



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 358 097**

51 Int. Cl.:

C07C 62/32 (2006.01)	C07C 69/618 (2006.01)
C07C 59/54 (2006.01)	C07C 59/72 (2006.01)
C07D 317/50 (2006.01)	A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)	A61P 35/04 (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01)	A61K 31/192 (2006.01)
A61K 31/222 (2006.01)	A61K 31/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02760553 .4**

96 Fecha de presentación : **18.07.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1412317**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.04.2004**

54

Título: **Derivados retinoides con actividades antiangiogénicas, antitumorales y proapoptóticas.**

30

Prioridad: **31.07.2001 IT RM01A0464**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
05.05.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
05.05.2011

73

Titular/es: **SIGMA-TAU INDUSTRIE
FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.
Viale Shakespeare, 47
00144 Roma, IT**

72

Inventor/es: **Merlini, L.;
Dallavalle, S.;
Penco, Sergio;
Giannini, G.;
Pisano, C. y
Vesci, L.**

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 358 097 T3

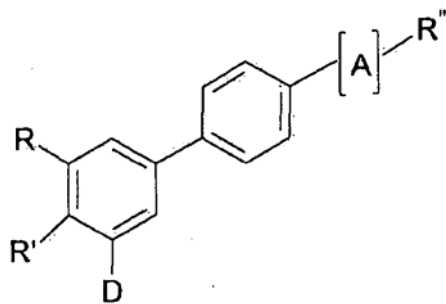
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Derivados retinoides con actividades antiangiogénicas, antitumorales y proapoptóticas

La presente invención se refiere a derivados de retinoides, dotados con actividad antiangiogénica, proapoptótica, antiinflamatoria, que tienen Fórmula general (I):

5



(I)

en la que:

- 10 R representa, cicloalquilo, adamantilo en el que al menos uno de los CH puede estar sustituido con C-halógeno o C-alquilo y uno de los CH₂ puede estar sustituido con O, S, CH-halógeno, CH-arilo, CH-heteroarilo, CH-arilalquilo, CH-heteroarilalquilo, CH-amino;

R' representa OR^{III}, OCOR^{III}, COR^{IV}; R'-D representa O-(CH₂)_n-O; en la que n = 1-3;

D representa H, OH, O-alquilo, (CH₂)_n-NH₂, (CH₂)_n-NH-alquilo, (CH₂)_n-OH, en la que n = 1-4;

- 15 R'' representa tetrazol, SO₃H, NHSO₃H, CHO, COOH, COO-alquilo: CONHOH, CONH-arilo, CONH-C₆H₄OH, CH₂OR^{III}; PO₃H₂; CO-(CH₂)_n-arilo, en la que n = 0-4;

R^{III} representa H, alquilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, SO₃H, un D- y un L-glicosilo α o β; R^{IV} representa H, OH, OR^{III};

[A] representa [C (R^V, R^{VI})-C (R^{VII}, R^{VIII})]_n, [C (R^{IX})=C(R^X)]_n, [C = C]_n, en el que n = 0-3;

- 20 R^V, R^{VI}, R^{VII}, R^{VIII} representan H, alquilo, halógeno, OH, OR^{III}, NO₂NH₂, arilo, -O-, -CH₂-, CX₂- (en el que X es halógeno), -CH(R^{III})-;

R^{IX}, R^X representan H, OH, halógeno, alquilo, arilo, CN, NO₂COOR^{III}.

- 25 La vitamina A y sus derivados biológicamente activos, retinal y ácido retinoico, desempeñan un papel importante en la visión, son necesarios en el sistema reproductor, actúan como agentes durante crecimiento embrionario morfogénico y regulan el crecimiento y diferenciación de un intervalo amplio de tipos celulares en la base del crecimiento de un organismo [M. Sporn, A. Roberts, D. Goodman, The Retinoid, Raven Press, Nueva York 1994]. La acción biológica de ácido retinoico y sus derivados está mediada por la interacción con receptores nucleares pertenecientes a dos familias: la primera llamada RAR (receptor de ácido retinoico) y la segunda llamada RXR (receptor X de retinoides) [P. Chambon, FASEB J., 1996, 10, 940-54]. Cada familia se divide en 3 subtipos (α, β, γ) codificados por tres genes diferentes.
- 30

Todos los Ácidos Trans-Retinoicos (ATRA) se unen a RAR y a RXR, mientras que 9-cis RA se une sólo a RXR.

Los retinoides, bien sean análogos de vitamina A naturales o sintéticos, ejercen una gran influencia sobre la proliferación celular, la diferenciación celular y la apoptosis: estas propiedades son ampliamente explotadas en el control de patologías tumorales y dermatológicas, y de patologías ligadas a una angiogénesis alterada.

- 35 La angiogénesis en el adulto es normalmente quiescente, pero representa un función normal, por ejemplo en la curación de heridas, o en la reconstrucción del endometrio durante el ciclo reproductor femenino.

La respuesta angiogénica se estimula fisiológicamente cuando las funciones vasculares se reducen y cuando la

perfusión tisular es inadecuada.

De forma más general, se puede reivindicar que, en condiciones fisiológicas, la angiogénesis constituye una retroalimentación positiva en respuesta a perfusión inadecuada, o a un suministro de oxígeno y nutrientes reducido, tal como ocurre, por ejemplo, en el caso de oclusión de una arteria, en situaciones de crecimiento masivos de tejidos (por ejemplo, la neovascularización que acompaña la formación de tejido muscular); y en el caso de trabajo un aumento de carga de trabajo en asociación con un requerimiento de oxígeno y de nutrientes aumentado.

En el curso de isquemia local, debido a oclusión parcial o completa de una arteria, el desarrollo de vasos colaterales es necesario para mantener la perfusión.

Se sabe bien que el crecimiento de un tumor primario está favorecido por el desarrollo de una buena vascularización de tejido tumoral. Un adecuado suministro de oxígeno y nutrientes promueve crecimiento rápido del tumor por sí mismo.

Se ha demostrado que la extensión de la angiogénesis puede ser un factor extremadamente negativo en el pronóstico de neoplasmas (van Hinsbergh V.W., Collen A., Koolwijk P.; Ann. Oncol., Supl. 10, 4: 60-3, 1999; Buolamwini JK; Curr., Opt., Chem., Biol., 3 (4): 500-9, agosto de 1999).

Se sabe también, que una fase de la biología fundamental de la célula tumoral es la adquisición de capacidad de metastatizar.

Las células tumorales que metastatizan son capaces de perder adherencia a las estructuras circundantes, invadir sangre y vasos linfáticos y colonizar otros tejidos a una distancia donde continúan reproduciéndose por sí mismas.

La metástasis es también un evento crítico en la historia clínica de la enfermedad, siendo la principal causa de muerte debida a cáncer. Ello está asociado cercanamente y se facilita por la presencia de tejido vascular en el sitio tumoral o en las áreas adyacentes.

La migración de células tumorales a través de las estructuras circundantes permite a las células alcanzar los vasos sanguíneos intratumorales, si son preexistentes o si están formados por neo-angiogénesis, y así alcanzar el torrente sanguíneo (JM De Rayos., Stetler -

Stevenson WG; Eur. Respir. J., 7 (11): 2062-72, 1994; Stetler-Stevenson WG, Liotta LA, Kleiner DE Jr; FASEB J., 7 (15): 1434-4], diciembre de 1993).

La presencia de comunicación entre vasos linfáticos y vasos sanguíneos en la región vascular del tumor permite a las células neoplásicas moverse en ambos sistemas vasculares.

Estudios recientes han mostrado una relación directa entre angiogénesis y enfermedad artrítica (Koch A.E.; Arthritis and Rheumatism 41: 951-962, 1998). En particular, se ha demostrado que la neo-vascularización de los cartílagos articulares juega un papel crucial en la formación de pannus y en la progresión de artritis. Un cartílago normal no posee vasos sanguíneos, mientras que el fluido sinovial de pacientes artríticos contiene un factor estimulador de angiogénesis producido por células endoteliales (EASF).

La presencia de este factor está asociada con vascularización y degradación del cartílago.

Otras enfermedades se refieren también a la angiogénesis anormal.

Se ha encontrado que, en retinopatía diabética [Histol Histopathol 1999 Oct; 14 (4): 1287-94], soriasis [Br. J. Dermatol. diciembre 1999; 141 (6): 1054-60], inflamación crónica y aterosclerosis [Planta Med. diciembre de 1998; 64 (8): 686-95], la neovascularización de los tejidos es un factor facilitador.

El control de neovascularización es por lo tanto uno de los elementos básicos para el control y cura de estas enfermedades.

Ya se conocen retinoides útiles para tratar cáncer o que tienen actividad antiangiogénica.

Un compuesto que pertenece a la última generación de retinoides, CD437 (Cancer Research, 2002; 62 (8), 2430-6; Blood, 2000; 95, 2672-82; Leukemia, 1999,13, 739-49; Cancer Letters, 1999,137, 217-2) es selectivo para RAR γ , inhibe el crecimiento celular e induce apoptosis en carcinoma de mama, melanoma y líneas celulares de carcinomas del cuello uterino, incluyendo aquellos ATRA-resistentes, con un mecanismo de unión a receptor independiente (documento W09703682; J.Med.Chem. 1995, 38, 4993-5006). Tanto CD437 como otros derivados tales como el derivado de cis-TTNPB (benzoato del ácido tetrametil-tetrahidro-naftalenil-propenílico), actúan como conductores para el desarrollo de nuevos agentes inductores de apoptosis.

En paralelo, algunos retinoides, obtenidos por síntesis, tales como TAC-101 [Clin.Cancer Res. 1999, 5,2304-10] o derivados tales como RE-80, AM-580 o Am-80 [Eur.J.Pharmacol. 1993, 249, 113-6] han mostrado propiedades antiangiogénicas.

A pesar del progreso realizado en los últimos años, la investigación farmacológica implicada en el descubrimiento de nuevos fármacos para el tratamiento de enfermedades tumorales y enfermedades caracterizadas por angiogénesis anormal es aún considerado por muchos expertos en medicina como uno de los campos más prometedores.

5 De hecho, hasta la fecha existe todavía la necesidad fuertemente percibida de nuevos compuestos capaces de bloquear o interferir con las enfermedades tumorales y las enfermedades provocadas por la angiogénesis anormal. Como se menciona anteriormente, estas enfermedades incluyen tumores, metástasis de tumores, inflamación crónica, enfermedades artríticas, retinopatía diabética, soriasis, inflamación crónica y aterosclerosis.

Ahora se ha encontrado sorprendentemente que los compuestos que tienen Fórmula general (I) están dotados con actividad antitumoral, pro-apoptótica y antiangiogénica.

10 Los compuestos de Fórmula (I), según la presente invención no se han descrito antes nunca.

Los compuestos con fórmula general (I) son por lo tanto el objeto de la invención descrita en el presente documento.

Un objeto adicional de la invención descrito en el presente documento son compuestos con fórmula general (I) y su uso en el campo médico.

15 Un objeto adicional de la invención descrito en el presente documento son compuestos con fórmula general (I) y un procedimiento para su preparación.

Un objeto adicional de la invención descrita en el presente documento es una composición farmacéutica que contiene como ingrediente activo un compuesto de fórmula (I) y al menos un excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

20 Otro objeto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de patologías relacionadas con angiogénesis alterada, en el que la patología se selecciona del grupo que comprende patología artríticos, tumores, metastatización, retinopatía diabética, soriasis, enfermedad inflamatoria crónica y aterosclerosis.

25 Otro objeto adicional de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de tumores, en el que la actividad antitumoral es de naturaleza citotóxica, y/o de naturaleza apoptótica, y/o de naturaleza antiangiogénica; en el que el tumor se selecciona a partir del grupo que comprende sarcoma, carcinoma, carcinoides, tumor óseo, tumor neuroendocrino, leucemia linfoide, leucemia mieloides, leucemia monocítica, leucemia megacariocítica, leucemia promielocítica aguda o enfermedad de Hodgkin.

Un objeto adicional de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I), para la preparación de un medicamento útil para la prevención y tratamiento de metástasis tumorales.

30 Como se menciona anteriormente, el crecimiento de un tumor primario se facilita por buena vascularización del tejido tumoral, y la extensión de la neoangiogénesis puede ser un factor altamente adverso en el pronóstico de neoplasmas. Un suministro de oxígeno adecuado y nutrientes en el sitio tumoral, de hecho, facilitan crecimiento rápido del tumor por sí mismo.

35 Se conoce bien que los agentes antitumorales disponibles para médicos para el tratamiento de tumores son todavía incapaces de evitar que muchos pacientes mueran de estas enfermedades. Se conoce bien también que la mayoría de los pacientes oncológicos se tratan no con un único fármaco anticancerígeno sino con una combinación de varios agentes anticancerígenos. La necesidad para administrar los fármacos anticancerígenos en combinación proviene del hecho de que actuando a diferentes niveles metabólicos en algunos casos se favorece remisión completa del tumor, mientras que en otros se prolonga la vida del paciente y/o se mejora la calidad de vida de los pacientes tratados.

40 Hasta la fecha existe todavía una necesidad fuertemente percibida de nuevos compuestos para usarse en combinación con compuestos antitumorales conocidos.

El compuesto según la invención descrito en el presente documento se puede usar en combinación con uno o más fármacos anticancerígenos.

45 Un objeto adicional de la invención descrito en este documento es la combinación de uno o más compuestos de fórmula (I) con uno o más fármacos anticancerígenos conocidos, en los que el fármaco anticancerígeno está seleccionado a partir del grupo que comprende agentes alquilantes, inhibidores de topoisomerasa, agentes antitubulina, compuestos intercalantes, anti-metabolitos, productos naturales tales como alcaloides de vinca, epipodofilotoxinas, antibióticos, enzimas, taxanos, compuestos de citodiferenciación, inhibidores de fosfotirosina quininas tales como Iressa o Glivec, TRAIL (factor de necrosis tumoral-relacionado con ligando que induce apoptosis),
50 agonistas de DR4 o DR5 (sitios de receptores de TRAIL), compuestos para terapia antitumoral inmunológica, vacunas antitumorales, o interferón α , β , γ .

Otro objeto de la invención descrito en el presente documento es una composición farmacéutica que comprende la combinación de uno o más compuestos de fórmula (I) con uno o más fármacos anticancerígenos conocidos, y uno o

más excipientes o vehículos farmacológicamente aceptables.

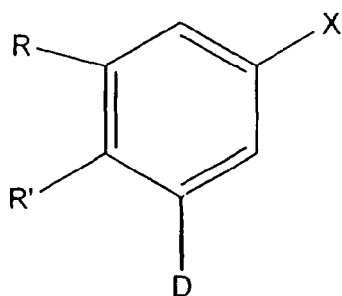
Otro objeto de la invención descrito en el presente documento es el uso de uno o más compuestos de Fórmula (I) con uno o más fármacos anticancerígenos conocidos, para preparar un medicamento para el tratamiento de tumor.

- 5 Otro objeto de la invención descrito en el presente documento es el uso de uno o más compuesto de Fórmula (I) con uno o más fármacos anticancerígenos conocidos, para preparar un medicamento para el tratamiento de tumor, caracterizado porque el compuesto de fórmula (I) está presente como coadyuvante del fármaco anticancerígeno.

Los ejemplos siguientes ilustran la invención.

Procedimiento general de síntesis

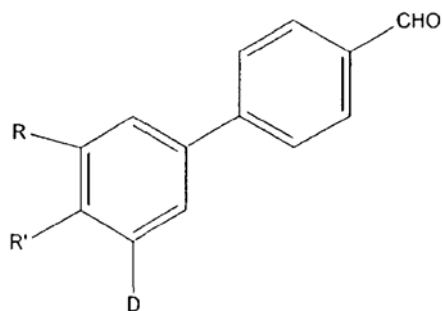
Compuestos de Fórmula (I) se prepararon haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (II)



(II)

10

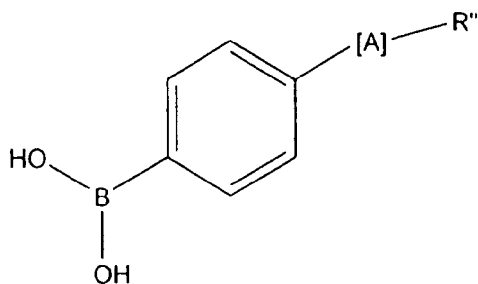
en la que R, R' y D tienen el significado descrito en la Fórmula (I) y X representa halógeno, con ácido 4-formilbórico en una reacción de Miyaura-Suzuki (Chem. Rev. 1995, 95, 2457-83) dando un aldehído de Fórmula (III).



(III)

- 15 Compuestos de fórmula (III), en los que R, R' y D tienen los significados descritos previamente, se realizan para reaccionar según procedimientos bien conocidos descritos en la bibliografía [por ejemplo reacciones mediante Wittig (Org. Reactions, Vol. 14), Horner-Wadsworth-Emmons (Org. Reactions, Vol. 25), Knoevenagel (Org. Reactions, Vol.15), Henry (Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Vol. 10/1, p. 250), Darzens (Org. Reactions, Vol.5), etc.] para dar compuestos de Fórmula general (I), en la que [A] representa $C(R^V, R^{VI})=C(R^{VII}, R^{VIII})$ y $R^V, R^{VI}, R^{VII}, R^{VIII}$
- 20 representan H, alquilo, halógeno, OH, OR^m, NO₂, NH₂, arilo, -O-, o donde [A] representa $C\equiv C$.

Alternativamente, los compuestos de Fórmula general (I) se pueden preparar a partir de compuestos de Fórmula general (II) por la reacción según Miyaura-Suzuki (Chem. Rev. 1995, 95, 2457-83) con un ácido bórico con Fórmula general (IV)

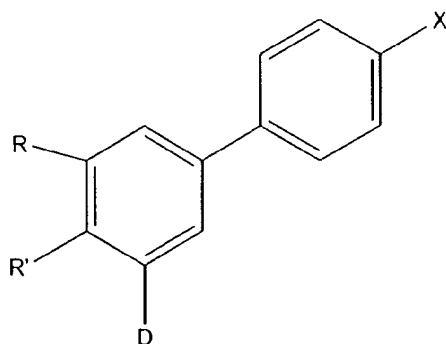


(IV)

en la que A y R'' tienen el significado previamente descrito.

Alternativamente, los compuestos de Fórmula general (I), donde [A] representa $C(R^V, R^{VI})=C(R^{VII}, R^{VIII})$ o $C\equiv C$ se pueden preparar a partir de los compuestos de la Fórmula general (V)

5



(V)

en la que R, R' y D tienen los significados previamente descritos, X representa halógeno, por procedimientos conocidos, por ejemplo mediante reacciones descritas por Heck (Org. Reactions, Vol. 27) con alquenos o alquinos sustituidos en presencia de catalizadores de metales u organometálicos.

10

Alternativamente, los compuestos de Fórmula general (I), donde [A] representa $C(R^V, R^{VI})=C(R^{VII}, R^{VIII})$ o $C=C$ se pueden preparar a partir de los compuestos de Fórmula general (I), en la que R y D son H y R' tiene el significado descrito previamente, por reacciones de alquilación con alcoholes, por ejemplo adamantan-1-ol, 1-metil-1-ciclohexanol, terc-butanol, etc., en presencia de ácido sulfúrico o de otros ácidos como catalizadores, por ejemplo como se describe por Charpentier y col. (J. Med. Chem. 1995, 38, 4993-5006). Con reacciones análogas y los alcoholes apropiados pueden prepararse los compuestos de Fórmula general (I), a partir de los compuestos de Fórmula general (I), donde D es H y R, R' tienen los significados previamente descritos.

15

Compuestos de Fórmula general (I) en la que [A] representa $C(R^V, H)-C(H, R^{VIII})$ y R^V, R^{VIII} representa $-CH_2-$, se pueden preparar a partir de compuestos de Fórmula general (I) en la que [A] representa $C(R^V, R^{VI})=C(R^{VII}, R^{VIII})$ por reacciones de ciclo-propanación conocidas en la bibliografía, por ejemplo reacción descrita por Simmons-Smith y análogos, como se describe por ejemplo en J. Am. Chem. Soc. 1959, 81, 4256 o en J. Am. Chem. Soc. 1981, 103, 5813, o de compuestos de Fórmula general (I), en la que A es $CH=CH_2$, y R'' es H, por reacción con diazoacetato de etilo. Compuestos de Fórmula general (I), en los que [A] representa $C(R^V, H)-C(H, R^{VIII})$ y R^V, R^{VIII} representa $-O-$, se pueden preparar a partir de compuestos de Fórmula general (I) en los que [A] representa $C(R^V, R^{VI})=C(R^{VII}, R^{VIII})$, a través de reacciones de epoxidación conocidas en la bibliografía, por ejemplo con dioxirano o análogos, como se describen por Yang y colegas, en J. Org. Chem., 1995, 60, 3887-9.

20

Compuestos de Fórmula general (I) en la que [A] representa $C-C$ se pueden preparar a partir de compuestos de Fórmula general (I) en los que [A] representa $C(R^V, R^{VI})=C(R^{VII}, R^{VIII})$ o $C\equiv C$ por reacciones de reducción conocidas para los enlaces dobles o triples, por ejemplo hidrogenación catalítica.

Compuestos de Fórmula general (I) en la que R'' representa CONHOH se pueden preparar a partir de los compuestos

30

de Fórmula general (I) en la que R" representa COOH mediante procedimientos conocidos en la bibliografía para la síntesis de ácidos hidroxámicos, por ejemplo por reacción con O-bencilhidroxilamina y agentes condensantes, [De Luca y col. J. Org. Chem., 2001, 66, 2534] seguida por hidrogenación catalítica, o con O-trimetilsililhidroxilamina seguida por desililación.

- 5 Compuestos de Fórmula general (I) en la que R" representa CONH-arilo se pueden preparar a partir de compuestos de Fórmula general (I) en la que R" representa COOH por procedimientos conocidos en la bibliografía para la síntesis de amidas, por ejemplo como se describe por Sangmam, y col. (Synth. Commun., 1998, 28, 2945-58) para amidas de ácido retinoico.

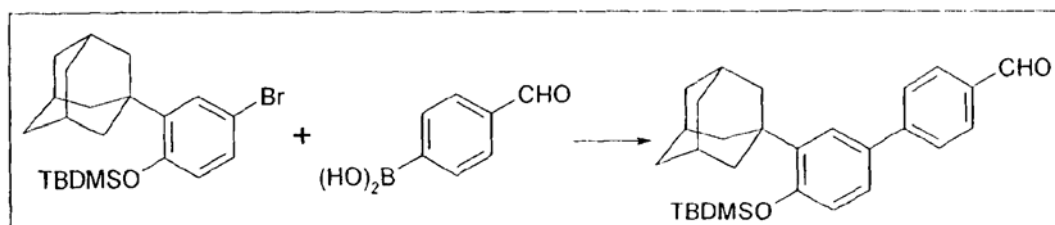
- 10 Compuestos de fórmula general (I) en la que R" representa CH₂OH se pueden preparar a partir de los compuestos de Fórmula general (I) en el que R" representa COOH o a partir de sus ésteres o derivados por procedimientos conocidos en la bibliografía para la síntesis de alcoholes, por ejemplo, por reducción con LiAlH₄.

Ejemplo 1

Preparación de 4-(3-(1-adamantilo)-4-terc-butildimetil-sililoxifenil)benzaldehído

El compuesto del título se preparó siguiendo diagrama de síntesis I comunicado como sigue.

- 15 Diagrama de síntesis 1



- 20 1,56 g (3,70 mmol) de 4-terc-butildimetilsililoxi-3-(1-adamantilo)-bromobenceno [Charpentier y col. J. Med. Chem., 1995, 38, 4993-5006], se disolvieron en 7,5 ml de tolueno. 3,7 ml de una solución acuosa 2M de Na₂CO₃, 0,128 g (0,11 mmol) de tetraquis-trifenilfosfina-paladio, y se añadió una solución de 610 mg (4,07 mmol) de ácido 4-formilbencenobórico en 1,73 ml de etanol. La solución así obtenida se sometió a reflujo durante 2 horas en una corriente de nitrógeno. La solución se enfrió después, se suspendió con acetato de etilo y se lavó con una solución saturada de NaCl.

- 25 Las fases se separaron, se filtró la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄ se filtró de nuevo, el disolvente se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Merck), usando hexano:acetato de etilo 3:1 como eluyente.

Se obtuvieron 1,09 g del compuesto del título.

P.f. 158°C.

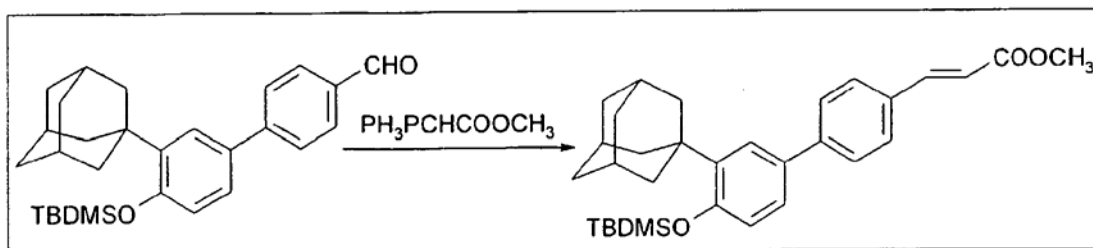
- 30 RMN de ¹H (CDCl₃) δ: 0,37 (6H, s, -Si(CH₃)₂); 1,05 (9H, s, -f-Bu); 1,78 (6H, s, 6Ad.); 2,09 (3H, s, 3Ad.); 2,15 (6H, s, 6Ad.); 6,88 (1H, d, 1 Ar, J = 8,54 Hz); 7,35 (1H, dd, 1 Ar, J = 2,24 Hz, J = 8,54 Hz); 7,51 (1H, d, 1Ar, J = 2,24 Hz); 7,70 (2H, d, 2Ar, J = 8,14 Hz); 7,90 (2H, d, 2Ar, J = 8,14 Hz); 10,01 (1H, s, -CHO).

Ejemplo 2

Preparación de E-4(3-(1-adamantilo)-4-terc-butildimetil-sililoxifenil)cinnamato de metilo

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 2.

Diagrama de síntesis 2



386 mg (0,864 mmol) de 4-(1-terc-butildimetilsiloxi-2-(1-adamantil)fenil)-benzaldehído se disolvieron en 4,5 ml de cloroformo, se añadieron 298 mg (0,864 mmol) de trifetilfosforanilidanacetato y la solución obtenida de este modo se sometió a reflujo durante tres horas. La solución se enfrió, el disolvente se evaporó, y después se sometió a cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Merck), usando hexano:CH₂Cl₂ 1:1 como eluyente. Se obtuvieron 350 mg del compuesto del título.

P.f. 148°C.

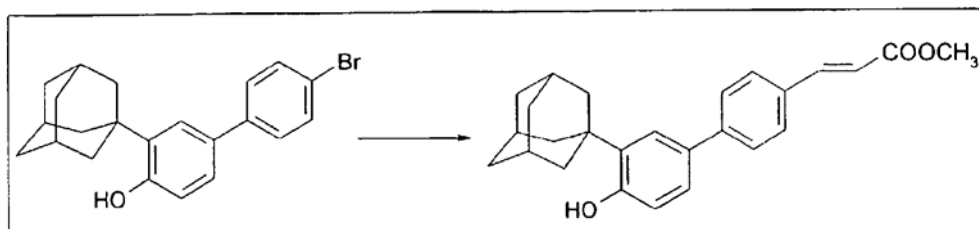
RMN de ¹H (CDCl₃) δ: 0,36 (6H, s, -Si(CH₃)₂); 1,05 (9H, s, -f-Bu); 1,77 (6H, s, 6Ad.); 2,08 (3H, s, 3Ad.); 2,15 (6H, s, 6Ad.); 3,80 (3H, s, -OCH₃); 6,44 (1H, d, -CH=, J = 16,07 Hz); 6,86 (1H, d, 1 Ar, J = 8,54 Hz); 7,30 (1H, dd, 1 Ar, J = 2,24 Hz, J = 8,54 Hz); 7,47 (1H, d, 1Ar, J = 2,24 Hz); 7,50-7,70 (4H, m, 4Ar); 7,71 (1H, d, CH=, J = 16,07 Hz).

Ejemplo 3

Preparación de C-4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)cinnamato de metilo

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 3.

Esquema de síntesis 3



Una mezcla de 1 g (2,6 mmol) de 2-(1-adamantilo)-4-(4-bromofenil)fenol, 358 mg (4,16 mmol) de acrilato de metilo, 5,8 mg (0,02 mmol) de acetato de paladio y 30 mg (0,1 mmol) de tri-(o-tolil)-fosfina en 1,2 ml de trietilamina se sometió a reflujo durante 4 horas. La trietilamina se evaporó, se suspendió con HCl 2N y acetato de etilo, las fases orgánicas se separaron, se lavaron con agua, se secaron sobre Na₂SO₄ y el disolvente se evaporó. Se obtuvieron 640 mg de producto. P.f. > 240°C.

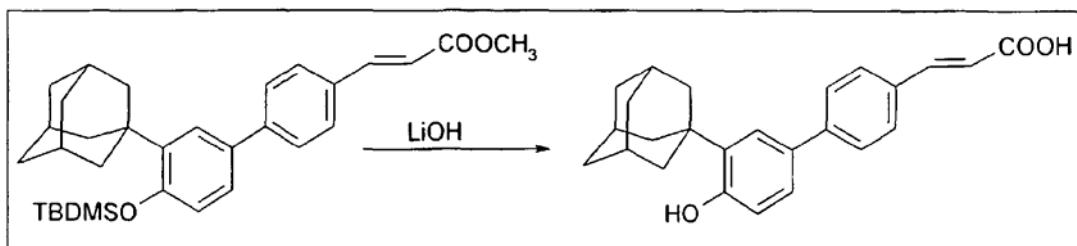
RMN de ¹H (DMSO-d₆) δ: 1,75 (6H), 2,1 (9H), 3,72 (s, 3H, OCH₃), 6,63 (d, 1H, J = 16 Hz), 6,85 (dd, 1H, J = 8,8, 1,8 Hz), 7,3-7,4 (2H arom.), 7,55-7,85 (5H), 9,55 (s, 1H, OH).

Ejemplo 4

Preparación de ácido E-4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)cinnámico (ST 1926)

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 4.

Esquema de síntesis 4



42 mg (1 mmol) de LiOH·H₂O se disolvieron en 8,2 ml de THF (tetrahidrofurano):H₂O 1:1, se añadieron 100 mg (0,2 mmol) de *E*-4-(3-(1-adamantilo)-4-terc-butildimetilsililoxifenil)cinnamato y la solución obtenida de esta manera se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. El THF se evaporó, se acidificó con HCl 2N, se extrajo con acetato de etilo y se secó sobre Na₂SO₄. Se filtró y se evaporó, después se sometió a cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Merck) con hexano:acetato de etilo 2:3, después 1:1, como eluyente. Se obtuvieron 55 mg de producto.

P.f. > 240°C. R_f = 0,50 (gel de sílice 60F₂₅₄ de Merk, EtOAc)

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 1,74 (6H, s, 6Ad.); 2,04 (3H, s, 3Ad.); 2,12 (6H, s, 6Ad.); 6,51 (1H, d, -CH=, J = 16,18 Hz); 6,85 (1H, d, 1 Ar, J = 8,82 Hz); 7,30-7,40 (2H, m, 2Ar); 7,55-7,63 (3H, m, 2Ar+ CH=); 7,70 (2H, d, 2Ar, J = 8,09 Hz); 9,54 (1H, s, -OH); 12,34 (1H, sa, -COOH).

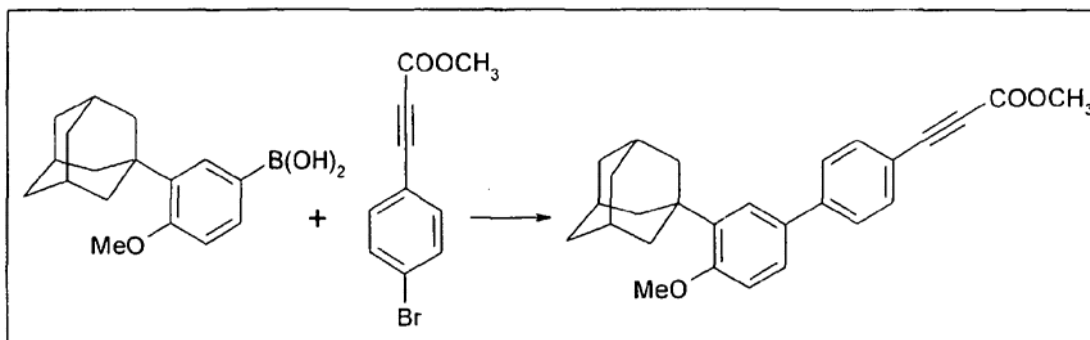
EM (m/z): 374 (M⁺, 100).

Ejemplo 5

Preparación de 4-(3-(1-adamantilo)-4-metoxifenil)propiolato de metilo

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 5.

Esquema de síntesis 5



301 mg (1,26 mmol) de 4-bromofenilpropiolato se disolvieron en 2,5 ml de tolueno, 1,34 ml de una solución acuosa de Na₂CO₃ 2 M, después se añadieron 43,7 mg de Pd-tetraquitrifenilfosfina, y finalmente 398 mg (1,39 mmol) de ácido 3-(1-adamantilo)-4-metoxifenilbórico, y la mezcla se sometió a reflujo durante 3 horas. El producto en bruto se suspendió en éter etílico, se lavó la fase orgánica con solución de NaCl saturada, se secó sobre Na₂SO₄, se evaporó hasta sequedad dando 570 mg de producto en bruto. Cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Merck) con hexano:acetato de etilo 2:1 como eluyente dio 15 mg de producto puro.

P.f. 175°C.

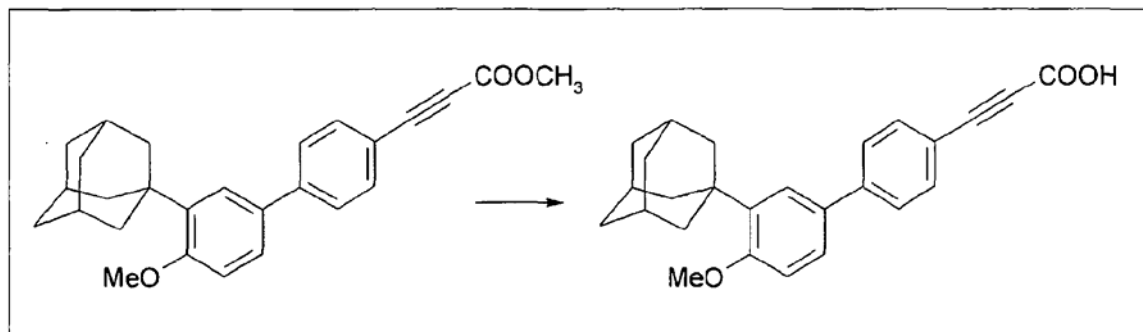
RMN de ¹H (CDCl₃) δ: 3,86 (s, 3H, OCH₃), 3,90 (s, 3H, OCH₃), 6,96 (d, 1H, J = 8,5), 7,43 (dd, 1H, J = 2,2, 8,5), 7,47 (d, 1H, J = 2,2), 7,55-7,70 (4H arom.).

Ejemplo 6

Preparación de ácido 4-(3-(1-adamantilo)-4-metoxifenil)propiólico (ST 1879)

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 6.

Esquema de síntesis 6



15 mg (0,0374 mmol) de *E*-4-(3-(1-adamantilo)-4-metoxifenil)propiolato de metilo se disolvieron en 2,14 ml de NaOH 0,7 N en metanol, y la mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. Se evaporó el metanol, se suspendió en agua, y se acidificó con HCl 6N, y se extrajo con éter etílico. Después de secar sobre Na₂SO₄ y teniendo evaporado el disolvente, el residuo se lavó con hexano, del que se obtuvieron después de filtración 10 mg de producto.

P.f. 156°C. Rf = 0,41 (gel de sílice 60F₂₅₄ de Merk, EtOAc/MeOH 2/1)

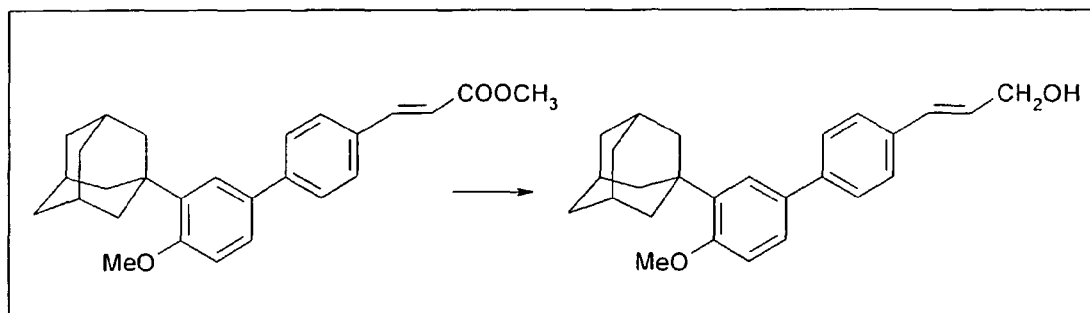
RMN de ¹H (DMSO-d₆) δ: 1,70 (s, 6H), 2,10 (s, 9H), 3,85 (s, 3H, OCH₃), 7,05 (d, 1H, J = 8,4, H-6'), 7,40 (d, 1H, J = 2, H-2'), 7,45-7,60 (3H arom.), 7,65 (2H arom.).

Ejemplo 7

10 Preparación de alcohol de E-4-(3-(1-adamantilo)-4-metoxifenil)cinnamilo

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 7.

Esquema de síntesis 7



15 Se añadieron 375 µl de una solución 1 M de LiAlH₄ en tetrahidrofurano (0,365 mmol) a 5 ml de tetrahidro-furano anhidro. Enfriando en un baño de hielo, se agitaron durante 1 hora en frío, 151 mg (0,375 mmol) de *E*-4-(3-(1-adamantilo)-4-metoxifenil)cinnamato de metilo (véase el Ejemplo 19), después durante toda una noche a temperatura ambiente. Congelados en un baño de hielo, se añadieron 5 ml de una solución acuosa de NH₄Cl al 10%, el tetrahidrofurano se evaporó y después se suspendió con acetato de etilo. La fase orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄. Evaporando el disolvente se obtuvieron 126 mg de producto en bruto, que se cromatografiaron en gel de sílice (Merck) con cloruro de metileno: hexano 3:1, después de nuevo con hexano:acetato de etilo 28:72 como eluyente, dando 11 mg de producto.

P.f. 148°C.

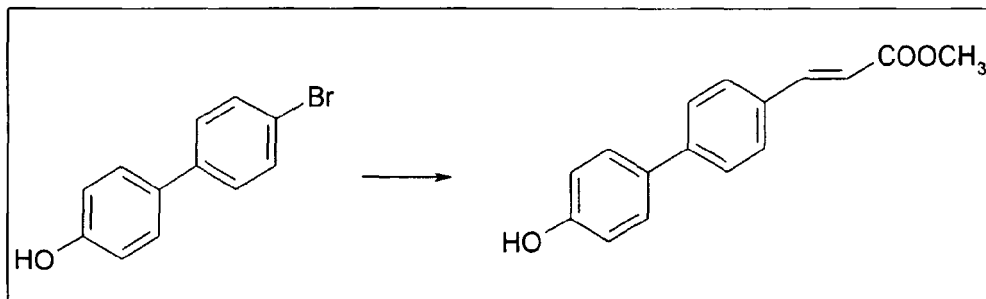
25 RMN de ¹H (CDCl₃) δ: 1,75 (s, 6H), 2,15 (9H), 3,90 (s, 3H, OCH₃), 4,38 (dd, 2H, J = 6, 1,6), 6,41 (dt, 1H, J = 6, 16, =CHCH₂OH), 6,67 (dd, 1H, J = 1,6, 16, ArilCH=), 6,96 (d, 1H, J = 8,3, H-6'), 7,42 (dd, 1H, J = 2,2, 8,3, H-5'), 7,45 (m, 2H, H-2 e H-6), 7,48 (d, 1H, J = 2,2, H-3'), 7,55 (m, 2H, H-3 e H-5).

EM m/z374 (M⁺).

Ejemplo 8

Preparación de E-4-4-hidroxifenil)cinnamato de metilo

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 8.

Esquema de síntesis 8

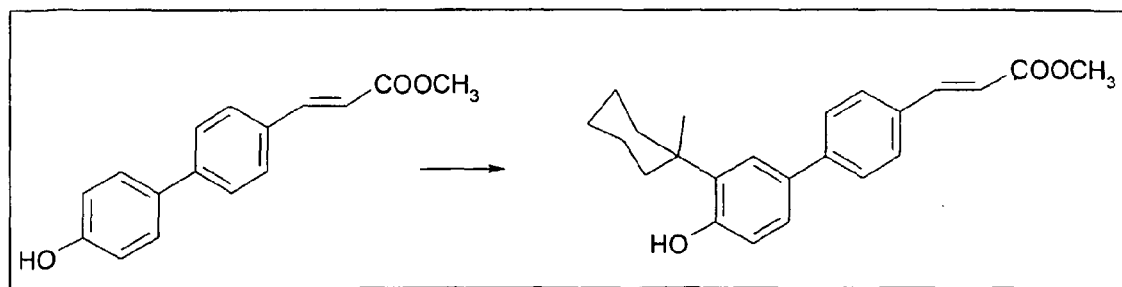
Una mezcla de 2 g (8,03 mmol) de 4-(4-bromofenil)fenol, 1,1 g (12,8 mmol) de acrilato de metilo, 18 mg (0,08 mmol) de acetato de paladio, y 94 mg (0,31 mmol) de tri-(o-tolil)fosfina en 3,7 ml de trietilamina se sometió a reflujo durante 6 horas. Se añadieron 6 mg de acetato de paladio adicionales y 30 mg de tri-(o-tolil)fosfina y se calentaron durante una hora, después se añadieron 30 mg de acetato de paladio adicionales y 94 mg de di-(o-tolil)fosfina y se calentaron durante 3,5 horas. Después la reacción se acidificó con HCl 6M, se añadió acetato de etilo y se agitó durante un tiempo para disolver el precipitado, las fases se separaron, la fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se evaporó. El producto en bruto (934 mg) se purificó tomando en hexano/éter etílico y se filtró aparte dando 1,7 g del producto del título.

M.p. 233-235°C

RMN de ¹H (CDCl₃) δ: 3,70 (s, 3H, OCH₃), 6,13 (d, 1H, CH=, J = 16), 6,82 (d, 2H, H-3' e H-5'), 7,48, d (2H, H-2' e H-6'), 7,6-7,75 (5H).

Ejemplo 9**Preparación de E-4-(3-(1-metilciclohexil)-4-hidroxifenil)cinnamato de metilo**

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 9.

Esquema de síntesis 9

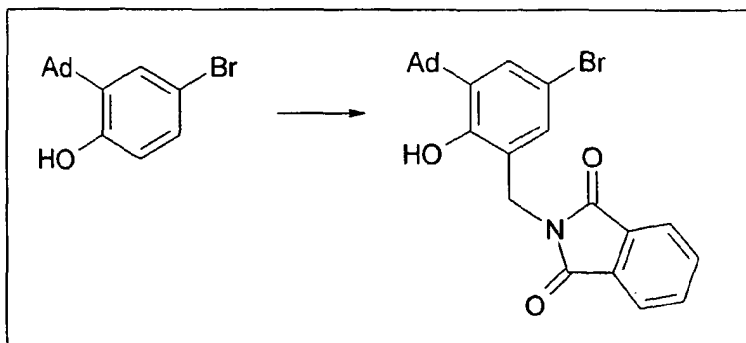
150 mg (0,6 mmol) de E-4-(4-hidroxifenil)cinnamato de metilo y 68,5 mg de 1-metil-1-ciclohexanol se disolvieron en 1,2 ml de CH₂Cl₂, se trataron con 0,032 ml de H₂SO₄ concentrado y la mezcla se sometió a reflujo durante un día. Se añadió agua y la mezcla se neutralizó con una solución de bicarbonato de sodio saturada. La fase acuosa se extrajo varias veces con acetato de etilo, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó. El producto en bruto resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Merck), con hexano:acetato de etilo 9:1 como eluyente. Se obtuvieron 20 mg de producto.

RMN de ¹H (acetona-d₆) δ: 1,43 (3H, s, -CH₃); 1,4-1,9 (8H, m, ciclohex.); 2,3-2,45 (2H, m, ciclohex.); 3,80 (3H, s, -OCH₃); 6,60 (1H, d, CH=, J = 16,18 Hz); 7,0 (1H, d, 1 Ar, J = 8,2 Hz); 7,44 (1H, dd, 1 Ar, J = 8,2 Hz, 2,2 Hz); 7,65 (1H, d, 1 Ar, J = 2,2 Hz); 7,7-7,85 (5H, m, 4Ar + CH =); 8,65 (1H, s, -OH).

Preparación de 2-(1-adamantil)-4-bromo-6-N-ftalimidometil)fenol

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 10.

Esquema de síntesis 10



5 A una solución de 500 mg (1,63 mmol) de 2-adamantilo-4-bromofenol en 7 ml de diclorometano se añadieron 289 mg (1,63 mmol) de N-hidroximetilftalimida y dos gotas de H₂SO₄ concentrado. La mezcla se sometió a reflujo durante tres horas, se diluyó con agua, y se extrajo con diclorometano. La evaporación del disolvente y la cromatografía sobre gel de sílice con hexano:acetato de etilo 80:20 como eluyente dio 348 mg (46%) de producto. P.f. 253°C.

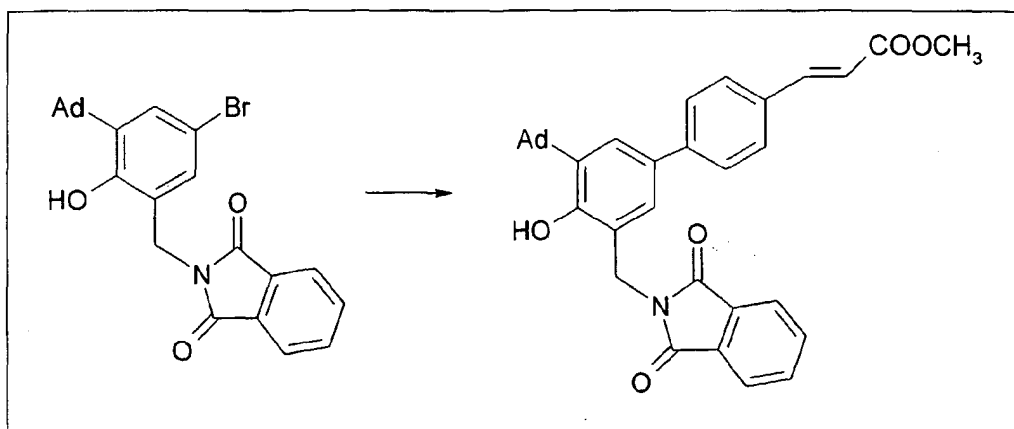
RMN de ¹H (CDCl₃) δ: 1,78 (6H, s, 6Ad.); 2,09 (3H, s, 3Ad.); 2,12 (6H, s, 6Ad.); 4,76 (2H, s, -CH₂-); 7,28 (1H, d, 1 Ar, J = 2,94 Hz), 7,45 (1H, d, 1 Ar, J = 2,94 Hz); 7,76 (2H, dd, 2Ar, J = 2,94 Hz, J = 5,52 Hz); 7,88 (2H, dd, 2Ar, J = 2,94 Hz, J = 5,52 Hz); 8,13 (1H, s, -OH).

Ejemplo 11

10 Reparación de E-4-(3-(1-adamantilo)-5-(N-ftalimidometil)-4-hidroxifenil)cinnamato de metilo

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 11.

Esquema de síntesis 11



15 Se suspendieron 100 mg de 2-(1-adamantilo)-4-bromo-6-N-ftalimidometilfenol en 1,6 ml de dioxano y en flujo de nitrógeno; se añadieron 59,7 mg de boro(bispinacolato), 63 mg de acetato de potasio anhidro, 5 mg de dicloro(difenilfosfinaferroceno)paladio y 103 mg de 4-bromocinnamato de metilo. Esto se sometió a reflujo durante 2 horas, se resuspendió en acetato de etilo, se acidificó con 1 ml de HCl 2M, la fase orgánica se lavó con una solución de NaCl saturada, se secó sobre Na₂SO₄, el disolvente se evaporó y se cromatografió en gel de sílice con hexano:acetato de etilo 65:35. Se obtuvieron 32 mg (27%) de producto. P.f. 216°C.

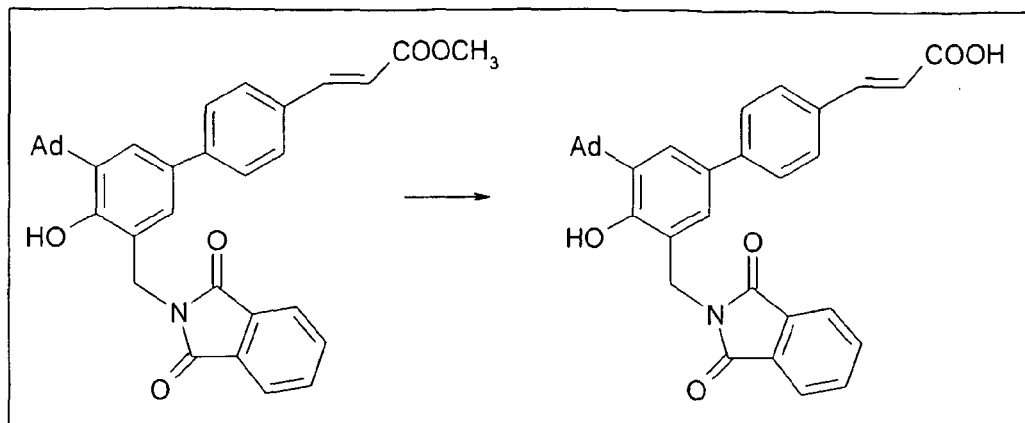
20 RMN de ¹H (CDCl₃) δ: 1,78 (6H, s, 6Ad.); 2,09 (3H, s, 3Ad.); 2,12 (6H, s, 6Ad.); 3,83 (3H, s, -OCH₃); 4,90 (2H, s, -CH₂-); 6,44 (1H, d, CH=, J = 16,18 Hz); 7,45-7,90 (11H, m, 10 Ar + CH=); 8,22 (1 H, s, -OH).

EM (m/z): 547 (M⁺, 100); 400 (30); 160 (30).

Ejemplo 12

Preparación de ácido E-4-(3-(1-adamantilo)-5-(N-ftalimidometil)-4-hidroxifenil)cinnámico

25 El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 12.

Esquema de síntesis 12

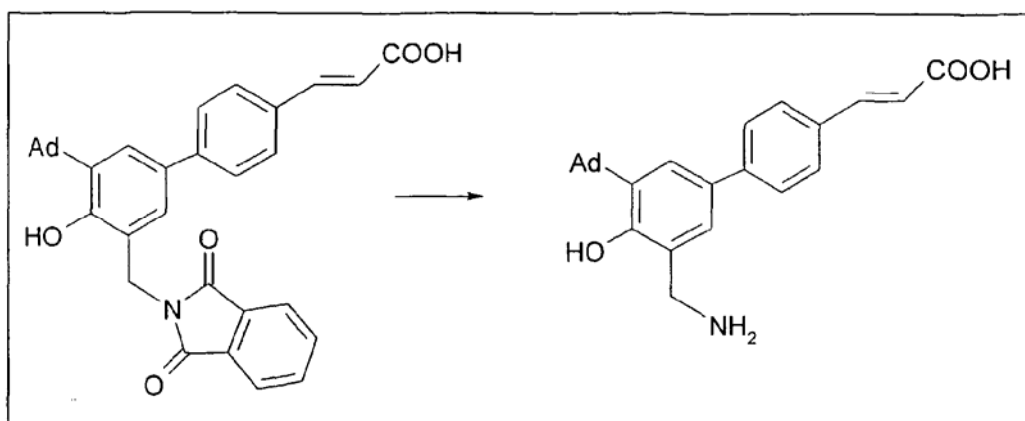
Se añadieron 30 mg de E-4-(3-(1-adamantilo)-5-(N-ftalimidometil)-4-hidroxifenil)cinnamato de metilo a 1 ml de una mezcla 3:1 de ácido acético y ácido clorhídrico al 37% y la mezcla se sometió a reflujo durante 30 horas. El ácido acético se evaporó, y después se suspendió con agua, el residuo sólido se filtró y se lavó con agua. Se obtuvieron 24 mg de producto. P.f. 216°C.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,73 (6H, s, 6Ad.); 2,04 (3H, s, 3Ad.); 2,12 (6H, s, 6Ad.); 4,81 (2H, s, -CH $_2$ -); 6,45 (1H, d, -CH=, J = 16,18 Hz); 7,07 (1H, d, 1 Ar, J = 1,01 Hz); 7,30 (1H, d, 1Ar, J = 1,01 Hz); 7,46 (2H, dd, 2Ar, J = 8,82 Hz, J = 1,01 Hz); 7,53 (1H, d, -CH=, J = 16,18 Hz); 7,64 (2H, dd, 2Ar, J = 8,82 Hz, J = 1,84 Hz); 7,78-7,94 (4H, m, 4Ar); 8,60 (1H, s, -OH); 12,5 (1H, sa, COOH).

EM (m/z): 533 (M^+ , 100); 386 (40); 160 (60) 130 (50).

Ejemplo 13**Preparación de ácido E-4-(3-(1-adamantilo)-5-(aminometil)-4-hidroxifenil)cinnámico**

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 13.

Esquema de síntesis 13

Se suspendieron 20 mg de ácido E-4-(3-(1-adamantilo)-5-(N-ftalimidometil)-4-hidroxifenil)cinnámico en 0,15 ml de metanol, se añadieron 0,013 ml de hidrato de hidrazina y la mezcla se calentó durante 5 horas a 50°C. El disolvente se retiró, se resuspendió en agua, se acidificó con HCl 2M y el precipitado se filtró al vacío. El producto en bruto se secó, se trató con tetrahidrofurano para disolver la ftalilhidrazida, y se filtró.

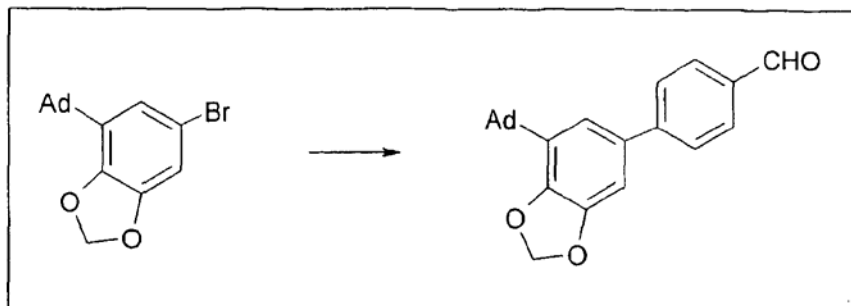
P.f. 195°C

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,73 (6H, s, 6Ad.); 2,04 (3H, s, 3Ad.); 2,12 (6H, s, 6Ad.); 4,00 (2H, s, -CH $_2$ -); 6,45 (1H, d, -CH=, J = 16,18 Hz); 7,07-8,00 (5H, m, 5Ar).

Ejemplo 14

Preparación de 4-(7-adamantan-1-il-benzo(1,3)dioxol-5-il)-benzaldehído

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 14.

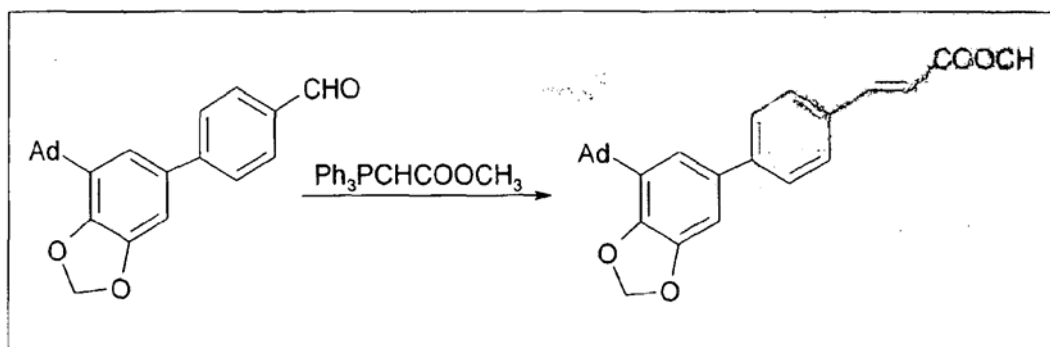
Esquema de síntesis 14

- 5 0,875 g (2,61 mmol) de 4-adamantan-1-il-6-bromo-benzo(1,3)dioxol se disolvieron en 5,2 ml de tolueno y se añadieron 2,6 ml de solución acuosa 2 M de Na_2CO_3 , 0,090 g (0,08 mmol) de tetraquis-trifenilfosfina-paladio y una solución de 0,430 g (2,87 mmol) de ácido 4-formilbencenobórico en 1,2 ml de etanol. Esto se sometió a reflujo durante 7 horas en corriente de nitrógeno. Esto se enfrió, se suspendió en acetato de etilo y se lavó con solución de NaCl saturada. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y el disolvente se evaporó. Después de cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Merck), con hexano:acetato de etilo 9:1 como eluyente, se obtienen 0,66 g de producto (70%).

10 RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,80 (6H, s, 6Ad.); 2,09 (3H, s, 3Ad.); 2,12 (6H, s, 6Ad.); 6,02 (2H, s, $-\text{CH}_2-$); 7,01 (1H, d, 1 Ar, $J = 1,86$ Hz); 7,04 (1H, d, 1Ar, $J = 1,86$ Hz); 7,68 (2H, d, 2Ar, $J = 8,19$ Hz.); 7,92 (2H, d, 2Ar, $J = 8,19$ Hz.); 10,02 (1H, s, $-\text{CHO}$).

Ejemplo 15**Preparación de E-4-(7-adamantan-1-il-benzo(1,3)dioxol-5-il)-cinnamato de metilo**

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 15.

Esquema de síntesis 15

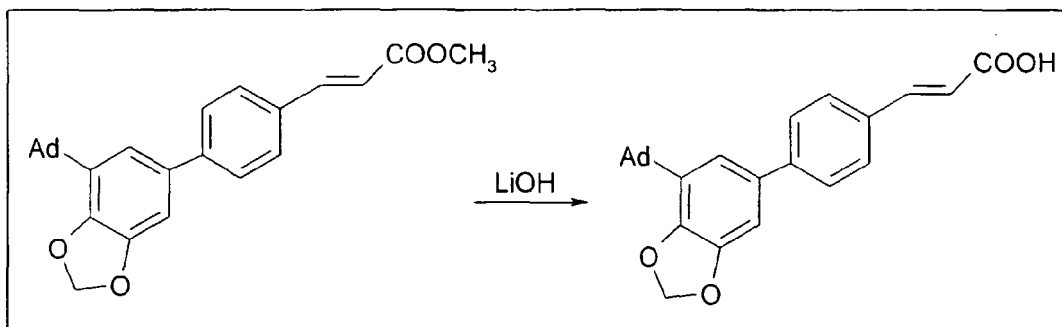
- 20 Una solución de 300 mg de 4-(7-adamantan-1-il-benzo(1,3)dioxol-5-il)-benzaldehído en 4,5 ml de CHCl_3 se trató en nitrógeno con 278 mg de trifenilfosforanilidenoacetato y se sometió a reflujo durante 5 horas, con otra adición de iluro (20%) después de 3 horas. Al final de este periodo el disolvente se evaporó, y el residuo se cromatografió en gel de sílice con hexano:diclorometano 45:55 como eluyente. Se obtuvieron 298 mg de producto. P.f. 205°C.

- 25 RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,72 (6H, s, 6Ad.); 2,06 (3H, s, 3Ad.); 2,12 (6H, s, 6Ad.); 3,80 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); 5,97 (2H, s, $-\text{CH}_2-$); 6,44 (1H, d, $-\text{CH}=\text{C}$, $J = 16$ Hz); 6,95 (1H, d, 1 Ar, $J = 1,86$ Hz); 6,98 (1H, d, 1 Ar, $J = 1,86$ Hz); 7,52-7,58 (4H, m, 4Ar); 7,71 (1H, d, $-\text{CH}=\text{C}$, $J = 16$ Hz).

Ejemplo 16**Preparación de ácido E-4-(7-adamantan-1-il-benzo(1,3)dioxol-5-il)-cinnámico**

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 16.

Esquema de síntesis 16



200 mg (0,48) de E-4-(7-adamantan-1-il-benzo(1,3) dioxol-5-il)-cinnamato de metilo se suspendieron en una solución de LiOH.H₂O en 25 ml de THF/H₂O 3:2 y se mantuvieron agitándose durante toda una noche a temperatura ambiente. El THF se evaporó, la suspensión de carboxilato se lavó con hexano, después se acidificó con HCl 2N y se congeló en un baño de hielo. Después de la filtración se obtuvieron 150 g (78%) de producto.

P.F. > 300°C. R_f = 0,59 (gel de sílice 60F₂₅₄ de Merck, EtOAc/Hexano 9/1).

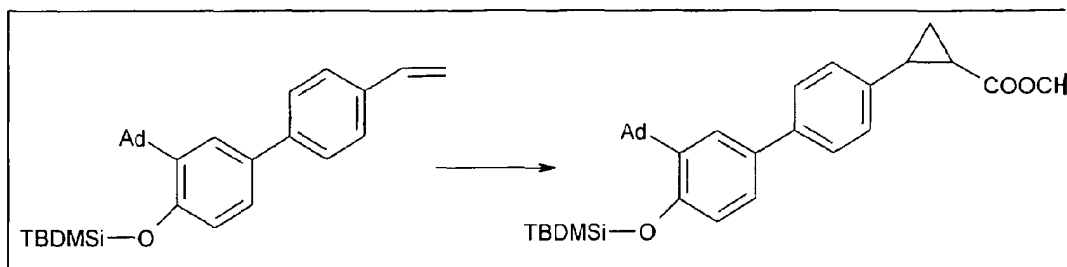
RMN de ¹H (DMSO-d₆) δ 1,72 (6H, s, 6Ad.); 2,01 (3H, s, 3Ad.); 2,12 (6H, s, 6Ad.); 6,01 (2H, s, -CH₂-); 6,52 (1H, d, -CH=, J = 16,18 Hz); 6,99 (1H, d, 1Ar, J = 1,01 Hz); 7,14 (1H, d, 1 Ar, J = 1,01 Hz); 7,60 (1H, d, -CH=, J = 16,18 Hz); 7,62 (2H, dd, 2Ar, J = 8,46 Hz, 1,84 Hz); 7,68 (2H, dd, 2Ar, J = 8,46 Hz, 1,84 Hz).

10 **Ejemplo 17**

Preparación de 2-β-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)-1-ciclopropanocarboxilato de metilo

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 17.

Esquema de síntesis 17



0,5 mg de bihadrato tetraacetato de rodio y 36 µl de diazoacetato de etilo se añadieron a una solución de 150 mg de (3-adamantan-1-il-4'-vinilbifenil-4-oxi)-terc-butildimetilsilano, preparado a partir del correspondiente aldehído a través de reacción de Wittig, en 2 ml de diclorometano. La reacción se dejó durante 5 días a temperatura ambiente, con la adición de un total de 5 mg de catalizador y 10 µl de diazoacetato de etilo. El catalizador se filtró a través de celite, se seca sobre sulfato de sodio, se evaporó, se cromatografió en gel de sílice con una mezcla 65:35 de hexano:acetato de etilo.

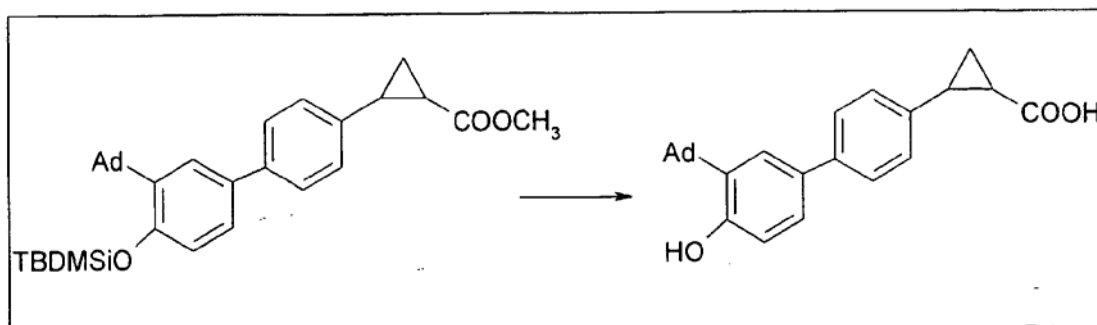
Se obtuvieron 43 mg de una mezcla de los dos diastereómeros cis y trans.

RMN de ¹H (CDCl₃) δ: 0,45 (6H, s, -Si (CH₃)); 0,95 (3H, t, -CH₃, J = 7 Hz); 1,1 (9H, s, tBu); 1,25 (3H, t, -CH₃, J = 7 Hz); 1,35-1,55 (1H, m, 1-CH₂); 1,55-1,74 (1H, m, 1-CH₂); 1,79 (6H, s, 6Ad.); 1,95 (1H, m, -CH-COOEt) 2,07 (3H, s, 3Ad.); 2,12 (6H, s, 6Ad.); 2,48-2,65 (1H, m, -CH-Ar); 3,85 (2H, c, -OCH₂, J = 7 Hz); 4,18 (2H, c, -OCH₂, J = 7 Hz); 6,82 (1H, dd, 1 Ar, J = 1,01 Hz, 8,46 Hz); 7,15 (1H, d, 1Ar, J = 8,46 Hz); 7,25 (2H, dd, 2Ar, J = 8,0 Hz, 1,84 Hz); 7,45-7,50 (3H, m, 3Ar).

Ejemplo 18

Preparación de los ácidos cis 2-(4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico y trans 2-(4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Los compuestos del título se prepararon según el siguiente esquema de síntesis 18.

Esquema de síntesis 18

Se añadieron 113 mg de KF en Al_2O_3 finamente picado (40%) a una solución de 2-[4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)]ciclopropanocarboxilato de metilo (110 mg) en 4,4 ml de dimetoxietano, y se agitaron a temperatura ambiente durante 2 días. Después de filtración, el disolvente se evaporó, el producto en bruto se añadió a una solución de 63 mg de $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ en 12,4 ml de tetrahidrofurano al 50% en agua. Esto se agitó a temperatura ambiente durante tres días, el disolvente se evaporó, se extrajo con éter etílico, se acidificó con HCl 2M, y se extrajo con acetato de etilo. Después de evaporación, el producto (58 mg) se cromatografió en gel de sílice con hexano:acetato de etilo 40:60. Se obtuvieron 6 mg de ácido trans-2-4-[(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)]-ciclopropanocarboxílico P.f. 190°C , 10 mg de una mezcla de diastereoisómeros y 20 mg de cis-2-[4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)]ciclopropanocarboxílico.

P.f. 204°C

$R_f = 0,23$ cis; $0,44$ trans (Merck gel de sílice 60F $_{254}$, EtOAc/Hexano 6/4)

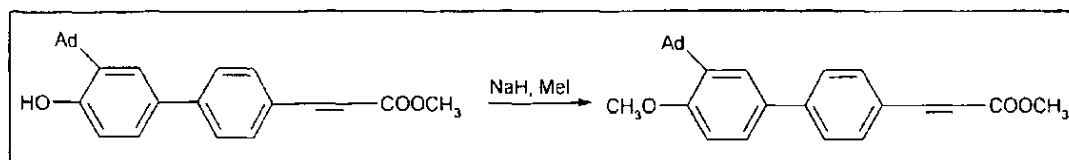
RMN de ^1H (MeOD) δ Trans: 1,45-1,50 (1H, m, 1- CH_2); 1,60-1,65 (1H, m, 1- CH_2); 1,95-2,0 (7H, m, - CH-COOEt + 6Ad.) 2,2 (3H, s, 3Ad.); 2,35 (6H, s, 6Ad.); 2,50-2,58 (1H, m, - CH-Ar); 6,84 (1H, d, 1 Ar, $J = 8,46$ Hz); 7,24 (2H, dd, 2Ar, $J = 7,35$ Hz, $J = 1,01$ Hz); 7,31 (1H, dd, 1 Ar, $J = 8,46$ Hz, $2,57$ Hz); 7,42 (1H, d, 1 Ar, $J = 2,57$ Hz); 7,52 (2H, dd, 2Ar, $J = 7,35$ Hz, $J = 1,01$ Hz).

RMN de ^1H (MeOD) δ Cis: 1,40-1,50 (1H, m, 1- CH_2); 1,70-1,75 (1H, m, 1- CH_2); 1,95-2,0 (6H, s, 6Ad.); 2,10-2,15 (4H, m, 3Ad + - CH-COOH); 2,30 (6H, s, 6Ad.); 2,70-2,78 (1H, m, - CH-Ar); 6,83 (1H, d, 1 Ar, $J = 8,46$ Hz); 7,30 (1H, dd, 1 Ar, $J = 8,46$ Hz, $2,57$ Hz); 7,38 (2H, dd, 2Ar, $J = 7,30$ Hz, $J = 1,01$ Hz); 7,42 (1H, d, 1 Ar, $J = 2,57$ Hz); 7,49 (2H, dd, 2Ar, $J = 7,30$ Hz, $J = 1,01$ Hz).

EM (m/z): 388: (M^+ , 100); 135 (50).

Ejemplo 19**Preparación de E-4-(3-(1-adamantilo)-4-metoxifenil)cinnamato de metilo**

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 19.

Esquema de síntesis 19

A una suspensión de NaH (60% en aceite mineral, 66 mg, 2,74 mmol) en 3,3 ml de DMF, en N_2 , se añadieron 969 mg (2,49 mmol) de E-4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxicinnamato. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, después se hicieron gotear 186 μl (2,99 mmol) de CH_3I .

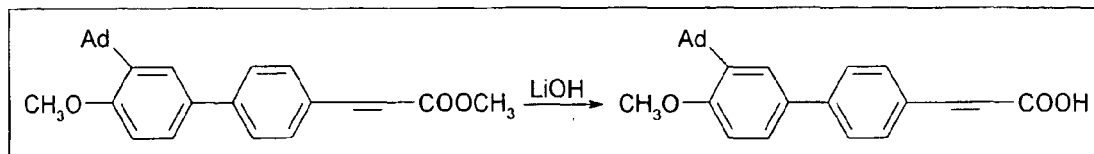
La reacción se deja toda la noche a temperatura ambiente; después de la adición de 80 ml de agua fría se extrajo la fase acuosa con CH_2Cl_2 (4 x 60 ml). Las fases orgánicas se lavaron con agua, se secaron sobre Na_2SO_4 y el disolvente se evaporó. Se obtuvieron 972 mg de producto (97%).

RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,75 (6H), 2,1 (9H), 3,75 (s, 3H, OCH_3), 3,80 (s, 3H, - COOCH_3); 6,40 (d, 1H, $\text{CH} =$, $J = 16$ Hz), 6,90 (d, 1H, 1 Ar, $J = 8,8$ Hz), 7,35 (dd, 1H, 1 Ar, $J = 8,8$, $1,8$ Hz); 7,42 (d, 1H, 1 Ar, $J = 1,8$ Hz); 7-48-7,53 (m, 4H, 4 Ar); 7,65 (d, 1H, $\text{CH} =$, $J = 16$ Hz).

Ejemplo 20

Preparación de ácido C-4-(3-(1-adamantilo)-4-metoxifenil)cinnámico**(ST 1898)**

El compuesto del título se preparó según el siguiente esquema de síntesis 20.

Esquema de síntesis 20

5

Se disolvieron 455 mg (10,8 mmol) de LiOH.H₂O en 90 ml de THF:H₂O 1:1; se añadieron 873 mg (2,17 mmol) de *E*-4-(3-(1-adamantilo)-4-metoxifenil)cinnamato y la solución obtenida de esta manera se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 2 días. El THF se retiró, se acidificó con HCl 2N y el precipitado blanco se filtró. El sólido se lavó con AcOEt y Et₂O, obteniéndose 792 g (94%) del compuesto del título.

10 $R_f = 0,28$ (gel de sílice 60F₂₅₄ de Merck, EtOAc/Hexano 9/1)

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 1,74 (6H, s, 6Ad.); 2,04 (3H, s, 3Ad.); 2,12 (6H, s, 6Ad.); 3,75 (3H, s, -OCH₃); 6,50 (1H, d, -CH=, J = 16 Hz); 6,98 (1H, d, 1Ar, J = 8,8 Hz); 7,40-7,70 (7H, m, 6Ar + CH =); 12,3 (1H, sa, -COOH).

Citotoxicidad de ST 1926 para líneas celulares tumorales15 **Para llevar a cabo las pruebas de citotoxicidad, se usaron dos líneas celulares de leucemia promielocítica aguda (APL).**

1. Línea celular NB4, que lleva la translocación cromosómica t(15; 17) que genera la proteína de condensación PML/RAR. Esta línea celular es extremadamente sensible a la acción de diferenciación de dosis farmacéuticas de ATRA (10⁻⁷-10⁻⁶ M);

20

2. Línea celular HL60, que responde a ATRA menos sensiblemente con respecto a línea celular NB4. Esta línea celular no transporta la translocación cromosómica mencionada anteriormente.

Estas líneas celulares se mantuvieron en RPMI 1640 que contenía suero de ternera fetal al 10% (FCS) y glutamina al 1%.

Se usaron también diferentes líneas celulares de tumores sólidos.

25

1. PC3 y DU145 de carcinoma de próstata humano. Estas líneas celulares se mantuvieron en medio RPMI 1640 que contiene FCS al 10%, piruvato de sodio al 1% y glutamina al 1%;

2. Adenocarcinoma de colon humano LoVo. Esta línea celular se mantuvo en medio F-12 de HAM, que contiene FCS al 10% y glutamina al 1%.

30

3. Carcinoma ovárico humano tal como A2780 y A2780/Dx, sensible y resistente a fármacos, respectivamente (doxorubicina, taxol, etopósido, vincristina); IGROV-1 e IGROV-1/Pt, sensibles y resistentes a quimioterapia con base de platino, respectivamente, se mantuvieron en medio RPMI 1640 que contiene FCS al 10%, piruvato de sodio al 1% y glutamina al 1%;

4. Melanoma humano y MeWo MeS 2,21, glioblastoma GBM, carcinomas de pulmón amicrocíticos A431, NCI-H460, osteosarcomas U20S SAOS y RPM11640 se mantuvieron en medio que contiene FCS al 10%, piruvato de sodio al 1% y glutamina al 1%.

35

Los ensayos de citotoxicidad se llevaron a cabo usando células NB4 o HL-60 en suspensión (10000/pocillo). Las células se sembraron en un volumen de 250 µl en placas de 96 pocillos y se incubaron durante 24 horas a 37°C. El día siguiente, se añadió compuesto de ensayo ST 1926 [ácido (2E)-3-[3'-(1-adamantil)-4'-hidroxi[1,1'-bifenil]-4-il]-2-ácido propenoatético] en concentraciones crecientes, y las células se incubaron durante 24 horas adicionales a 37°C en una atmósfera humidificada, que contenía CO₂ al 5%. En el 3º día, el medio se retiró centrifugando la placa a 1600 x g durante 10 minutos y el sobrenadante se decantó. Se añadieron 250 µl de PBS; después las placas se centrifugaron de nuevo a 1600 x g durante 10 minutos y el sobrenadante se decantó. Se añadieron 200 µl/pocillo de medio RPMI 1640 que contiene FCS al 10% y las placas se incubaron a 37°C durante otras 48 horas. En el 5º día, las placas se centrifugaron de nuevo a 1600 x g durante 10 minutos, y el medio se retiró volcando las placas, se añadieron 200 µl de PBS y 50 µl de TCA al 80%, frío. Las placas se dejaron incubar después en hielo durante al menos 1 hora. El TCA se eliminó volcando; las placas se lavaron tres veces por inmersión en agua destilada y se secaron primero en papel, después con un chorro de aire caliente. A todos los pocillos se añadieron 200 µl de sulforrodamina B al 0,4% en ácido

40
45

5 acético al 1%. El complejo se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos adicionales. La sulforrodamina B se eliminó volcando, las placas se lavaron por inmersión en ácido acético al 1% tres veces, después se secaron en primer lugar con papel absorbente, después con un chorro de aire caliente. Se añadieron 200 µl de base de Tris 10 mM en todos los pocillos y las placas se agitaron durante al menos 20 min. La densidad óptica se midió usando un espectrofotómetro Multiskan 540 nm.

Para las células adherentes, el procedimiento a adoptarse fue el mismo, mientras que el lavado de las placas en el 3º día, se llevó a cabo volcando seguido por la adición de PBS tres veces y no por centrifugación a 1600 x g. Además en el 5º día, el sobrenadante se retiró volcando las placas.

10 La supervivencia celular se determinó por incubación con ST1926 durante 24 horas, 48 horas después de la eliminación del compuesto. La incubación con el producto durante 24 horas fue capaz de inhibir proliferación celular en una manera dependiente de concentración. La Tabla 1 muestra los valores de CI_{50} (concentración de producto que inhibe la supervivencia celular en un 50%), calculados para cada línea celular tumoral estudiada. ST1926 ha demostrado una citotoxicidad mayor de alrededor de 10 veces para la línea celular tumoral de leucemia promielocítica humana NB4 ($CI_{50} = 0,022 \mu M$) con respecto a aquellas calculadas para las otras líneas tumorales.

15 **Tabla 1**

Citotoxicidad celular de ST1926	
Línea celular	CI_{50} (μM)
Leucemia promielocítica	
NB4	0.02
HL-60	0.2
Carcinoma de próstata	
PC3	0.21
DU145	0.10
Carcinoma de colon	
LoVo	0.24
Carcinoma ovárico	
A2780	0.10
A2780L/DX	0.20
IGROV-1	0.23
IGROV-1/Pt	0.33
Melanoma	
Me Wo	0.23
MeS 2,21	0.23
Glioblastoma	
GBM	0.18
Carcinoma pulmonar	
A431	0.25
NCI-H460	0.19

Osteosarcoma	
SAOS	0.25
U20S	0.26

Ejemplo 9

Evaluación del efecto de ST1926 en el ciclo celular tumoral

Para evaluar el efecto del compuesto según la invención, en diversas fases del ciclo celular, se llevaron a cabo análisis de ciclo celular fluorimétricos.

- 5 Las células HL60 o NB4 se sembraron sobre placas a una densidad de 150.000 células/ml en medio RPMI 1640 conteniendo FCS al 10%, el compuesto de prueba (ST 1926) se añadió, se solubilizó al 0,1% en DMSO a concentraciones de entre 0,01 y 0,1 μ M, en presencia o ausencia de dosis subóptima de ATRA (5-10 nM para NB4 y 0,5 μ M para HL60) en la oscuridad y se situó después en una incubadora durante 3 días sin cambiar el medio de cultivo.
- 10 En el tercer día de tratamiento se muestrearon 500.000 células, se centrifugaron a 180 x g durante 5 minutos, se lavaron dos veces en PBS libre de calcio y magnesio. Las células (1×10^6 /ml de fijador) se fijaron durante al menos 1 hora en una mezcla de fijación que constaba de acetona/metanol 1:4 v/v mantenida a -20°C y el 50% de calcio y magnesio libre de PBS; después las células se centrifugaron, se lavaron en PBS libre de calcio y magnesio y de nuevo se centrifugaron y se lavaron. El precipitado celular se incubó durante 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente con 200 μ l de yodato de propidio (100 μ g/ml) y 200 μ l de RNAsa (150 KU/mg).

Las muestras se filtraron a través de filtros de nailon (60-80 μ m de diámetro) y se analizaron por citofluorímetro FACScan (Becton Dickinson), adquiriendo 20000 eventos/muestra, a una longitud de onda de excitación de 488 nm y a una emisión longitud de onda de 620 nm. El análisis de los porcentajes de las fases del ciclo celular se llevó a cabo usando un paquete de software dedicado, Modfitv. 2.0 (Becton Dickinson).

- 20 Para el análisis de ciclo celular de las células de carcinoma de próstata PC3, las células se siembran en placas a una densidad de 500000 células/ml en medio RPMI. Después de tratamiento con compuesto ST1926 durante 24 horas, las células se analizaron como se describe anteriormente.

Ejemplo 9/1

Evaluación del efecto de ST1926 en el ciclo celular de células de leucemia promielocítica humana NB4

- 25 El análisis del efecto de tratamiento con ST1926 (durante 3 días) en el ciclo celular de NB4 ha mostrado que el compuesto según esta invención a concentraciones de 0,08 y 0,1 μ M induce detención de crecimiento en la fase S de duplicación del ciclo e induce apoptosis. Los resultados obtenidos se comunican en la Tabla 2.

Tabla 2.

Efecto de ST1926 en el ciclo celular de NB4				
TRATAMIENTO	G0/G1	S	G2+M	APOPTOSIS
CONTROL	53.4	35.5	11.1	26.6
ST1926 0,01 μ M	48.4	38.8	12.8	19.9
ST1926 0,02 μ m	48.2	39.4	12.4	28.4
ST1926 0,04 μ M	51.3	35.7	13.0	33.9
ST1926 0,08 μ M	41.4	53.6	5.0	45.0
ST1926 0,1 μ M	50.6	46.1	3.3	53.6

30 **Ejemplo 9/2**

Evaluación del efecto de ST1926 en el ciclo celular de células de leucemia promielocítica humana HL-60

El análisis del efecto del tratamiento con ST1926 en el ciclo celular en células HL-60 durante tres días de tratamiento muestra que a una concentración de 0,5 y 1 μ M, el ciclo celular no es medible, sin embargo, el compuesto ha

demostrado un fuerte efecto pro-apoptótico. **Los resultados se comunican en la Tabla 3.**

Tabla 3

Efecto de ST1926 en el ciclo celular de células promielocíticas humanas HL-60				
TRATAMIENTO	G0/G1	S	G2+M	APOPTOSIS
CONTROL	57.9	30.9	11.2	10.5
ST1926 0,0025 µM	54.9	33.4	11.7	8
ST1926 0,005 µM	53.4	34.4	12.2	14.0
ST1926 0,01 µM	52.0	35.4	12.6	12.5
ST1926 0,05 µM	45.0	42.0	13.0	13.0
ST1926 0,1 µM	39.9	46.8	13.3	27.5
ST1926 0,5 µM	n.e.	n.e.	n.e.	82
ST1926 1 µM	n.e.	n.e.	n.e.	86.5

Ejemplo 9/3

5 **Efecto de ST1926 en el ciclo celular de carcinoma de células PC3 de la próstata**

El análisis del efecto de tratamiento durante 24 horas con ST1926 en el ciclo celular de PC3 ha mostrado que inmediatamente al final del tratamiento, los compuestos probados indujeron apoptosis a la concentración más alta examinada (0,4 µM); después de 24 horas de recuperación celular, las células se acumularon en fase S, mientras que a una concentración de 0,4 µM se indujo apoptosis celular.

10 Los resultados obtenidos se comunican en la Tabla 4.

Tabla 4

Efecto de ST1926 en el ciclo celular de células PC3 de carcinoma de próstata humano				
TRATAMIENTO	G0/G1	S	G2+M	APOPTOSIS
24 horas de tratamiento y 0 horas de recuperación				
CONTROL	54.8	24.6	20.6	8
ST1926 0,02 µM	54.0	24.2	21.8	9
ST1926 0,05 µM	55.8	23.6	20.6	11
ST1926 0,1 µM	52.0	35.4	28.0	10
ST1926 0,2 µM	n.v.	n.v.	n.v.	13.5
ST1926 0,4 µM	n.v.	n.v.	n.v.	25
24 horas de tratamiento y 0 horas de recuperación				
24 horas de tratamiento y 24 horas de recuperación				
CONTROL	49.9	31.8	22.3	10.5

ST1926 0,02 µM	44.6	30.4	25.0	13
ST1926 0,05 µM	44.9	29.5	25.6	15
ST1926 0,1 µM	45.8	25.8	28.4	10
ST1926 0,2 µM	31.8	43.2	25.0	13
ST1926 0,4 µM	n.e.	n.e.	n.e.	26

Actividad citotóxica in vitro de ST1926 en combinación con TRAIL (ligando inductor de apoptosis relacionado con Factor de Necrosis Tumoral)

5 Los linfocitos conjuntamente con células Asesinas Naturales son responsables de producción de TRAIL (ligando inductor de apoptosis relacionado con Factor de Necrosis Tumoral) un miembro de la familia de citocinas TNF (Factor de Necrosis Tumoral). Esta proteína de membrana induce apoptosis en una amplia diversidad de células transformadas y a diferencia de otros miembros de esta familia, ella no parece ser citotóxica para células normales *in vitro*. TRAIL induce apoptosis interactuando con dos receptores de muerte que contienen dominios de muerte DR4 y DR5. Por lo tanto, TRAIL se considera que es una citocina inductora de apoptosis, selectiva de tumor y un candidato prometedor nuevo para prevención y tratamiento (Neoplasia, 6: 535-546, 2001).

10 Un estudio de citotoxicidad de ST1926 en combinación con TRAIL se llevó a cabo en dos diferentes líneas celulares tumorales tales como carcinoma pulmonar murino M109 y carcinoma ovárico humano multifármaco resistente A2780/Dx. Las células se mantuvieron en medio RPMI1640 que contiene FCS al 10%, piruvato de sodio al 1% y glutamina al 1%.

15 Las células se sembraron en un volumen de 250 µl en placas de 96 pocillos y se incubaron durante 24 horas a 37°C. El día siguiente, se añadió el compuesto de ensayo ST 1926 [(2E)-3-[3'-(1-adamantilo)-4'-hidroxi][1,1'-bifenil-4-ic-2-propenoato/ácido (2E)-3-[3'-(1-adamantilo)-4'-hidroxi][1,1'-bifenil-4-5-2-propenoico] o TRAIL en concentraciones crecientes, y las células se incubaron durante otras 72 horas a 37°C en una atmósfera humidificada, que contenía el CO₂ al 5%. En el 5º día, el sobrenadante se retiró volcando las placas. Se añadieron 200 µl de PBS y 50 µl de TCA frío al 80%. Las placas se dejan después incubar sobre hielo durante al menos una hora. La TCA se eliminó volcando; las placas se lavaron tres veces por inmersión en agua destilada y se secaron primero en papel, después con un chorro de aire caliente. A todos los pocillos se añadieron 200 µl de sulforrodamina B al 0,4% en ácido acético al 1%. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos adicionales. La sulforrodamina B se eliminó volcando, las placas se lavaron por inmersión en ácido acético al 1% tres veces, después se secaron primeramente con papel absorbente, después con un chorro de aire caliente. Se añadieron 200 µl de base de Tris 10 mM en todos los pocillos y las placas se agitaron durante al menos 20 min. La densidad óptica se midió usando un espectrofotómetro Multiskan 540 nm.

25 La interacción entre ST1926 y TRAIL se determinó usando el análisis de Drewinko y col. (Cancer Biochem. Biophys. 1: 187-195, 1976).

30 El análisis se llevó a cabo como sigue:

(SFaxSFb/Sfa+SFb)/100, donde SFa fue la fracción superviviente de ST1926 y SFb fue la fracción de supervivencia de TRAIL.

Los valores indicaron los efectos siguientes:

Un valor > 1 sinergismo, < 1 antagonismo, = 1 ningún efecto.

35 En ambas líneas celulares, ST1926 mostró una actividad sinérgica con TRAIL (figura 1 y 2).

Actividad antitumoral de ST1926 en los modelos de carcinoma pulmonar murino M109 y 3LL

40 Las células de adenocarcinoma pulmonar murino Madison 109 (M109) se mantuvieron por paso de fragmentos tumorales s.c.. El día de la inoculación, la suspensión celular se inyectó i.m. en el miembro trasero izquierdo de un ratón BALB/c macho de 20 g a una densidad de 3×10^5 células/ratón. Carcinoma pulmonar de Lewis murino 3LL se mantuvo rutinariamente por pasos i.m. (cada 10-14 días) de 1×10^5 células/ratón en ratones C57BL/6J. Para experimentos de actividad antitumoral, se escindieron de tumores de ratones donantes y después se valoró desegregación mecánica y viabilidad celular por la prueba de exclusión de tinción con azul de tripano. Después, 1×10^5 células/100 (µl se inyectaron i.m. en en el músculo de la pata trasera derecha de ratones C57BL/6J.

45 Las medidas de la dimensión del tumor se llevan a cabo usando un calibre digital (Calibre Vernier) desde el día en la que la masa llegó a ser medible, dos veces semanalmente. La masa del tumor se evaluó a partir del tamaño de dos

dimensiones principales (longitud y anchura), expresados en mm, aplicando la fórmula $(\text{longitud} \times \text{anchura}^2)/2$ es decir, el volumen de tumor en mm^3 . Para cada grupo experimental el porcentaje de inhibición del volumen del tumor (TVI%) se calculó, con respecto a aquel del control que es $(100-(T/C\%))$. Se evaluó TVI 2 días después de la administración final de ST1926.

- 5 El tiempo de supervivencia medio (MST) se midió también y el incremento en periodo de vida promedio expresado como ILS% (incremento de periodo de vida) calculado como $(\text{MST}_T/\text{MST}_C) \times 100-100$.

La comparación entre los valores de TVI y de tiempo de supervivencia obtenidos para cada grupo se llevaron a cabo con la prueba de Mann Whitney no paramétrica para los datos no pareados, usando el software Instat de GraphPad Inc..

- 10 La solución de ST1926 se preparó inmediatamente antes de usar y se solubilizó en cremophor:etanol 1:1 y se diluyó subsiguientemente 1:4 en solución salina tamponada. Los tratamientos de los animales se llevaron a cabo en un volumen de 10 ml/kg. El esquema de tratamiento para ST1926 a dosis diferentes fue durante 5 días consecutivos (qdx5), comenzando un día después de la inoculación con la células tumorales y se repitió durante 3 ciclos.

- 15 Los ratones (8 para cada grupo) se pesaron antes de cada tratamiento, en primer lugar, tal como para poder administrar la correcta cantidad de sustancia, en base a las variaciones eventuales en peso observadas durante todo el periodo de administración de fármacos, y además de ser capaces de registrar la pérdida de peso máxima durante todo el tratamiento (% máximo de BWL).

- 20 Los resultados se comunican en la siguiente tabla 5. ST1926 demostró un incremento en la supervivencia de animales con tumores pulmonares murinos M109, a dosis de 10 mg/kg, p.o. y 15 mg/kg, i.p., según el protocolo de tratamiento qdx5x3w y para inhibir masa tumoral.

Además, ST1926 incrementó el periodo de vida de ratones que llevan 3LL a una dosis de 10 mg/kg, p. o. y ello disminuyó el volumen tumoral del 65%.

Tabla 5.

Actividad Antitumoral de ST1926 (qdx5x3w) para tumores M 109 murinos pulmonares					
Tratamiento	Dosis (mg/kg)	% Máximo de BWL	MST (días de intervalo)	% de ILS	% de TVI
M109					
Control	/	9	22(13-34)	/	/
ST1926	10, i.p.	9	*28 (25-35)	27	18
ST1926	15, i.p.	10	**36 (30-42)	64	*46
ST1926	10, p.o.	10	"35 (27-42)	59	*49
3LL					
Control	/	3	21(15-33)	/	/
ST1926	10, p.o.	7	*32 (24-42)	52	***65
* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001 frente a control (Mann-Whitney).					

- 25 **Actividad Antitumoral de ST1926 en modelos de carcinoma ovárico humanos A2780 y Aa2780/Dx y y carcinoma pulmonar no microcítico humano NCI-H460**

- 30 Las células de carcinomas ováricos humanos A2780, A2780/Dx y NCI-H460 se mantuvieron en RPMI-1640 conteniendo FCS al 10%, glutamina 2 mM, 50 µg/ml de gentamicina, a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía CO₂ al 5%. Las células se tripsinizaron, se recogieron en medio completo, se centrifugaron a aprox. 1100 rpm durante 10 minutos y el precipitado se resuspendió en Medio 199 de Hank; esta operación se llevó a cabo dos veces. Las células se resuspendieron en Medio de Hank 199 a una densidad de $20 \times 10^6/\text{ml}$ y 0,1 ml (igual a 2×10^6 células/ratón) que se inyectaron s.c. en el flanco derecho de ratones CD1 nu/nu hembra, de 6 semanas de edad.

La solución de ST 1926 se preparó inmediatamente antes de usar y se solubilizó en cremophor:etanol 1:1 y subsiguientemente se diluyó 1:4 en solución salina tamponada. Los tratamientos para animales se administraron en

un volumen de 10 ml/kg. El protocolo de tratamiento para ST1926 a dosis diferentes fue durante 5 días consecutivos (qdx5), comenzando un día tras la inoculación de células tumorales y repetido durante 3 ciclos.

5 Las medidas de dimensiones tumorales se llevaron a cabo usando un calibre digital (Calibre de Vernier) dos veces semanalmente, a partir del momento en que la masa fue medible. La masa del tumor se evaluó a partir del tamaño de las dos dimensiones principales (longitud y anchura), expresadas en mm, aplicando la fórmula $(\text{longitud} \times \text{anchura}^2)/2$, es decir, el volumen de tumor en mm^3 . Para cada grupo experimental, el porcentaje de inhibición de volumen de tumor se calculó (TVI%), con respecto al control, a saber $(100-(T/C\%))$. Se evaluó TVI 2 días después de la administración final de ST1926.

10 Los ratones se midieron hasta que los tumores del grupo control tumores hubieron alcanzado un peso de 2 g, después los ratones se sacrificaron por dislocación cervical.

Una comparación entre los valores de TVI obtenidos para cada grupo se llevó a cabo usando la prueba Mann Whitney paramétrica para datos no pareados, usando el software InStat de GraphPad Inc..

15 Los ratones se pesaron antes de cada tratamiento, en primer lugar, tal como para ser capaces de administrar la cantidad correcta de sustancia en base a los posibles cambios en peso observados durante todo el curso de la administración del fármaco, y también para registrar el peso máximo durante todo el tratamiento (% máximo de BWL).

Los resultados se comunicaron en la tabla 6. Además en este caso ST1926 ha inhibido masa tumoral en ratones con adenocarcinoma ovárico humano A2780, resistente a multifármacos A2780/Dx y carcinoma pulmonar no microcítico NCI-H460 a dosis que varían desde 15 hasta 5 mg/kg, p.o. según el protocolo de tratamiento qdx5x3w.

Tabla 6.

Actividad Antitumoral de ST1926 (qdx5x3w) para carcinoma ovárico humano A2780, A2780/Dx y carcinoma pulmonar no microcítico NCI-H460				
Tratamiento	Dosis (mg/kg)	% Máximo de BWL	Letalidad	% de TVI ± Error Estándar
A2780				
Control	/	0	0/8	/
ST1926	5, p.o.	3	0/8	*34±8
ST1926	10, p.o.	5	0/8	*39±5
A2780/DX				
Control	/	0	0/8	/
ST1926	10, p.o.	0	0/8	*34±3
ST1926	15, p.o.	6	0/8	*54±9
NCI-H460				
Control	/			
ST1926	15, pro	4	0/8	*40±2

*P < 0,05 frente a control.

20 ST1926 mostraron ser eficaces a la dosis de 15 mg/kg, p.o. según el programa qdx4x3w con y sin Taxol (15 mg/kg, i.p. según el programa q7dx3) en carcinoma pulmonar no microcítico NCI-H460 (tabla 7).

Tabla 7.

Actividad Antitumoral de ST1926 (qdx4x3w) para carcinoma pulmonar no microcítico NCI-H460 con y sin Taxol (q7dx3)	

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	% máximo de BWL	Letalidad	% de TVI% ± Error Estándar
Control	/	3	/	/
ST1926	15, p.o.	14	0/8	**38±8
Taxol	15, i.p.	4	0/8	0
1926+ Tax	15, p.o. 15, i.p.	16	0/8	**56±6

**P < 0,01 frente a control; *P < 0,05 frente a ST1926 (Mann-Whitney).

ST1926 mostró una actividad antitumoral significativa cuando se administraron a la dosis de 15 mg/kg, p.o. según el programa qdx3x3w (tabla 8).

Tabla 8.

Actividad Antitumoral de ST1926 (qdx3x3w) hacia carcinoma pulmonar no microcítico NCI-H460				
Tratamiento	Dosis (mg/kg)	% máximo de BWL	Letalidad	% de TVI ± Error Estándar
Control	/	3	/	/
ST1926	15, p.o.	4	0/8	*52±7

*P < 0,05 frente a control (Mann-Whitney).

5

Citotoxicidad de ST1879 para la línea celular endotelial de microcirculo de la glándula adrenal bovina (BMEC)

Se usó la línea celular endotelial BMEC, previamente preparada a partir de glándulas adrenales bovinas frescas de la siguiente manera. Se retiraron las glándulas de los animales inmediatamente a continuación del sacrificio y se almacenaron en hielo hasta que llegaron al laboratorio. En condiciones estériles (campana de flujo laminar de Bio-Hazard), se lavaron las glándulas en una solución de Betadine durante 5 minutos y subsiguientemente se lavaron con 2 litros de PBS estéril. La glándulas se cortan después en fragmentos, aproximadamente 2 mm, con bisturíes desechables estériles y se transfieren a tubos Falcon que contenían PBS (30 ml por glándulas). Después de centrifugación a 600 rpm en una centrífuga refrigerada a 4°C, el sobrenadante se decantó. El sedimento se resuspendió en un volumen igual (con respecto al volumen del precipitado) de colagenasa A (Boehringer Mannheim) al 0,12% y se incubó a 37°C durante 2 horas con agitación. Tras filtración sucesiva a través de filtros (Sigma), en primer lugar de malla 200, y después de malla 100, el sobrenadante se añadió a una solución de FBS DMEM al 15% inhibiendo la acción de colagenasa A. La solución se centrifugó a 1000 rpm a temperatura ambiente y el precipitado se resuspendió en medio DMEM que contenía FBS al 20%, 50 µg/ml de extracto cerebral bovino (BBE), 50 µg/ml de heparina (Sigma), 0,5% v/v de gentamicina (Sigma), L-glutamina al 1% v/v y se sembraron sobre placas de Petri gelatinizadas con gelatina al 1% (gelatina porcina Sigma). Alcanzando la confluencia, las células se caracterizaron con marcadores endoteliales, tales como el factor VIII.

Los ensayos de citotoxicidad se llevaron a cabo usando células BMEC. Las células se sembraron en un volumen de 200 µl en placas de 96 pocillos y se incubaron durante 24 horas a 37°C. El día siguiente, se añadió compuesto de ensayo ST1879, al disminuir concentraciones desde 200 µM a 1,55 µM. Las células se incubaron durante 24 horas adicionales a 37°C en una atmósfera humidificada, que contenía CO₂ al 5%. En el 3º día, el medio se retiró volcando las placas y los lavados de las placas en el 3º día se llevaron a cabo volcando y añadiendo 300 µl de PBS 4 veces. Después de lavar, se añadieron 200 µl/pocillo de los medios utilizados por plaquear en gelatina, previamente descritos. En el 5º día, el medio se retiró volcando las placas y las células se trataron con una solución de TCA al 15% frío durante 1 hora. Los pocillos se lavaron tres veces con agua mediante inmersión de la placa y eliminación volcando. A cada pocillo se añadieron 200 µl de sulforrodamina B al 0,4% en ácido acético al 1%. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos adicionales. La sulforrodamina B se eliminó volcando, las placas se lavaron mediante inmersión en ácido acético al 1% tres veces, después se secaron en primer lugar en papel absorbente, después con un chorro de aire caliente. A cada pocillo se añadieron 200 µl de base de Tris 10 mM y las placas se dejaron con agitación durante al menos 20 minutos. La densidad óptica se determinó usando un espectrofotómetro Multiskan a 540 nm.

35

5 Se determinó la supervivencia celular mediante incubación con ST1879 durante 24 horas y 48 horas después de la eliminación del compuesto. La incubación con el producto durante 24 horas fue capaz de inhibir la proliferación celular en una manera dependiente de concentración. La tabla 5 muestra los valores de CI_{50} (concentración del producto que inhibe el 50% de la supervivencia celular), calculados. ST1879 ha demostrado citotoxicidad pobre igual a 105 μ M y una concentración no tóxica igual a 25 μ M que se ha usado más tarde para estudiar el efecto de ST1879 en migración en células endoteliales (véase tabla 9).

Tabla 9.

Citotoxicidad celular de ST1879 para células endoteliales		
Línea celular	$CI_{50} \pm$ Error Estándar [μ M]	CI_0
BMEC	105 \pm 14	25 μ M

Quimiotaxis de células BMEC endoteliales

10 Para evaluar el efecto de ST1879 en quimiotaxis celular endotelial, se usó una cámara Boyden, constituida por una cámara con dos pocillos, uno abajo y el otro arriba separados por un filtro de policarbonato con un tamaño de poro definido de 8 μ m. En el pocillo inferior se introdujo el factor quimioatrayente FBS al 1% en DMEM, en el pocillo superior, se introdujeron las células endoteliales de microcírculo subrenales bovinas (BMEC), se suspendieron en DMEM que contiene seroalbúmina bovina en ácidos grasos al 1%. La capacidad de ST1879 para inhibir migración celular a través del filtro de policarbonato en la dirección del factor quimioatrayente, se evaluó cuantitativamente contando el número de células presentes en la cara inferior del filtro. Los porcentajes de migración comunicados en la tabla 8 se calcularon según la fórmula: (tratados - control/control) x 100. ST1926 ha mostrado inhibición de quimiotaxis de las células BMEC hacia el FCS estimulante quimioatrayente, a concentraciones iguales a 50 y 25 μ M (tabla 10).

Tabla 10.

Inhibición de la migración de células BMEC inducida por ST1879		
Línea celular	% de inhibición de migración	
	50 μ M	25 μ M
BMEC	91% (6,1 \pm 2,4 células frente a 72,1 \pm 7,4 células en el Control)	42.7% (41,3 \pm 10,2 células frente a 72,1 \pm 7,4 células en el control)

20 **Efecto de ST1879 en la diferenciación de las células HUVEC en matrigel**

El ensayo de diferenciación de las células endoteliales en matrigel, es un ensayo comúnmente usado para evaluar la actividad antiangiogénica de un producto. Matrigel es un extracto de membrana basal reconstituido de tumores, que consta principalmente de laminina y colágeno IV, sobre el que las células endoteliales se organizan en estructuras tridimensionales similares a capilares. La intensidad de red es medible por el recuento microscópico de "nodos" definidos como los puntos de intersección donde parten más de dos estructuras tubulares, o a través de un sistema de formación de imagen computerizado capaz de calcular el porcentaje de área ocupada por estructuras capilares.

25 Se plaqueó matrigel a 4°C (Becton-Dickinson) en placa s de 24 pocillos y se dejaron gelificar a 37°C en una incubadora durante 30 min. Las células HUVEC del cordón umbilical humano (Clonetics) se resuspendieron en 500 μ l del medio de cultivo en presencia o ausencia de ST1879 a una concentración no tóxica de 25 μ M y se plaquearon en matrigel. Después de 5 horas de incubación, las células se fijaron con una solución de paraformaldehído al 4% en PBS. Los resultados se cuantificaron mediante el recuento microscópico del número de nodos/campo para tres campos independientes y se expresaron como un porcentaje con respecto al control positivo.

30 ST1879 ha demostrado una inhibición del 61% de diferenciación de células endoteliales en matrigel a una concentración de 25 μ M (tabla 11).

Tabla 11.

Inhibición de la diferenciación de células HUVEC inducida por ST1879	
Línea celular	% de inhibición de diferenciación en matrigel
HUVEC	ST1879 (25 μ M) = 61% (8,2 nodos frente a 21,2 nodos en el control)

Citotoxicidad celular de ST1879 y ST1898 para líneas celulares tumorales humanas

5 La línea celular humana promielocítica aguda NB4 se usó para llevar a cabo las pruebas de citotoxicidad, se mantuvo en RPMI 1640 conteniendo suero de ternera fetal (FCS) al 10% y glutamina al 1%.

Se usaron también dos líneas celulares tumorales humanas sólidas adicionales:

1. Carcinoma de próstata humano PC3. Esta línea celular se mantuvo en medio RPMI 1640 que contiene FCS al 10%, piruvato de sodio al 1% y glutamina al 1%.
- 10 2. Adenocarcinoma de colon humano LoVo. Esta línea celular se mantuvo en medio F-12 de HAM, que contenía FCS al 10% y glutamina al 1%.

Se llevaron a cabo ensayos de citotoxicidad usando 10000 células NB4/pocillo. Las células se sembraron en un volumen de 250 μ l en placas de 96 pocillos y se incubaron durante 24 horas a 37°C. El día siguiente el compuesto de ensayo ST 1879 se añadió en concentraciones crecientes, y las células se incubaron durante 24 horas adicionales a 37°C en una atmósfera humidificada, que contenía el CO₂ al 5%. En el 3^o día, el medio se eliminó por centrifugación de la placa a 1600 x g durante 10 minutos y el sobrenadante se decantó. Se añadieron 250 μ l de PBS; después las placas se centrifugaron de nuevo a 1600 x g durante 10 minutos y el sobrenadante se decantó. Se añadieron 200 μ l/pocillo de medio RPMI1640 que contienen FCS al 10%, y las placas se incubaron a 37°C durante otras 48 horas. En el 5^o día, las placas se centrifugaron de nuevo a 1600 x g durante 10 minutos y el medio se retiró volcando las placas, se añadieron 200 μ l de PBS y 50 μ l de TCA frío al 80%. Las placas se dejaron incubar en hielo después durante al menos una hora. La TCA se eliminó volcando; las placas se lavaron tres veces por inmersión en agua destilada y se secaron, en primer lugar con papel, después con un chorro de aire caliente. Dentro de cada pocillo se añadieron 200 μ l de sulforrodamina B al 0,4% en ácido acético al 1%. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos adicionales. La sulforrodamina B se eliminó volcando, las placas se lavaron mediante inmersión 3 veces en ácido acético al 1%, después se secaron en primer lugar en papel absorbente, después con un chorro de aire caliente. Dentro de cada pocillo se añadieron 200 μ l de base de Tris 10 mM y las placas se agitaron durante al menos 20 minutos. La densidad óptica se midió usando un espectrofotómetro Multiskan a 540 nm.

Para las líneas celulares adherentes PC3 y LoVo, el procedimiento usado fue el mismo, mientras que los lavados de las placas en el 3^o día se llevaron a cabo volcando y añadiendo PBS tres veces y no por centrifugación a 1600 x g. Además en el 5^o día, el sobrenadante se retiró volcando las placas.

30 Se determinó la supervivencia celular mediante incubación con ST1879 o ST1898 durante 24 horas y después de 48 horas tras la eliminación del compuesto. La incubación con el producto 48 horas fue suficiente para inhibir la proliferación celular en una manera dependiente de concentración. La Tabla 10 muestra los valores de CI₅₀ (concentración de producto que inhibe el 50% de la supervivencia celular), calculada para cada línea celular tumoral estudiada. ST1879 ha demostrado una mayor citotoxicidad para células LoVo (CI₅₀ = 5,2 μ M) con respecto a aquella calculada hacia la línea de carcinoma de próstata PC3 (CI₅₀ = 13,6 μ M) y para la línea NB4 promielocítica humana (58,5 μ M). ST1898 ha mostrado también ser más activa para carcinoma de colon LoVo (véase tabla 12).

Tabla 12.

Citotoxicidad celular de ST1879 y ST1898		
Compuesto ensayado	Línea celular	CI ₅₀ \pm Desviación estándar (μ M)
ST1879	NB4	58.5 \pm 3.2
ST1879	PC3	13.6 \pm 2.1
ST1879	LoVo	5,2 \pm 0.9

ST1898	NB4	8.8±0.6
ST1898	PC3	1.7±0.2
ST1898	LoVo	0.38±0.02

Efectos pro-diferenciación de ST1879 y ST1898 en células NB4

Las células NB4 se plaquearon a una densidad de 150000 células/ml en medio RPM11640 conteniendo suero fetal al 10%. Las células se trataron después con ST1879 o ST1898 a concentraciones decrecientes partiendo desde 0,4 μM hasta 0,01 μM y situándose en un incubador durante tres días sin ningún cambio de los medios. Para medir el efecto de diferenciación se recogieron 500000 células de cada muestra, se centrifugaron y se resuspendieron en 1 ml de medio RPMI 1640 que contiene suero al 10%, 1 mg/ml de nitroazul de tetrazolio (NBT) y 100 ng de PMA (acetato de forbol miristílico). Las células, resuspendidas como anteriormente, se incubaron a 37°C durante 60 minutos. En la conclusión de incubación las células se centrifugaron y el precipitado se resuspendió en 1 ml de PBS que contenía Tritón x100 al 10%. Las muestras se sonicaron hasta que se lisaron y después se leen por espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm. Las muestras que contienen células diferenciadas se vuelven de un color púrpuro mientras que las muestras control y/o éstas con células no diferenciadas se quedan blancas o mucho menos intensamente coloreadas. La acción pro-diferenciación de ST1879 o de ST1898 se ha evaluado en términos de CA_{50} (concentración que activa diferenciación celular al 50%) como se comunica a continuación. ST1898 ha demostrado que tiene una buena capacidad pro-diferenciación, medible por un valor de CA_{50} igual a 19 nM (véase tabla 13).

Tabla 13.

Efectos pro-diferenciación de ST1879 y ST1898 en células NB4	
Producto	CA_{50} (nM \pm Desviación Estándar)
ST1879	55±9
ST1898	19±0.8

Actividad angiostática de ST1879, ST1926 y ST1898 en el modelo de membrana corioalantoidea de pollo (CAM)

La membrana corioalantoidea de pollo es una membrana muy vascularizada en la que los vasos hacen su aparición en el 4º día de desarrollo, desarrollan un sistema arteriovenoso en el 8º día de desarrollo, y proliferar activamente hasta el día 11º.

El objetivo del estudio fue seguir desarrollo vascular en la CAM en condiciones basales y en la presencia de un bFGF (Factor de Crecimiento Fibroblástico básico) inductor de vasoproliferación. Este estudio se usa huevos embrionarios de pollo en el estado inicial de su desarrollo. En el 3º día de desarrollo se llevó a cabo una operación para abrir las cáscaras para fabricar los vasos de la CAM visible. El tratamiento se administró en el día 9º de desarrollo aplicando un fragmento de gelatina estéril (GELFOAM Pharmacia-Upjohn) aproximadamente 1 mm³, a la superficie de CAM, sobre el que se administró el bFGF (50 ng/embrión) o los productos en cuestión, durante 3 días consecutivos.

La evaluación del efecto de la molécula en vasoproliferación se obtuvo mediante una comparación de los vasos al tiempo del tratamiento cero con estos últimos tiempos (decimosegundo día).

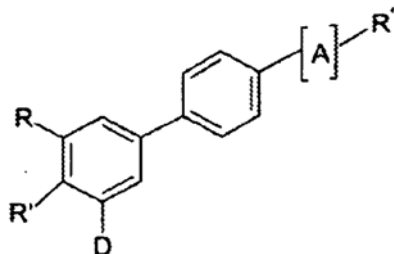
Los resultados se dan como sigue en la tabla 14. Los tres productos demostraron tener actividad angiostática en el modelo de membrana de pollo corioalantoidea a concentraciones de entre 0,25 y 0,5 μg /embrión (tabla 14).

Tabla 14.

Actividades angiostáticas de ST1879, ST1926, ST1898					
Tratamiento	Concentración (μg /embrión)	n	9º día (TO)	12º día (72 horas)	Δ vasos
bFGF	0.05	7	5±1	19±1	15±1
bFGF + 1879	0.05+0.5	6	4±1	8±1	4±1 (-73%)

ES 2 358 097 T3

bFGF	0.05	6	3±1	22±1	19±1
bFGF + 1926	0.05+0.25	8	3±1	12±2	9±2 (-53%)
bFGF	0.05	4	3±1	28±2	24±1
bFGF + 1898	0.05+0.25	6	3±1	10±1	7±1 (-71%)
Resultados del promedio ± Error Estándar del número de vasos por esponja.					

REIVINDICACIONES**1. Compuestos de Fórmula (I)**

en la que:

- 5 R representa cicloalquilo, adamantilo en que al menos uno de los CH puede estar sustituido con C-halógeno o C-alquilo y uno de los CH₂ puede estar sustituido con O, S, CH-halógeno, CH-arilo, CH-heteroarilo, CH-arilalquilo, CH-heteroarilalquilo;
- R' representa OR^{III}, OCOR^{III}, COR^{IV}R'-D representa O-(CH₂)_n-O; en la que n = 1-3; D representa H, OH, O-alquilo, (CH₂)_n-NH₂, (CH₂)_n-NH-alquilo, (CH₂)_n-OH, en la que n = 1-4;
- 10 R'' representa tetrazol, SO₃H, NHSO₃H, CHO, COOH, COO-alquilo, CONHOH, CONH-arilo, CONH-C₆H₄ OH, CH₂OR^{III}; PO₃H₂; CO(CH₂)_n-arilo, en la que n = 0-4;
- R^{III} representa H, alquilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, SO₃H α o β D- y L-glicosilo;
- R^{IV} representa H, OH, OR^{III},
- [A] representa, [C(R^V, R^{VI})-C(R^{VII}, R^{VIII})]_n, [C(R^{IX})=C(R^X)]_n, [C=C]_n,
- 15 en la que n = 0-3;
- R^V, R^{VI}, R^{VII}, R^{VIII} representan H, alquilo, halógeno, OH, OR^{III}, NO₂, NH₂, arilo, -O-, -CH₂-, CX₂- (en el que X es halógeno),
- CH(R^{III}) -;
- R^{IX}, R^X representan H, OH, halógeno, alquilo, arilo, CN, NO₂, COOR^{III}.
- 20 **2. Compuestos de Fórmula:** 2-[4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)]ciclopropanocarboxilato de metilo; ácido 2-(4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)]ciclopropanocarboxílico; ácido 2-(4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)]ciclopropano-carboxílico en cis; ácido 2-(4-(3-(1-adamantilo)-4-hidroxifenil)]ciclopropanocarboxílico en trans.
- 25 **3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 ó 2 como ingrediente activo y al menos un excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.**
- 4. Uso de los compuestos de la reivindicación 1 ó 2, para la preparación de un medicamento.**
- 5. Uso según la reivindicación 4 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de patologías relacionadas con angiogénesis alterada.**
- 30 **6. Uso según la reivindicación 5, en el que la patología está seleccionada del grupo que consiste en: patología artrítica, tumores, metastatización, retinopatía diabética, soriasis, inflamación crónica, y aterosclerosis.**
- 7. Uso según la reivindicación 6, en el que la patología es retinopatía diabética.**
- 8. Uso según la reivindicación 6, en el que la patología es soriasis.**
- 9. Uso según la reivindicación 6, en el que la patología es una enfermedad inflamatoria crónica.**
- 10. Uso según la reivindicación 6, en el que la patología es aterosclerosis.**

11. Uso según la reivindicación 6 para el tratamiento de patologías artríticas.
12. Uso según la reivindicación 4 en la preparación de un medicamento que tiene actividad antitumoral.
13. Uso según la reivindicación 12, en el que la actividad antitumoral es de naturaleza citotóxica.
14. Uso según la reivindicación 12, en el que la actividad antitumoral es de naturaleza apoptótica.
- 5 15. Uso según la reivindicación 12, en la que la actividad antitumoral es de naturaleza antiangiogénica.
16. Uso según la reivindicación 4 en la preparación de un medicamento útil en la prevención y tratamiento de metástasis tumorales.
17. Uso según las reivindicaciones 12-16 en el que el tumor está seleccionado del grupo consiste en: sarcoma, carcinoma, carcinoide, tumor óseo, tumor neuroendocrino, leucemia linfocítica, leucemia mielocítica, leucemia monocítica, leucemia megacariocítica o enfermedad de Hodgkin.
- 10 18. Uso según la reivindicación 17 en el que el tumor es una leucemia promielocítica aguda.
19. Combinación que consiste en uno o más compuestos de la reivindicación 1 ó 2 con uno o más fármacos anticancerígenos conocidos.
20. Combinación de la reivindicación 19, en la que el fármaco anticancerígeno está seleccionado del grupo que consiste en: agentes alquilantes, inhibidores de topoisomerasa, agentes antitubulina, compuestos intercalantes, anti-metabolitos, productos naturales tales como alcaloides de vinca, epipodofilotoxinas, antibióticos, enzimas, taxanos, compuestos de citodiferenciación, inhibidores de fosfotirosina quinasa tales como Iressa o Glivec, TRAIL (ligando inductor de apoptosis relacionado con factor de necrosis tumoral), agonistas de receptores de DR4 o DR5 (sitios de TRAIL), compuestos para terapia antitumoral inmunológica, vacunas antitumorales, o interferón α , β , γ .
- 15 21. Composición farmacéutica que comprende la combinación de la reivindicación 19, y uno o más excipientes o vehículos farmacológicamente aceptables.
- 20 22. Uso de la combinación de la reivindicación 19 para la preparación de un medicamento en el tratamiento de tumor.
23. El uso según la reivindicación 23 **caracterizado porque** el compuesto de la reivindicación 1 ó 2 está presente como un coadyuvante del fármaco anticancerígeno.

25

Figure 1.

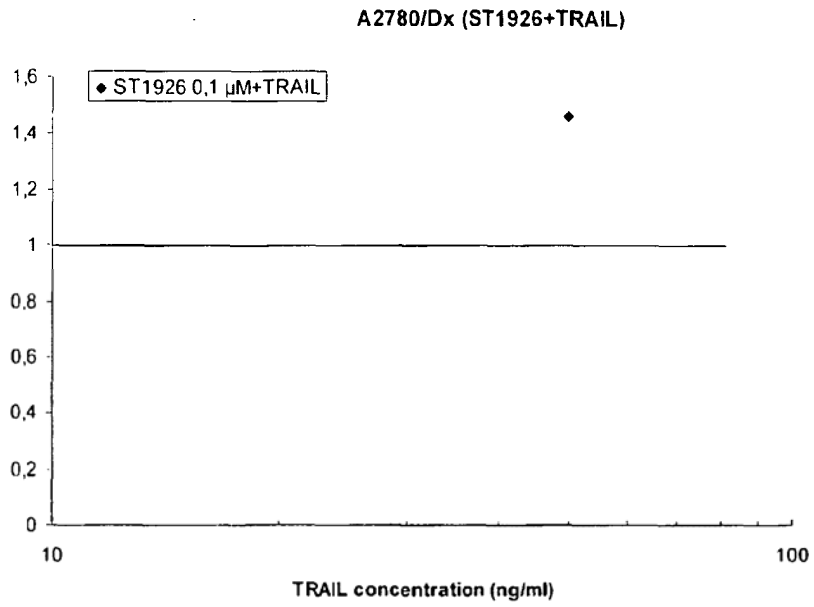


Figure 2.

