



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LICENCIATURA EN QUÍMICA

**Síntesis, evaluación, *in silico* e *in vitro*,
anticancerígena de tiazolidinas quirales derivadas
del cisteinato de metilo.**

Tesis para obtener el título de
LICENCIADO EN QUÍMICA

Presenta:

Junior Emmanuel Alonso Tadeo

Director Tesis:

Dr. Joel Luis Terán Vázquez

Codirector de Tesis:

Dr. Ángel Palillero Cisneros



Facultad de
Ciencias Químicas
BUAP

Abril/2024



El presente trabajo se llevó a cabo bajo la dirección del Dr. Joel Luis Terán Vázquez. Su desarrollo contó con el apoyo de la beca CONAHCYT, perteneciente a la convocatoria CB 2017-2018 con clave del proyecto A1-S-13280, y del proyecto VIEP 2023. Adicionalmente, una parte de la tesis se realizó en el marco del proyecto de investigación XXVIII del Verano de la Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico, perteneciente al programa Delfín 2023.

Permiso de Impresión



OFICIO C.Q./CT 011A/2024

Dr. Jorge R. Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis del alumno de la Licenciatura en Química

Junior Emmanuel Alonso Tadeo

comunican a Usted la autorización para la publicación del trabajo de tesis bajo la dirección del Dr. Joel Luis Terán Vázquez y del Dr. Angel Palillero Cisneros, con el siguiente título:


"Síntesis, evaluación in silico e in vitro anticancerígena de tiazolidinas quirales derivadas del cisteinato de metilo"

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 19 de marzo de 2024.

Atentamente
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., a 19 de marzo de 2024


Dr. Jesús Sandoval Ramírez, Presidente


Dr. Víctor Gilberto Serafín Alatraste Bueno, Secretario


Dr. Alan Carrasco Carballo, Vocal

c.c.p. Archivo

Codena digital: ZV's*Hp*Ut*Wf%Do+No^Ka&Cj(Ew*Yk&Qk/Ec"Wz#He)Ur%Mk-Nm,Zs.Vr+Bc)Sh.Vk\$Sz(Ni-Eh"Hn*Lj&Mj/Bv/AlCw%Zl"Rc,Kp)Za)Qa-Ij,Dr-Dk+Ml,Nn"Rv/Rb+Xl)Np"Kj"GFYp!Pq-Ru+Lz,Qc"Br{Vh%Az+Ch"Wd+Yk"Xn"Rh*Kd'Ks/Xz+Ph}Hu-Dm"Uu-Xn+Az/Fy"Gc%Dc-He/Ng"Wn%Qy..Jb/Wc(Nl%XlSRb(Pi%Ks%Yg+XLBc'la-Kh'Eh/Nj%Dl"Wn!

Facultad de Ciencias Químicas | San Claudio No. 1, Edificio FCQ 9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext. 7390

Agradecimientos y Dedicatoria

A mi familia, mis padres y hermanos. Gracias por todo lo que han hecho por mí, por su amor incondicional y constante apoyo. Todo se lo debo a ustedes.

A mis amigos y compañeros de laboratorio: por su amistad, compañerismo. De ustedes he aprendido tanto.

A los profesores investigadores responsables del cuerpo académico consolidado *BUAP-CA-157-Química Orgánica Básica*, especialmente al Dr. Joel Luis Terán Vázquez, por haber sido un excelente director de tesis.

Al *Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica*: por acompañarme en parte de este proyecto desde el Verano de la Investigación.

A la H. Comisión Revisora integrada por los profesores investigadores:

Dr. Jesús Sandoval Ramírez

Dr. Victorino Gilberto Serafín Alatraste Bueno

Dr. Alan Carrasco Carballo

Resumen

Las tiazolidinas son compuestos heterocíclicos que presentan diversas aplicaciones biológicas, como antimicrobianas, antiinflamatorias, antidiabéticas y anticancerígenas. En cáncer, algunas tiazolidinas influyen en el ciclo celular, apoptosis, diferenciación celular e inhiben la angiogénesis. La bioinformática juega un papel crucial en el diseño de nuevas tiazolidinas con mayor potencial farmacológico.

El objetivo principal fue diseñar, sintetizar, caracterizar y evaluar biológicamente las tiazolidinas **5a-f**, estableciendo una correlación entre su potencial *in silico* y su actividad biológica. Para ello, se utilizó como herramienta bioinformática Swiss Target Prediction para identificar blancos moleculares, y el módulo Glide de Maestro para realizar estudios de docking molecular. La síntesis produjo una baja diastereoselectividad y rendimiento, por lo que requiere estudiar con mayor profundidad a las condiciones de reacción.

El análisis *in silico* reveló dianas potenciales como JAK2 y JAK2, relacionadas con enfermedades inflamatorias y cáncer, lo que indica un posible efecto anticancerígeno de las moléculas sintetizadas. La evaluación *in vitro* mostró que la tiazolidina **5a**, derivada de benzaldehído, presentó el menor efecto citotóxico. Los compuestos **5b-f** exhibieron una buena actividad contra las células MDA-MB-231. Estos hallazgos sugieren un potencial efecto citotóxico de las moléculas **5a-f** contra células cancerígenas, en cuyo caso se obtuvo una relación directa entre los cálculos teóricos y la actividad biológica.

Este trabajo abre nuevas posibilidades en el campo del diseño de agentes biológicamente activos, destacando el potencial de los derivados tiazolidínicos como una línea de investigación prometedora.

Índice General

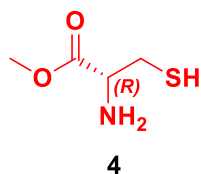
Permiso de impresión	3
Agradecimientos y dedicatoria.....	4
Resumen	5
Abreviaturas	7
Índice de compuestos	8
1. Introducción: tiazolidinas y su potencial biológico	9
2. Antecedentes	11
2.1 Bioinformática de tiazolidinas	11
2.2 Síntesis de tiazolidinas.....	12
2.3 Evaluación biológica	14
3. Objetivos	17
4. Metodología	18
4.1 Metodología de análisis <i>in silico</i>	18
4.1.1 Determinación del potencial estructural	18
4.1.2 Docking molecular	19
4.2 Metodología de la síntesis	19
4.2.1 Generalidades.....	19
4.2.2 Cisteinato de metilo (4).....	20
4.2.3 Derivados tiazolidínicos 5a-d	21
4.3 Metodología de la evaluación biológica.....	25
5. Discusión de Resultados	26
5.1 Posible potencial biológico vs estructural mediante análisis de STP y PASS Online.....	26
5.2 Potencial por docking molecular	28
5.3 Potencial anticancerígeno	28
5.4 Síntesis de 1,3-tiazolidinas 5a-f	32
5.4.1 Obtención del cisteinato de metilo.....	32
5.4.2 Obtención de las tiazolidinas 5a-f	35
5.5 Evaluación biológica	49
6. Conclusiones	55
7. Anexos	56
8. Bibliografía	59

Abreviaturas

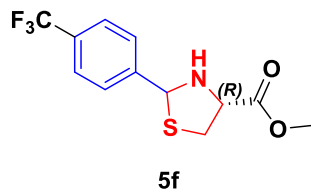
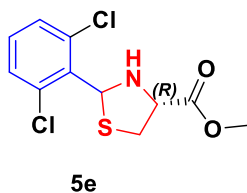
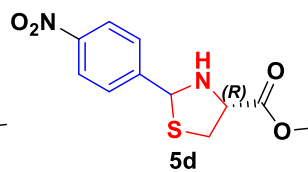
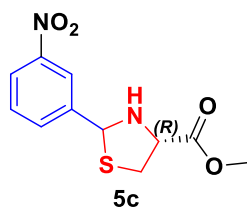
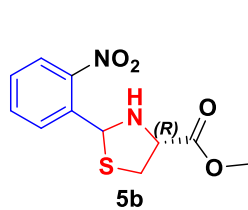
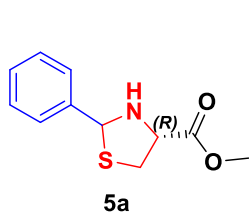
CCF	Cromatografía en capa fina
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
equiv.	Equivalentes
JAKS	Janus kinasas
PPAR γ	Peroxisomas gamma
r.d	Relación diasteromérica
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN ^1H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
STP	Swiss Target Prediction
RMN ^{13}C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
t.a	Temperatura ambiente

Índice de compuestos

Esterificación de cisteína.



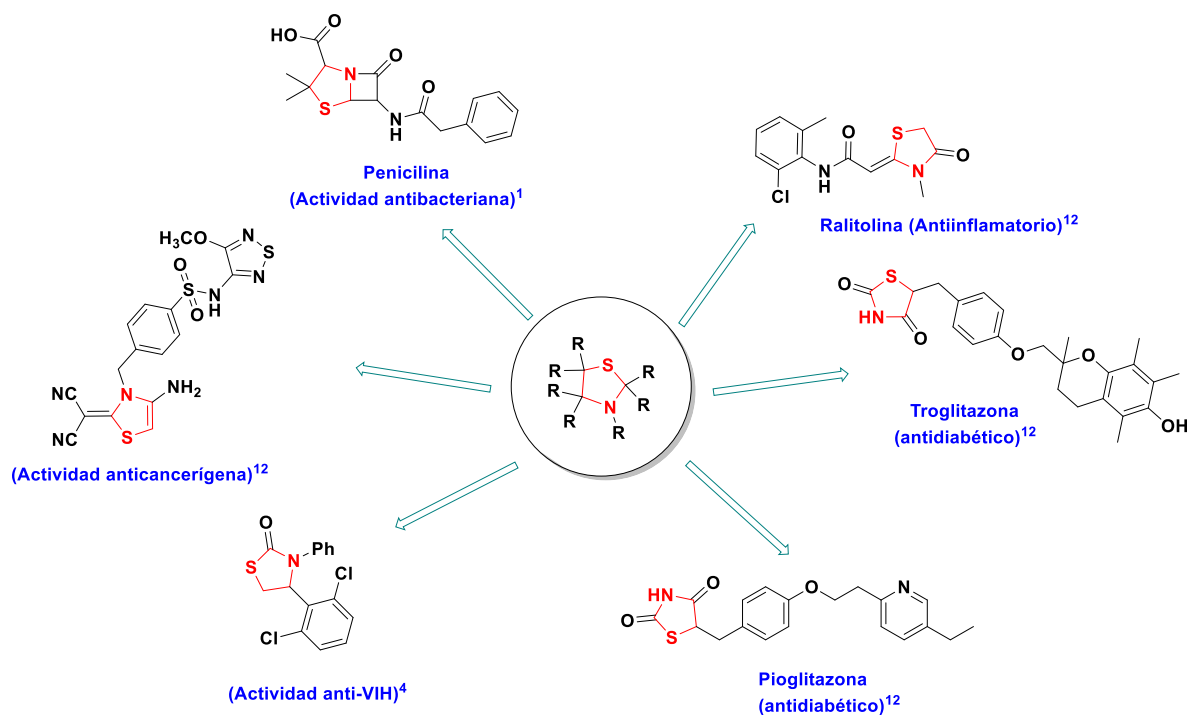
Tiazolidinas sintetizadas.



1. Introducción: Tiazolidinas y su potencial biológico

Las tiazolidinas son una clase de compuestos heterocíclicos que presentan un anillo saturado de cinco miembros, con un grupo tioéter en la posición 1 y un grupo amina en la posición 3. Dentro de la estructura de la tiazolidina, éstas pueden estar diversamente funcionalizadas en las posiciones 2, 4 y 5. Dependiendo de los sustituyentes se ha demostrado que pueden potenciar su actividad farmacológica, (Figura 1) como propiedades antimicrobianas,¹ efectos antiinflamatorios,² antioxidantes,³ anti-VIH,⁴ antidiabético⁵⁻⁸ y anticancerígeno.⁹⁻¹²

Específicamente, en el contexto de la diabetes y las enfermedades metabólicas, las tiazolidinas han sido objeto de interés debido a su capacidad para actuar como agonistas selectivos de los receptores activados por PPAR γ ^{7,8}. Estos receptores desempeñan un papel crucial en la regulación de la homeostasis glucémica y lipídica. Los compuestos activadores de PPAR γ , como las tiazolidinas, pueden reducir la resistencia a la insulina y disminuir los niveles de glucosa en sangre, lo que las convierte en candidatos prometedores para el tratamiento de la diabetes tipo 2.



Esquema 1. Ejemplos de tiazolidinas con propiedades farmacológicas.

Por otra parte, en el ámbito oncológico, se ha destacado el potencial de tiazolidinas como agentes anticancerígenos al afectar el ciclo celular, la inducción de la diferenciación celular y la apoptosis, así como al inhibir la angiogénesis tumoral. Se ha observado una notable actividad anticancerígena *in vitro* contra líneas celulares como, HeLa (VPH positivo), HT29 (adenocarcinoma), A549 (carcinoma de pulmón), MCF-7 (cáncer de mama), PC-3M (cáncer de próstata altamente metastásico),^{9,10} CCRF-CEM (leucemia), SK-MEL-5 y WM793 (melanoma) y DU-145 (cáncer de próstata).^{11,12}

Con el fin de acceder a nuevas estructuras tiazolidínicas que muestren mayor actividad farmacológica, la bioinformática puede ser de gran ayuda, a través de un análisis *in silico*, ya que es una herramienta que permite diseñar nuevos compuestos tiazolidínicos como posibles candidatos con un mejor potencial farmacológico y que en consecuencia justifiquen el desarrollo de estrategias sintéticas para su obtención y posterior evaluación biológica. Por lo anterior, en este trabajo de investigación, llevamos a cabo un análisis *in silico*, la síntesis y evaluación *in vitro*, de diversas tiazolidinas derivadas del cisteinato de metilo condensadas con aldehídos para realizar el tratamiento específicamente a células MDA-MB-231.

A continuación, se presenta algunos de los antecedentes más importantes sobre estudios bioinformáticos realizados a tiazolidinas.

2. Antecedentes

2.1 Bioinformática de Tiazolidinas

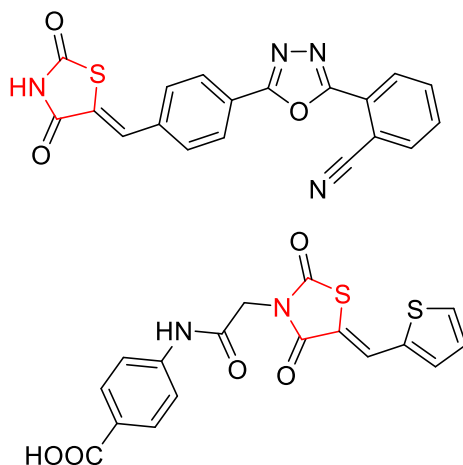
En la última década, las herramientas bioinformáticas han revolucionado nuestro conocimiento sobre las interacciones moleculares. Estas herramientas permiten estudiar y comprender cómo las moléculas interactúan entre sí, desde enzimas y sustratos hasta proteínas y ácidos nucleicos. Esta información es esencial para comprender los procesos bioquímicos a nivel celular y sistémico, y para explicar fenómenos complejos como las cascadas de señalización, las rutas metabólicas y los mecanismos de acción de los fármacos.¹³

Las tiazolidinas, específicamente, se han beneficiado del uso de herramientas *in silico* para diseñar candidatos biológicamente activos (Tabla 1), el objetivo principal de este uso es aumentar el potencial valor de las moléculas candidatas usando fármacos de referencia para luego seleccionarlas para síntesis y evaluación biológica. La tabla 1 muestra ejemplos de este enfoque, destacando efectos anticancerígenos y antidiabéticos.

Blancos moleculares			
<i>in silico</i>	Efecto biológico	Fármacos de referencia	Referencias
PPARs	Diabetes mellitus tipo 2	Rosiglitazona	14
VEGFR-2/EGFR	Anticancerígeno	Sorafenib, Sunitinib, Erlotinib	15,16

Tabla 1. Análisis *in silico* de blancos moleculares para fármacos probados.

A partir de la estructura de la tiazolidina-2,4-diona, ha sido posible diseñar, sintetizar y evaluar biológicamente nuevos compuestos activos anticancerígenos¹⁷ y antifúngicos¹⁸ (Esquema 2)

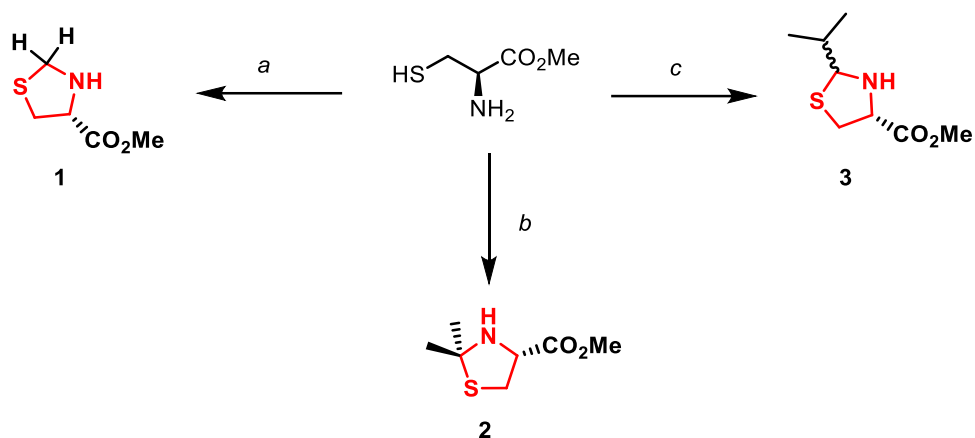


Esquema 2. Moléculas diseñadas *in silico* que mostraron efectos biológicos.

2.2 Síntesis de tiazolidinas

Se reconoce la gran importancia de los sistemas heterocíclicos en el campo de la química medicinal, debido a su probada utilidad. De hecho, se estima que más del 85% de las entidades químicas que provocan una reacción biológica contienen al menos un heterociclo¹⁹. En el caso particular de las tiazolidinas, se han desarrollado diversos métodos para su síntesis, con aplicaciones en campos tan variados que no se limita a la química médica sino también a la ciencia de materiales y la agricultura⁴.

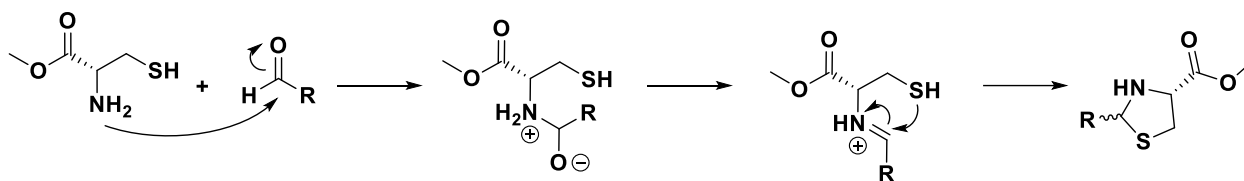
Uno de los enfoques más comunes para la síntesis de tiazolidinas implica la reacción de condensación entre un compuesto carbonílico y una amina primaria en presencia de una base. Por ejemplo, la L-cisteína puede reaccionar directamente con aldehídos y cetonas para formar tiazolidinas. Esta reacción implica la adición nucleofílica del grupo tiol de la cisteína al carbonilo del aldehído o cetona. Este método ha sido ampliamente investigado y optimizado para mejorar tanto la selectividad como el rendimiento de la reacción. Por ejemplo, utilizando la metodología de Serra y colaboradores²⁰ las tiazolidinas **1** y **3** se sintetizaron a partir de un amino éster, obteniendo rendimientos del 60% y 95%, respectivamente. La tiazolidina **3**, derivada de isobutiraldehído, se obtuvo como una mezcla *cis/trans* con una relación diastereoisomérica de 70:30. Además, el compuesto **2** se sintetizó utilizando las condiciones reportadas por Braga y colaboradores²¹ logrando un rendimiento del 95% (Esquema 1).



a). Formalina, NaHCO₃, EtOH/H₂O, t.a, 8h. b) acetona, PTSA, reflujo, 16h.
c) Isobutiraldehído, NEt₃, EtOH/H₂O, t.a, 8h

Esquema 3. Síntesis de tiazolidinas derivadas de cisteinato de metilo.

En todas las reacciones se sigue un mecanismo general en el que el grupo amina de la cisteína ataca al carbonilo del aldehído o cetona, formando un grupo iminio. El grupo iminio se deshidrata para formar una imina y esta imina se cicla con el grupo tiol de la cisteína para formar la tiazolidina (Esquema 4).



Esquema 4. Mecanismo general para la formación de tiazolidinas.

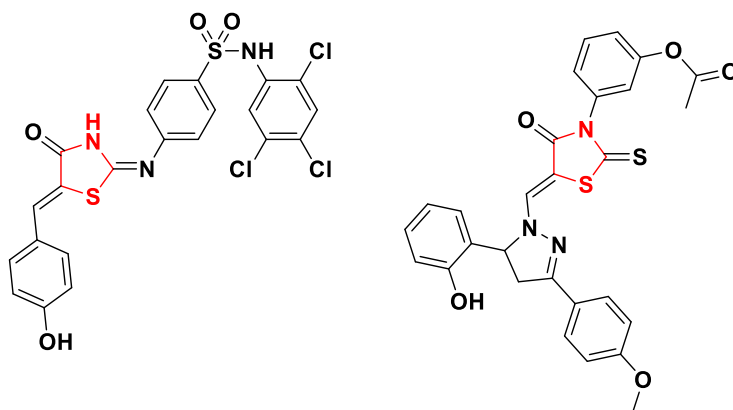
Además de la síntesis tradicional, se han desarrollado enfoques catalíticos para la formación de enlaces C-S y C-N que permiten la construcción directa del anillo tiazolidina. Estas estrategias emplean catalizadores metálicos u orgánicos que facilitan la activación de los sustratos y aceleran la reacción, proporcionando ventajas en términos de selectividad y rendimiento.

La aplicación de métodos catalíticos ha abierto nuevas posibilidades para la diversificación estructural de las tiazolidinas, permitiendo la introducción de grupos funcionales específicos con precisión y eficiencia⁴.

Así, se logra comprender que las tiazolidinas son un grupo versátil de compuestos con una amplia gama de aplicaciones sintéticas. Se han desarrollado una gran variedad de métodos para sintetizar tiazolidinas, cada uno con sus propias ventajas y desventajas. La elección del método de síntesis adecuado depende de la naturaleza de la tiazolidina deseada, los requisitos de pureza y la escala de la síntesis.

2.3 Evaluación biológica

Ya se ha descrito que los compuestos con anillo tiazolidínico en su estructura poseen una amplia gama de actividades biológicas que abarcan desde propiedades antimicrobianas hasta acciones antiproliferativas, antiinflamatorias y anticancerígenas. Sin embargo, entre estas actividades, la citotoxicidad contra líneas celulares cancerígenas, como la MDA-MB-231, reviste una importancia particular. Esta línea celular es conocida por su agresividad y su resistencia a terapias hormonales, lo que la hace un modelo relevante para el cáncer de mama triple negativo. En la bibliografía académica hay reportes de que los compuestos tiazolidínicos muestran actividad contra la línea celular MDA-MB-231, sugiriendo su potencial como tratamientos para este tipo de cáncer. Por ejemplo, en estudios realizados por Roszczenko²² y Gornowicz²³ se evaluó la actividad antiproliferativa de nuevos compuestos tiazolidínicos frente a varias líneas celulares de cáncer de mama, incluyendo la MDA-MB-231. Los resultados destacaron que algunos de estos compuestos exhibieron una alta actividad contra la MDA-MB-231, con valores de IC₅₀ en el rango nM y μM respectivamente (Esquema 5).



Esquema 5. Compuestos evaluados *in vitro* e *in vivo*, con una alta actividad contra la línea celular MDA-MB-231.

La citotoxicidad de los compuestos tiazolidínicos contra líneas celulares específicas de cáncer,

como la MDA-MB-231, resalta como potencial terapéutico. Esta evidencia subraya la importancia de evaluar la citotoxicidad como un criterio fundamental en el desarrollo de nuevos fármacos a partir de estos compuestos. Los compuestos tiazolidínicos presentan un mecanismo de acción molecular multifacético que conlleva a la muerte celular de la línea celular MDA-MB-23. Uno de estos mecanismos se basa en la inhibición de las JAKs (Janus Kinases) enzimas de la familia de la tirosina quinasas que desempeñan un papel crucial en la transducción de señales intracelulares (Figura 1) que además promueven la proliferación, supervivencia y la formación de nuevos vasos sanguíneos en los tumores²⁴.

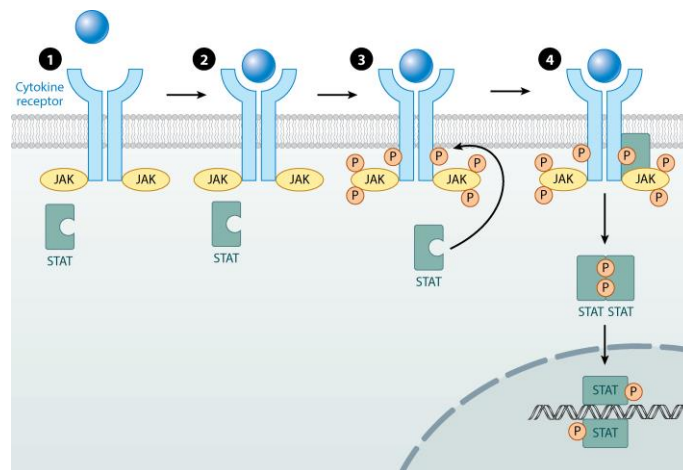


Figura 1. Ruta de señalización JAK-STAT que transmite señales desde las citoquinas al núcleo, donde se regula la expresión génica para controlar diversas respuestas celulares.

Se ha demostrado que las JAKs están involucradas en la proliferación celular, la supervivencia y la angiogénesis, lo que las convierte en un objetivo prometedor para la terapia contra el cáncer²⁵. Algunos fármacos que se han estudiado como inhibidores de las JAKs incluyen tofacitinib y ruxolitinib. Estos compuestos han demostrado actividad inhibitoria selectiva contra las JAKs y se han utilizado en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide y la enfermedad inflamatoria intestinal, sin embargo, no se limita a estas enfermedades, sino que se incluyen pruebas con algunos tipos de cáncer como pulmón, cáncer de próstata, melanoma y cáncer de mama²⁶.

Debido a esto, las JAKs se han convertido en un objetivo de inhibición terapéutico prometedor. Los inhibidores de JAKs, como el tofacitinib y el ruxolitinib, pueden ser una nueva esperanza en la lucha contra el cáncer al detener la proliferación celular, inducir la muerte celular e inhibir la

angiogénesis tumoral.

Si bien estos fármacos son generalmente bien tolerados y han demostrado ser eficaces en diversos tipos de cáncer y enfermedades autoinmunes, aún hay desafíos por delante como la energía de acoplamiento asociado a las JAKs y algunos efectos secundarios. Las investigaciones en curso sobre la terapia con inhibidores de JAKs podrían brindar nuevas opciones de tratamiento a los pacientes con cáncer.

Considerando estos antecedentes que demuestran la importancia de las tiazolidinas como fármacos útiles, especialmente en la inhibición de enzimas como las JAKs en líneas celulares de cáncer de mama como la MDA-MB-231, se establecieron los siguientes objetivos.

3. Objetivos

Objetivo General:

Diseñar *in silico*, sintetizar, caracterizar y evaluar biológicamente tiazolidinas derivadas del cisteinato de metilo para determinar su aplicación biológica.

Objetivos Particulares:

1. Determinar *in silico* el potencial de tiazolidinas derivadas del cisteinato de metilo en STP y PASS online.
2. Evaluar la energía de acoplamiento, interacciones y selectividad de las tiazolidinas derivadas del cisteinato de metilo con dianas asociadas al cáncer.
3. Sintetizar y caracterizar espectroscópicamente los derivados de tiazolidinas.
4. Evaluar el efecto biológico sobre modelo de cáncer de derivados seleccionados en la fase *in silico*.
5. Establecer una correlación entre la actividad biológica y los resultados obtenidos de acoplamiento molecular con respecto a la estructura.

4. Metodología

4.1 Metodología de análisis *in silico*

El estudio *in silico* de las tiazolidinas se dividió en dos fases. La primera, fue enfocada al potencial por similitud estructural para determinar los blancos moleculares primarios y secundarios. En la segunda fase se construyeron los modelos 3D y con las proteínas de interés se procedió al estudio de docking molecular y se analizaron estadísticamente el efecto de los grupos de estudio y finalmente determinar la posibilidad de selectividad teórica y calcular las energías de acoplamiento (Figura 4).

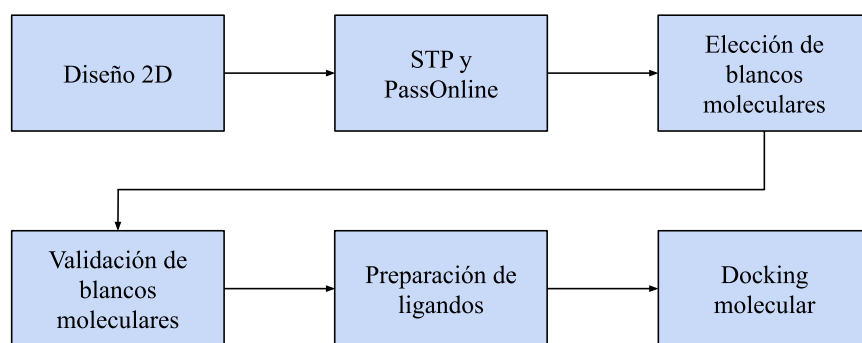


Figura 2. Etapas clave del estudio *in silico* de tiazolidinas derivadas del cisteinato de metilo.

4.1.1 Determinación del potencial estructural

- **Diseño 2D:** Las moléculas se dibujaron empleando el software ChemDraw, tomando en cuenta su estereoquímica y cargas eléctricas, para exportar el archivo SMILE (Simplified Molecular Input Line Entry Specification).
- **Swiss Target Prediction y PASS Online:** Se introdujeron los códigos SMILE en la plataforma STP y PASS Online y se seleccionó como modelo Homo Sapiens. Se introdujo el criterio de $pa > 0.7$ para obtener los archivos csv en ambos casos para su análisis.
- **Elección de blancos moleculares:** Con los datos obtenidos de STP, se construyó el diagrama de frecuencia interaccional, para determinar las dianas principales y secundarias; se considera primaria con una frecuencia mayor a 50% y secundaria mayor a 25%. Con la lista de dianas obtenidas, se revisó la actividad biológica relacionada. Con los resultados de Pass

Online, se construyó un diagrama de probabilidad, para poder analizar las principales actividades potenciales del conjunto de moléculas.

4.1.2 Docking Molecular

- Preparación de blancos moleculares: Todas las Janus quinasas (JAKs) fueron obtenidas de RSCB PDB con los códigos de identificación para JAK1 (4EHZ), JAK2 (3KRR), y JAK3 (1YVJ). Con los cristales se procedió a la preparación de estas mediante el módulo “Protein preparation wizard” utilizando como parámetros pH:7.4, libertad de giro en el sitio catalítico y en un sistema hidratado, para simular condiciones fisiológicas.
- Preparación de ligandos: Las tiazolidinas previamente dibujadas se convirtieron a su forma 3D más estable, mediante minimización con nivel PRCG en el módulo Macromodel. Para llevar las mismas a condiciones fisiológicas, los ligandos se prepararon utilizando LigPrep de Schrödinger, mediante el campo de fuerza OPLS4; se consideraron los estados de protonación e ionización de acuerdo a condiciones fisiológicas, calculados para cada estructura usando Ionizer a pH de 7.4. Los estereoisómeros se retuvieron de acuerdo con sus estructuras originales limitadas a 2 isómeros para cada ligando.
- Docking Molecular: Para el acoplamiento molecular entre los sitios de unión del receptor y los ligandos se realizó usando el módulo Glide de Maestro 13.8 y la Grix Box para cada diana se preparó usando el OPLS4 con un gradiente de RMSD $<1.0 \text{ \AA}$ como límite de cálculo. Las puntuaciones de acoplamiento de deslizamiento se realizaron en alta precisión (XP).

4.2 Metodología de la síntesis

4.2.1 Generalidades

Todas las reacciones se realizaron dentro de campana de extracción. Para monitorear las reacciones se utilizó cromatografía en capa fina y como agentes reveladores: lámpara de UV (254 nm) y/o permanganato de potasio para detectar la formación de los productos.

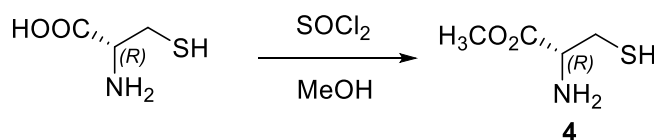
Para la purificación de los crudos de reacción se utilizó la técnica de cromatografía en columna,

utilizando sistemas de bencina/acetato de etilo en diferentes proporciones.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C y se obtuvieron mediante un espectrómetro Bruker de RMN de 500 MHz y utilizando como disolvente cloroformo deuterado, en donde el TMS sirvió como referencia interna del equipo. Las relaciones diastereoméricas fueron obtenidas a partir de los crudos de reacción de los espectros de RMN de ^1H .

Las constantes de acoplamiento se expresan como J y están dadas en Hz. Para la multiplicidad de las señales, se expresan en ppm para un espectro de RMN- ^1H y se utilizan las abreviaturas: (s) simple, (d) doble, (dd) doble de doble, (ddd) doble de doble de dobles, (g) cuatruplete, (t) triple, y (m) múltiple.

4.2.2 Obtención del cisteinato de metilo, **4**.



Esquema 6. Formación del cisteinato de metilo.

En un matraz de 50 ml se agregaron 2 g (16.5 mmol) de cisteína y se disolvieron en 26 ml de MeOH. La solución resultante se llevó a 0°C y se adicionaron gota a gota 1.8 ml (1.64 mmol) de SOCl_2 . La reacción se dejó en agitación constante durante 30 min y después se pasó a temperatura de reflujo por espacio de 4 horas, tiempo en el cual se comprobó el consumo total de la materia prima. El producto **4** obtenido como un sólido se lavó con AcOEt y después se recristalizó en un sistema 8:2 (AcOEt/MeOH) para obtener un sólido cristalino con un rendimiento del 89%.

Descripción espectroscópica del cisteinato de metilo (**4**).

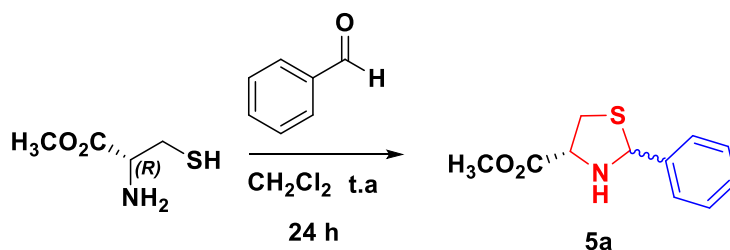
RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 4.53 (dd, $J = 6.8, 4.9$ Hz, 1H), 4.38 (t, $J = 5.0$ Hz, 1H), 3.81 (d, $J = 3.5$ Hz, 3H), 3.41 – 3.24 (m, 2H), 3.10 (dd, $J = 9.5, 5.0$ Hz, 2H). **RMN- ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): δ 169.1, 168.8, 54.4, 53.9, 53.8, 51.4, 35.6, 23.7.

4.2.3 Obtención de los derivados tiazolidínicos, 5(a-d).

Metodología General de síntesis de tiazolidinas.

En un matraz de 50 ml se agregaron 0.448 mmol 0.1 g (0.448 mmol) de cisteinato de metilo con 6 ml de CH₂Cl₂, una vez disuelto el éster se adicionaron 2 equivalentes del aldehído correspondiente y se colocó en baño ultrasónico durante 4 horas. Después, la mezcla de reacción se colocó en agitación a temperatura ambiente por espacio de 24 h y la reacción se monitoreó por CCF hasta comprobar el consumo total de la materia prima. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica con gel de sílice y un sistema hexano/acetato de etilo de 9:1 a 7:3. Se obtuvo un líquido viscoso verde que se procedió a caracterizar por RMN.

(4*R*,2*ξ*)-2-fenil-4-(metoxicarbonil)tiazolidina (5a).



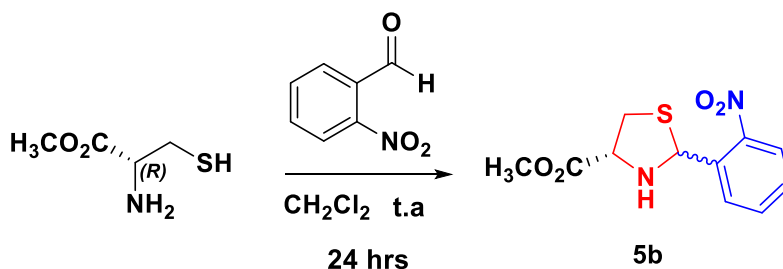
Esquema 7.- Estructura de 5a.

Se utilizó la metodología general con 0.15 ml de benzaldehído. El producto se obtuvo con un rendimiento del 57% con r.d = 65:35.

Descripción espectroscópica de (4*R*,2*ξ*)-2-fenil-4-(metoxicarbonil)tiazolidina (5a).

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) (mezcla de diastereoisómeros): δ 7.57 – 7.23 (m, 10H), 5.82 (s, 1H), 5.57 (s, 1H), 4.22 (dd, *J* = 7.1, 5.8 Hz, 1H), 3.99 (dd, *J* = 9.0, 7.1 Hz, 1H), 3.80 (d, *J* = 5.9 Hz, 6H), 3.47 (dd, *J* = 10.3, 7.1 Hz, 1H), 3.40 (dd, *J* = 10.6, 7.1 Hz, 1H), 3.21 (dd, *J* = 10.7, 5.8 Hz, 1H), 3.12 (dd, *J* = 10.3, 9.0 Hz, 1H). **RMN-¹³C** (125 MHz, CDCl₃): δ 172.2, 171.6, 141.1, 138.1, 129.7, 129.0, 128.7, 128.7, 128.4, 127.9, 127.4, 126.9, 72.6, 70.8, 65.5, 64.3, 52.6, 52.6, 39.2, 38.2.

(4*R*,2*ξ*)-2-fenil-4-(2-nitrofenil)tiazolidina, 5b.



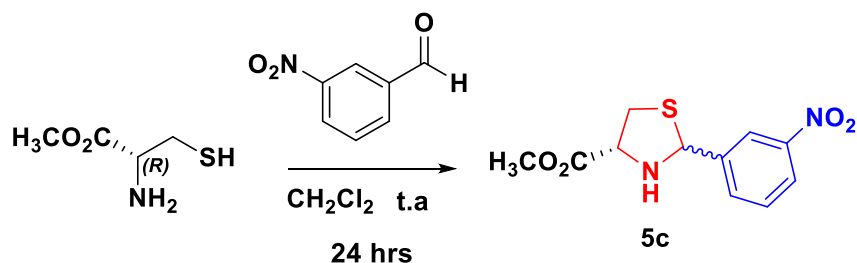
Esquema 8. Estructura de **5b**

Se utilizó la metodología general con 0.223 g de 2-nitrobenzaldehído. El producto se obtuvo con un rendimiento del 60% r.d = 75:25.

Descripción espectroscópica de (4*R*,2ξ)-2-fenil-4-(2-nitrofenil)thiazolidina (**5b**).

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) (mezcla de diastereoisómeros): δ 8.03 – 7.36 (m, 8H), 6.51 (s, 1H), 6.06 (s, 1H), (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 4.08 – 4.03 (m, 1H), 3.81 (d, *J* = 10.7 Hz, 3H), 3.43 (dd, *J* = 10.4, 6.7 Hz, 3H), 3.23 (dd, *J* = 10.7, 6.8 Hz, 2H), 3.05 (dd, *J* = 10.7, 6.9 Hz, 2H). **RMN-¹³C** (125 MHz, CDCl₃): δ 172.0, 171.4, 149.3, 147.7, 139.1, 133.9, 133.3, 133.2, 129.4, 129.3, 128.2, 127.6, 125.3, 124.6, 66.7, 66.2, 65.4, 64.6, 52.7, 52.6, 38.2, 36.9.

(4*R*,2ξ)-2-fenil-4-(3-nitrofenil)thiazolidina, **5c**.



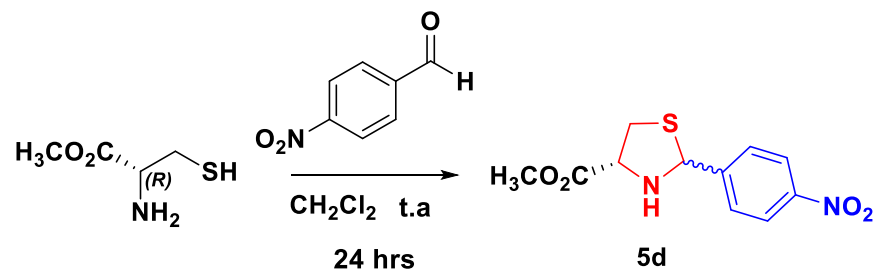
Esquema 9. Estructura de **5c**.

Se utilizó la metodología general con 0.223 g de 2-nitrobenzaldehído. El producto se obtuvo con un rendimiento del 68% r.d = 55:45.

Descripción espectroscópica de (4*R*,2ξ)-2-fenil-4-(3-nitrofenil)thiazolidina (**5c**)

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) (mezcla de diastereoisómeros): δ 8.53 – 7.39 (m, 8H), 5.90 (s, 1H), 5.63 (s, 1H), 4.11 (t, J = 6.7 Hz, 1H), 4.04 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 3.83 (d, 3H), 3.50 (dd, 3H), 3.40 (dd, 2H), 3.21 – 3.14 (m, 2H). **RMN-¹³C** (125 MHz, CDCl₃): δ 171.9, 171.2, 148.3, 148.3, 144.5, 140.7, 133.8, 133.2, 129.7, 129.3, 123.6, 122.7, 121.8, 71.1, 69.1, 65.5, 64.1, 52.7, 52.7, 39.1, 38.1.

(4*R*,2*ξ*)-2-fenil-4-(4-nitrofenil)tiiazolidina, 5d



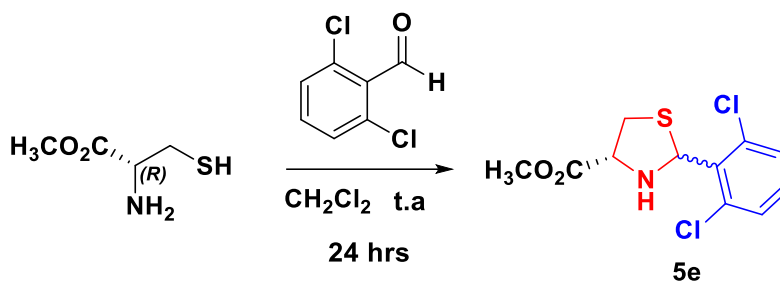
Esquema 10. Estructura 5d

Se utilizó la metodología general con 0.223 g de 4-nitrobenzaldehído. El producto se obtuvo con un rendimiento del 70% con *r.d* = 55:45.

Descripción espectroscópica (4*R*,2*ξ*)-2-fenil-4-(3-nitrofenil)tiiazolidina (5d)

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) (mezcla de diastereoisómeros): δ 8.21 (dd, J = 27.3, 8.7 Hz, 4H), 7.68 (dd, J = 30.4, 8.7 Hz, 4H), 5.90 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 4.09 (t, J = 6.7 Hz, 1H), 4.04 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 3.83 (d, J = 2.3 Hz, 6H), 3.50 (dd, J = 10.4, 7.1 Hz, 2H), 3.39 (dd, J = 10.6, 6.8 Hz, 2H), 3.16 (dd, J = 10.5, 7.7 Hz, 2H). **RMN-¹³C** (125 MHz, CDCl₃): δ 171.8, 171.3, 149.5, 148.0, 147.3, 145.6, 128.5, 127.6, 123.9, 123.6, 71.1, 69.1, 65.5, 64.2, 52.7, 39.1, 38.1.

(4*R*,2*ξ*)-2-fenil-4-(2,6-diclorofenil)tiiazolidina, 5e.



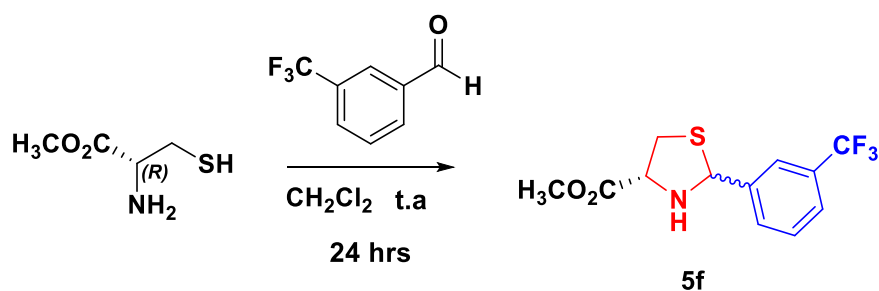
Esquema 11. Estructura de **5e**.

Se utilizó la metodología general con 0.223 g de 4-nitrobenzaldehído. El producto se obtuvo con un rendimiento del 65% r.d = 77:23.

Descripción espectroscópica de (4*R*,2*ξ*)-2-fenil-4-(2,6-diclorofenil)tiiazolidina (**5e**).

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) (mezcla de diastereoisómeros): δ 7.44 – 7.18 (m, 6H), 6.60 (s, 1H), 6.46 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 3.96 (s, 1H), 3.85 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.52 (dd, *J* = 10.0, 6.0 Hz, 6H), 3.48 – 3.41 (m, 2H), 3.12 (t, *J* = 10.1 Hz, 2H). **RMN-¹³C** (125 MHz, CDCl₃): δ 171.7, 171.0, 135.6, 135.6, 132.6, 131.7, 129.9, 129.7, 129.7, 129.7, 66.9, 66.6, 66.2, 65.9, 52.6, 39.3, 38.30

(4*R*,2*ξ*)-2-fenil-4-(3-(trifluorometil)fenil)tiiazolidina, 5f.



Esquema 12. Estructura de **5f**.

Se utilizó la metodología general con 0.223 g de 4-nitrobenzaldehído. El producto se obtuvo con un rendimiento del 72% con r.d = 55:45.

Descripción espectroscópica del (4*R*,2*ξ*)-2-fenil-4-(3-(trifluorometil)fenil)tiiazolidina (**5f**).

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) (mezcla de diastereoisómeros): 7.84 – 7.38 (m, 8H), 5.87 (s, 1H), 5.60 (s, 1H), 4.08 (d, *J* = 58.5 Hz, 1H), 3.82 (s, 6H), 3.45 (dt, *J* = 47.1, 8.4 Hz, 2H), 3.20 – 3.09 (m, 2H).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 172.0, 171.3, 142.9, 139.3, 131.0, 130.4, 129.2, 128.8, 125.5, 125.1, 125.0, 124.6, 124.5, 123.7, 122.9, 122.8, 71.7, 69.7, 65.5, 64.1, 52.6, 52.6, 39.1, 38.0.

4.3 Metodología de la evaluación biológica

▪ Cultivo celular

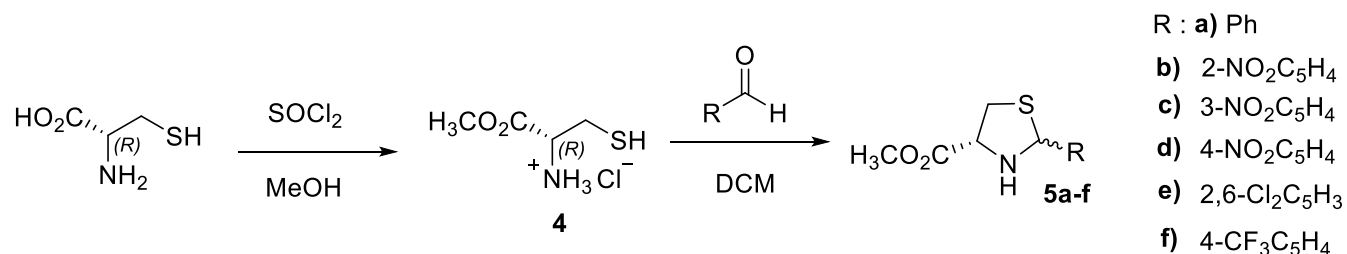
La línea celular TN de cáncer de mama humano MDA-MB-231 se obtuvo de ATCCR HTB-26 y se cultivó de forma rutinaria en medio Leibovitz en rojo fenol suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS) en la presencia de penicilina 100 U/ml y estreptomycinina 100 µg/ml. Las células se incubaron a 37°C con 5% de CO₂. Los ensayos basados en células se realizaron utilizando células en la fase de crecimiento exponencial.

▪ Determinación del efecto citotóxico.

Los ensayos se realizaron sembrando 2x10⁴ células por pozo en placas de cultivo de tejidos de 24 pozos a un volumen de 1000 µL de medio por pozo. Se permitió que las células se adhirieran y crecieran durante 24 horas antes de la exposición al compuesto. Se verificó que la confluencia celular alcanzara un 80% para iniciar la exposición. Posteriormente, se retiró el medio y se agregó nuevo medio suplementado con el compuesto de estudio a una concentración de 100 µg/ml. Se dejó en exposición durante 24 h y se procedió al monitoreo del efecto sobre la línea celular; se utilizó como blanco medio sin compuesto, como control negativo medio con DMSO y cisplatino como control positivo.

5. Discusión de Resultados

5.1 Posible potencial biológico vs estructural mediante análisis de STP y PASS Online.



Esquema 13. Modificaciones estructurales del anillo de tiazolidina para su estudio in silico.

Para observar el potencial biológico de las moléculas de diseño original (Esquema 13) y los anillos tiazolidínicos con modificaciones variadas (Esquema 15) se usaron las plataformas Swiss Target Prediction (STP) y PassOnline, que permitieron por comparación estructural observar el potencial biológico de las moléculas de diseño original. Particularmente, en STP se encontró un total de 490 proteínas con las que al menos una de las estructuras podría presentar interacción, pero el 50% presenta interacción con 26, el 80% presenta interacción con 3 dianas, la Tyrosine-protein kinase (JAK2), Carbonic anhydrase I y la Carbonic anhydrase II (CA II).

Las patologías causadas por mutaciones en el gen de la CA II pueden provocar una actividad enzimática anormal, lo que puede conducir a una serie de trastornos hematológicos que incluyen la Policitemia vera, Trombocitemia esencial y Mielofibrosis primaria. Por su parte, existe una alteración en la CA I que puede provocar distintas enfermedades renales y hematológicas.

Se destaca la Tyrosine-protein kinase JAK2 que aparece con una alta frecuencia, esta desempeña un papel crucial en la transducción de señales de diversas citoquinas y factores de crecimiento, lo que afecta a la hematopoyesis, la inmunidad y la regulación del crecimiento celular. En el cáncer, la Tyrosine-protein kinase JAK2 puede estar mutada o sobreexpresada. Estas mutaciones o sobreexpresiones pueden provocar una activación incontrolada de la señalización JAK2/STAT. Esta activación puede conducir a una serie de cambios celulares que promueven la progresión del cáncer.

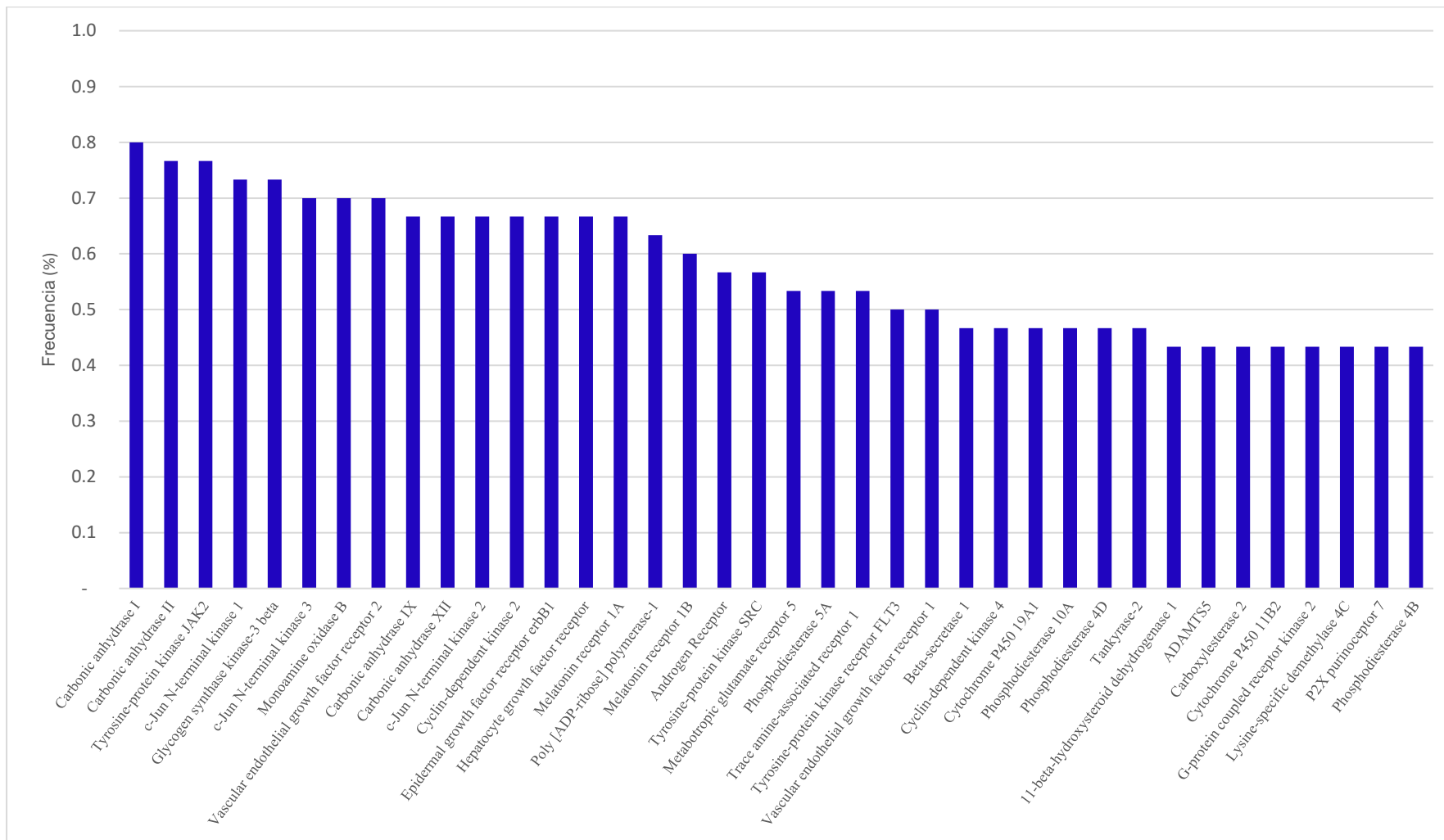


Figura 3. Diagrama de frecuencia porcentual de las estructuras diseñadas

5.2 Potencial por docking molecular.

Al observar el potencial latente en varias líneas de investigación se decidió trabajar sólo con los blancos moleculares asociados al cáncer (no hormona dependiente) JAK1, JAK2 y JAK3 para comparar las energías de acoplamiento de las tiazolidinas propuestas con valores de medicamentos comerciales contra el cáncer. El análisis *in silico* se llevó a cabo tomando en cuenta las mezclas diastereoméricas debido a que éstas no se lograron separar mediante columna cromatográfica.

5.3 Potencial anticancerígeno

Compuesto	Energía de acoplamiento (<i>kcal/mol</i>)		
	JAK1	JAK2	JAK3
(4 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-fenil-4-(3-(trifluorometil)fenil)tiazolidina	-6.274	-5.817	-5.903
(4 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-fenil-4-(3-(trifluorometil)fenil)tiazolidina	-4.721	-4.907	-4.545
(4 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-fenil-4-(2-nitrofenil)tiazolidina	-5.697	-4.989	-6.85
(4 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-fenil-4-(2-nitrofenil)tiazolidina	-5.605	-5.297	-6.334
(4 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-fenil-4-(3-nitrofenil)tiazolidina	-5.073	-4.986	-5.789
(4 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-fenil-4-(3-nitrofenil)tiazolidina	-5.445	-5.575	-5.968
(4 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-fenil-4-(4-nitrofenil)tiazolidina	-4.884	-5.012	-6.80
(4 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-fenil-4-(4-nitrofenil)tiazolidina	-5.078	-4.392	-5.656
(4 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-fenil-4-(metoxicarbonil)tiazolidina	-5.065	-4.897	-6.374
(4 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-fenil-4-(metoxicarbonil)tiazolidina	-5.346	-5.303	-5.342
(4 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-fenil-4-(2,6-diclorofenil)tiazolidina	-5.053	-4.752	-5.742
(4 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-fenil-4-(2,6-diclorofenil)tiazolidina	-4.585	-5.258	-5.878

Tabla 2. Energías de acoplamiento para cada diasteroisómero con ligandos propuestos.

En la síntesis planteada originalmente (Esquema 12) el producto tiazolidínico es una mezcla de diasteroisómeros con distintas proporciones, por lo que se obtuvieron las energías de acoplamiento para cada diasteroisómero (Tabla 1) para posteriormente comprobar si a condiciones fisiológicas existe una diferencia significativa entre los valores de energía para cada isómero (Tabla 2).

$$\Delta G = -RT \ln K$$

$$\Delta G_S - \Delta G_R = -RT \ln K$$

$$\Delta G_S - \Delta G_R = -RT \ln K_S + RT \ln K_R$$

$$\Delta G_S - \Delta G_R = -RT (\ln K_S - \ln K_R)$$

$$-\frac{\Delta G_S - \Delta G_R}{RT} = \ln \frac{K_S}{K_R}$$

$$\frac{K_S}{K_R} = e^{-\frac{\Delta G_S - \Delta G_R}{RT}}$$

$$K_S = e^{-\frac{\Delta G_S - \Delta G_R}{RT}} K_R$$

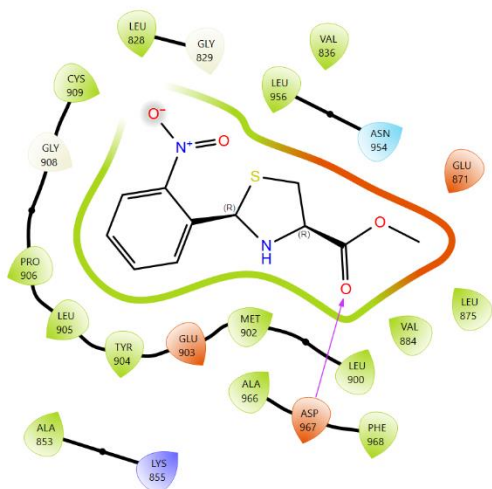
Compuesto	Proporción de K_S/K_R del diasteroisómero S con R		
	JAK1	JAK2	JAK3
(4R,2R)-2-fenil-4-(3-(trifluorometil)fenil)tiazolidina	0.081	0.229	0.111
(4R,2S)-2-fenil-4-(3-(trifluorometil)fenil)tiazolidina			
(4R,2R)-2-fenil-4-(2-nitrofenil)tiazolidina	0.862	1.647	0.433
(4R,2S)-2-fenil-4-(2-nitrofenil)tiazolidina			
(4R,2R)-2-fenil-4-(3-nitrofenil)tiazolidina	1.827	2.597	1.336
(4R,2S)-2-fenil-4-(3-nitrofenil)tiazolidina			
(4R,2R)-2-fenil-4-(4-nitrofenil)tiazolidina	1.369	0.366	0.156
(4R,2S)-2-fenil-4-(4-nitrofenil)tiazolidina			
(4R,2R)-2-fenil-4-(metoxicarbonil)tiazolidina	1.577	1.930	0.188
(4R,2S)-2-fenil-4-(metoxicarbonil)tiazolidina			
(4R,2R)-2-fenil-4-(2,6-diclorofenil)tiazolidina	0.469	2.270	1.246
(4R,2S)-2-fenil-4-(2,6-diclorofenil)tiazolidina			

Tabla 3. Proporción de K del diasteroisómero S con R $\left(K_S = e^{-\frac{\Delta G_S - \Delta G_R}{RT}} \cdot K_R\right)$.

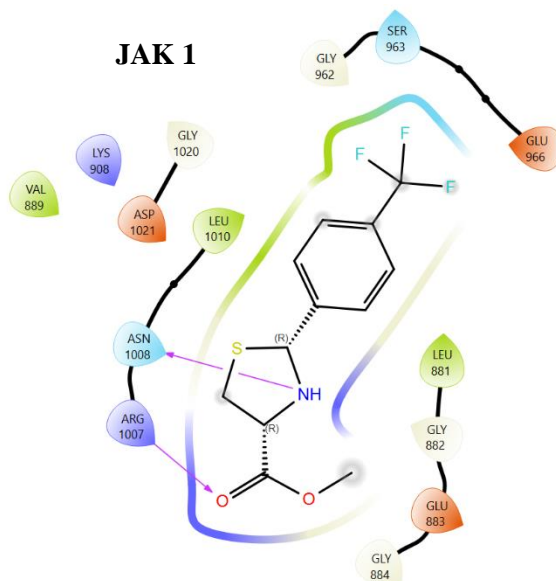
Al analizar particularmente estos datos, para el caso de JAK3 se puede observar que no existe una proporción lo suficientemente alta para que sea significativo si se usa un diasteroisómero con una configuración específica en la mayoría de los compuestos analizados. De este modo se debe tener en cuenta que no se puede comparar la mezcla de compuestos que presentaron las mayores EA, es decir, las tiazolidinas con grupos 3,5-Cl₂C₅H₃ pero sí el par que presenta el segundo mejor valor. Aquellas que tienen el grupo 2-NO₂C₅H₄. Para JAK2, 4 de los 3 pares de diasteroisómeros analizados presentan un valor alto de proporción de K de S con R, sin embargo, dentro de los pares que no exhiben una diferencia significativa está el compuesto con la sustitución 4-CF₃C₅H₄ que tuvo una mayor EA para esta diana.

Del mismo modo para JAK1, los compuestos tiazolidínicos que presentan una sustitución 4-CF₃C₅H₄ con mayor EA observada no difieren significativamente en proporción de K_S con K_R.

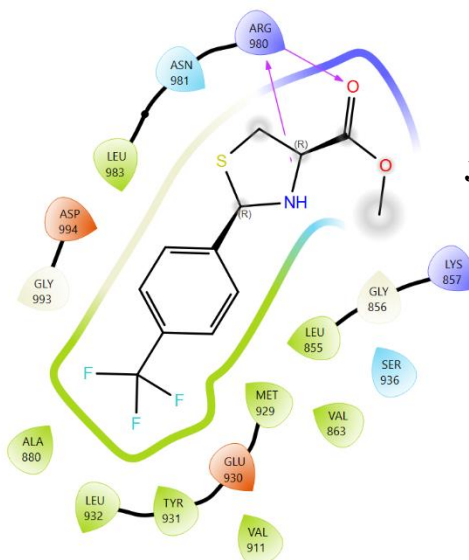
JAK 2



JAK 1



JAK 3



- Charged (negative)
- Charged (positive)
- Glycine
- Hydrophobic
- Metal
- Polar
- Unspecified residue
- Water
- Hydration site
- ✗ Hydration site (displaced)
- Distance
- H-bond
- Halogen bond
- Metal coordination
- Pi-Pi stacking
- Pi-cation
- Salt bridge
- Solvent exposure

Figura 4. Diagramas de interacción 2D comparativo de las tiazolidinas con mayor EA con JAK1, JAK2 y JAK3

Estas EA asociadas a las proteínas se pueden explicar en función del acoplamiento con los grupos funcionales, para el caso de JAK3, el grupo nitro presente en el compuesto incrementa el área de contacto con la parte hidrofóbica, mientras el grupo carbonilo genera un puente de hidrógeno en esta región. Para JAK1 y JAK2 se observa un efecto similar como se observa en la Figura 3, se

genera un puente de hidrógeno con un nitrógeno presente en el anillo tiazolidínico y un carbonilo en ambos casos, sin embargo, existe una interacción con el grupo trifluorometilo y la región hidrofóbica en JAK2 mientras que para JAK1 se observan interacciones con regiones hidrofílicas.

Compuesto	Energías de acoplamiento (<i>kcal/mol</i>)		
	JAK1	JAK2	JAK3
(4 <i>R</i>)-2-(3-(trifluorometil)fenil)tiazolidina-4-carboxilato de metilo	-6.274	-5.817	-5.903
(4 <i>R</i>)-2-(2-nitrofenil)tiazolidina-4-carboxilato de metilo	-5.697	-4.989	-6.85

Tabla 3. Moléculas con mayores energías de acoplamiento JAK1, JAK2 y JAK3

Inhibidor	Energías de acoplamiento (<i>kcal/mol</i>)		
	JAK1	JAK2	JAK3
Ruxolitinib	-7.773	-6.153	-7.756
Baricitinib	-7.344	-7.491	-8.966
Upadacitinib	-9.188	-8.065	-8.827
Tofacitinib	-8.521	-6.075	-7.785
Fedretanib	-3.988	-5.344	-8.114

Tabla 4.- Energías de acoplamiento para fármacos inhibidores de las JAK1, JAK2 y JAK3

Al estudiar individualmente las moléculas que presentan las mayores EA (Tabla 3) podemos destacar que presenta mayor energía el inhibidor de referencia Fedretanib para JAK1 y JAK2 (Tabla 4), sin embargo, las otras estructuras con menores energías de acoplamiento también presentan mejor energía respecto al fármaco de referencia Fedretanib (Figura 4).

Para poder seleccionar los compuestos para su evaluación biológica es necesario considerar la selectividad de interacción con las proteínas de interés, en este caso, todos los compuestos cumplen con el requisito de tener una selectividad mayor respecto al inhibidor de referencia para JAK1 y JAK2.

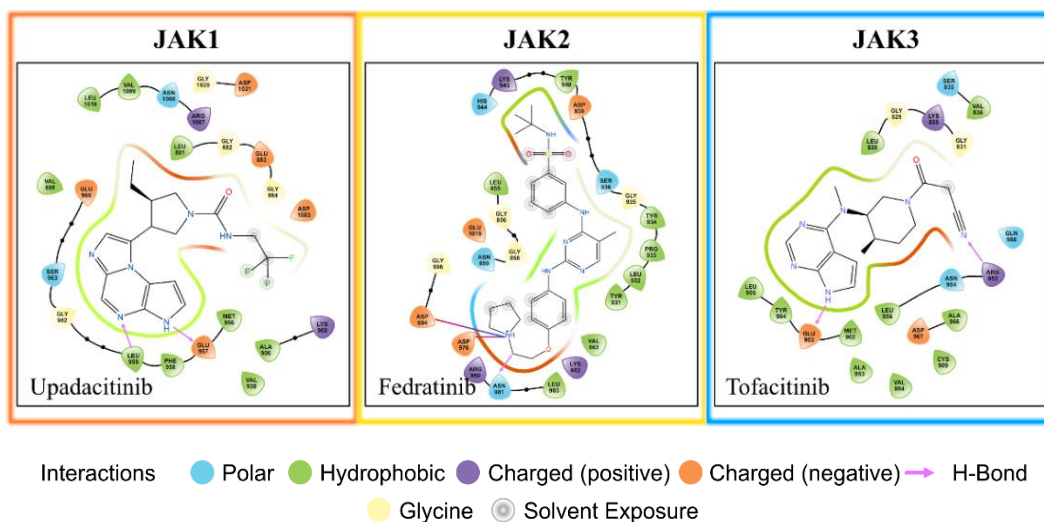
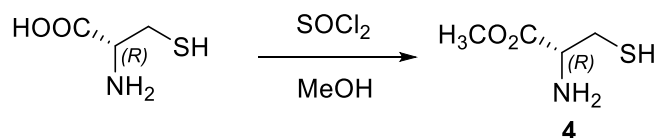


Figura 5. Diagramas de interacción 2D comparativo para algunos de los medicamentos de referencia con mayor EA con JAK1, JAK2 y JAK3.

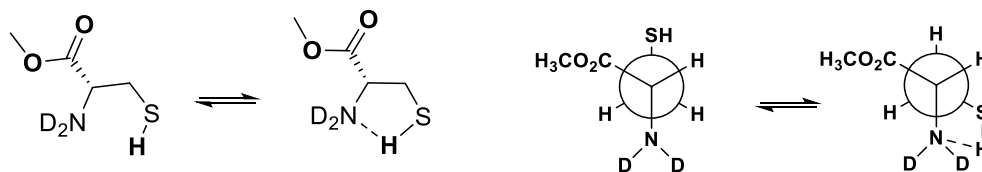
5.4 Síntesis de tiazolidinas 5(a-f).

5.4.1 Obtención del cisteinato de metilo

El aminoéster **4** fue obtenido siguiendo el procedimiento general descrito en la sección 4.2.2 con un rendimiento del 89%.



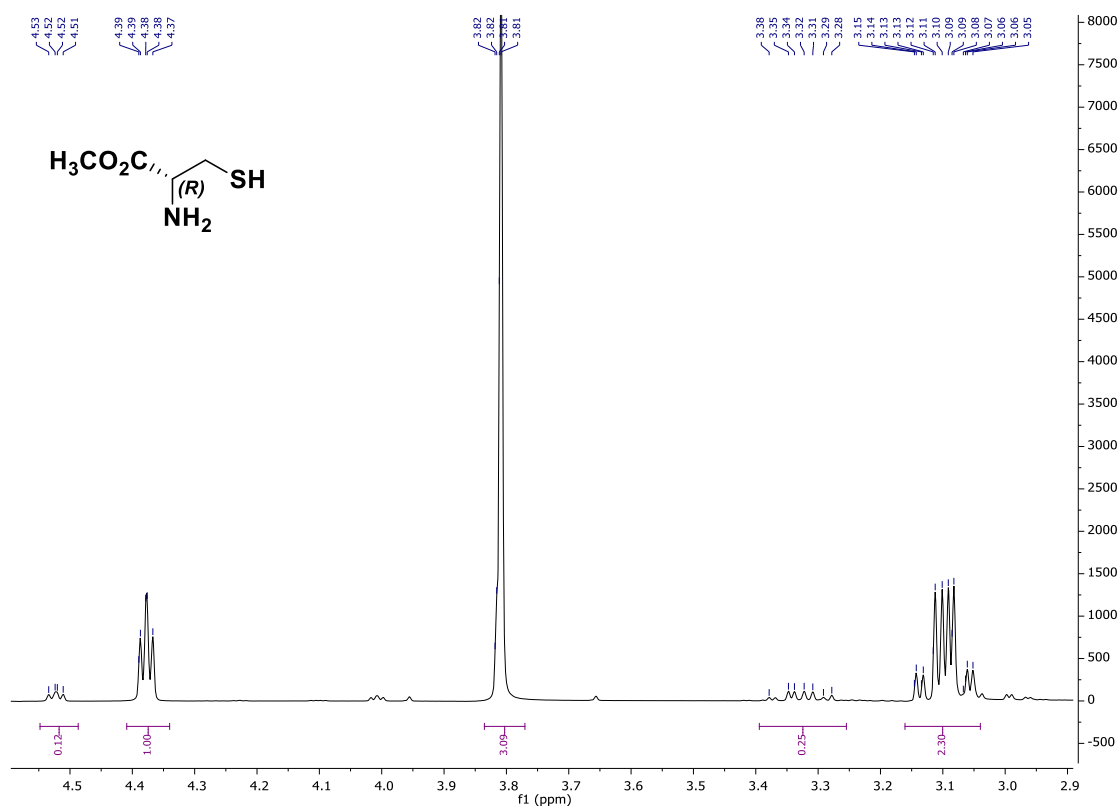
En el espectro de RMN-¹H podemos destacar que, todas las señales para el compuesto **4** se encuentran duplicadas. La presencia de dos formas conformacionales energéticamente estables en la solución explica este comportamiento. En una de estas formas, se observa un puente de hidrógeno entre el grupo amino y el protón del grupo sulfhidrilo. (Esquema 14).



Esquema 14. Conformaciones que muestran el acoplamiento dipolar entre el grupo amino y el protón del grupo sulfhidrilo.

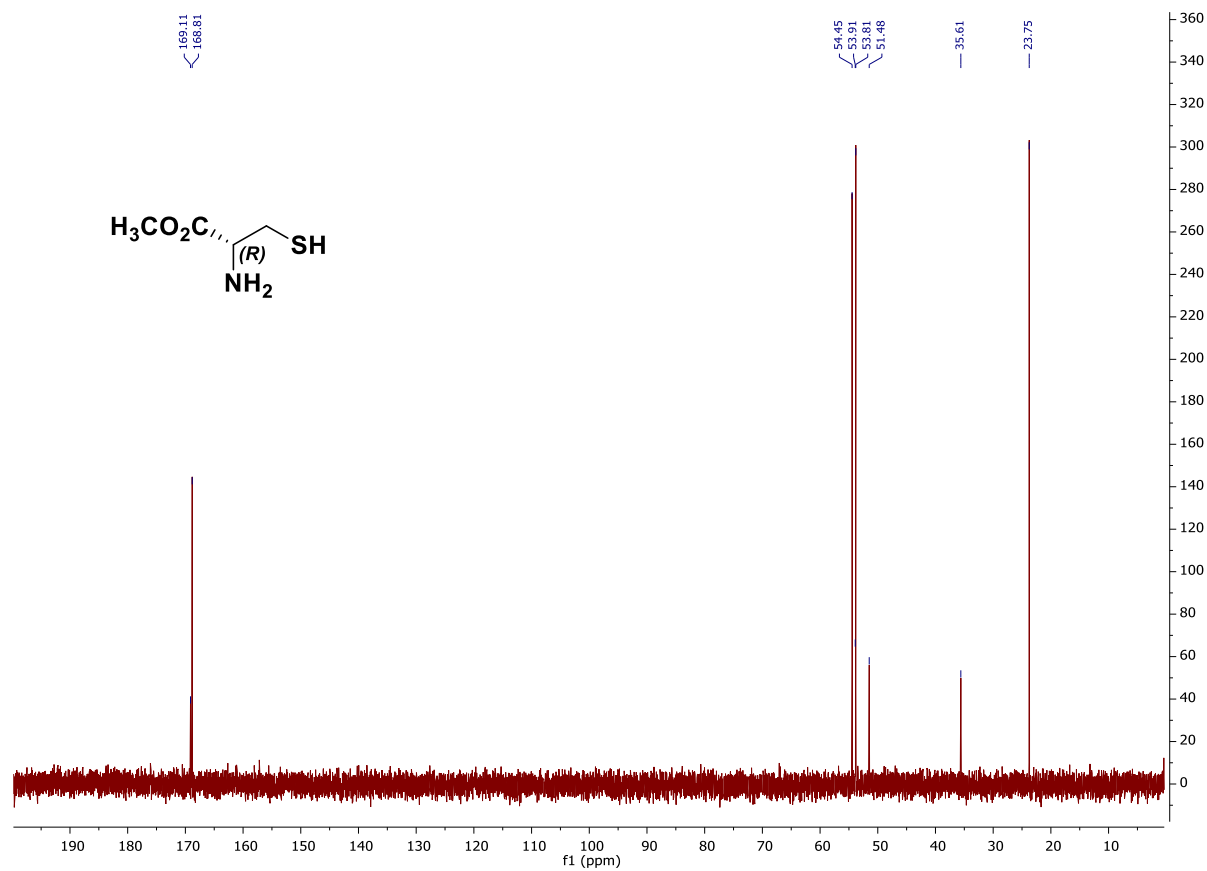
Por ello, en 4.53 ppm y 4.38 ppm se observa una señal doble de dobles y una señal que colapsa para formar una triple, ambas pertenecen a un protón del C-H unido directamente con la amina y que se acopla con los protones del C-H unido directamente con el azufre.

Se pueden distinguir dos señales dobles de dobles en 3.99 ppm y 3.80 ppm asignadas al metilo del éster. En 3.33 ppm se observa una señal multiplete y en 3.10 ppm un doble de dobles asignadas a los dos protones del metileno que está unido directamente con azufre (Espectro 1).



Espectro 1. RMN¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **4**.

Al igual que en espectro de RMN-¹H, en el espectro de RMN-¹³C, todas las señales están duplicadas, lo que confirma la presencia de un equilibrio dinámico de conformeros en solución para el compuesto **4** (Esquema 14). Se pueden distinguir dos señales en 169.1 y 168.8 ppm asignadas al carbono de carbonilo del éster, en 54.4 y 53.9 ppm se observan las señales asignadas al carbono unido al grupo amino y en 53.8 y 51.4 ppm el carbono del metilo del éster. Finalmente, dos señales en 35.6 y 23.7 ppm asignadas el carbono que está unido al azufre (Espectro 2).

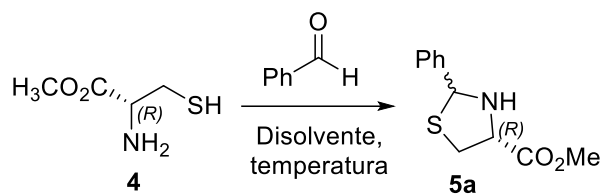


Espectro 2. RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) del compuesto 4

5.4.2 Obtención de tiazolidinas

Con el fin de obtener una serie de tiazolidinas derivadas del cisteinato de metilo, primero se realizaron pruebas piloto de reacción empleando 2 equivalentes benzaldehído. En la siguiente tabla, se resumen los resultados obtenidos (Tabla 5).

Tabla 5. Condiciones de reacción para la síntesis de tiazolidinas

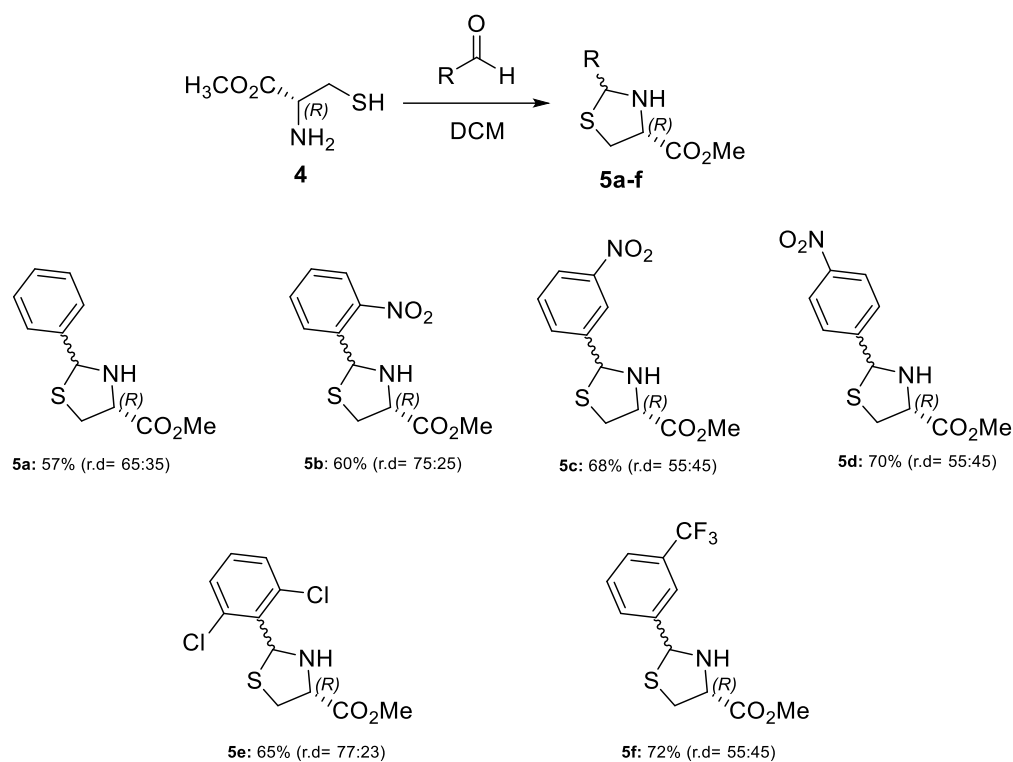


Exp.	Disolvente	T (°C)	t (h)	Rendimiento (%)
1	DCM	0 → t.a	24	15
2	DCM	0 → t.a	24 ^a	57
3	EtOH	t.a	24	45

^a En el experimento 2, la reacción se mantuvo en agitación por espacio de 21 horas y luego se sometió a un baño ultrasónico por espacio de 3 horas.

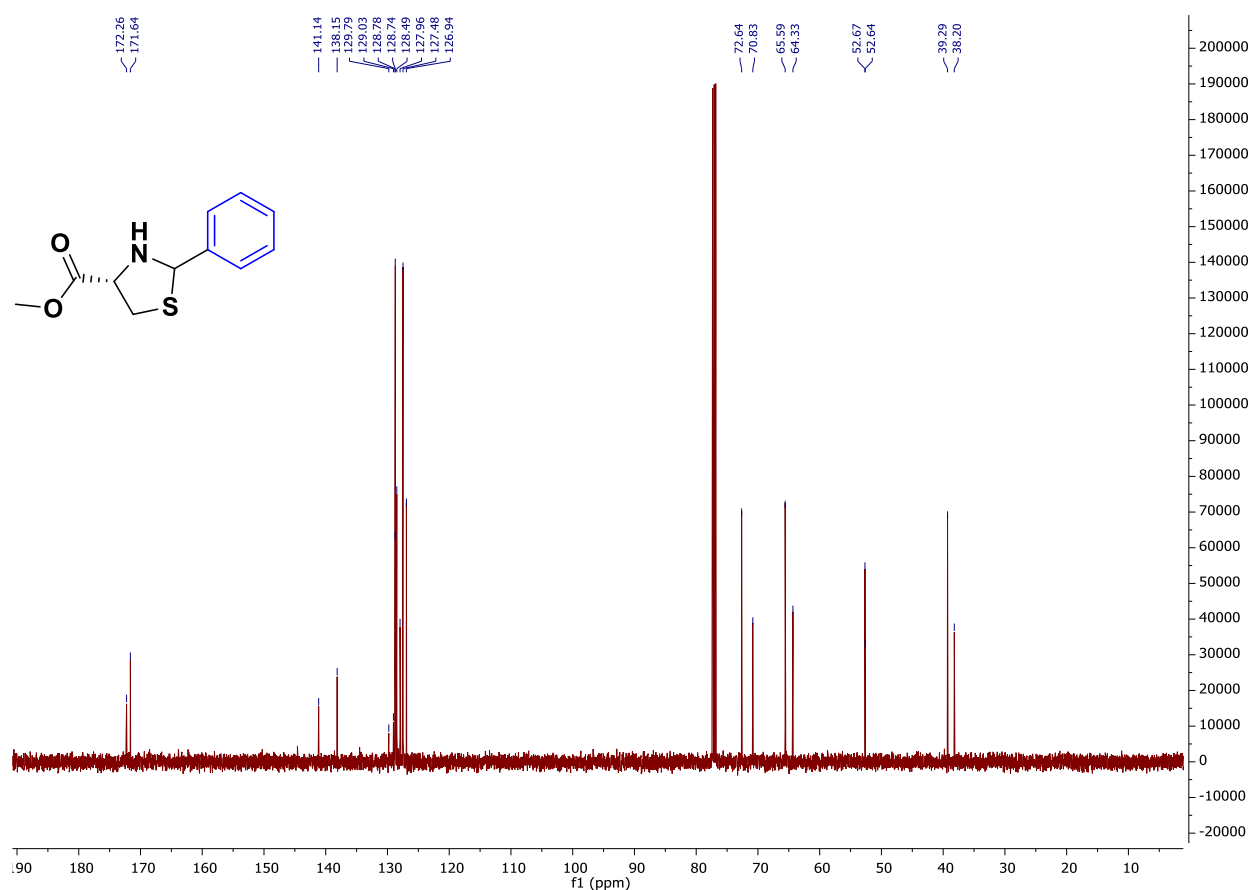
Como podemos ver en la tabla 5, el mejor rendimiento se obtuvo cuando la reacción se colocó en un baño ultrasónico, bajo estas condiciones, el cisteinato de metilo se disolvió completamente en DCM. En consecuencia, se optó por seguir esta metodología de forma general para obtener las tiazolidinas con diferentes sustituyentes aromáticos (Esquema 15).

Esquema 15. Tiazolidinas obtenidas a partir de la condensación de diferentes aldehídos aromáticos y el cisteinato de metilo, **4**. Las r.d fueron determinadas del crudo de reacción por análisis de RMN-¹H. Los rendimientos se refieren a los productos aislados como mezcla de diastereoisómeros después de cromatografía en columna.



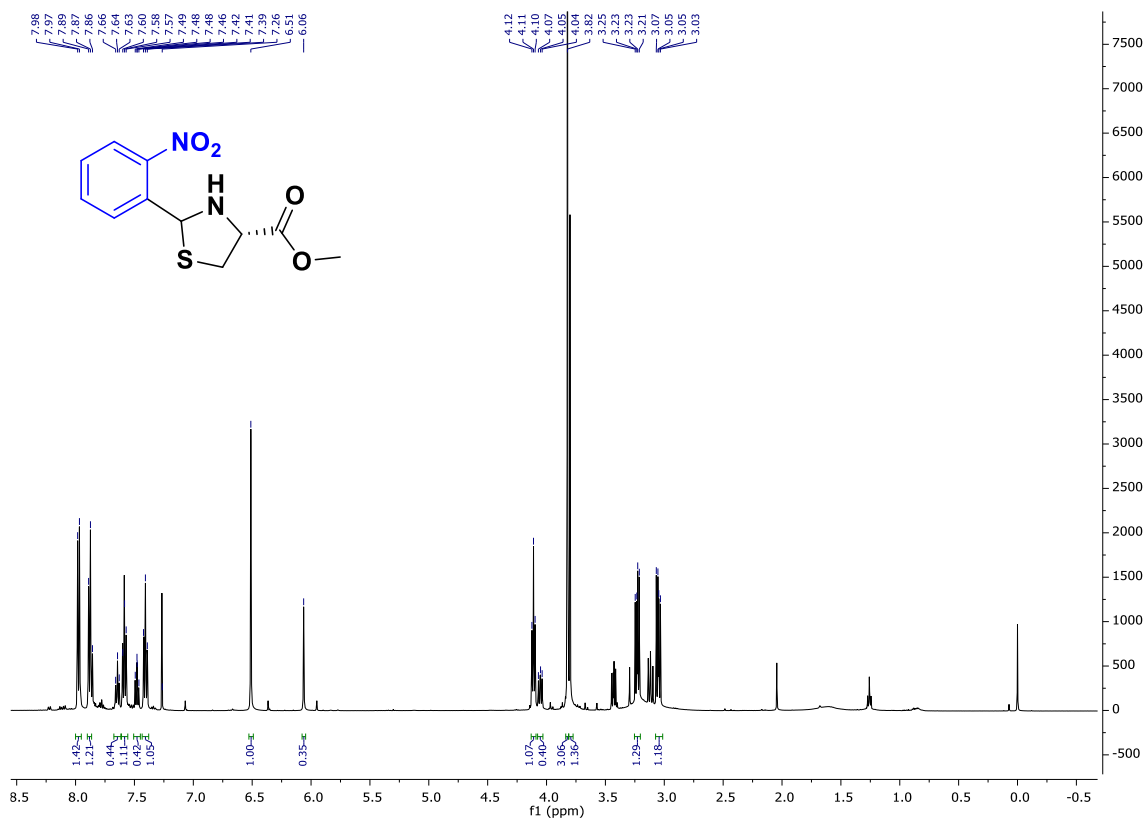
Es importante mencionar que, durante el proceso de formación de las tiazolidinas se genera un nuevo centro estereogénico, por lo que en todos los casos obtuvimos mezclas diastereoméricas. No obstante, todos los intentos por separar estas mezclas resultaron infructuosos. Suponemos que, debido a que este tipo de tiazolidinas presentan un equilibrio continuo, en solución, entre la forma iminio y forma tiazolidínica (Esquema 16), siempre se mantendrá esta relación diastereomérica aunque se separen por diversos métodos.

En el espectro de RMN-¹³C, las señales, siempre dobles, que confirman la obtención del compuesto **5a** como una mezcla de diastereoisómeros se describen a continuación. Se identifican las señales correspondientes al carbono de carbonilo de éster para cada diastereoisómero en 172.26 ppm y 171.64 ppm. Además, se observan diez señales asignadas a los carbonos bencílicos para cada diastereoisómero entre 141.1-126.9 ppm. Además, dos señales en 72.64 y 70.83 ppm, así como a 65.59 y 64.33 ppm, asignadas a los carbonos directamente unidos al nitrógeno del anillo tiazolidínico para cada diastereoisómero. Se identifican dos señales a 38.29 y 38.20 ppm asignadas a los metilenos unidos directamente al azufre de cada diastereoisómero. Todas las señales confirman la estructura propuesta (Espectro 4).



Espectro 4. RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) del compuesto **5a**

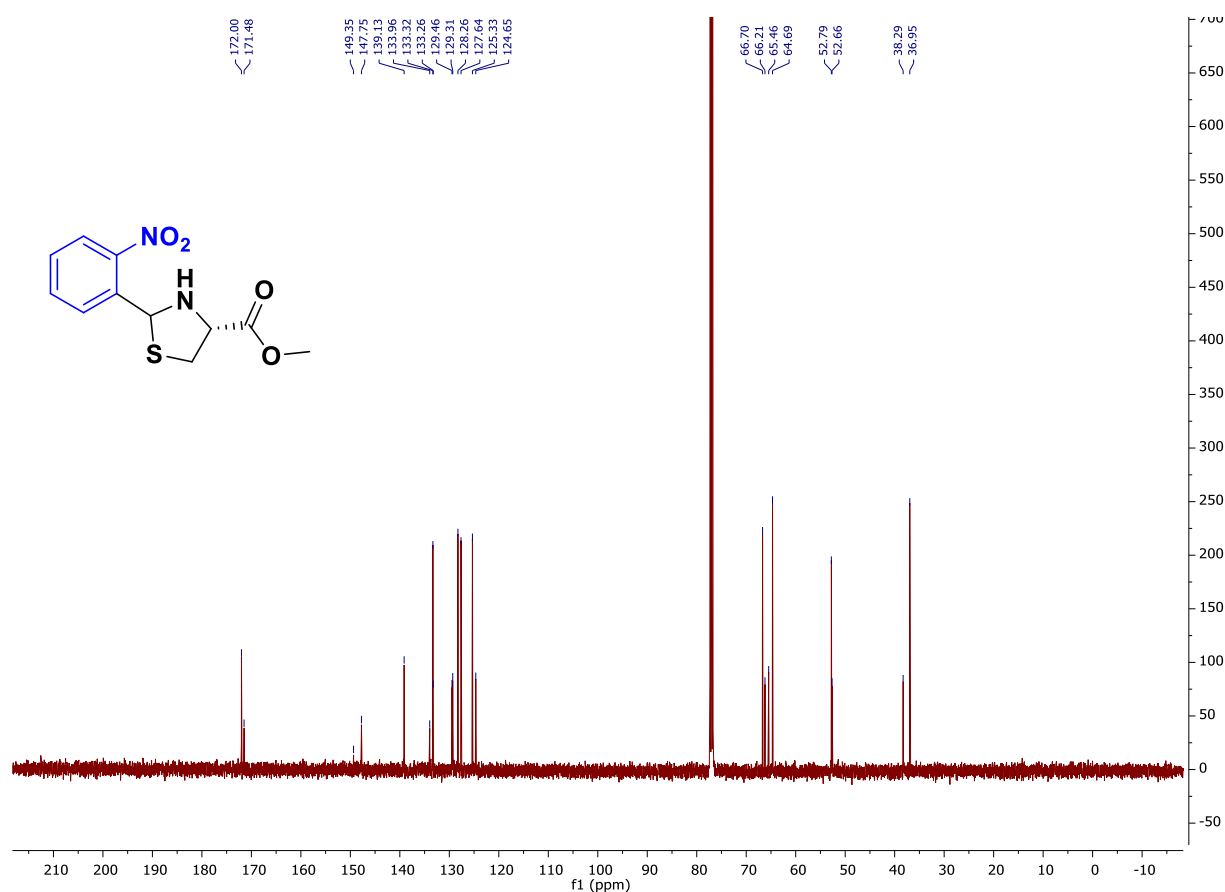
En el espectro RMN-¹H, las señales que confirman la obtención del compuesto **5b** como una mezcla de diastereoisómeros son las siguientes: Se puede observar el conjunto de señales múltiples que van desde 7.98 hasta 7.49 ppm para cada diastereoisómero asignadas a los hidrógenos bencílicos. En 4.11 ppm y 4.05 ppm se observan dos señales triples que integran para 1 hidrógeno asignada al hidrógeno del carbono unido al carbonilo del éster y a la amina, de cada diastereoisómeros. En 6.1 ppm y 6.06 ppm se observan dos señales simples que integran para 1 hidrógeno asignada al hidrógeno bencílico. El resto de las señales coinciden con la estructura propuesta (Espectro 5).



Espectro 5. RMN¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **5b**.

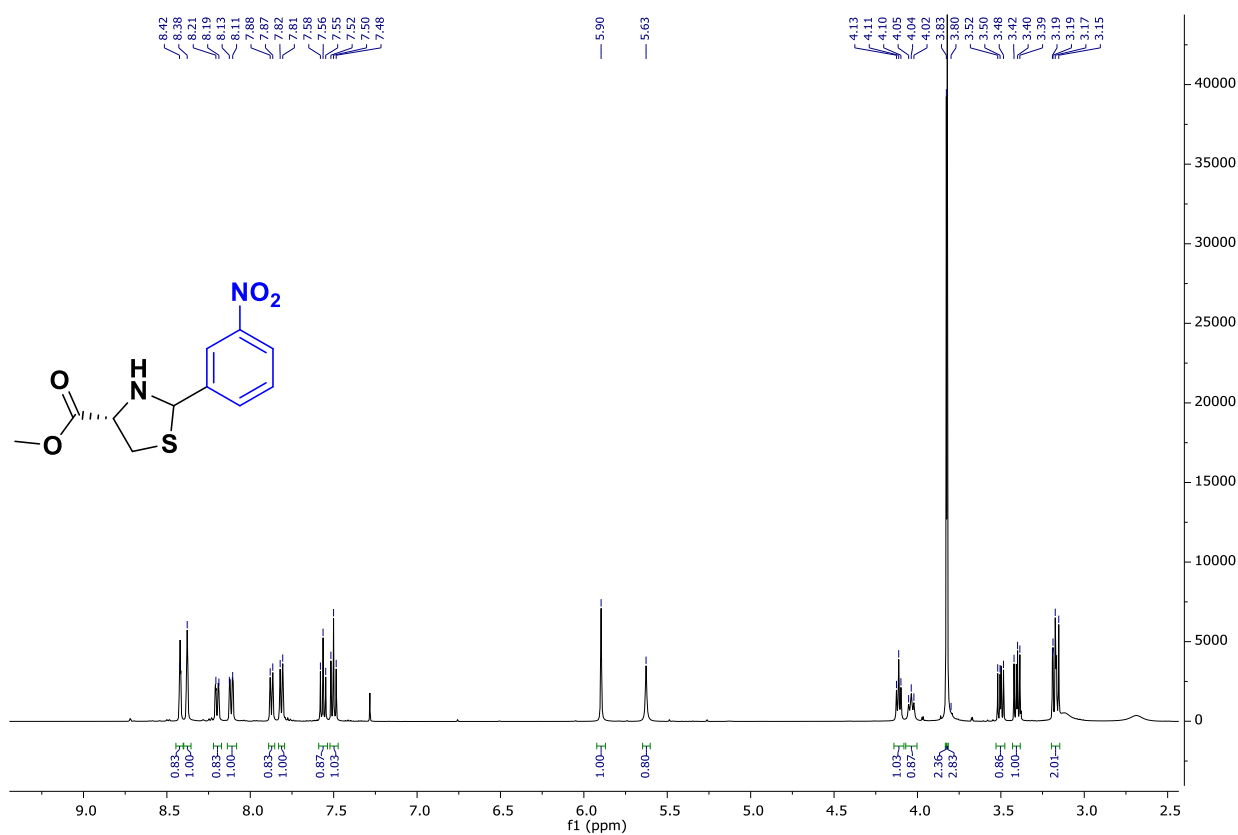
En el espectro de RMN-¹³C, las señales, siempre dobles, que confirman la obtención del compuesto

5b como una mezcla de diastereoisómeros se describen a continuación. Se identifican las señales asignadas al carbono de carbonilo de éster para cada diastereoisómero en 172.0 ppm y 171.4 ppm. Además, se observan 12 señales asignadas a los carbonos aromáticos para cada diastereoisómero entre 149.3-124.6 ppm. Asimismo, se detectan dos señales a 66.70 y 66.21 ppm, así como a 65.46 y 64.69 ppm, asignadas a los carbonos directamente unidos al nitrógeno del anillo tiazolidínico para cada diastereoisómero. Finalmente, se identifican dos señales en 38.29 y 36.95 ppm asignadas a los metilenos unidos directamente al azufre para cada diastereoisómero. Todas las demás señales coinciden con la estructura propuesta (Espectro 6).



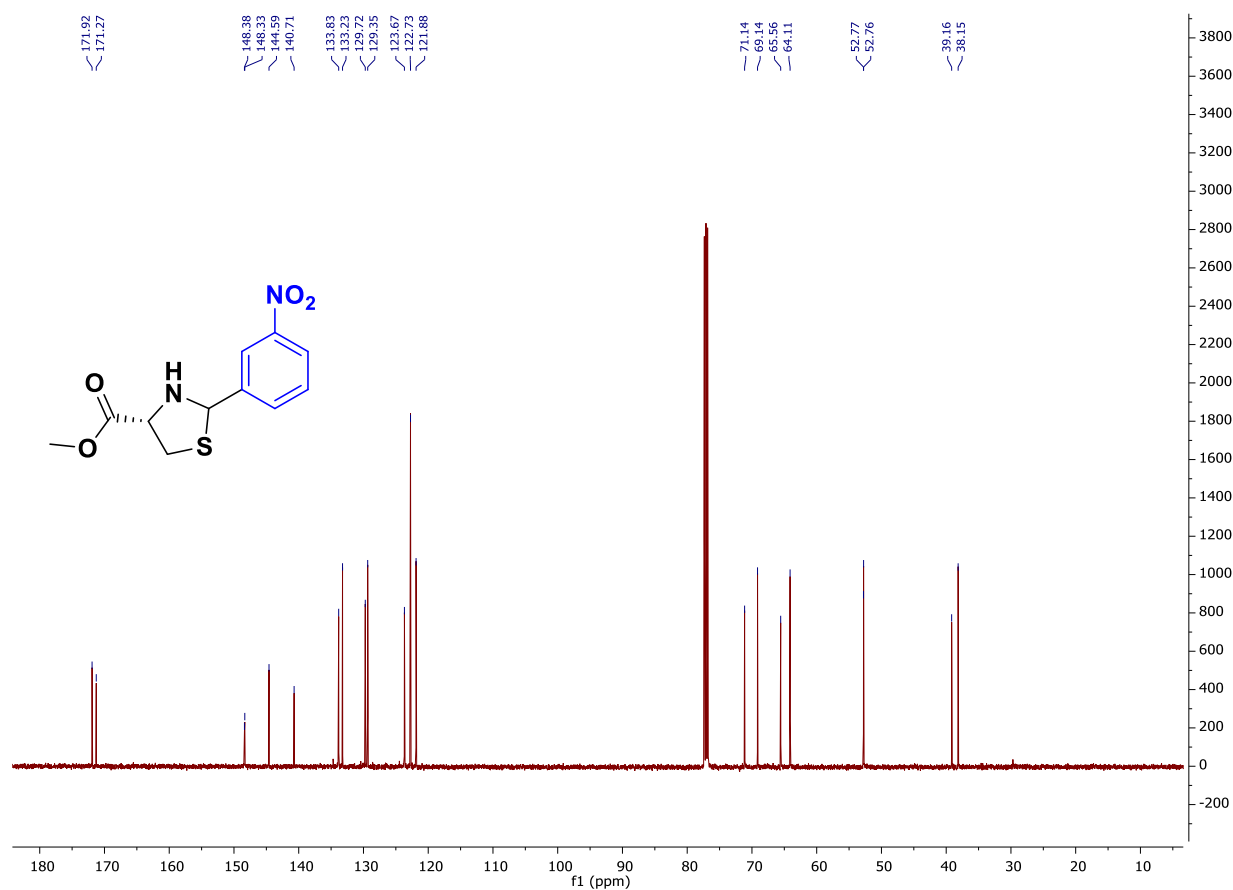
Espectro 6. RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) del compuesto **5b**.

En el espectro de RMN-¹H, las señales que confirman la obtención del compuesto **5c** como mezcla de diastereoisómeros son las siguientes. De 8.24-8.17 ppm el paquete de señales asignadas a los hidrógenos bencilicos. En 3.5 ppm y 3.39 ppm se observan dos señales cuádruples que integran para 1 hidrógeno asignada a los metilenos del CH₂ unido al azufre. En 4.09 ppm y 4.04 ppm se observan dos señales triples que integran para un hidrógeno asignadas al hidrógeno del carbono unido al éster y al nitrógeno. El resto de las señales coinciden con la estructura propuesta (Espectro 7).



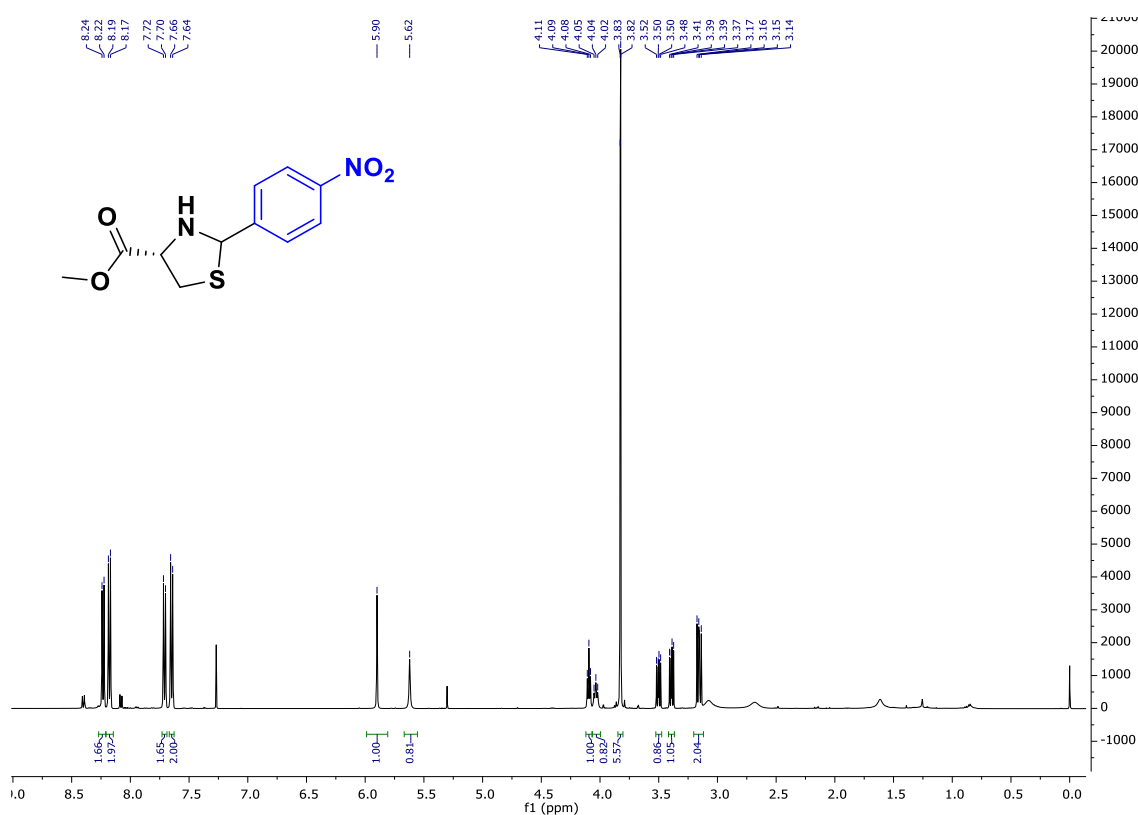
Espectro 7. RMN¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **5c**.

En el espectro de RMN-¹³C, las señales, siempre dobles, que confirman la obtención del compuesto **5c** como una mezcla de diastereoisómeros se describen a continuación. Se identifican las señales asignadas al carbono de carbonilo de éster para cada diastereoisómero en 171.9 ppm y 171.2 ppm. Además, se observan doce señales asignadas a los carbonos bencílicos para cada diastereoisómero entre 148.3-121.8 ppm. Asimismo, se detectan dos señales a 71.1 y 69.1 ppm, así como a 65.5 y 64.1 ppm, asignadas a los carbonos unidos directamente al nitrógeno del anillo tiazolidínico y al carbonilo del éster para cada diastereoisómero. Además, se identifican dos señales en 39.16 y 38.15 ppm asignadas al carbono CH₂ unido directamente al azufre en cada diastereoisómero. Todas las demás señales coinciden con la estructura propuesta (Espectro 8).



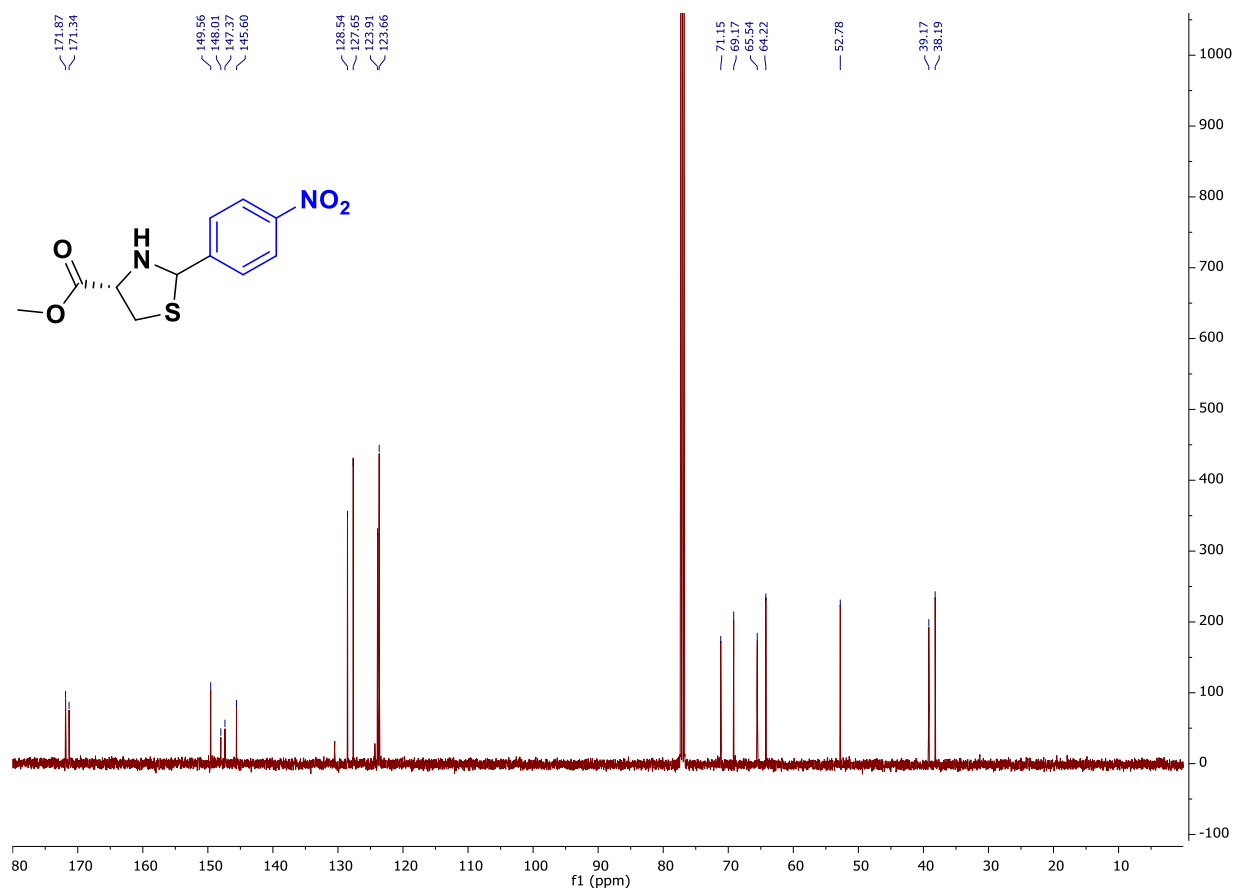
Espectro 8. RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) del compuesto **5c**.

En el espectro RMN-¹H, las señales que confirman la obtención del compuesto **5d** como mezcla de diastereoisómeros son las siguientes. Las señales asignadas a los hidrógenos bencílicos de 8.24 ppm a 8.17 ppm para cada diastereoisómeros. En 3.5 ppm y 3.39 ppm se observan dos señales cuádruples que integran para 1 hidrógeno asignada a los metilenos del CH₂ unido al azufre, para cada diastereoisómeros. En 4.09 ppm y 4.04 ppm se observan dos señales triples que integran para un hidrógeno asignadas al protón del del carbono unido al carboxilato. El resto de las señales coinciden con la estructura propuesta (Espectro 9).



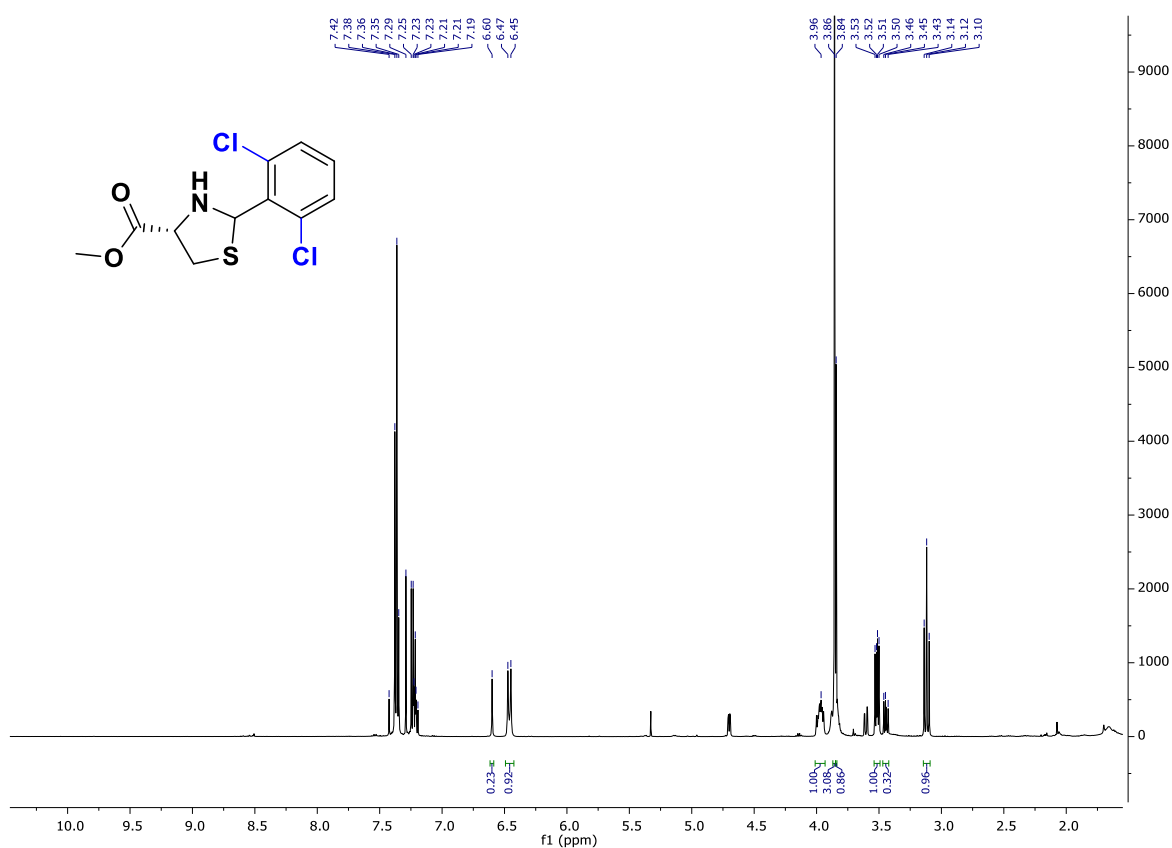
Espectro 9. RMN¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **5d**

En el espectro de RMN-¹³C, las señales, siempre dobles, que confirman la obtención del compuesto **5d** como una mezcla de diastereoisómeros se describen a continuación. Se identifican las señales asignadas al carbono de carbonilo de éster para cada diastereoisómero en 171.34 ppm y 171.87 ppm. Además, se observan ocho señales asignadas a los carbonos aromáticos para cada diastereoisómero de 149.5 ppm a 1236 ppm. Asimismo, se detectan dos señales en 71.15 y 65.54 ppm, así como a 69.17 y 64.22 ppm, asignadas a los carbonos directamente unidos al nitrógeno del anillo tiazolidínico para cada diastereoisómero. Además, se identifican dos señales a 39.17 y 38.19 ppm asignadas a los metilenos unidos directamente al azufre en cada diastereoisómero. Todas las demás señales coinciden con la estructura propuesta (Espectro 9).



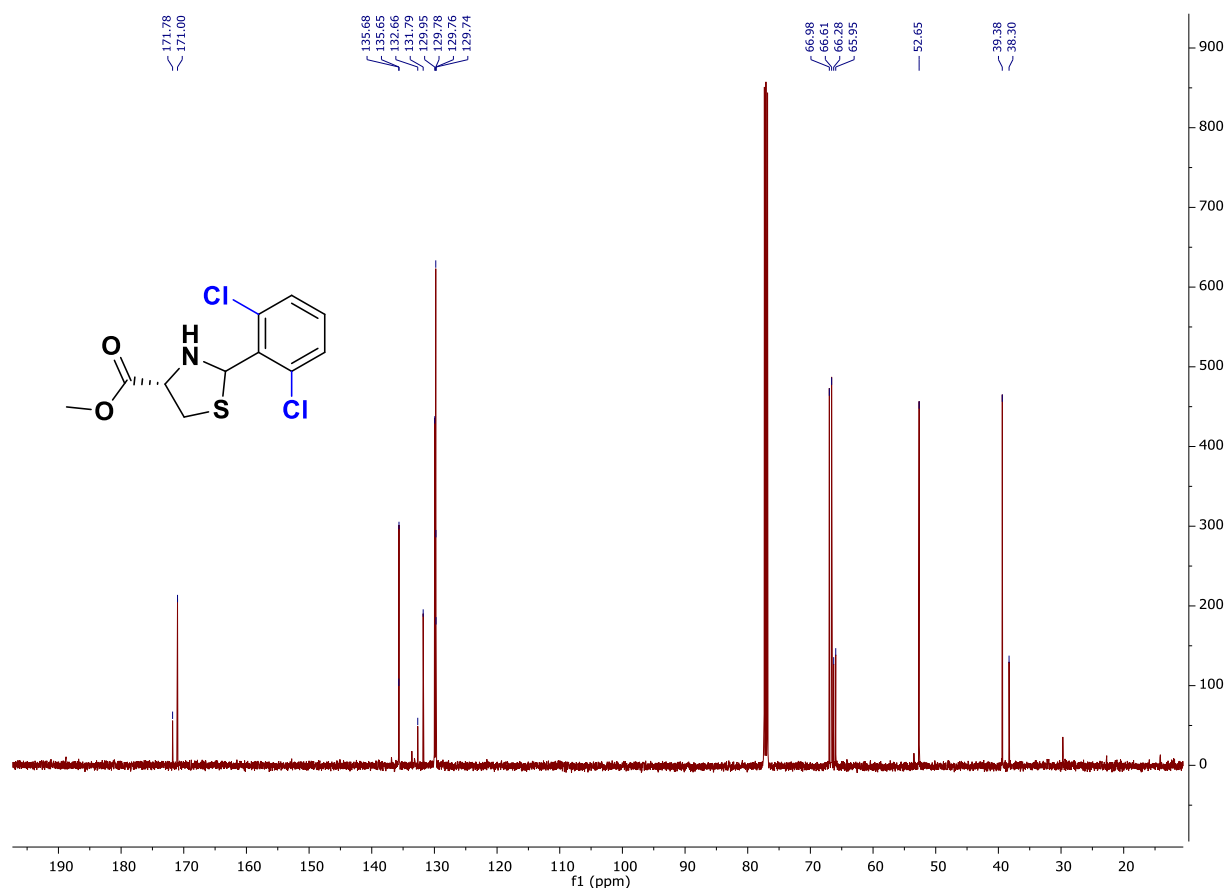
Espectro 9. RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) del compuesto **5d**.

En el espectro RMN-¹H, las señales que confirman la obtención del compuesto **5e** como mezcla de diastereoisómeros son las siguientes. Se puede observar un paquete de señales entre 7.44 ppm y 7.18 ppm asignada a los hidrógenos aromáticos. En 6.60 ppm y 6.46 ppm dos señales que integran cada una para un protón, asignadas al protón del carbono tioaminal. En 3.96 ppm y 3.85 ppm se observa una señal doble y una triple que integran para un hidrógeno asignadas al protón del carbono unido al del carboxilato. En 3.52 ppm y 3.48 ppm se observan dos señales dobles de dobles que integran para 1 hidrógeno asignada a los metilenos del CH₂ unido al azufre, para cada diastereoisómero (Espectro 10).



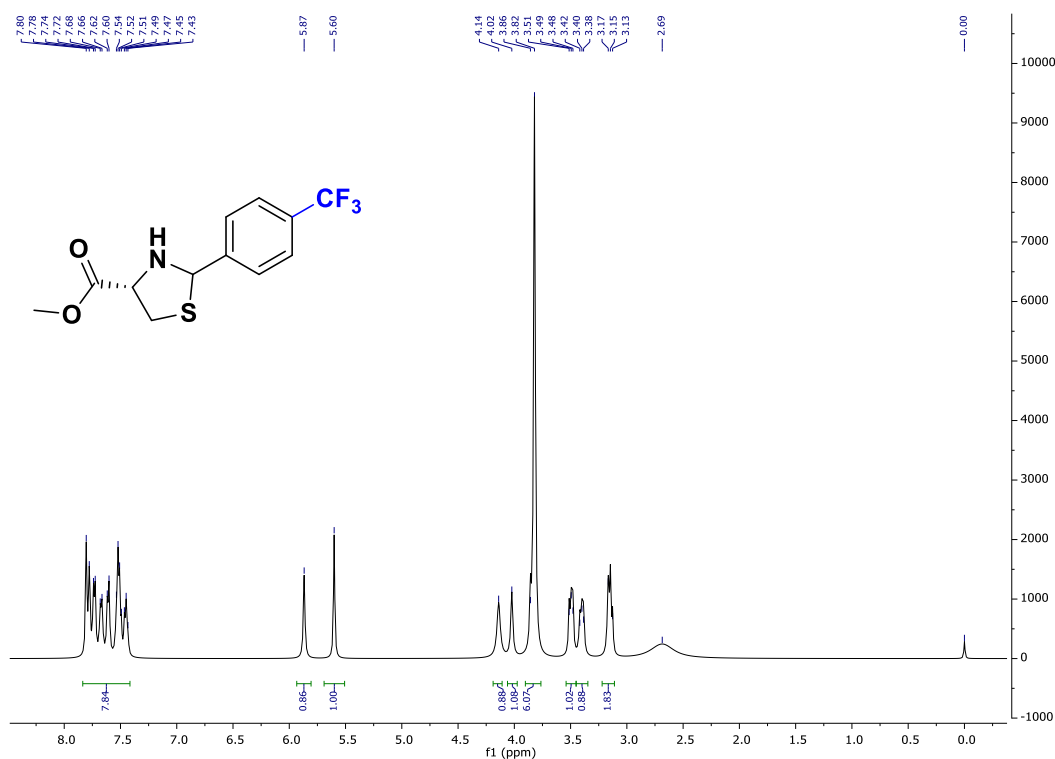
Espectro 10. RMN¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **5e**.

En el espectro de RMN-¹³C, las señales que confirman la obtención del compuesto **5e** como una mezcla de diastereoisómeros se describen a continuación. Se identifican las señales aisladas al carbono de carbonilo de éster para cada diastereoisómero en 171.7 y 171.0 ppm. Además, se observan ocho señales asignadas a los carbonos aromáticos para el par diastereomérico entre 135.6 ppm y 129.7 ppm. Asimismo, se detectan dos señales a 66.9 ppm y 66.6 ppm, así como a 66.2 y 65.9 ppm, asignadas a los carbonos directamente unidos al nitrógeno del anillo tiazolidínico para cada diastereoisómero. Finalmente, se identifican dos señales a 39.38 ppm y 38.30 ppm asignadas a los metilenos unidos directamente al azufre en cada diastereoisómero. Todas las demás señales coinciden con la estructura propuesta (Espectro 11).



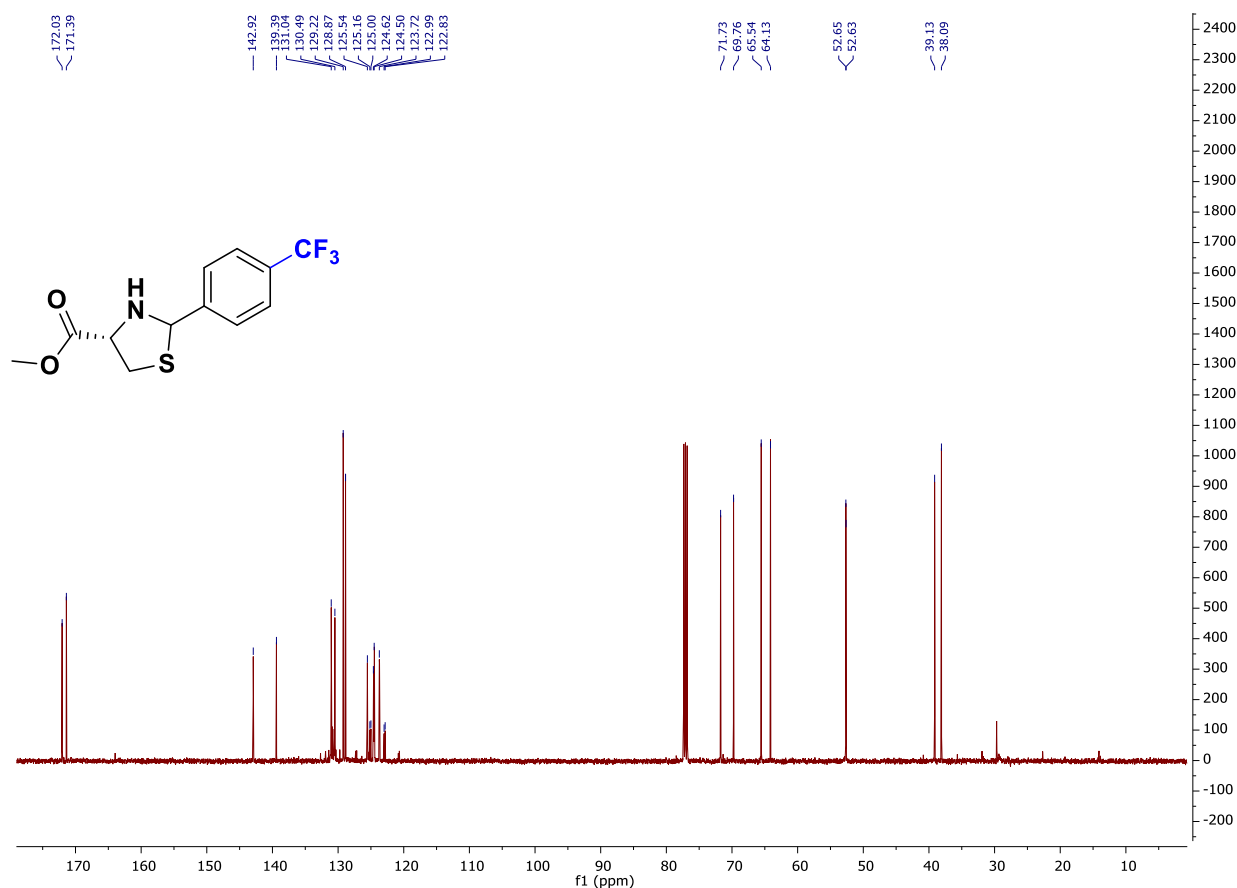
Espectro 11. RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) del compuesto **5e**.

En el espectro RMN-¹H la señales que confirman la obtención de la tiazolidina **5f** son las siguientes. Se puede observar un paquete de señales 7.84–7.38 ppm asignadas a los hidrógenos del anillo aromático para cada diastereoisómero. En 5.87 y 5.60 ppm se observan dos señales simples que integran para un protón y corresponden al protón bencílico tioaminal. En 3.82 ppm se observa una señal simple y que en realidad son dos señales simples que colapsan y que integran para 6 protones y que corresponden a los protones del metilo que forma parte del éster. En 3.45 ppm se observan una señal doble de triples que integra para 2 protones asignadas a los metilenos del CH₂ unido al azufre para cada diastereoisómero. El resto de las señales coinciden con la estructura propuesta (Espectro 12).



Espectro 12. RMN-¹H (125 MHz, CDCl₃) del compuesto **5f**.

En el espectro de RMN-¹³C, las señales que confirman la obtención del compuesto **5f** como una mezcla de diastereoisómeros se describen a continuación. Se identifican las señales correspondientes al carbono de carbonilo de éster para cada diastereoisómero en 172.0 y 171.3 ppm. Además, se observan doce señales asignadas a los carbonos bencílicos para el par diastereomérico entre 131.0 ppm y 122.8 ppm. Asimismo, se detectan dos señales en 71.7 y 69.7 ppm, así como a 65.5 y 64.1 ppm, asignadas a los carbonos directamente unidos al nitrógeno del anillo tiazolidínico para cada diastereoisómero. Finalmente, se identifican dos señales a 39.1 y 38.0 ppm asignadas a los metilenos unidos directamente al azufre en cada diastereoisómero. Todas las demás señales coinciden con la estructura propuesta (Espectro 13).



Espectro 13. RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) del compuesto **5f**.

5.5 Evaluación biológica

En la evaluación biológica, algunos compuestos mostraron una actividad prometedora contra la línea celular MDA-MB-231, que en los estudios *in silico* fue la actividad con mayor potencial y mayor representatividad, pero la evaluación y comprobación de estos plausibles mecanismos es complejo, siendo la primera etapa de evaluación la de determinar de manera cualitativa un posible efecto citotóxico. De los compuestos seleccionados mediante estudios *in silico*, se seleccionaron 6 para su evaluación (Esquema 12).

Para realizar las pruebas de citotoxicidad se atemperaron las soluciones a 37°C en un baño de agua y en la campana de flujo laminar y en condiciones de esterilidad (puntas azules estériles), se aspiró cuidadosamente el medio de cultivo celular de los pozos. Posteriormente, en la campana de flujo laminar y en condiciones de esterilidad (puntas amarillas estériles) se aplicaron los compuestos (100 µl) con medio Leibovitz (900 µl) en cada pocillo. Se etiquetó la placa y la secuencia de moléculas en los pocillos. Se homogenizó el medio celular de la placa con movimientos rotatorios suaves a fin de que se pueda obtener una mezcla regular de los compuestos en el medio de cultivo y se incubó en la estufa de cultivos celulares (5% CO₂, 37°C) durante 24 horas. Se utilizó cisplatino como control positivo y un blanco, para los estudios contra las líneas de cáncer de mama triple negativo. Además, se añadió 1% de vehículo (DMSO) a las células de control.

Se tomaron fotos de los pozos con los compuestos **5a-d**, el blanco, el vehículo y el control negativo. Las fotos se tomaron a las 0, 12, 18 y 24 horas usando dos objetivos: uno a x10 y otro a x40. El objetivo de tomar estas fotos fue observar la viabilidad celular en función del tiempo de forma clara al cubrir lapsos de tiempo de 6 horas (Figura 5). En este panel, podemos observar el efecto citotóxico de los compuestos **5b** y **5c** sobre la línea celular MDA-MB-231. A las 18 horas de la aplicación, se observa lisis celular y formación de núcleos apoptóticos. Se puede notar que el control negativo provoca una clara muerte celular con el paso del tiempo. Este efecto no es tan claro para el vehículo (DMSO) ni para la mezcla de diastereoisómeros del compuesto **5a** y **5d**. En el pozo sin tratamiento, la confluencia celular se mantuvo, como era de esperar.

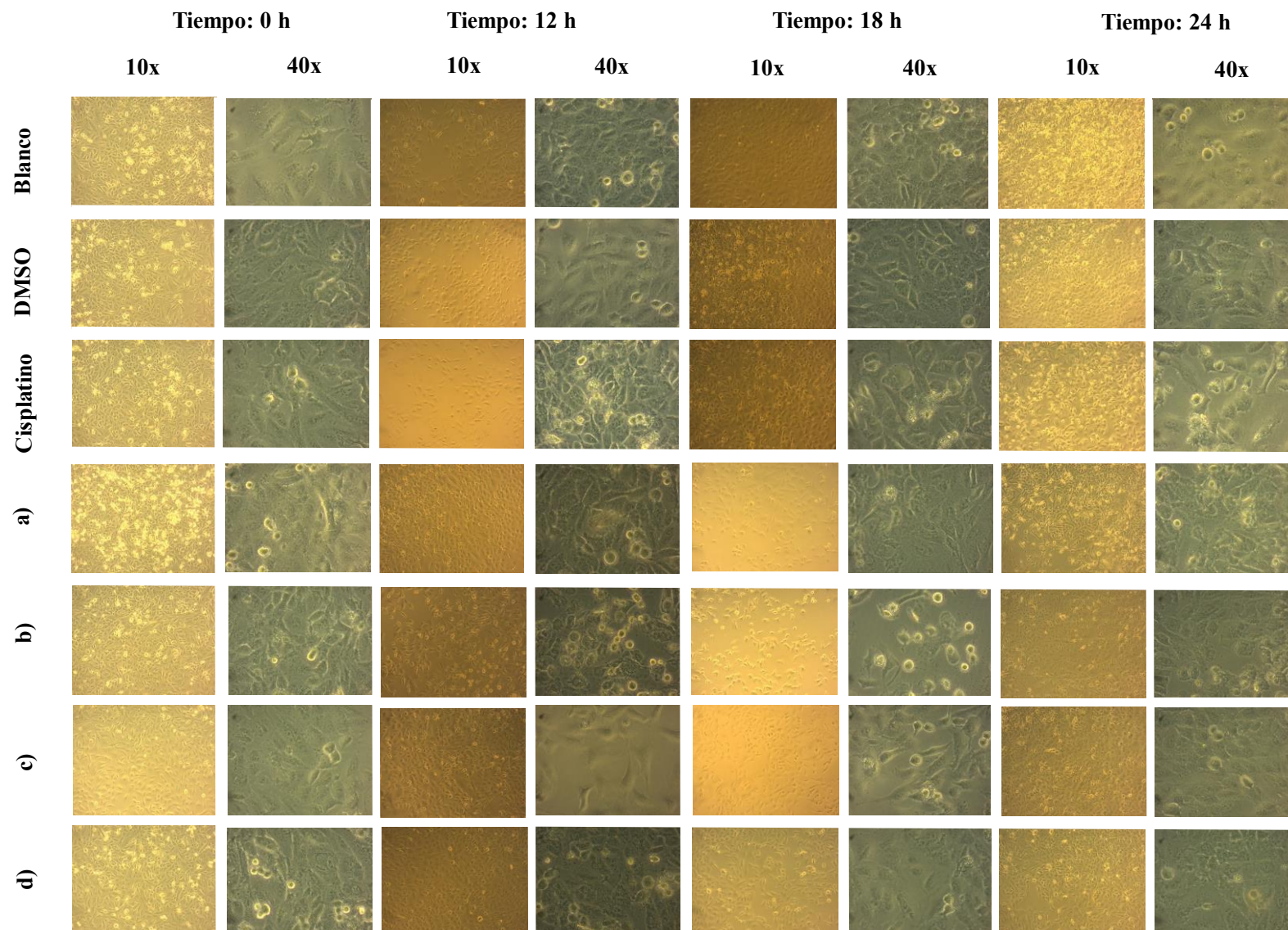


Figura 6. Panel de fotos tomadas a las 0, 12, 18 y 24 h con objetivos 10x y 40x para los compuestos **2a-d**, blanco, vehículo y control negativo.

Teniendo en cuenta estos resultados se procedió a tomar fotos de los pozos en donde se aplicaron los compuestos **5a-f**, el blanco, el vehículo y el control positivo. Al tener en cuenta que la evolución del efecto citotóxico se podía observar claramente a los tiempos de 0 y 24 h se procedió a tomar fotos en estos lapsos usando los mismos objetivos, a x10 y x40. En este panel es posible observar el efecto citotóxico de todos los compuestos elegidos (Figura 6). Podemos observar de forma clara el efecto citotóxico de los compuestos **5b**, **5c** y **5e** sobre la línea celular MDA-MB-231 después de 24 de la aplicación, se observa una clara lisis celular y formación de núcleos apoptóticos. En este caso sí posible observar un efecto citotóxico moderado por el vehículo (DMSO) al igual que para la mezcla de diastereoisómeros de los compuestos **5d** y **5f** al formar núcleos apoptóticos. Mientras que para el compuesto **2a** se observa no se observa un efecto claro de muerte celular. En el pozo sin tratamiento, la confluencia celular se mantuvo. Otra vez se puede notar que el control negativo provoca una clara muerte celular con el paso del tiempo.

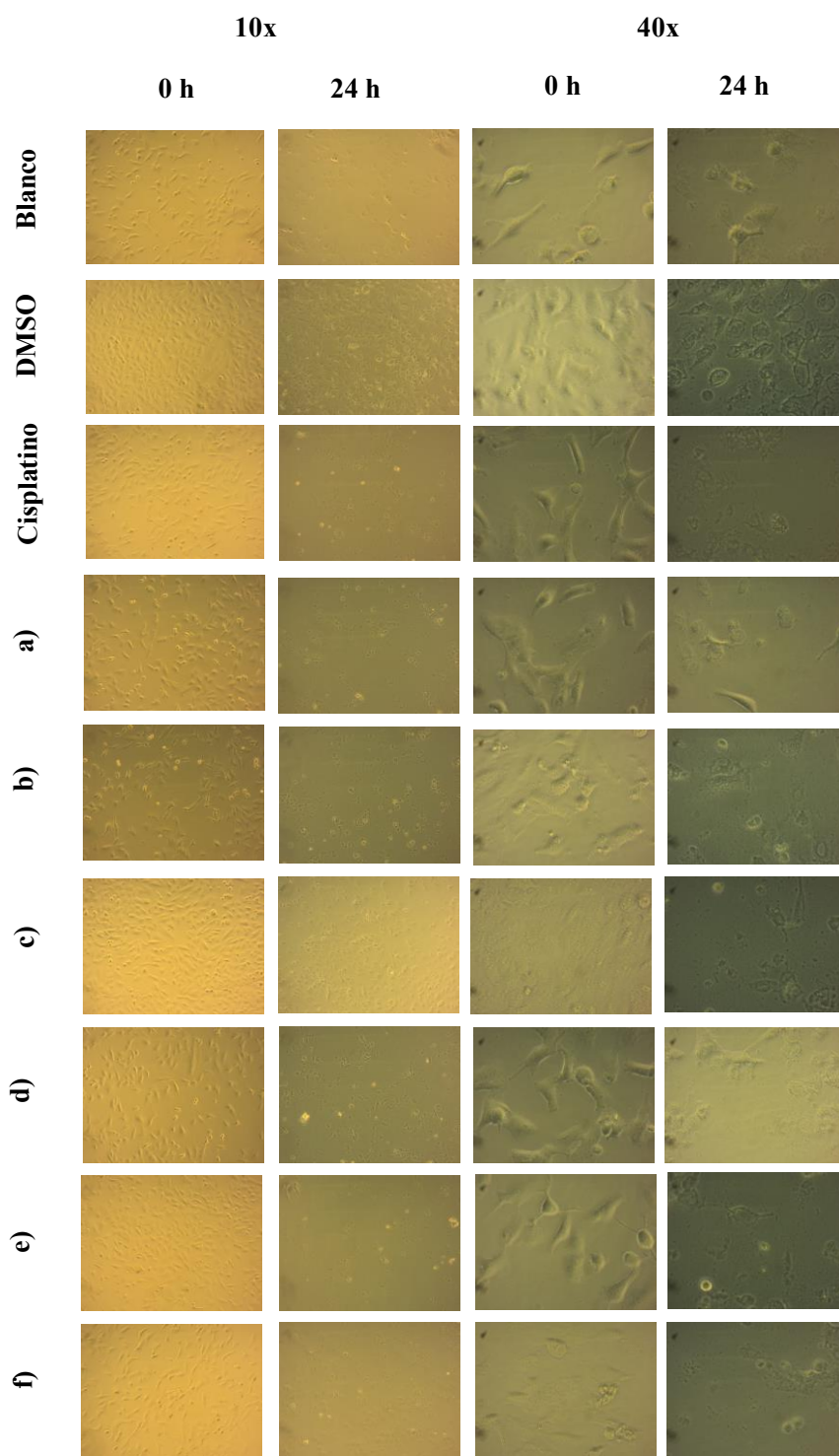


Figura 6. Panel de fotos tomadas a las 0 y 24 h con objetivos 10x y 40x para los compuestos **2a-f**, blanco, vehículo y control negativo.

El siguiente panel es un complemento del anterior, en este se destaca el uso de lavados con PBS después de 24 h donde se aplicaron los compuestos **2a-f**, el blanco, el vehículo y el control positivo usando los objetivos a x10 y a x40. Al tener en cuenta que se hicieron lavados con PBS, en este panel es posible ver de manera notoria la confluencia celular que se tiene antes y después de aplicar los compuestos elegidos (Figura 7). Se destaca ahora el efecto citotóxico de los compuestos **2b**, **2c**, **2d** y **2e** sobre la línea celular MDA-MB-231, en este se observa una clara lisis celular y formación de núcleos apoptóticos que antes no era tan claro observar para el compuesto **2d**. Se mantiene visible el citotóxico moderado por el vehículo (DMSO) al igual que para la mezcla de diastereoisómeros del compuesto **2f**, al formar núcleos apoptóticos. Mientras que para el compuesto **2a** siguen sin observarse señales claras de apoptosis ni necrosis. En el pozo sin tratamiento no hay señales de muerte celular después del lavado con PBS. Se observa una notable disminución en la confluencia celular en el control negativo a lo largo del tiempo, lo que confirma su eficacia.

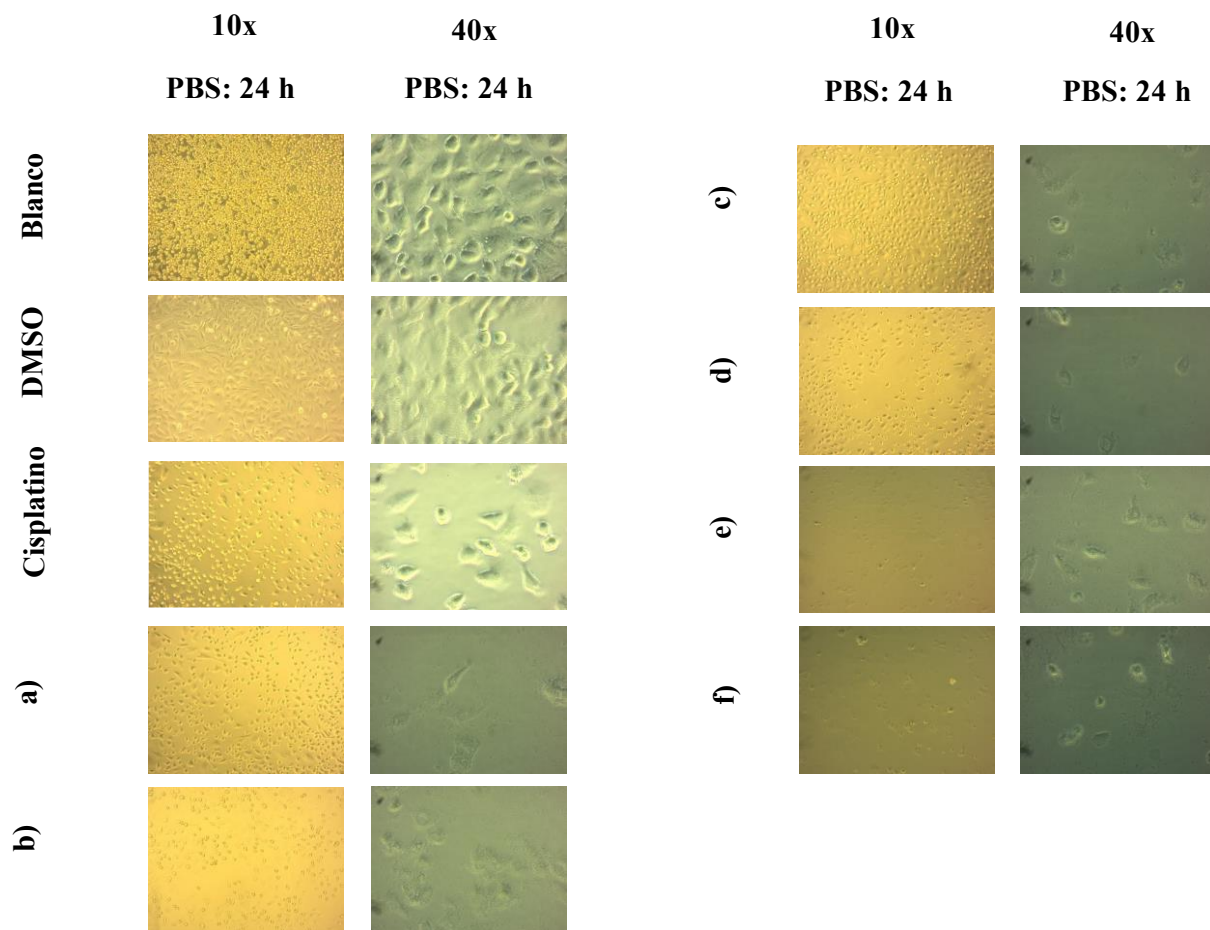


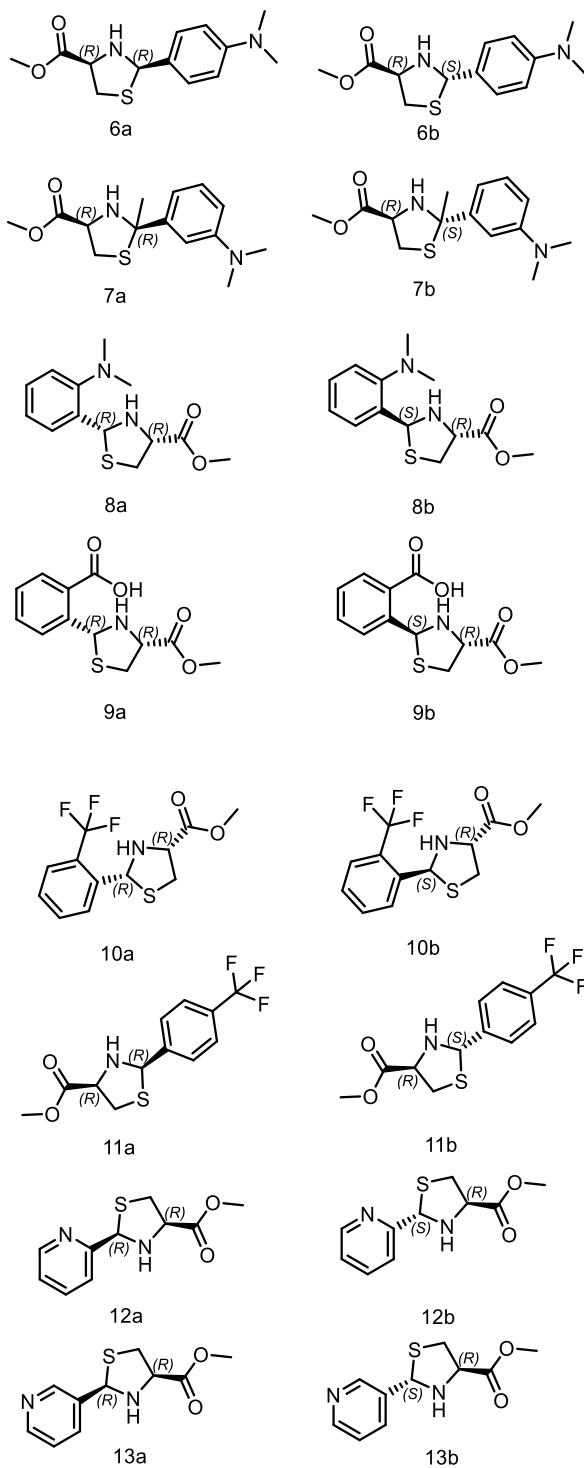
Figura 7. Panel de fotos tomadas a las 0 y 24 h con objetivos 10x y 40x para los compuestos **2a-f**, blanco, vehículo y control negativo después de un lavado con PBS.

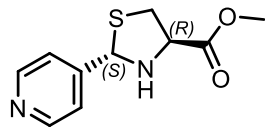
6. Conclusiones

- La reacción de condensación entre el aldehído y el cisteinato de metilo mostrando una baja diastereoselectividad, en la mayoría de las reacciones realizadas con el fin de obtener tiazolidinas quirales se obtuvieron rendimientos bajos por lo que buscar nuevas condiciones de reacción es necesario para acceder a estos compuestos con rendimientos más altos, así como buscar separar ambos diasteroisómeros que se forman.
- En el análisis *in silico* se encontró que la mayor probabilidad (alrededor del 70 %) de interacción se dio con las siguientes dianas: CA1, CA2, JAK2, JAK1 y GSK-3 beta. Teniendo en cuenta la activación desregulada de JAK2 y JAK1 se ha relacionado con diversas patologías, incluidas enfermedades inflamatorias, cáncer y trastornos metabólicos sumando a que desempeñan un papel importante en la regulación de la respuesta celular a estrés, inflamación y daño del ADN, así como en la apoptosis y la diferenciación celular nos puede dar un indicio de que las moléculas evaluadas pueden tener un efecto anticancerígeno, así como otros posibles efectos secundarios.
- En el análisis *in vitro*, tras la repetición del experimento de citotoxicidad con 4 de los 6 compuestos sintetizados se pudo analizar las fotos tomadas a 12, 18 y 24 horas encontrando que la 1,3-tiazolidina derivada de benzaldehído tuvo el menor efecto citotóxico, mientras que los compuestos restantes tuvieron un mayor efecto citotóxico observándose que tras el paso de las 24 horas la confluencia de las células disminuía cada vez más con el paso del tiempo, por lo que en principio se puede considerar que las moléculas sintetizadas sí poseen efecto citotóxico contra células cancerígenas de la línea celular MDA-MB-231. Sin embargo, todavía hace falta de una repetición de este ensayo y considerar que el disolvente utilizado (DMSO) por sí solo también posee efecto citotóxico.

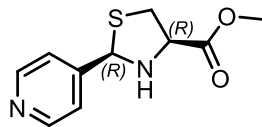
7. Anexos

Esquema 15. Modificaciones estructurales de los anillos tiazolidínicos para su estudio *in silico*.

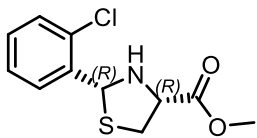




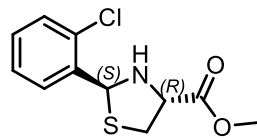
14a



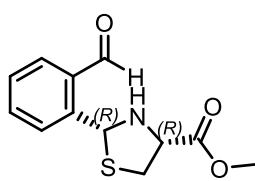
14b



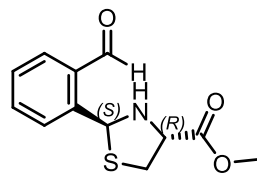
15a



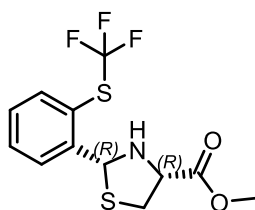
15b



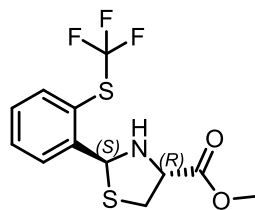
16a



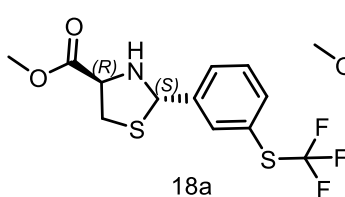
16b



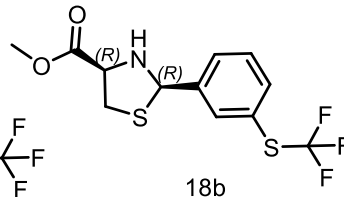
17a



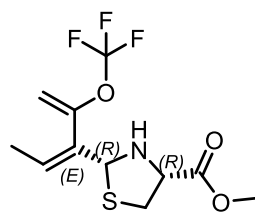
17b



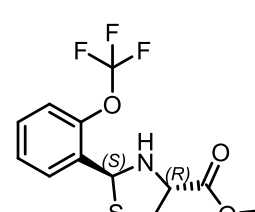
18a



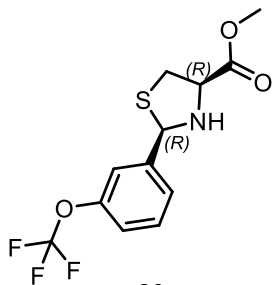
18b



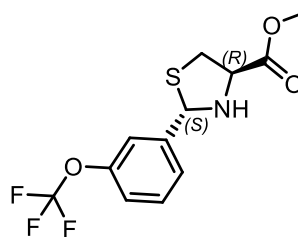
19a



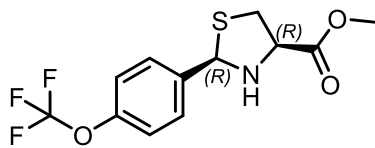
19b



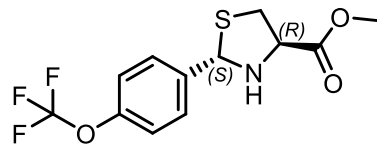
20a



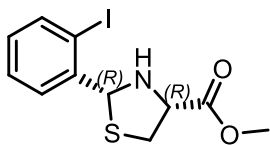
20b



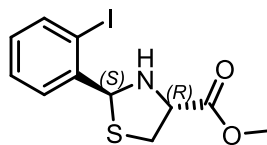
21a



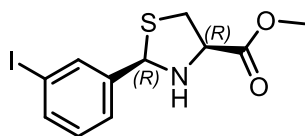
21b



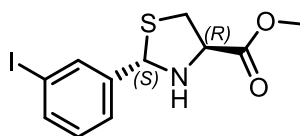
22a



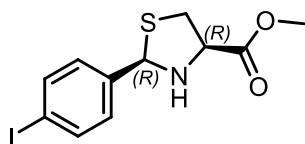
22b



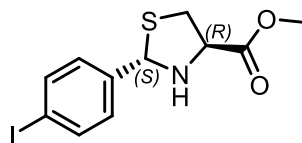
23a



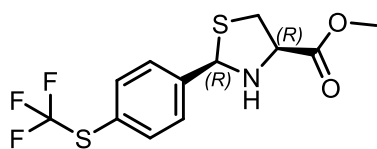
23b



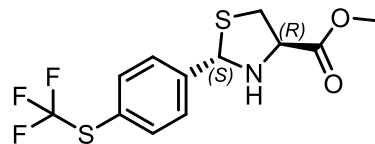
24a



24b



25a



25b

8. Bibliografía

- (1) Haroun, M.; Tratrát, C.; Kositsi, K.; Tsolaki, E.; Petrou, A.; Aldhubiab, B.; Attimarad, M.; Harsha, S.; Geronikaki, A.; Venugopala, K. N.; Elsewedy, H. S.; Sokovic, M.; Glamoclija, J.; Ciric, A. New Benzothiazole-Based Thiazolidinones as Potent Antimicrobial Agents. Design, Synthesis and Biological Evaluation. *Curr. Top. Med. Chem.* **2018**, *18* (1), 75–87. <https://doi.org/10.2174/1568026618666180206101814>.
- (2) Ma, L.; Xie, C.; Ma, Y.; Liu, J.; Xiang, M.; Ye, X.; Zheng, H.; Chen, Z.; Xu, Q.; Chen, T.; Chen, J.; Yang, J.; Qiu, N.; Wang, G.; Liang, X.; Peng, A.; Yang, S.; Wei, Y.; Chen, L. Synthesis and Biological Evaluation of Novel 5-Benzylidenethiazolidine-2,4-Dione Derivatives for the Treatment of Inflammatory Diseases. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (7), 2060–2068. <https://doi.org/10.1021/jm1011534>.
- (3) Gouda, M. A.; Abu-Hashem, A. A. Synthesis, Characterization, Antioxidant and Antitumor Evaluation of Some New Thiazolidine and Thiazolidinone Derivatives. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **2011**, *344* (3), 170–177. <https://doi.org/10.1002/ardp.201000165>.
- (4) Sahiba, N.; Sethiya, A.; Soni, J.; Agarwal, D. K.; Agarwal, S. Saturated Five-Membered Thiazolidines and Their Derivatives: From Synthesis to Biological Applications. *Top. Curr. Chem.* **2020**, *378* (2), 34. <https://doi.org/10.1007/s41061-020-0298-4>.
- (5) Bhutani, R.; Pathak, D. P.; Kapoor, G.; Husain, A.; Iqbal, Md. A. Novel Hybrids of Benzothiazole-1,3,4-Oxadiazole-4-Thiazolidinone: Synthesis, in Silico ADME Study, Molecular Docking and in Vivo Anti-Diabetic Assessment. *Bioorganic Chem.* **2019**, *83*, 6–19. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.10.025>.
- (6) Mahapatra, M. K.; Kumar, R.; Kumar, M. Exploring Sulfonate Esters of 5-Arylidene Thiazolidine-2,4-Diones as PTP1B Inhibitors with Anti-Hyperglycemic Activity. *Med. Chem. Res.* **2018**, *27* (2), 476–487. <https://doi.org/10.1007/s00044-017-2074-8>.
- (7) Kumar, H.; Aggarwal, N.; Marwaha, M. G.; Deep, A.; Chopra, H.; Matin, M. M.; Roy, A.; Emran, T. B.; Mohanta, Y. K.; Ahmed, R.; Mohanta, T. K.; Saravanan, M.; Marwaha, R. K.; Al-Harrasi, A. Thiazolidin-2,4-Dione Scaffold: An Insight into Recent Advances as Antimicrobial, Antioxidant, and Hypoglycemic Agents. *Molecules* **2022**, *27* (19), 6763. <https://doi.org/10.3390/molecules27196763>.
- (8) Jain, A. K.; Vaidya, A.; Ravichandran, V.; Kashaw, S. K.; Agrawal, R. K. Recent Developments and Biological Activities of Thiazolidinone Derivatives: A Review. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20* (11), 3378–3395. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.03.069>.
- (9) Alegaon, S. G.; Alagawadi, K. R.; Vinod, D.; Unger, B.; Khatib, N. A. Synthesis, Pharmacophore Modeling, and Cytotoxic Activity of 2-Thioxothiazolidin-4-One Derivatives. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23* (12), 5160–5173. <https://doi.org/10.1007/s00044-014-1087-9>.
- (10) Longley, R. E.; McConnell, O. J.; Essich, E.; Harmody, D. Evaluation of Marine Sponge Metabolites for Cytotoxicity and Signal Transduction Activity. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56* (6), 915–920. <https://doi.org/10.1021/np50096a015>.
- (11) Havrylyuk, D.; Zimenkovsky, B.; Vasilenko, O.; Zaprutko, L.; Gzella, A.; Lesyk, R. Synthesis of Novel Thiazolone-Based Compounds Containing Pyrazoline Moiety and Evaluation of Their Anticancer Activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44* (4), 1396–1404. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.09.032>.
- (12) Finiuk, N.; Boiko, N.; Klyuchivska, O.; Kobylinska, L.; Kril, I.; Zimenkovsky, B.; Lesyk, R.; Stoika, R. 4-Thiazolidinone Derivative Les-3833 Effectively Inhibits Viability of Human Melanoma Cells through Activating Apoptotic Mechanisms. *Croat. Med. J.* **2017**, *58* (2), 129–139. <https://doi.org/10.3325/cmj.2017.58.129>.
- (13) Daviter, T.; Johnson, C. M.; McLaughlin, S. H.; Williams, M. A. *Protein-Ligand Interactions: Methods and Applications*, 3rd ed.; 1940-6029; Springer protocols, 2021.
- (14) Alemán-González-Duhart, D.; Tamay-Cach, F.; Correa-Basurto, J.; Padilla-Martínez, I. I.; Álvarez-Almazán, S.; Mendieta-Wejebe, J. E. In Silico Design, Chemical Synthesis and Toxicological

- Evaluation of 1,3-Thiazolidine-2,4-Dione Derivatives as PPAR γ Agonists. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2017**, *86*, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.02.008>.
- (15) M. Aziz, N. A. A.; F. George, R.; El-Adl, K.; R. Mahmoud, W. Design, Synthesis, in Silico Docking, ADMET and Anticancer Evaluations of Thiazolidine-2,4-Diones Bearing Heterocyclic Rings as Dual VEGFR-2/EGFR T790M Tyrosine Kinase Inhibitors. *RSC Adv.* **2022**, *12* (20), 12913–12931. <https://doi.org/10.1039/D2RA01119K>.
- (16) Aziz, N. A. A. M.; George, R. F.; El-Adl, K.; Mahmoud, W. R. Exploration of Thiazolidine-2,4-Diones as Tyrosine Kinase Inhibitors: Design, Synthesis, ADMET, Docking, and Antiproliferative Evaluations. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **2023**, *356* (3), 2200465. <https://doi.org/10.1002/ardp.202200465>.
- (17) Asati, V.; Bharti, S. K. Design, Synthesis and Molecular Modeling Studies of Novel Thiazolidine-2,4-Dione Derivatives as Potential Anti-Cancer Agents. *J. Mol. Struct.* **2018**, *1154*, 406–417. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.10.077>.
- (18) Abid, F. M. A.; Jamalis, J.; Chander, S.; Wahab, R. A.; Bhagwat, D. P.; Sankaranarayanan, M. Synthesis, Characterization, *in Silico* and Antifungal Studies of Thiazolidine Analogues. *Chem. Data Collect.* **2019**, *21*, 100219. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2019.100219>.
- (19) Thompson, L. A.; Ellman, J. A. Synthesis and Applications of Small Molecule Libraries. *Chem. Rev.* **1996**, *96* (1), 555–600. <https://doi.org/10.1021/cr9402081>.
- (20) Serra, M. E. S.; Costa, D.; Murtinho, D.; Tavares, N. C. T.; Pinho e Melo, T. M. V. D. D-Penicillamine and L-Cysteine Derived Thiazolidine Catalysts: An Efficient Approach to Both Enantiomers of Secondary Alcohols. *Tetrahedron* **2016**, *72* (39), 5923–5927. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.08.036>.
- (21) Braga, A. L.; Milani, P.; Vargas, F.; Paixão, M. W.; Sehnem, J. A. Modular Chiral Thiazolidine Catalysts in Asymmetric Aryl Transfer Reactions. *Tetrahedron Asymmetry* **2006**, *17* (19), 2793–2797. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2006.10.025>.
- (22) Roszczenko, P.; Holota, S.; Szewczyk, O. K.; Dudchak, R.; Bielawski, K.; Bielawska, A.; Lesyk, R. 4-Thiazolidinone-Bearing Hybrid Molecules in Anticancer Drug Design. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23* (21), 13135. <https://doi.org/10.3390/ijms232113135>.
- (23) Gornowicz, A.; Lesyk, R.; Czarnomysy, R.; Holota, S.; Shepeta, Y.; Popławska, B.; Podolak, M.; Szymanowski, W.; Bielawski, K.; Bielawska, A. Multi-Targeting Anticancer Activity of a New 4-Thiazolidinone Derivative with Anti-HER2 Antibodies in Human AGS Gastric Cancer Cells. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24* (7), 6791. <https://doi.org/10.3390/ijms24076791>.
- (24) Zhang, Y.; Yan, L.; Liu, G.; Chen, W.; Gong, W.; Yu, J. Inhibition of Janus Kinase 2 by Compound AG490 Suppresses the Proliferation of MDA-MB-231 Cells via up-Regulating SARI (Suppressor of AP-1, Regulated by IFN). *Iran. J. Basic Med. Sci.* **2015**, *18* (6), 599–603.
- (25) O’Shea, J. J.; Schwartz, D. M.; Villarino, A. V.; Gadina, M.; McInnes, I. B.; Laurence, A. The JAK-STAT Pathway: Impact on Human Disease and Therapeutic Intervention. *Annu. Rev. Med.* **2015**, *66*, 311–328. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-051113-024537>.
- (26) O’Shea, J. J.; Holland, S. M.; Staudt, L. M. JAKs and STATs in Immunity, Immunodeficiency, and Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2013**, *368* (2), 161–170. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1202117>.