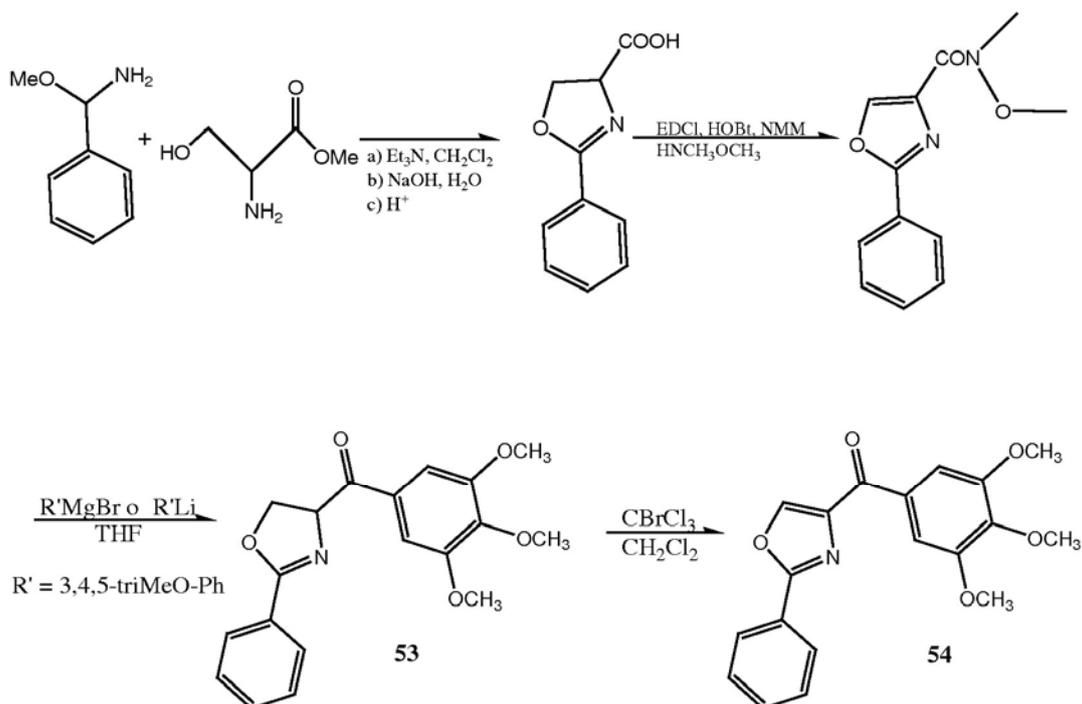
10 También se realizó la sustitución de los anillos centrales de tiazolina y tiazol por los correspondientes sistemas anulares de imidazolina (**51**), imidazol (**52**), oxazolina (**53**) y oxazol (**54**). La sal de hidrocloreuro de bencimidato de etilo se hizo reaccionar con ácido 2,3-diaminopropanoico para dar el sistema anular de imidazolina (véase el Esquema 8A posterior). (Hsu et al., *J. Med. Chem.* 23(11), 1232-1235 (1980)). La deshidrogenación de imidazolininas proporcionará los compuestos de imidazol deseados. Las oxazolininas se pueden preparar según la condensación clásica de feniliminoéter con éster de serina usando trietilamina como una base (véase el Esquema 8B posterior) (Meyer et al., *Tetrahedron: Asymmetry* 14:2229-2238 (2003)). La deshidrogenación de oxazolininas dará los compuestos de oxazol deseados.

15

Esquema 8A



Esquema 8B



- 5 También se prepararán isómeros ópticamente puros de los compuestos **8a-8z** para investigar la importancia de la quiralidad en la posición 4 de la tiazolina. Esto se llevará a cabo usando D- o L-cisteína para sintetizar las cetonas intermedias quirales a partir de D- o L-cisteína protegida. La condensación de las cetonas intermedias con benzonitrilo proporcionaría isómeros de R- o S-tiazolina. Los tiazoles se pueden preparar mediante deshidrogenación.
- 10 A partir de estudios previos sobre la relación estructural de las amidas de ácido tiazolidinocarboxílico, los efectos electrónicos invertidos de los sustituyentes sobre el fenilo en la posición C-2 de la tiazolidina daban como resultado una actividad significativamente diferente sobre líneas celulares de cáncer de próstata. También se prepararán derivados con diferentes sustituciones del anillo aromático a partir de diversos reaccionantes de benzonitrilo sustituidos (p. ej., 4-dimetilamino-benzonitrilo, 3-hidroxibenzonitrilo, 4-metoxibenzonitrilo, 3,4-dimetoxibenzonitrilo, 3,4,5-trimetoxibenzonitrilo, 4-acetamidobenzonitrilo, 4-fluorobenzonitrilo, 4-bromobenzonitrilo, 4-nitrobenzonitrilo, 4-cianobenzonitrilo, 3,5-difluorobenzonitrilo, 4-metilbenzonitrilo, 3-bromo-4-fluorobenzonitrilo, 2,6-diclorobenzonitrilo, fenilbenzonitrilo, indolnitrilo e indolilnitrilos sustituidos, piridino-nitrilo y piridinilnitrilos sustituidos, furano-nitrilo y
- 15

furilnitrilos sustituidos) para inducir tanto sustituyentes ávidos de electrones como donantes de electrones en el sustituyente de anillo de la posición C-2 en el anillo de tiazolina. Se cree que los mejores sustituyentes de grupos fenilo, indolilo, furanilo, tiofenilo y piridinilo en C2-2 se pueden encontrar después de cribar los análogos resultantes.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto, en donde el compuesto es (2-(1*H*-indol-3-il)imidazol-4-il)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona.
2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 5 3. Un compuesto según la reivindicación 1, para el uso como un medicamento.
4. Uso de un compuesto según la reivindicación 1, para la preparación de un medicamento para tratar cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de colon, leucemia, cáncer renal o cáncer del SNC, o una combinación de los mismos.
5. El uso según la reivindicación 4, en el que el medicamento se administra sistémicamente.
- 10 6. El uso según la reivindicación 4, en el que el medicamento se administra oralmente, tópicamente, transdérmicamente, parenteralmente, subcutáneamente, intravenosamente, intramuscularmente, intraperitonealmente, mediante instilación intranasal, mediante instilación intracavitaria o intravesical, intraocularmente, intraarterialmente, intralesionalmente o mediante la aplicación a membranas mucosas.
- 15 7. El uso según la reivindicación 4, en el que el medicamento se administra directamente a una zona en la que están presentes células cancerosas.
8. El uso según la reivindicación 4, en el que el medicamento se administra en un grado de dosificación de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg del compuesto por kg de peso corporal.
9. El uso según la reivindicación 4, en el que el medicamento se administra periódicamente.
- 20 10. El uso según la reivindicación 4, en el que el medicamento se administra en combinación con otra terapia para el cáncer.
11. El compuesto según la reivindicación 1, para el uso en el tratamiento de cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de colon, leucemia, cáncer renal o cáncer del SNC, o una combinación de los mismos.
12. El compuesto para el uso según la reivindicación 11, en donde el compuesto se administra sistémicamente.
- 25 13. El compuesto para el uso según la reivindicación 11, en donde el compuesto se administra oralmente, tópicamente, transdérmicamente, parenteralmente, subcutáneamente, intravenosamente, intramuscularmente, intraperitonealmente, mediante instilación intranasal, mediante instilación intracavitaria o intravesical, intraocularmente, intraarterialmente, intralesionalmente o mediante la aplicación a membranas mucosas.
14. El compuesto para el uso según la reivindicación 11, en donde el compuesto se administra directamente a una zona en la que están presentes células cancerosas.
- 30 15. El compuesto para el uso según la reivindicación 11, en el que el compuesto se administra en un grado de dosificación de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal.
16. El compuesto para el uso según la reivindicación 11, en donde el compuesto se administra periódicamente.
- 35 17. El compuesto para el uso según la reivindicación 11, en donde el compuesto se administra en combinación con otra terapia para el cáncer.

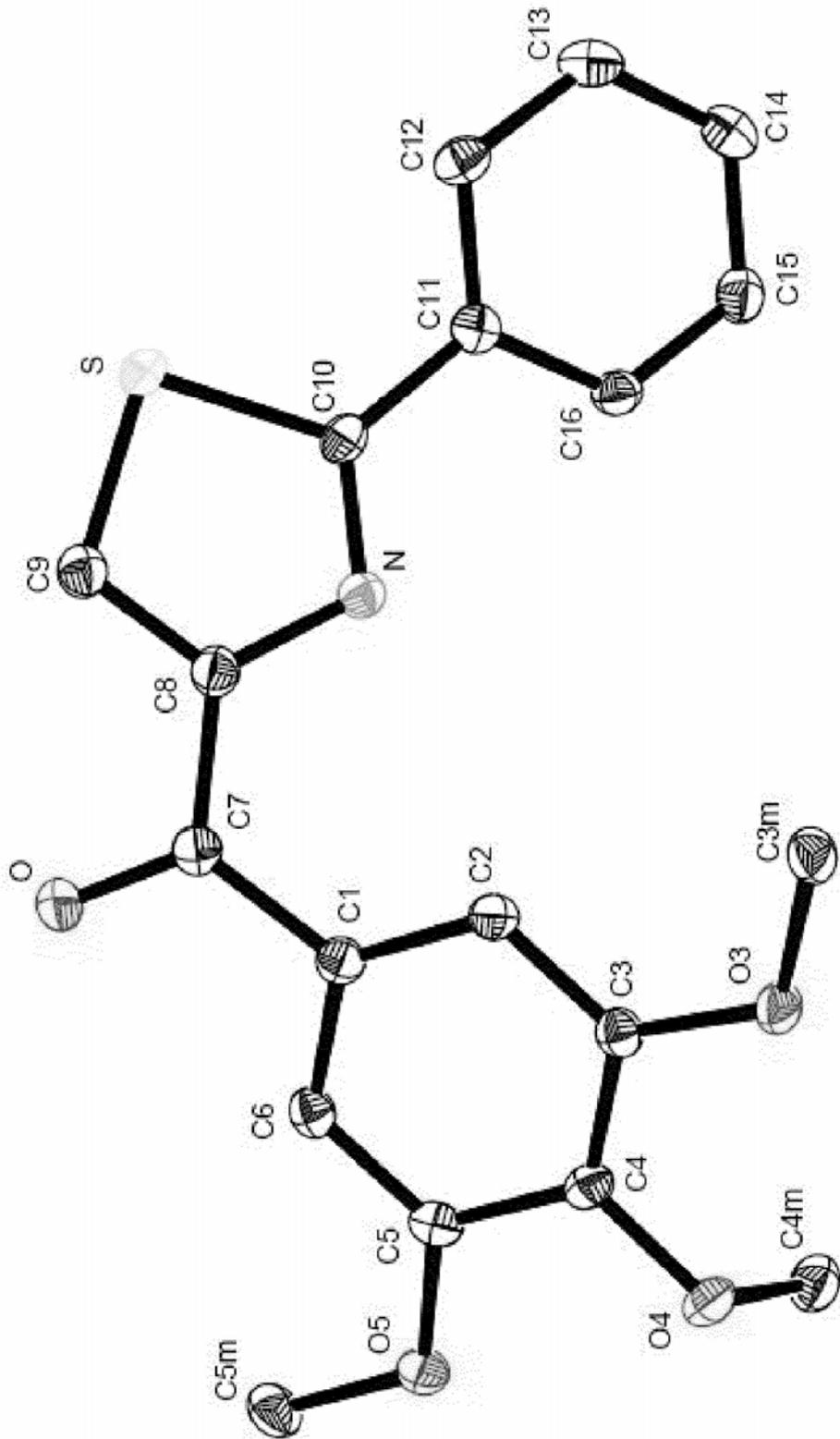


Figure 1

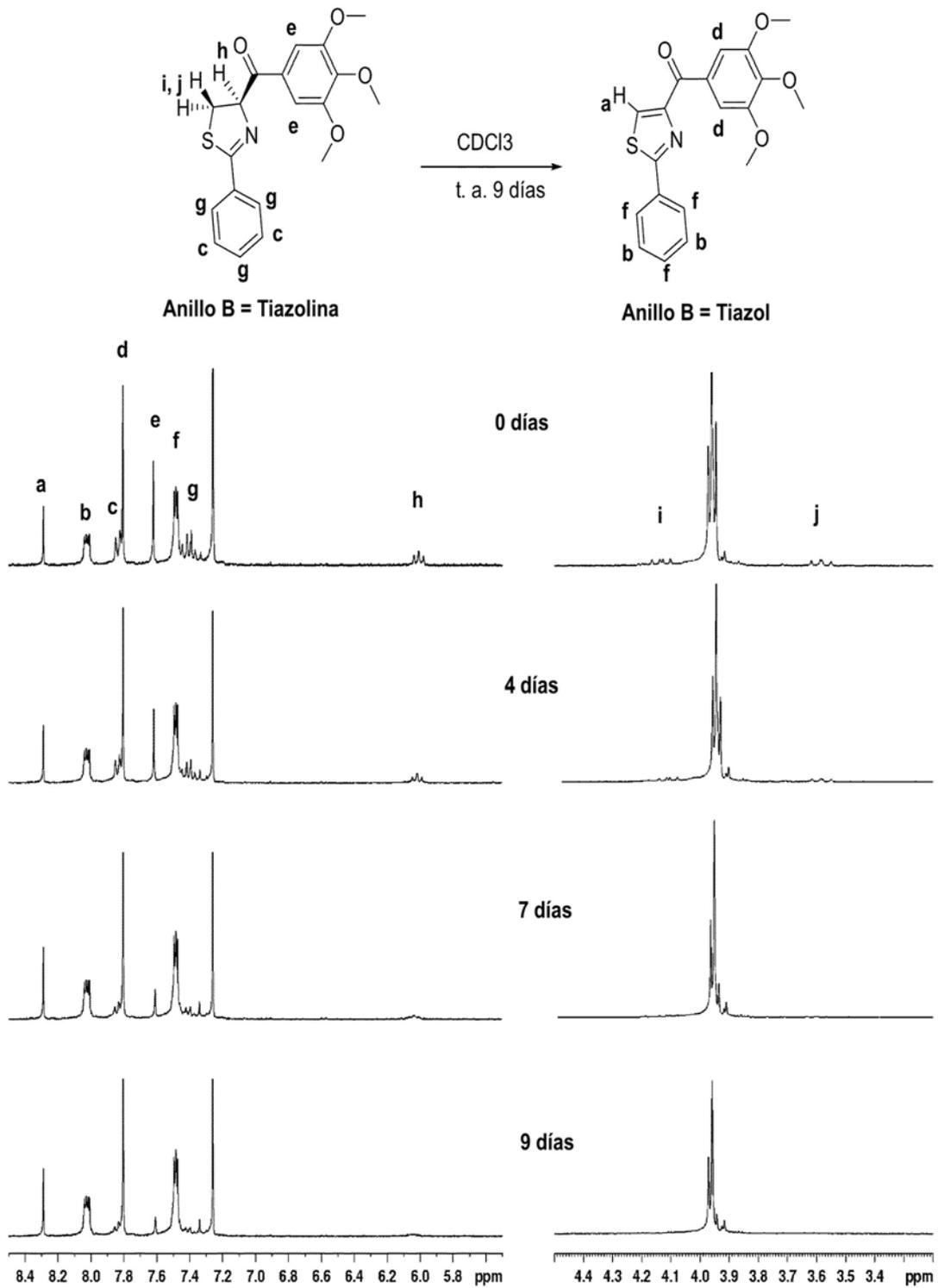


Figura 2

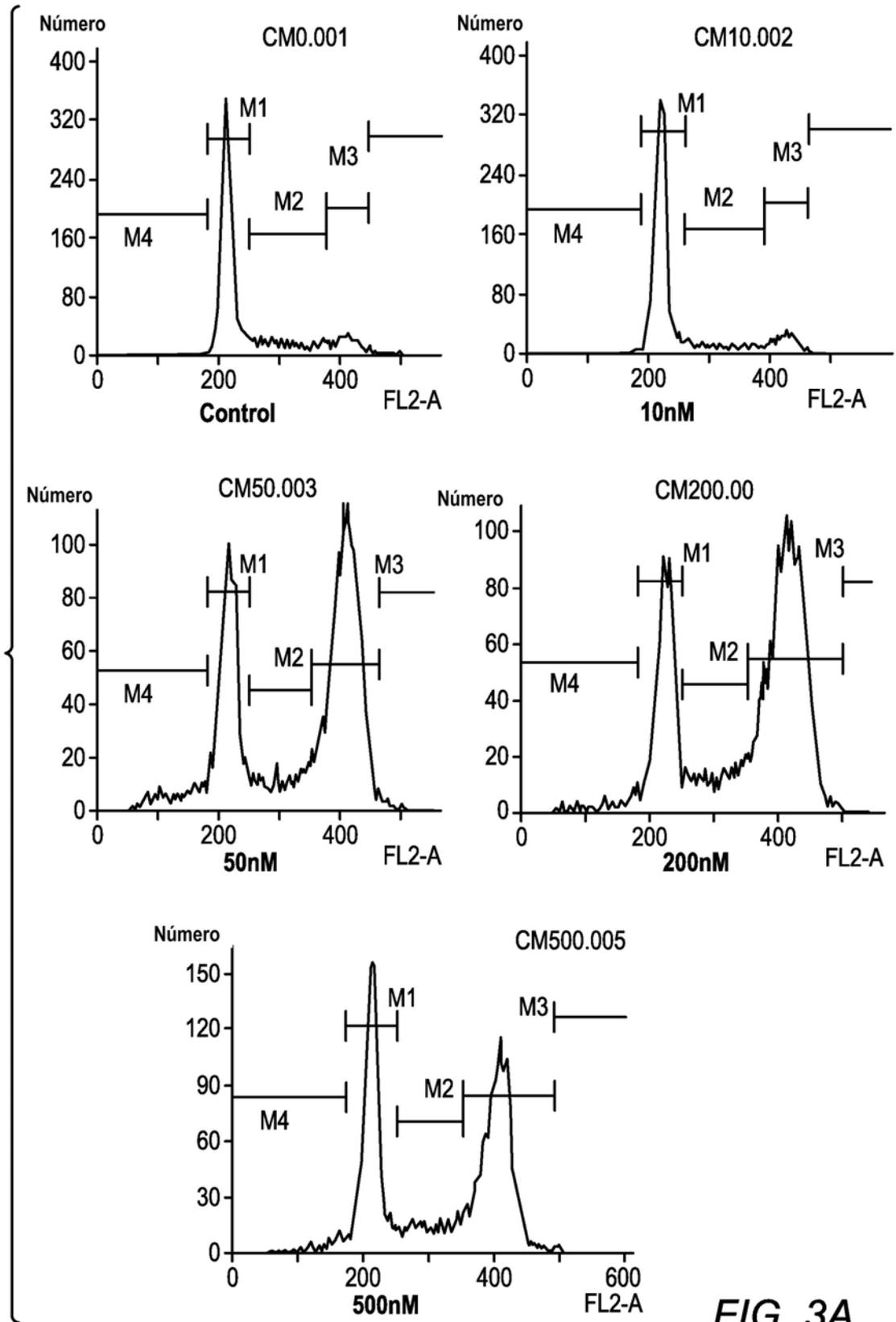


FIG. 3A

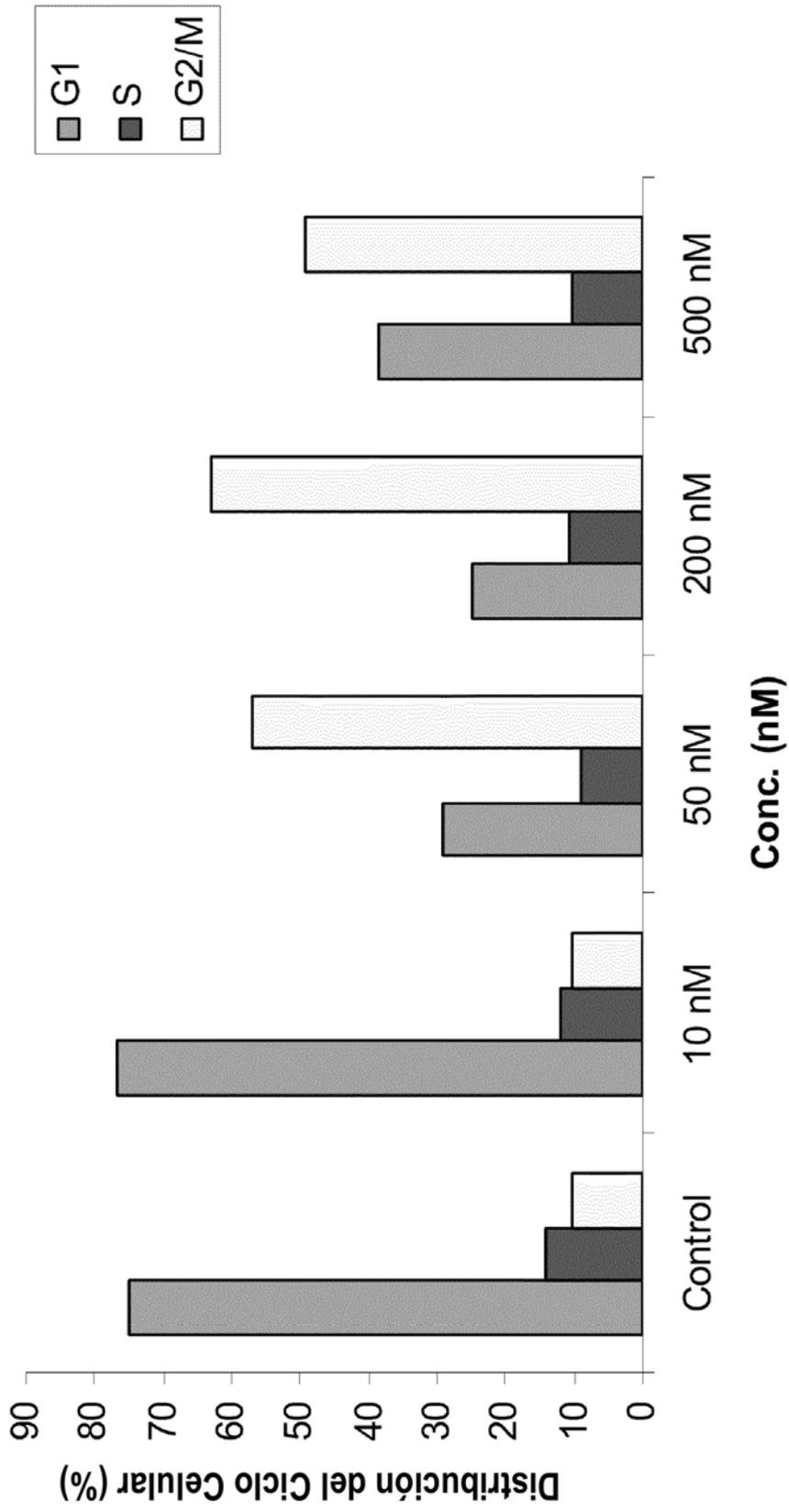


Figura 3B

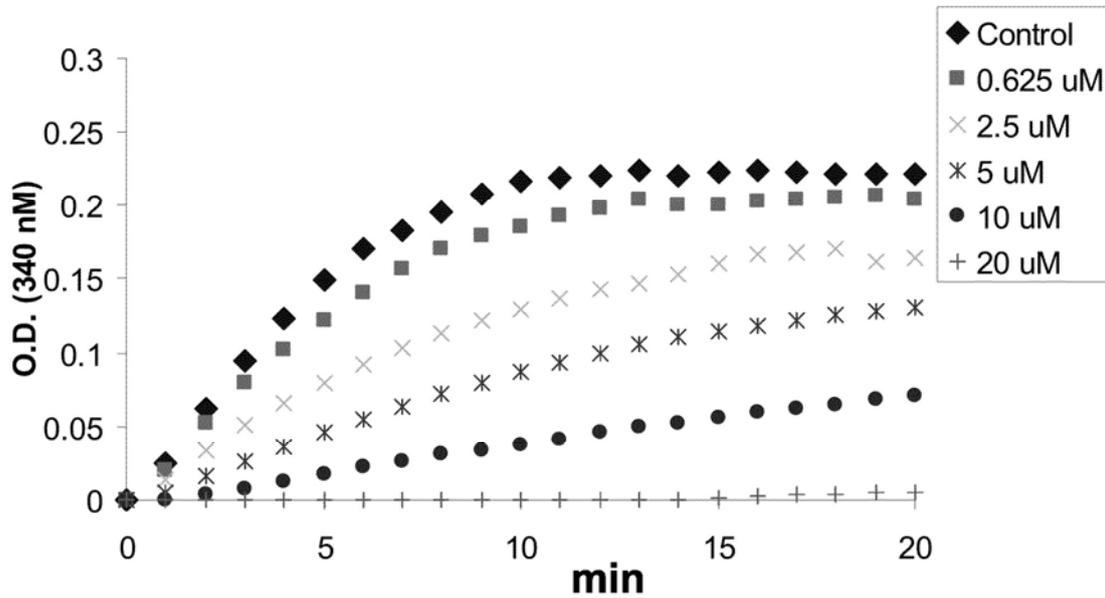


Figura 4

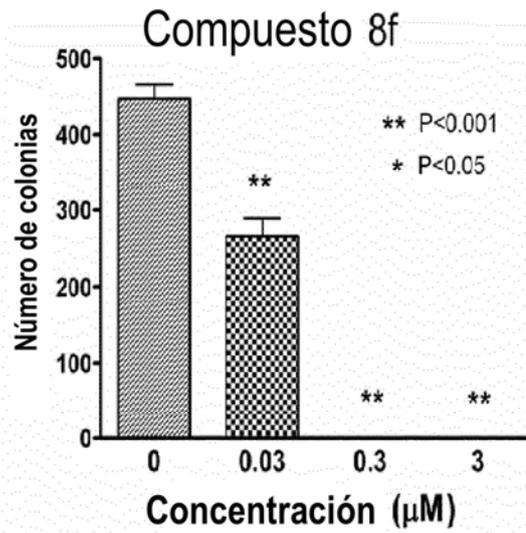


Figura 5A

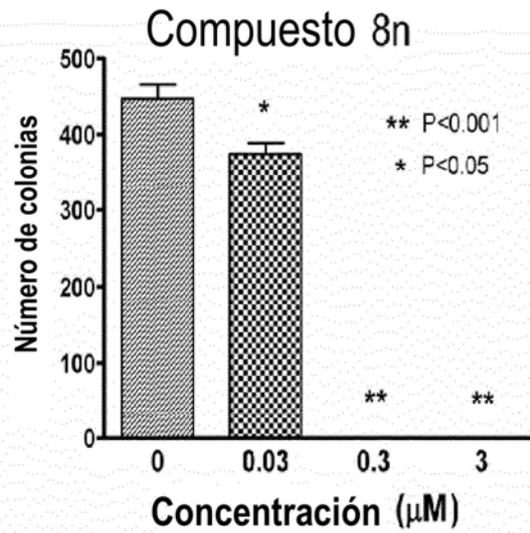


Figura 5B

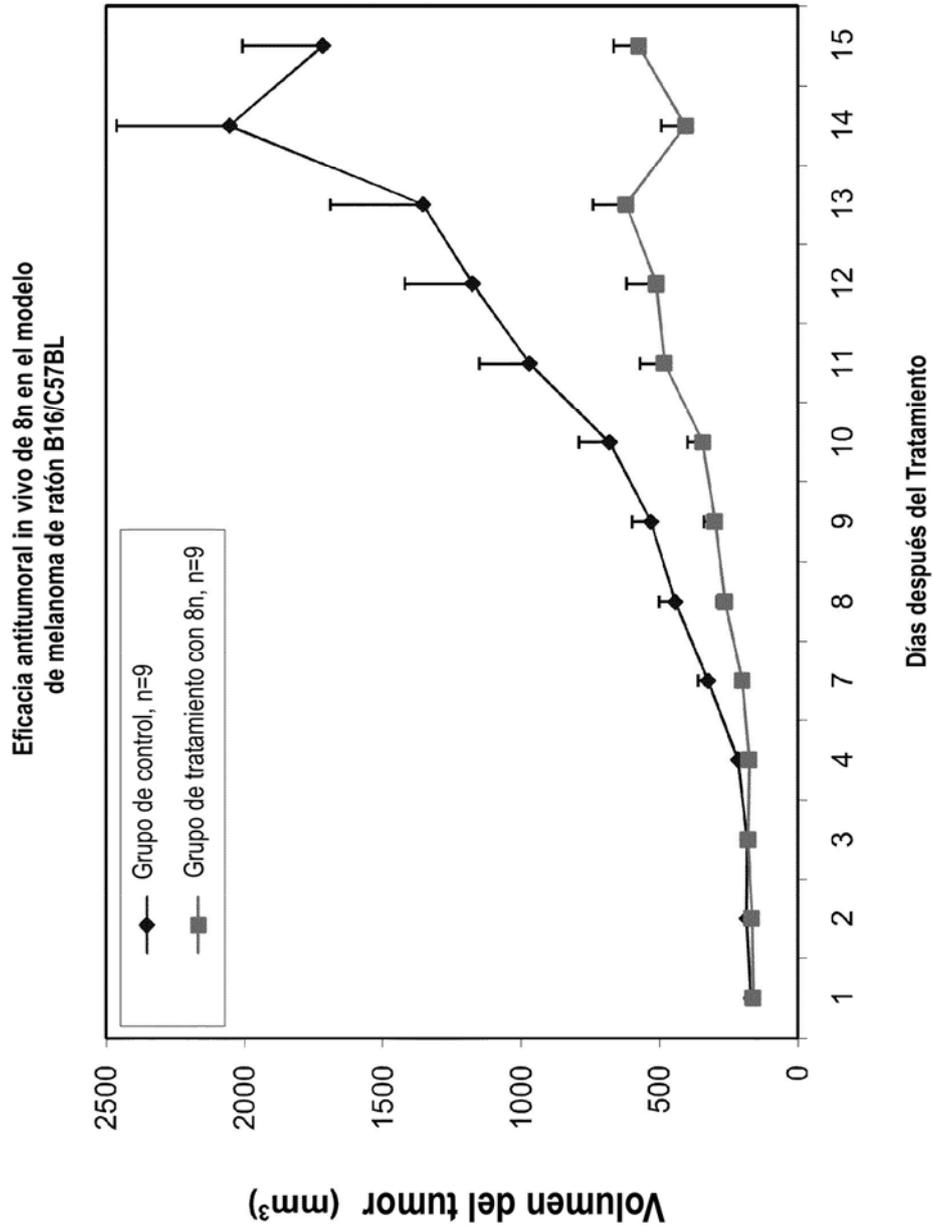


Figura 6