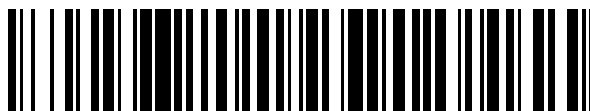


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 451**

51 Int. Cl.:

<b>C07C 323/25</b>	(2006.01)	<b>C07D 277/46</b>	(2006.01)
<b>C07C 255/44</b>	(2006.01)	<b>C07D 277/82</b>	(2006.01)
<b>C07C 323/32</b>	(2006.01)	<b>C07D 263/58</b>	(2006.01)
<b>C07C 317/32</b>	(2006.01)		
<b>C07C 233/60</b>	(2006.01)		
<b>C07C 233/59</b>	(2006.01)		
<b>C07C 233/62</b>	(2006.01)		
<b>C07D 207/26</b>	(2006.01)		
<b>C07D 213/40</b>	(2006.01)		
<b>C07D 257/04</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2006 E 06785051 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.11.2014 EP 1904439**

54 Título: **Inhibidores de esfingosina cinasa**

30 Prioridad:

**17.06.2005 US 691563 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**10.02.2015**

73 Titular/es:

**APOGEE BIOTECHNOLOGY CORPORATION  
(100.0%)  
P.O. BOX 916  
HERSHEY PA 17033, US**

72 Inventor/es:

**SMITH, CHARLES D.;  
FRENCH, KEVIN J. y  
ZHUANG, YAN**

74 Agente/Representante:

**MILTENYI, Peter**

ES 2 528 451 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

Inhibidores de esfingosina cinasa

## Referencia a solicitudes relacionadas

- 5 Esta solicitud es una solicitud no provisional que reivindica la prioridad según 35 U.S.C. sección 119 (e) de la solicitud provisional n.º 60/691.563 presentada el 17 de junio de 2005.

## Patrocinio gubernamental

Esta invención se realizó con la subvención de apoyo gubernamental R43 CA097833 concedida por el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos. En consecuencia, el gobierno de los EE.UU. puede tener ciertos derechos sobre esta invención.

## 10 Campo de la invención

La invención se refiere a compuestos que pueden inhibir esfingosina cinasa y a procedimientos para la síntesis de estos compuestos. La invención se refiere también a composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y a estos compuestos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento o la prevención de una enfermedad hiperproliferativa, una enfermedad inflamatoria o una enfermedad angiogénica.

## 15 Antecedentes de la invención

- El mecanismo y los efectos de la interconversión de esfingolípidos han sido los objetivos de un cuerpo cada vez más grande de investigación científica. La esfingomielina no sólo es un elemento estructural para membranas celulares sino que también sirve como el precursor para potentes mensajeros lipídicos que tienen profundos efectos celulares. Tal como se describe a continuación, el metabolismo inducido por estímulo de estos lípidos está implicado de manera crítica en la biología de enfermedades hiperproliferativas, inflamatorias y angiogénicas. En consecuencia, la manipulación de estas rutas metabólicas es un método novedoso para la terapia de una variedad de enfermedades.

- 20 La ceramida se produce por la hidrólisis de esfingomielina en respuesta a varios estímulos, incluyendo factores de crecimiento y citocinas inflamatorias. La ceramida induce apoptosis en células cancerosas. Además, la ceramida puede hidrolizarse por la acción de ceramidasa para producir esfingosina. La esfingosina se fosforila luego por esfingosina cinasa (SK) para producir esfingosina-1-fosfato (S1P). La evidencia demuestra que S1P es un segundo mensajero crítico que ejerce acciones proliferativas y antiapoptóticas. Además, la ceramida potencia la apoptosis en respuesta a fármacos anticancerígenos incluyendo Taxol y etopósido.

- Además, la ceramida parece inducir apoptosis en células tumorales sin destruir células normales quiescentes. Estudios en diversas líneas celulares indican de manera sistemática que S1P puede inducir proliferación y proteger células frenet a la apoptosis. En conjunto, los datos demuestran que el equilibrio entre niveles celulares de ceramida y S1P determina si una célula cancerosa prolifera o muere por apoptosis. Por lo tanto, alterar este equilibrio reduciendo la producción de S1P dentro de células hiperproliferativas es un método eficaz para tratar trastornos que se originen de una proliferación celular anómala. El documento US 2004/034075 A1 da a conocer la inhibición de esfingosina cinasa por un derivado de adamantilo. La esfingosina cinasa es responsable de la producción de S1P en células. El ARN que codifica para SK se expresa en la mayoría de los tejidos, produciéndose comúnmente niveles más altos en tejido tumoral que en tejido normal correspondiente. Una variedad de factores proliferativos, incluyendo activadores de proteína cinasa C (PKC), suero de ternero fetal, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento epidérmico y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) elevan rápidamente la actividad SK celular. Esto promueve la proliferación e inhibe la apoptosis de las células diana. Adicionalmente, se ha demostrado un papel oncogénico de SK. En estos estudios, la transfección de SK en fibroblastos NIH/3T3 es suficiente para promover la formación de focos y crecimiento celular en agar blando, y para permitir que estas células formen tumores en ratones NOD/SCID. Además, la inhibición de SK mediante transfección con un mutante SK dominante-negativo o mediante el tratamiento de células con el inhibidor de SK no específico D-eritro-N,N-dimetilesfingosina (DMS) bloqueó la transformación mediada por H-Ras oncogénico. Puesto que la activación anómala de Ras, así como la sobreexpresión y mutación de los genes de la familia *ras*, se produce frecuentemente en cáncer, estos descubrimientos indican un papel significativo de SK en esta enfermedad.

- Además de su papel en la regulación de la proliferación y apoptosis de células, S1P ha demostrado tener varios efectos importantes sobre células que median funciones inmunitarias. Plaquetas, monocitos y mastocitos secretan S1P después de su activación, promoviendo cascadas inflamatorias en el sitio de daño tisular. La activación de SK se requiere para las respuestas de señalización puesto que la capacidad de TNF $\alpha$  para inducir expresión de moléculas de adhesión por medio de la activación del factor nuclear kappa B (NF $\kappa$ B) la imita S1P y la bloquea DMS. De manera similar, S1P imita la capacidad de TNF $\alpha$  para inducir la expresión de ciclooxigenasa-2 (COX-2) y la síntesis de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), y el silenciamiento génico de SK por interferencia de ARN bloquea estas respuestas a TNF $\alpha$  pero no a S1P. S1P es también un mediador del flujo de entrada de Ca<sup>2+</sup> durante la activación de neutrófilos por TNF $\alpha$  y otros estímulos, conduciendo a la producción de superóxido y otros radicales tóxicos. Por lo tanto, reducir la producción de S1P con células inmunitarias y sus tejidos diana puede ser un método eficaz para

tratar trastornos que se originen de una inflamación anómala. Los ejemplos de estos trastornos incluyen enfermedad inflamatoria del intestino, artritis, aterosclerosis, asma, alergia, enfermedad inflamatoria de los riñones, choque circulatorio, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, inflamación de la piel, enfermedad periodontal, psoriasis y enfermedades de inmunidad mediadas por células T.

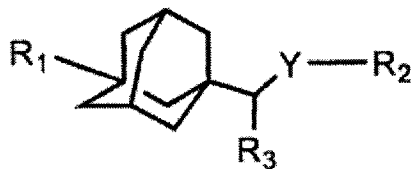
- 5 Angiogénesis se refiere al estado del cuerpo en el que diversos factores de crecimiento u otros estímulos promueven la formación de nuevos vasos sanguíneos, y este procedimiento es crítico para la patología de una variedad de enfermedades. En cada caso, una angiogénesis excesiva permite la progresión de la enfermedad y/o produce efectos no deseados en el paciente. Puesto que mecanismos bioquímicos conservados regulan la proliferación de células endoteliales vasculares que forman estos nuevos vasos sanguíneos, se espera que la identificación de
- 10 métodos para inhibir estos mecanismos tenga utilidad para el tratamiento y la prevención de una variedad de enfermedades. Más específicamente, se han identificado ciertos factores de crecimiento que conducen a la angiogénesis patógena. Por ejemplo, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) tiene capacidades angiogénicas y mitogénicas. Específicamente, VEGF induce la proliferación de células endoteliales vasculares, favoreciendo la formación de nuevos vasos sanguíneos. La esfingosina cinasa es un importante mediador de las acciones de VEGF. Por ejemplo, SK ha demostrado mediar en la activación inducida por VEGF de proteína cinasas. VEGF también ha demostrado inducir específicamente receptores de S1P, asociados con respuestas de señalización intracelular a S1P mejoradas y la potenciación de sus acciones angiogénicas. La producción de S1P por SK estimula la actividad NFκB conduciendo a la producción de COX-2, moléculas de adhesión y producción
- 15 adicional de VEGF, todos los cuales promueven la angiogénesis. Además, la expresión de isoformas endoteliales de óxido nítrico sintasa (eNOS) está regulada por SK, y eNOS también modula posteriormente la angiogénesis. Por lo tanto, reducir la producción de S1P dentro de células endoteliales es probable que sea un método eficaz para tratar trastornos que se originen de angiogénesis anómala. Los ejemplos de estos trastornos incluyen artritis, cáncer, psoriasis, sarcoma de Kaposi, hemangiomas, angiogénesis miocárdica, aterosclerosis y enfermedades angiogénicas oculares.
- 25 A pesar del alto nivel de interés en la señalización derivada de esfingolípidos, existen muy pocos inhibidores conocidos de las enzimas de esta ruta y la utilidad de la inhibición farmacológica de SK *in vivo* aún no se ha demostrado previamente. En particular, el campo experimenta una falta de inhibidores potentes y selectivos de SK. Los estudios farmacológicos hasta la fecha han usado tres compuestos para inhibir la actividad de SK: DMS, D,L-treo-dihidroesfingosina y N,N,N-trimetil-esfingosina. Sin embargo, estos compuestos no son inhibidores específicos de SK y han mostrado inhibir varias otras proteína y lípido cinasas. Por lo tanto, se requieren inhibidores mejorados de SK para usarse como agentes antiproliferativos, antiinflamatorios y antiangiogénicos.
- 30

#### Sumario de la invención

- 35 En esta solicitud, se describen compuestos novedosos que presentan las actividades deseables mencionadas anteriormente. En consecuencia, la invención abarca los compuestos mostrados a continuación, composiciones farmacéuticas que contienen tales compuestos y tales compuestos o composiciones para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad hiperproliferativa, una enfermedad inflamatoria o una enfermedad angiogénica, y más específicamente compuestos que pueden inhibir SK.

La presente invención se refiere a las siguientes realizaciones según se definen en los puntos 1-19:

1. Un compuesto de fórmula



40

o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato del mismo, en la que:

Y es -N(R<sub>4</sub>)-;

R<sub>1</sub> es fenilo, sustituido con 1 ó 2 halógenos,

- 45 R<sub>2</sub> es arilo, -alquilarilo, heterocicloalquilo, -alquil-heterocicloalquilo, heteroarilo o -alquil-heteroarilo opcionalmente sustituido;

R<sub>3</sub> es H, alquilo u oxo;

en la que la parte de alquilo y anillo de cada uno de los grupos R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> anteriores está opcionalmente sustituida con hasta 5 grupos que son independientemente alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), halógeno, haloalquilo, -OC(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>),

-C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR'C(O)R'', -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -OH, alcoxilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxialquilo, -CN, -CO<sub>2</sub>H, -SH, -S-alquilo, -SOR'R'', -SO<sub>2</sub>R', -NO<sub>2</sub> o NR'R'',

en la que R' y R'' son independientemente H o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), y en la que cada parte de alquilo de un sustituyente está opcionalmente sustituida adicionalmente con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados independientemente de halógeno, CN, OH y NH<sub>2</sub>; y

R<sub>4</sub> es H o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).

2. Un compuesto según el punto 1, en el que R<sub>2</sub> es arilo o -alquilarilo.

3. Un compuesto según el punto 1, en el que R<sub>2</sub> es heterocicloalquilo o -alquil-heterocicloalquilo.

4. Un compuesto según el punto 1, en el que R<sub>2</sub> es heteroarilo o -alquil-heteroarilo.

10 5. Un compuesto según cualquiera de los puntos 2-4, en el que el resto arilo o heteroarilo no está sustituido o está sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 grupos seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, alquilo, cianoalquilo, aminoalquilo, tioalcoxilo, trifluorometilo, haloalcoxilo, ariloxilo y alcoxilo.

6. Un compuesto según cualquiera de los puntos 1-5, en el que R<sub>3</sub> es oxo (=O).

7. Un compuesto según cualquiera de los puntos 1-5, en el que R<sub>3</sub> es metilo.

15 8. Un compuesto según cualquiera de los puntos 1-7, en el que Y es NH.

9. Un compuesto según el punto 1, que es:

Fenilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

(4-Hidroxi-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

Éster 4-[[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carbonil]-amino]-fenílico de ácido acético;

20 (2,4-Dihidroxi-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

(3-Hidroximetil-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

(4-Cianometil-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

Bencil-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

4-terc-Butil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

25 4-Metilsulfanil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

3-Trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

4-Trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

3,5-bis-Trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

3-Fluoro-5-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

30 2-Fluoro-4-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

3,5-Difluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

3,4-Difluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

3,4,5-Trifluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

3-Cloro-4-fluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

35 4-Fluoro-3-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

2-Cloro-4-fluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

4-Cloro-3-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

3-Aminometil-2,4,5,6-tetracloro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

[1-(4-Cloro-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;



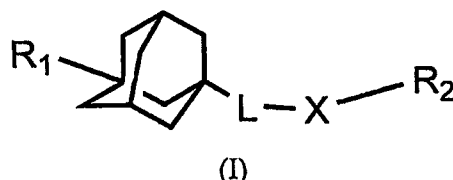
- [1-(4-Bromo-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 4-Metanosulfonil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 4-Dimetilamino-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 4-Trifluorometoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 5 3-Trifluorometoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 4-Fenoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 3,4-Dihidroxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 Fenetil-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 [2-(4-Fluoro-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 10 [2-(4-Bromo-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 [2-(4-Hidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 [2-(4-Hidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 4-Fenoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 [2-(3-Bromo-4-metoxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 15 [2-(3,4-Dihidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (2-Benzo[1,3]dioxol-5-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (3-Fenil-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (Bifenil-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (1-Metil-piperidin-4-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 20 (4-Metil-piperazin-1-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (3-Pirrolidin-1-il-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 [3-(2-Oxo-pirrolidin-1-il)-propil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 [2-(1-Metil-pirrolidin-2-il)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (2-Morfolin-4-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 25 (2-Piperazin-1-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (Piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-fluoro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (Piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (2-Piridin-4-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (3-Imidazol-1-il-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 30 (2-Metil-1H-indol-5-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (1H-Tetrazol-5-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (9-Etil-9H-carbazol-3-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 Benztiazol-2-ilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (5-Cloro-benzooxazol-2-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 35 (9H-Purin-6-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 4-[[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-amino]-fenol;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-trifluorometil-bencil)-amina;

- [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(2-fluoro-4-trifluorometil-bencil)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-fluoro-3-trifluorometil-bencil)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-trifluorometoxi-bencil)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(2-(3-fenoxi-fenil)-etil)-amina;  
 5 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(1-metil-piperidin-4-il)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-metil-piperazin-1-il)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(3-pirrolidin-1-il-propil)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(2-(1-metil-pirrolidin-2-il)-etil)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(2-morfolin-4-il-etil)-amina;  
 10 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-piridin-4-ilmetil-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(9-etil-9H-carbazol-3-il)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(5-(4-cloro-fenil)-tiazol-2-il)-amina;  
 {1-[3-(4-Fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-fenil-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-fenil-amina;  
 15 Bencil-{1-[3-(4-fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 Bencil-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 (4-terc-Butil-bencil)-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 [1-(4-Bromo-fenil)-etil]-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 [2-(4-Bromo-fenil)-etil]-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 20 {1-[3-(4-Fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(1-metil-piperidin-4-il)-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(1-metil-piperidin-4-il)-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(4-metil-piperazin-1-il)-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(6-cloro-piridin-3-ilmetil)-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(2-piridin-4-il-etil)-amina;  
 25 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(3H-imidazol-4-ilmetil)-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(2-metil-1H-indol-5-il)-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(9-etil-9H-carbazol-3-il)-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(9-etil-9H-carbazol-3-ilmetil)-amina;  
 (4-Bromo-tiofen-2-ilmetil)-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 30 sales farmacéuticamente aceptables, hidratos o solvatos de los mismos.
10. Un compuesto según el punto 1, que es (piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato de la misma.
11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de los puntos 1-10, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato del mismo, en combinación con un agente auxiliar, medio o portador farmacéuticamente aceptable.
- 35 12. Uso de un compuesto o una sal según uno cualquiera de los puntos 1-10, para la preparación de una composición farmacéutica para tratar una enfermedad seleccionada de una enfermedad hiperproliferativa, una enfermedad inflamatoria o una enfermedad angiogénica.
13. Uso de un compuesto o una sal según uno cualquiera de los puntos 1-10, para la preparación de una

composición farmacéutica para tratar una enfermedad seleccionada de cáncer, aterosclerosis, reestenosis, trastornos proliferativos de células mesangiales, psoriasis, angiogénesis miocárdica, neovascularización de placas ateroscleróticas, neovascularización coroidea, retinopatía del prematuro (fibroplasias retrolenticulares), degeneración macular, rechazo de injerto de córnea, rubeosis, glaucoma neurovascular y síndrome de Oster-Webber.

- 5 14. Uso de un compuesto o una sal según uno cualquiera de los puntos 1-10, para la preparación de una composición farmacéutica para tratar una enfermedad seleccionada de enfermedad inflamatoria del intestino, artritis, asma, alergia, enfermedad inflamatoria de los riñones, choque circulatorio, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, inflamación de la piel, enfermedad periodontal, psoriasis y enfermedades de inmunidad mediadas por células T.
- 10 15. Uso de un compuesto o una sal según uno cualquiera de los puntos 1-10, para la preparación de una composición farmacéutica para tratar enfermedad inflamatoria del intestino o artritis.
16. Un compuesto o sal según uno cualquiera de los puntos 1-10 o una composición según el punto 11, para tratar una enfermedad seleccionada de una enfermedad hiperproliferativa, una enfermedad inflamatoria o una enfermedad angiogénica.
- 15 17. Un compuesto o sal según uno cualquiera de los puntos 1-10 o una composición según el punto 11, para tratar una enfermedad seleccionada de cáncer, aterosclerosis, reestenosis, trastornos proliferativos de células mesangiales, psoriasis, angiogénesis miocárdica, neovascularización de placas ateroscleróticas, neovascularización coroidea, retinopatía del prematuro (fibroplasias retrolenticulares), degeneración macular, rechazo de injerto de córnea, rubeosis, glaucoma neurovascular y síndrome de Oster-Webber.
- 20 18. Un compuesto o sal según uno cualquiera de los puntos 1-10 o una composición según el punto 11, para tratar una enfermedad seleccionada de enfermedad inflamatoria del intestino, artritis, asma, alergia, enfermedad inflamatoria de los riñones, choque circulatorio, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, inflamación de la piel, enfermedad periodontal, psoriasis y enfermedades de inmunidad mediadas por células T.
- 25 19. Un compuesto o sal según uno cualquiera de los puntos 1-10 o una composición según el punto 11, para tratar enfermedad inflamatoria del intestino o artritis.

La presente divulgación proporciona compuestos de fórmula I:



y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que

L es un enlace o es -C(R<sub>3</sub>,R<sub>4</sub>)-;

- 30 X es -C(R<sub>3</sub>,R<sub>4</sub>)N(R<sub>5</sub>)-, -C(O)N(R<sub>4</sub>)-, -N(R<sub>4</sub>)C(O)-, -C(R<sub>4</sub>,R<sub>5</sub>)-, -N(R<sub>4</sub>)-, -O-, -S-, -C(O)-, -S(O)<sub>2</sub>-, -S(O)<sub>2</sub>N(R<sub>4</sub>)- o -N(R<sub>4</sub>)S(O)<sub>2</sub>-;

- 35 R<sub>1</sub> es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquenilarilo, heterociclico, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoilo, haloalcoilo, hidroxialquilo, alcanóilo, -COOH, -OH, -SH, -S-alquilo, -CN, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>(alquilo), -OC(O)alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo o mono o dialquiltiocarbamoilo;

- 40 R<sub>2</sub> es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquenilarilo, heterociclico, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoilo, haloalquiloxilo, hidroxialquilo, alcanóilo, -COOH, -OH, -SH, -S-alquilo, -CN, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>(alquilo), -OC(O)alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo, mono o dialquiltiocarbamoilo, alquil-S-alquilo, -heteroaril-arilo, -alquil-heteroaril-arilo, -C(O)-NH-arilo, -alquenal-heteroarilo, -C(O)-heteroarilo o -alquenal-heteroaril-arilo;

- 45 R<sub>3</sub> es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquenilarilo, heterociclico, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoilo, haloalcoilo, hidroxialquilo, alcanóilo, oxo (=O), -COOH, -OH, -SH, -S-alquilo, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>(alquilo), -OC(O)alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo o mono o dialquiltiocarbamoilo;

en la que la parte de alquilo y anillo de cada uno de los grupos  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  anteriores está sustituida opcionalmente con hasta 5 grupos que son independientemente alquilo ( $C_1$ - $C_6$ ), halógeno, haloalquilo,  $-OC(O)(\text{alquilo } C_1-C_6)$ ,  $-C(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$ ,  $-\text{CONR}'R''$ ,  $-\text{OC(O)NR}'R''$ ,  $-\text{NR}'C(O)R''$ ,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{OCF}_3$ ,  $-\text{OH}$ , alcoxilo de  $C_1$ - $C_6$ , hidroxialquilo,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{S-alquilo}$ ,  $-\text{SOR}'R''$ ,  $-\text{SO}_2R'$ ,  $-\text{NO}_2$  o  $\text{NR}'R''$ , en los que  $R'$  y  $R''$  son independientemente H o alquilo ( $C_1$ - $C_6$ ), y en la que cada parte de alquilo de un sustituyente está opcionalmente sustituida con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados independientemente de halógeno, CN, OH y  $\text{NH}_2$ ; y

$R_4$  y  $R_5$  son independientemente H o alquilo, siempre y cuando  $R_3$  y  $R_4$  estén en el mismo carbono y  $R_3$  sea oxo, entonces  $R_4$  esté ausente.

La divulgación también proporciona procedimientos para la síntesis de los compuestos de fórmula I.

La divulgación también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto o una sal de fórmula I y al menos un portador, disolvente, adyuvante o diluyente farmacéuticamente aceptable.

La presente divulgación también proporciona métodos para el tratamiento o la prevención de una enfermedad hiperproliferativa, una enfermedad inflamatoria o una enfermedad angiogénica.

La presente divulgación también proporciona métodos para inhibir esfingosina cinasa en una célula.

Los compuestos de la invención son inhibidores potentes y selectivos de SK. Por lo tanto, la invención proporciona inhibidores de SK que son útiles como agentes antiproliferativos, antiinflamatorios y antiangiogénicos.

Realizaciones preferidas específicas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción más detallada de ciertas realizaciones preferidas y las reivindicaciones.

#### Descripción de las figuras

Figura 1. Inhibición del crecimiento tumoral por inhibidores de SK. A ratones hembra Balb/c se les inyectó por vía subcutánea células de adenocarcinoma murino JC suspendidas en PBS. Después de un crecimiento tumoral palpable, se trataron los animales mediante sonda oral de o bien 100  $\mu\text{l}$  de PEG400 (control, cuadrados en blanco) o bien 100 mg/kg de compuesto 62 (triángulos) o compuesto 57 (círculos) en días impares. Se realizó la medición del peso corporal total y el volumen tumoral durante hasta 18 días. \* $p < 0,05$ . Inserción: Los pesos corporales promediados de ratones de cada grupo durante el transcurso del estudio.

Figura 2. Relaciones dosis-respuesta para la inhibición del crecimiento tumoral por el compuesto 62. A ratones hembra Balb/c se les inyectó por vía subcutánea células JC suspendidas en PBS. Después de un crecimiento tumoral palpable, se trataron los animales mediante sonda oral de o bien 100  $\mu\text{l}$  de PEG400 (control, cuadrados en blanco) o compuesto 62 a 3,5 mg/kg (círculos), 10 mg/kg (triángulos invertidos), 35 mg/kg (triángulos) o 100 mg/kg (cuadrados) en días impares. Se realizó la medición del peso corporal total y el volumen tumoral durante hasta 18 días.

Figura 3. Efectos del compuesto 62 sobre el derrame vascular inducido por VEGF. A ratones desnudos se les inyectó por vía intraperitoneal DMSO (control, barra en blanco) o 75 mg/kg de compuesto 62 (barra rayada) o se les administró 100 mg/kg de compuesto 62 mediante sonda oral (barra rellena). Después de 30 minutos, se inyectó colorante azul de Evans por vía intravenosa y los animales recibieron inyecciones subcutáneas posteriores de o bien PBS o bien 400 ng de VEGF. Las áreas de derrame vascular en cada animal se cuantificaron entonces. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. de las áreas de derrame vascular. \* $p < 0,01$ .

Figura 4. Efectos del compuesto 62 sobre la permeabilidad vascular retiniana en ratas diabéticas. Las ratas se hicieron diabéticas mediante la administración de estreptozotocina, y se dejaron sin tratar durante 45 días. Del día 45 al día 87, se trataron ratas control (barras en blanco) y diabéticas con disolvente (barras sombreadas) o compuesto 62 a 25 mg/kg (barras con rayas horizontales) o 75 mg/kg (barras con rayas diagonales). El día 87, se midió el derrame retiniano en cada animal. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. para 3-5 ratas por grupo.

Figura 5. Inhibición por el compuesto 62 de la activación NF $\kappa$ B inducida por TNF $\alpha$ . Se trataron fibroblastos transfectados con un promotor sensible a TNF $\alpha$  ligado a luciferasa, con las concentraciones indicadas de compuesto 62 y luego se trataron con TNF $\alpha$  durante 6 horas. La cantidad de luciferasa expresada por las células se midió entonces mediante luminiscencia. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. de la actividad luciferasa en muestras por triplicado en un experimento típico.

Figura 6. Inhibición por el compuesto 62 de la actividad Cox-2 inducida por TNF $\alpha$ . Se incubaron células IEC6 de rata (panel A) o células endoteliales humanas (panel B) durante 18 horas con dimetilsulfóxido (DMSO) como control de disolvente, o 100 ng de TNF $\alpha$ /ml en presencia de DMSO o 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de compuesto 62. Los niveles de PGE<sub>2</sub> secretados en el medio se cuantificaron mediante ELISA. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. para muestras por triplicado en un experimento típico.

Figura 7. Efectos del compuesto 62 y Dipentum sobre el DAI en el modelo de colitis aguda inducida por DSS. Se

trataron ratones C57BL/6 durante 6 días tal como sigue: agua potable normal y administración oral diaria de PEG (sin DSS), DSS al 2% en el agua potable y administración oral diaria de PEG (DSS solo); DSS al 2% en el agua potable y administración oral diaria de 50 mg/kg de compuesto 62 en PEG (DSS+ compuesto 62) o DSS al 2% en el agua potable y administración oral diaria de 50 mg/kg de Dipentum en PEG (DSS + Dipentum). En el día indicado, se calculó el índice de actividad de enfermedad para cada grupo. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. para 5-6 ratones por grupo.

Figura 8. Efectos del compuesto 62 y Dipentum sobre la longitud de colon en el modelo de colitis aguda inducida por DSS. Los ratones del experimento descrito en la figura 7 se sacrificaron el día 6, y el colon se extirpó de cada animal y se midió. Los datos representan la media  $\pm$  D.E. de la longitud de colon.

Figura 9. Efectos del compuesto 62 y Dipentum sobre la puntuación de histología de colon en el modelo de colitis aguda inducida por DSS. Los ratones del experimento descrito en la figura 7 se sacrificaron el día 6, y el colon se extirpó de cada animal y se determinó la puntuación de histología. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. para 5-6 ratones por grupo.

Figura 10. Efectos del compuesto 62 y Dipentum sobre la infiltración de neutrófilos en el colon en el modelo de colitis aguda inducida por DSS. Se midió la actividad mieloperoxidasa del colon de los animales descritos en la figura 7. Valores de la media  $\pm$  D.E. de la actividad MPO en unidades por gramo de tejido.

Figura 11. Efectos del compuesto 62 y Dipentum sobre los niveles de citocinas colónicas en el modelo de colitis aguda inducida por DSS. Se extrajeron muestras de colon de ratones descritos en la figura 7 y se sometieron a ensayo para determinar los niveles de las citocinas indicadas. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. de la cantidad de cada citocina en 4-5 muestras por grupo.

Figura 12. Efectos del compuesto 62 sobre los niveles de S1P en el colon de los animales en el modelo de colitis inducida por DSS. Se extrajeron muestras de colon de ratones descritos en la figura 7 y se sometieron a ensayo para determinar los niveles de S1P mediante CL/EM/EM. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. para 4-5 muestras por grupo.

Figura 13. Efectos del compuesto 62 sobre el DAI en el modelo de colitis crónica inducida por DSS. Los ratones recibieron 2 ciclos (7 días por ciclo) de DSS (al 1,5% en el ciclo 1 y al 1% en el ciclo 2), 2 ciclos de agua potable normal y se aleatorizaron según el DAI el día 28 en grupos de 8 ratones. Los ratones se trataron entonces tal como sigue: sin DSS (■) - agua potable normal y dosificados por vía oral con PEG400 cada día durante 7 días (control de agua); DSS solo (▲) - agua potable que contenía DSS al 1,5% y dosificados por vía oral con PEG diariamente durante 7 días; DSS + compuesto 62 (▼) - agua potable que contenía DSS al 1,5% y dosificados por vía oral con compuesto 62 (50 mg/kg) cada día durante 7 días; DSS + Dipentum (◆) - agua potable que contenía DSS al 1,5% y dosificados por vía oral con Dipentum (50 mg/kg). \* $p < 0,001$  frente a un grupo sin DSS.

Figura 14. Efectos del compuesto 62 sobre los niveles de S1P en el colon de los animales en el modelo de colitis crónica inducida por DSS. Se extrajeron muestras de colon de ratones descritos en la figura 13 y se sometieron a ensayo para determinar los niveles de S1P mediante CL/EM/EM. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. para 8 muestras por grupo; \* $p < 0,05$  frente a un grupo sin DSS.

Figura 15. Efectos del compuesto 62 y Dipentum sobre los niveles de citocinas colónicas en el modelo de colitis crónica inducida por DSS. Se extrajeron muestras de colon de ratones descritos en la figura 13, y se sometieron a ensayo para determinar los niveles de las citocinas indicadas. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. de la cantidad en 8 muestras por grupo.

Figura 16. Efectos del compuesto 62 y Dipentum sobre los niveles de citocinas en suero en el modelo de colitis crónica inducida por DSS. Se sometió a ensayo el suero de ratones descritos en la figura 13 para determinar los niveles de las citocinas indicadas. Los valores representan la media  $\pm$  D.E. de la cantidad en 8 muestras por grupo.

Figura 17. Efectos del compuesto 62 sobre la progresión de la enfermedad en el modelo de CIA en ratones. Se les inyectó a ratones DBA/1 hembra colágeno, se reforzaron después de 3 días y entonces se monitorizaron para detectar síntomas de artritis. Después de manifestación de la enfermedad, se trataron grupos de ratones durante 12 días tal como sigue: (▲) compuesto 62 (100 mg/kg administrado por vía oral cada día durante 6 días a la semana); o (■) vehículo (PEG400) administrado con el mismo calendario. En el día de tratamiento indicado, se determinaron la puntuación clínica promedio (A) y el diámetro de pata trasera promedio (B). \* $p \leq 0,05$  frente a un grupo de PEG400 solo.

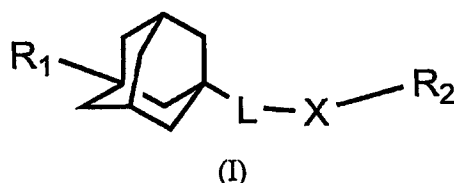
Figura 18. Efectos del compuesto 62 sobre la progresión de la enfermedad en el modelo de artritis inducida por adyuvante en ratas. Se les inyectó a ratas Lewis macho por vía subcutánea *Mycobacterium butyricum*, y estuvieron presentes síntomas de reactividad inmunitaria después de 2 semanas. Se aleatorizaron las ratas que respondieron en grupos de tratamiento (n = 8 por grupo), y recibieron dosis diarias orales de: disolvente solo (Tween-80 al 0,375%); 100 mg/kg de compuesto 62 (ABC294640); 35 mg/kg de compuesto 62; o 5 mg/kg de compuesto 62, o inyecciones intraperitoneales de indometacina (5 mg/kg) cada dos días. La gravedad de la enfermedad de cada

animal se cuantificó mediante la medición del grosor de la pata trasera. Panel A. Transcurso de tiempo de respuesta artrítica en pata trasera. Panel B. Mediciones de grosor de pata trasera en el día final (día 10). Panel C. Cambio en el grosor de pata del grupo respectivo frente a ratas no artríticas (no tratadas previamente) en el día 10. \*,  $p < 0,05$ ; \*\*\*,  $p < 0,001$  frente a un grupo de disolvente solo.

## 5 Descripción detallada de la invención

A menos que los sustituyentes para una fórmula particular se definan expresamente para esa fórmula, se entiende que llevan las definiciones expuestas en relación con la fórmula anterior a la que hace referencia la fórmula particular.

Tal como se indicó anteriormente, la divulgación proporciona compuestos de fórmula I:



y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que

L es un enlace o es  $-C(R_3, R_4)-$ ;

X es  $-C(R_3, R_4)N(R_5)-$ ,  $-C(O)N(R_4)-$ ,  $-N(R_4)C(O)-$ ,  $-C(R_4, R_5)-$ ,  $-N(R_4)-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-S(O)_2-$ ,  $-S(O)_2N(R_4)-$  o  $-N(R_4)S(O)_2-$ ;

15  $R_1$  es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alquenilo, alquinilo, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquenilarilo, heterociclilo, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoilo, haloalcoilo, hidroxialquilo, alcanoilo,  $-COOH$ ,  $-OH$ ,  $-SH$ ,  $-S$ -alquilo,  $-CN$ ,  $-NO_2$ ,  $-NH_2$ ,  $-CO_2$ (alquilo),  $-OC(O)$ alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo o mono o dialquiltiocarbamoilo;

20  $R_2$  es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alquenilo, alquinilo, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquenilarilo, heterociclilo, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoilo, haloalcoilo, hidroxialquilo, alcanoilo,  $-COOH$ ,  $-OH$ ,  $-SH$ ,  $-S$ -alquilo,  $-CN$ ,  $-NO_2$ ,  $-NH_2$ ,  $-CO_2$ (alquilo),  $-OC(O)$ alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo, mono o dialquiltiocarbamoilo, alquil-S-  
25 alquilo, -heteroaril-arilo, -alquil-heteroaril-arilo,  $-C(O)-NH$ -arilo, -alquenil-heteroarilo,  $-C(O)$ -heteroarilo o -alquenil-heteroaril-arilo;

30  $R_3$  es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alquenilo, alquinilo, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquenilarilo, heterociclilo, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoilo, haloalcoilo, hidroxialquilo, alcanoilo, oxo ( $=O$ ),  $-COOH$ ,  $-OH$ ,  $-SH$ ,  $-S$ -alquilo,  $-CN$ ,  $-NO_2$ ,  $-CO_2$ (alquilo),  $-OC(O)$ alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo o mono o dialquiltiocarbamoilo;

35 en la que la parte de alquilo y anillo de cada uno de los grupos  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  anteriores está sustituida opcionalmente con hasta 5 grupos que son independientemente alquilo ( $C_1-C_6$ ), halógeno, haloalquilo,  $-OC(O)$ (alquilo  $C_1-C_6$ ),  $-C(O)O$ (alquilo  $C_1-C_6$ ),  $-CONR'R''$ ,  $-OC(O)NR'R''$ ,  $-NR'C(O)R''$ ,  $-CF_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-OH$ , alcoilo  $C_1-C_6$ , hidroxialquilo,  $-CN$ ,  $-CO_2H$ ,  $-SH$ ,  $-S$ -alquilo,  $-SOR'R''$ ,  $-SO_2R'$ ,  $-NO_2$  o  $NR'R''$ , en los que  $R'$  y  $R''$  son independientemente H o alquilo ( $C_1-C_6$ ), y en la que cada parte de alquilo de un sustituyente está opcionalmente sustituida con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados independientemente de halógeno, CN, OH y  $NH_2$ ; y

$R_4$  y  $R_5$  son independientemente H o alquilo, siempre y cuando  $R_3$  y  $R_4$  estén en el mismo carbono y  $R_3$  sea oxo, entonces  $R_4$  esté ausente.

40 Compuestos de fórmula I preferidos incluyen compuestos en los que L es un enlace.

Compuestos de fórmula I preferidos también incluyen compuestos en los que L es un enlace y X es  $-C(R_3, R_4)-$ . Más preferiblemente,  $R_3$  y  $R_4$  forman un grupo oxo ( $=O$ ).

Compuestos de fórmula I preferidos también incluyen compuestos en los que  $R_1$  es H.

45 Compuestos de fórmula I preferidos también incluyen compuestos en los que  $R_1$  es arilo opcionalmente sustituido. Preferiblemente, arilo es fenilo. También preferiblemente, fenilo no está sustituido o está sustituido con halógeno. Sustituyentes de halógeno preferidos son Cl y F.

Compuestos de fórmula I preferidos incluyen además compuestos en los que  $R_2$  es OH.

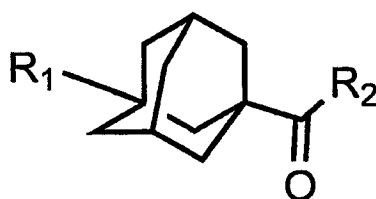
Compuestos de fórmula I preferidos incluyen además compuestos en los que  $R_2$  es alquilo  $C_1$ - $C_6$ , más preferiblemente alquilo  $C_1$ - $C_3$ , e incluso más preferiblemente,  $CH_3$ .

5 Compuestos de fórmula I preferidos incluyen además compuestos en los que  $R_2$  es alquénilarilo. Preferiblemente, la parte de arilo de alquénilarilo es fenilo o naftilo, opcionalmente sustituido con 1 ó 2 de halógeno, ciano o hidroxilo.

Compuestos de fórmula I preferidos incluyen además compuestos en los que  $R_2$  es -alquénil-heteroarilo.

Compuestos de fórmula I preferidos incluyen además compuestos en los que  $R_2$  es -alquénil-heteroaril-arilo.

Compuestos de fórmula I preferidos incluyen compuestos de fórmula I-1:



(I-1)

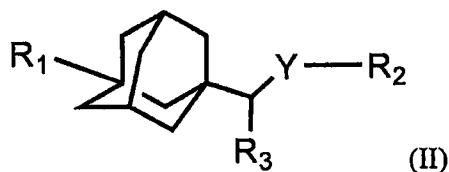
10 y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

$R_1$  es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alquénilo, alquinilo, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquénilarilo, heterociclilo, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoxilo, haloalcoxilo, hidroxialquilo, alcanóilo, -COOH, -OH, -SH, -S-alquilo, -CN, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>(alquilo), -OC(O)alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo o mono o dialquiltiocarbamoilo; y

$R_2$  es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alquénilo, alquinilo, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquénilarilo, heterociclilo, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoxilo, haloalcoxilo, hidroxialquilo, alcanóilo, -COOH, -OH, -SH, -S-alquilo, -CN, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>(alquilo), -OC(O)alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo, mono o dialquiltiocarbamoilo, alquil-S-alquilo, -heteroaril-arilo, alquil-heteroaril-arilo, -NH-arilo, -alquénil-heteroarilo, -heteroarilo, -NH-alquilo, -NH-cicloalquilo o -alquénil-heteroaril-arilo.

25 en la que la parte de alquilo y anillo de cada uno de los grupos  $R_1$  y  $R_2$  anteriores está sustituida opcionalmente con hasta 5 grupos que son independientemente alquilo ( $C_1$ - $C_6$ ), halógeno, haloalquilo, -OC(O)(alquilo  $C_1$ - $C_6$ ), -C(O)O(alquilo  $C_1$ - $C_6$ ), -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR'C(O)R'', -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -OH, alcoxilo  $C_1$ - $C_6$ , hidroxialquilo, -CN, -CO<sub>2</sub>H, -SH, -S-alquilo, -SOR'R'', -SO<sub>2</sub>R', -NO<sub>2</sub> o NR'R'', en los que R' y R'' son independientemente H o alquilo ( $C_1$ - $C_6$ ), y en la que cada parte de alquilo de un sustituyente está opcionalmente sustituida además con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados independientemente de halógeno, CN, OH, NH<sub>2</sub>.

Compuestos de fórmula I preferidos incluyen aquéllos de fórmula II:



(II)

30 y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

Y es -C(R<sub>4</sub>,R<sub>5</sub>)-, -N(R<sub>4</sub>)-, -O- o -C(O)-;

35  $R_1$  es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alquénilo, alquinilo, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquénilarilo, heterociclilo, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoxilo, haloalcoxilo, hidroxialquilo, alcanóilo, -COOH, -OH, -SH, -S-alquilo, -CN, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>(alquilo), -OC(O)alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo o mono o dialquiltiocarbamoilo;

- 5  $R_2$  es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquenilarilo, heterociclico, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoilo, haloalcoilo, hidroxialquilo, alcanoilo,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{S}$ -alquilo,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{CO}_2$ (alquilo),  $-\text{OC}(\text{O})$ alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo, mono o dialquiltiocarbamoilo, alquil-S-alquilo, -heteroaril-arilo, alquil-heteroaril-arilo,  $-\text{C}(\text{O})\text{-NH}$ -arilo, -alquenoil-heteroarilo,  $-\text{C}(\text{O})$ -heteroarilo o -alquenoil-heteroaril-arilo.
- 10  $R_3$  es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquenilarilo, heterociclico, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoilo, haloalcoilo, hidroxialquilo, alcanoilo, oxo ( $=\text{O}$ ),  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{S}$ -alquilo,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{CO}_2$ (alquilo),  $-\text{OC}(\text{O})$ alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo o mono o dialquiltiocarbamoilo;
- 15 en la que la parte de alquilo y anillo de cada uno de los grupos  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  anteriores está sustituida opcionalmente con hasta 5 grupos que son independientemente alquilo ( $\text{C}_1\text{-C}_6$ ), halógeno, haloalquilo,  $-\text{OC}(\text{O})$ (alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ),  $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ (alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ),  $-\text{CONR}'\text{R}''$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ ,  $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''$ ,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{OCF}_3$ ,  $-\text{OH}$ , alcoilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$ , hidroxialquilo,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{S}$ -alquilo,  $-\text{SOR}'\text{R}''$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}'$ ,  $-\text{NO}_2$  o  $\text{NR}'\text{R}''$ , en los que  $\text{R}'$  y  $\text{R}''$  son independientemente H o alquilo ( $\text{C}_1\text{-C}_6$ ), y en la que cada parte de alquilo de un sustituyente está opcionalmente sustituida además con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados independientemente de halógeno,  $\text{CN}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{NH}_2$ ; y
- 20  $R_4$  y  $R_5$  son independientemente H o alquilo.
- Compuestos de fórmula II más preferidos incluyen aquéllos en los que:
- Y es  $-\text{C}(\text{R}_4, \text{R}_5)-$  o  $-\text{N}(\text{R}_4)-$ ;
- 25  $R_1$  es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquenilarilo, heterociclico, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoilo, haloalcoilo, hidroxialquilo, alcanoilo,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{S}$ -alquilo,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{CO}_2$ (alquilo),  $-\text{OC}(\text{O})$ alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo o mono o dialquiltiocarbamoilo;
- 30  $R_2$  es H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, arilo, alquilarilo, alquenilarilo, heterociclico, heteroarilo, alquilheteroarilo, heterocicloalquilo, alquil-heterocicloalquilo, acilo, aroilo, halógeno, haloalquilo, alcoilo, haloalcoilo, hidroxialquilo, alcanoilo,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{S}$ -alquilo,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{CO}_2$ (alquilo),  $-\text{OC}(\text{O})$ alquilo, carbamoilo, mono o dialquilaminocarbamoilo, mono o dialquilcarbamoilo, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono- o dialquilaminoalquilo, tiocarbamoilo, mono o dialquiltiocarbamoilo, alquil-S-alquilo, -heteroaril-arilo, alquil-heteroaril-arilo,  $-\text{C}(\text{O})\text{-NH}$ -arilo, -alquenoil-heteroarilo,  $-\text{C}(\text{O})$ -heteroarilo o -alquenoil-heteroaril-arilo;
- 35 en la que la parte de alquilo y anillo de cada uno de los grupos  $R_1$ , y  $R_2$  anteriores está sustituida opcionalmente con hasta 5 grupos que son independientemente alquilo ( $\text{C}_1\text{-C}_6$ ), halógeno, haloalquilo,  $-\text{OC}(\text{O})$ (alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ),  $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ (alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ),  $-\text{CONR}_4\text{R}_5$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}_4\text{R}_5$ ,  $-\text{NR}_4\text{C}(\text{O})\text{R}_5$ ,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{OCF}_3$ ,  $-\text{OH}$ , alcoilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$ , hidroxialquilo,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{S}$ -alquilo,  $-\text{SOR}_4\text{R}_5$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}_4\text{R}_5$ ,  $-\text{NO}_2$  o  $\text{NR}_4\text{R}_5$ , y en la que cada parte de alquilo de un sustituyente está opcionalmente sustituida además con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados independientemente de halógeno,  $\text{CN}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{NH}_2$ ;
- 40  $R_3$  es H, alquilo u oxo ( $=\text{O}$ ) y
- $R_4$  y  $R_5$  son independientemente H o alquilo ( $\text{C}_1\text{-C}_6$ ).
- Compuestos de fórmula II más preferidos incluyen aquéllos en los que Y es  $-\text{NH}-$ .
- Compuestos de fórmula II preferidos incluyen aquéllos en los que  $R_3$  es oxo.
- Compuestos de fórmula II preferidos incluyen aquéllos en los que  $R_3$  es metilo.
- 45 Compuestos de fórmula II preferidos también incluyen aquéllos en los que  $R_1$  es H.
- Compuestos de fórmula II preferidos incluyen además aquéllos en los que  $R_1$  es arilo opcionalmente sustituido. Preferiblemente, el arilo es fenilo, o bien no sustituido o bien sustituido con 1 ó 2 grupos halógeno. Preferiblemente, halógeno es cloro o fluoro.
- Compuestos de fórmula II preferidos también incluyen compuestos en los que  $R_2$  es alquilo o cicloalquilo.
- 50 Compuestos de fórmula II preferidos también incluyen compuestos en los que  $R_2$  es arilo o -alquilarilo. El arilo preferido en cualquier grupo es fenilo. El alquilo preferido en alquilarilo es alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_3$ , o bien de cadena lineal o bien ramificado. Los grupos arilo pueden estar no sustituidos o estar sustituidos. Los sustituyentes preferidos



incluyen 1, 2, 3, 4 ó 5 (preferiblemente 1 ó 2) grupos seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, alquilo, cianoalquilo, aminoalquilo, tioalcoxilo, trifluorometilo, haloalcoxilo, ariloxilo y alcoxilo.

Compuestos de fórmula II preferidos también incluyen compuestos en los que  $R_2$  es heterocicloalquilo o -alquil-heterocicloalquilo. El heterocicloalquilo preferido en cualquier grupo es piperidinilo, piperazinilo, pirrolidinilo y morfolinilo. Los grupos heterocicloalquilo pueden estar no sustituidos o estar sustituidos. Los sustituyentes preferidos incluyen 1, 2, 3, 4 ó 5 (preferiblemente 1 ó 2) grupos seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, alquilo, cianoalquilo, aminoalquilo, tioalcoxilo, trifluorometilo, haloalcoxilo, ariloxilo, oxo y alcoxilo.

Compuestos de fórmula II preferidos también incluyen compuestos en los que  $R_2$  es heteroarilo o -alquil-heteroarilo. El heteroarilo preferido en cada grupo es piridinilo, imidazolilo, indolilo, carbazolilo, tiazolilo, benzotiazolilo, benzooxazolilo, purinilo y tienilo. Los grupos heteroarilo pueden estar no sustituidos o estar sustituidos. Sustituyentes preferidos incluyen 1, 2, 3, 4 ó 5 (preferiblemente 1 ó 2) grupos seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, alquilo, cianoalquilo, aminoalquilo, tioalcoxilo, trifluorometilo, haloalcoxilo, ariloxilo y alcoxilo.

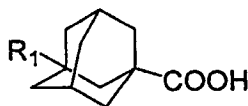
La divulgación también proporciona métodos para tratar un paciente que tenga, o para prevenir que un paciente adquiera, una enfermedad o estado seleccionado del grupo que consiste en una enfermedad hiperproliferativa, una enfermedad inflamatoria o una enfermedad angiogénica, lo que incluye la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula II o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente que requiera tal tratamiento o prevención.

Una enfermedad hiperproliferativa preferida en cuyo tratamiento o prevención son útiles los compuestos de la invención es el cáncer, incluyendo como ejemplos no limitativos del mismo tumores sólidos tales como cánceres de cabeza y cuello, cánceres de pulmón, cánceres del tracto intestinal, cánceres de mama, cánceres ginecológicos, cánceres testiculares, cánceres de las vías urinarias, cánceres neurológicos, cánceres endocrinos, cánceres de piel, sarcomas, cánceres del mediastino, cánceres retroperitoneales, cánceres cardiovasculares, mastocitosis, carcinosarcomas, cilindroma, cánceres dentales, estesioblastoma, cáncer del uraco, carcinoma de células de Merkel y paragangliomas, y cánceres hematopoyéticos tales como linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, leucemias crónicas, leucemias agudas, cánceres mieloproliferativos, discrasias de células plasmáticas y síndromes mielodisplásicos. La lista anterior es a modo de ejemplo, y no pretende ser exhaustiva ni limitativa.

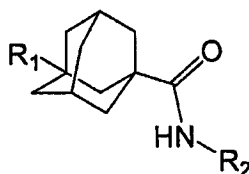
Otras enfermedades preferidas que pueden tratarse o prevenirse con los compuestos de la invención incluyen enfermedades inflamatorias, tales como entre otras enfermedad inflamatoria del intestino, artritis, aterosclerosis, asma, alergia, enfermedad inflamatoria de los riñones, choque circulatorio, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, inflamación de la piel, enfermedad periodontal, psoriasis y enfermedades de inmunidad mediadas por células T, incluyendo encefalomiелitis alérgica, neuritis alérgica, rechazo de aloinjertos en trasplante, enfermedad de injerto contra huésped, miocarditis, tiroiditis, nefritis, lupus eritematoso sistémico y diabetes mellitus insulino dependiente.

Otras enfermedades preferidas que pueden tratarse o prevenirse con los compuestos de la invención incluyen enfermedades angiogénicas, tales como retinopatía diabética, artritis, psoriasis, sarcoma de Kaposi, hemangiomas, angiogénesis miocárdica, neovascularización de placas ateroscleróticas y enfermedades angiogénicas oculares tales como neovascularización coroidea, retinopatía del prematuro (fibroplasias retrolenticulares), degeneración macular, rechazo de injerto de córnea, rubeosis, glaucoma neurovascular y síndrome de Oster-Webber.

La divulgación proporciona además un procedimiento para preparar inhibidores de esfingosina cinasa. En una realización, el procedimiento comprende poner en contacto un compuesto precursor que tiene la fórmula:



con un compuesto que tiene la fórmula:  $\text{H}_2\text{N}-\text{R}_2$  en condiciones suficientes para producir compuestos que tienen la fórmula:

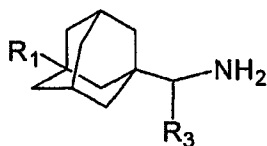


en la que:

$R_1$  y  $R_2$  son tal como se definió anteriormente.

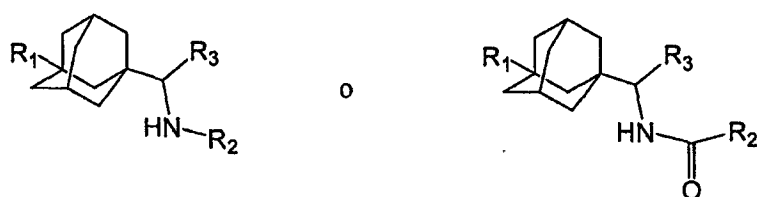
El procedimiento comprende además reducir una adamantilamida, tal como se mostró anteriormente, para dar una adamantilamina mediante contacto con  $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$ .

El procedimiento para la preparación de inhibidores de esfingosina cinasa puede comprender poner en contacto un compuesto precursor que tiene la fórmula:



5

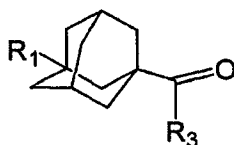
con un compuesto que tiene la fórmula:  $\text{R}_2\text{-Br}$  o  $\text{R}_2\text{C}(\text{O})\text{Cl}$  en condiciones suficientes para producir compuestos que tienen la fórmula:



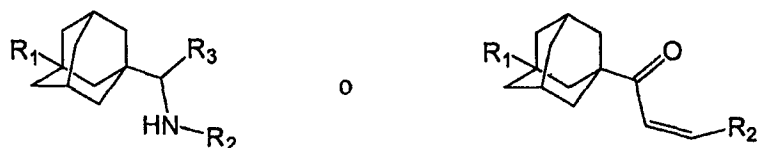
en las que:

10  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$  y  $\text{R}_3$  son tal como se definió anteriormente.

El procedimiento puede comprender poner en contacto un compuesto precursor que tiene la fórmula:



con un compuesto que tiene la fórmula  $\text{H}_2\text{N-R}_2$  o  $\text{R}_2\text{C}(\text{O})\text{H}$  en condiciones suficientes para producir compuestos que tienen la fórmula:



15

en las que:

$\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$  y  $\text{R}_3$  son tal como se definió anteriormente.

20 La divulgación también proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un compuesto de fórmula II o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como principio activo, en combinación con un agente auxiliar, medio o portador farmacéuticamente aceptable.

25 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden prepararse en diversas formas para su administración, incluyendo comprimidos, comprimidos oblongos, pastillas o grageas, o pueden llenarse en recipientes adecuados, tales como cápsulas, o, en el caso de suspensiones, llenarse en botellas. Tal como se usa en el presente documento "medio portador farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, diluyentes u otro vehículo líquido; adyuvantes de dispersión o suspensión; agentes tensioactivos; conservantes; aglutinantes sólidos; lubricantes y similares, según sean adecuados para la forma de dosificación particular deseada. Diversos vehículos y portadores usados para formular las composiciones farmacéuticas y técnicas conocidas para la preparación de las mismas se describen en *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Osol et al. eds., 15ª ed., Mack Publishing Co.: Easton, PA, 1975). Excepto en la medida en que cualquier medio portador convencional sea incompatible con los compuestos químicos de la presente invención, tal como al producir cualquier efecto biológico indeseable o de otra manera interaccionar de forma perjudicial con cualquier otro componente de la composición farmacéutica, se contempla que el uso del medio portador está dentro del alcance de esta invención.

30

En las composiciones farmacéuticas de la presente invención, el agente activo puede estar presente en una cantidad de al menos el 1% y no más del 99% en peso, basándose en el peso total de la composición, incluyendo el medio portador o agentes auxiliares. Preferiblemente, la proporción de agente activo varía entre el 1% y el 70% en peso de la composición. Los medios portadores sólidos o líquidos orgánicos o inorgánicos farmacéuticos adecuados para administración enteral o parenteral pueden usarse para constituir la composición. Gelatina, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, grasas y aceites vegetales y animales, goma, polialquilenglicol u otros excipientes o diluyentes conocidos para medicamentos pueden ser todos adecuados como medios portadores.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse usando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para tratar un paciente que tenga, o para prevenir que un paciente adquiera, una enfermedad o estado seleccionado del grupo que consiste en una enfermedad hiperproliferativa, una enfermedad inflamatoria y una enfermedad angiogénica. De esta manera, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad suficiente del agente activo para proporcionar el efecto deseado contra células diana. La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, edad y estado general del sujeto; el inhibidor de SK particular; su modo de administración; y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se formulan preferiblemente en forma de dosificación unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. "Forma de dosificación unitaria", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una unidad físicamente diferenciada de agente terapéutico adecuada para el animal que va a tratarse. Cada dosificación debe contener la cantidad de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado o bien como tal, o bien en asociación con el medio portador farmacéutico seleccionado. Normalmente, la composición farmacéutica se administrará en unidades de dosificación que contienen de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 10.000 mg del agente, prefiriéndose un intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1.000 mg.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse por vía oral o por vía parenteral, tal como mediante inyección intramuscular, inyección intraperitoneal o infusión intravenosa. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse por vía oral o por vía parenteral a niveles de dosificación de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1.000 mg/kg, y preferiblemente desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 100 mg/kg, de peso corporal del animal al día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado.

Aunque las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse a cualquier sujeto que pueda beneficiarse de los efectos terapéuticos de las composiciones, las composiciones están destinadas particularmente para el tratamiento de enfermedades en seres humanos.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se administrarán normalmente de 1 a 4 veces al día, de tal forma que se suministre la dosificación diaria tal como se describe en el presente documento. Alternativamente, pueden administrarse dosificaciones dentro de estos intervalos mediante infusión constante a lo largo de un periodo de tiempo prolongado, habitualmente de 1 a 96 horas, hasta que se hayan obtenido beneficios terapéuticos deseados. Sin embargo, el régimen exacto de administración de los compuestos químicos y composiciones farmacéuticas descritos en el presente documento dependerá necesariamente de las necesidades del animal que se esté tratando, del tipo de tratamientos que estén administrándose y del criterio del médico que atiende.

En ciertas situaciones, los compuestos de esta invención pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos, de modo que los compuestos pueden existir en diferentes formas estereoisoméricas. Estos compuestos pueden ser, por ejemplo, racematos, formas no racémicas quirales o diastereómeros. En estas situaciones, los enantiómeros individuales, es decir, formas ópticamente activas, pueden obtenerse mediante síntesis asimétrica o mediante resolución de los racematos. La resolución de los racematos puede lograrse, por ejemplo, mediante métodos convencionales tales como cristalización en presencia de un agente de resolución; cromatografía, usando, por ejemplo una columna de HPLC quiral o derivatizando la mezcla racémica con un reactivo de resolución para generar diastereómeros, separando los diastereómeros mediante cromatografía, y eliminando el agente de resolución para generar el compuesto original en forma enantioméricamente enriquecida. Cualquiera de los procedimientos anteriores puede repetirse para aumentar la pureza enantiomérica de un compuesto.

Cuando los compuestos descritos en el presente documento contienen dobles enlaces olefínicos u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique lo contrario, se pretende que los compuestos incluyan las configuraciones *cis*, *trans*, *Z* y *E*. Asimismo, también se pretende que todas las formas tautoméricas estén incluidas.

Las sales farmacéuticamente aceptables no tóxicas de los compuestos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a sales de ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, difosfórico, bromhídrico y nítrico o sales de ácidos orgánicos tales como ácido fórmico, cítrico, málico, maleico, fumárico, tartárico, succínico, acético, láctico, metanosulfónico, p-toluenosulfónico, 2-hidroxietilsulfónico, salicílico y esteárico. De manera similar, los cationes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a sodio, potasio, calcio, aluminio, litio y amonio. Los expertos en la técnica reconocerán una amplia variedad de sales de adición farmacéuticamente aceptables no tóxicas. La invención abarca también profármacos de los compuestos de la presente invención.

La divulgación abarca también profármacos de los compuestos de la presente invención. Los expertos en la técnica reconocerán diversas metodologías de síntesis, que pueden emplearse para preparar sales de adición farmacéuticamente aceptables no tóxicas y profármacos de los compuestos abarcados por la presente invención.

La divulgación proporciona compuestos de fórmula I y II que son inhibidores de SK, y que son útiles para modular la ruta de transducción de señales de esfingomielina, y en el tratamiento y la prevención de enfermedades hiperproliferativas, enfermedades inflamatorias y enfermedades angiogénicas. Los compuestos de la invención pueden prepararse por un experto en la técnica basándose únicamente en el conocimiento de la estructura química del compuesto. La química para la preparación de los compuestos de esta invención se conoce por los expertos en la técnica. De hecho, existe más de un procedimiento para preparar los compuestos de la invención. Pueden encontrarse ejemplos específicos de métodos de preparación en el presente documento y en la técnica.

Tal como se comentó anteriormente, los esfingolípidos son importantes de manera crítica en la regulación del equilibrio entre proliferación celular y apoptosis. Se produce esfingosina-1-fosfato por la enzima SK y estimula la proliferación de células tumorales. La reducción concurrente de ceramida por la acción de SK bloquea la apoptosis. Los compuestos de la invención son inhibidores de SK humana. Por lo tanto, la inhibición de la actividad de SK según la invención atenuará la proliferación de células tumorales y promoverá la apoptosis. Por lo tanto, los compuestos de la invención son útiles como agentes anticancerígenos. Además, puesto que la hiperproliferación celular es un proceso requerido en el desarrollo de aterosclerosis y psoriasis, los compuestos de la invención, que son inhibidores de SK, son útiles en el tratamiento de estas, y otras, enfermedades hiperproliferativas. Además, la activación y/o proliferación inadecuada de clases específicas de linfocitos da como resultado enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias crónicas. En consecuencia, los compuestos de la invención también son útiles en el tratamiento de estas enfermedades. Además, la angiogénesis inadecuada da como resultado una variedad de enfermedades, tal como se describe a continuación. En consecuencia, los compuestos de la invención también son útiles en el tratamiento de estas enfermedades.

#### Definiciones

Las definiciones y explicaciones a continuación son para los términos usados a lo largo de todo este documento, incluyendo tanto la memoria descriptiva como las reivindicaciones.

Debe observarse que, tal como se usa en toda esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno", "una" y "el", "la", incluyen referentes plurales a menos que el contenido dicte claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a una composición que contiene "un compuesto" incluye una mezcla de dos o más compuestos. También debe observarse que el término "o" generalmente se emplea en su sentido que incluye "y/o" a menos que el contenido dicte claramente lo contrario.

El símbolo "-" representa en general un enlace entre dos átomos en la cadena. De esta manera,  $\text{CH}_3\text{-O-CH}_2\text{-CH(R}_i\text{)-CH}_3$  representa un compuesto de 1-metoxipropano 2-sustituido. Además, el símbolo "-" representa el punto de unión del sustituyente a un compuesto. Así, por ejemplo aril-alquilo ( $\text{C}_1\text{-C}_6$ )- indica un grupo alquilarilo, tal como bencilo, unido al compuesto en el resto alquilo.

Cuando se indica que múltiples sustituyentes están unidos a una estructura, ha de entenderse que los sustituyentes pueden ser iguales o diferentes. Así, por ejemplo, "R<sub>m</sub> opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 grupos R<sub>q</sub>" indica que R<sub>m</sub> está sustituido con 1, 2 ó 3 grupos R<sub>q</sub> en donde los grupos R<sub>q</sub> pueden ser iguales o diferentes.

La frase "opcionalmente sustituido" se usa de manera intercambiable con la frase "sustituido o no sustituido". A menos que se indique lo contrario, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo, y cada sustituyente es independiente del otro.

Tal como se usa en el presente documento, los términos "halógeno" o "halo" indican flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "heteroátomo" significa nitrógeno, oxígeno o azufre e incluye cualquier forma oxidada de nitrógeno y azufre, y la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico. También el término "nitrógeno" incluye un nitrógeno que puede sustituible en un anillo heterocíclico. Como ejemplo, en un anillo saturado o parcialmente insaturado que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno o azufre, el nitrógeno puede ser N (como en 3,4-dihidro-2H-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o NR<sup>+</sup> (como en pirrolidinilo N-sustituido).

El término "alquilo", tal como se usa en el presente documento solo o como parte de un resto más grande, se refiere a un hidrocarburo alifático saturado incluyendo grupos de cadena lineal o de cadena ramificada. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, iso-, sec- y terc-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, 3-etilbutilo y similares. Preferiblemente, el grupo alquilo tiene de 1 a 20 átomos de carbono (siempre que se indique un intervalo numérico, por ejemplo, "1-20", en el presente documento, significa que el grupo, en este caso el grupo alquilo, puede contener 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc. hasta e incluyendo 20 átomos de carbono). Más preferiblemente, es un alquilo de tamaño medio que tiene 1 a 10 átomos de carbono. Lo más preferiblemente, es un alquilo inferior que tiene 1 a 4 átomos de carbono.

El término "cicloalquilalquilo", tal como se usa en el presente documento solo o como parte de un resto más grande,

se refiere a un grupo cicloalquilo  $C_3-C_{10}$  unido al resto molecular original a través de un grupo alquilo, tal como se definió anteriormente. Los ejemplos de grupos cicloalquilalquilo incluyen ciclopropilmetilo y ciclopentilmetilo.

El término “alqueno”, tal como se usa en el presente documento solo o como parte de un resto más grande, se refiere a un hidrocarburo alifático que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono, incluyendo grupos de cadena lineal o de cadena ramificada que tienen al menos un doble enlace carbono-carbono. Preferiblemente, el grupo alqueno tiene de 2 a 20 átomos de carbono. Más preferiblemente, es un alqueno de tamaño medio que tiene de 2 a 10 átomos de carbono. Lo más preferiblemente, es un alqueno inferior que tiene de 2 a 6 átomos de carbono.

Dependiendo de la colocación del doble enlace, la geometría del doble enlace puede ser *entgegen* (contraria) (E) o *zusammen* (conjunta) (Z), *cis* o *trans*. Los ejemplos de grupos alqueno incluyen etenilo, propenilo, *cis*-2-butenilo, *trans*-2-butenilo.

El término “alquino”, tal como se usa en el presente documento solo o como parte de un resto más grande, se refiere a un hidrocarburo alifático que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono, incluyendo grupos de cadena lineal o de cadena ramificada que tienen al menos un triple enlace carbono-carbono. Preferiblemente, el grupo alquino tiene de 2 a 20 átomos de carbono. Más preferiblemente, es un alquino de tamaño medio que tiene de 2 a 10 átomos de carbono. Lo más preferiblemente, es un alquino inferior que tiene de 2 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquino incluyen etinilo, propinilo y 2-butinilo.

El término “alcoxilo”, tal como se usa en el presente documento solo o como parte de un resto más grande, representa un grupo alquilo de un número indicado de átomos de carbono unido al resto molecular original a través de un puente de oxígeno. Los ejemplos de grupos alcoxilo incluyen, por ejemplo, metoxilo, etoxilo, propoxilo e isopropoxilo.

El término “arilo”, tal como se usa en el presente documento solo o como parte de un resto más grande, se refiere a un sistema de anillos de hidrocarburos aromáticos que contienen al menos un anillo aromático. El anillo aromático puede opcionalmente condensarse o unirse de otra manera a otros anillos de hidrocarburos aromáticos o anillos de hidrocarburos no aromáticos. Además, el grupo arilo puede estar sustituido o no sustituido con diversos grupos tales como hidrógeno, halo, hidroxilo, alquilo, haloalquilo, alcoxilo, nitro, ciano, alquilamina, carboxilo o alcocarbonilo. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, por ejemplo, fenilo, naftilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, benzodioxol y bifenilo. Los ejemplos preferidos de grupos arilo no sustituidos incluyen fenilo y bifenilo. Los sustituyentes de grupo arilo preferidos incluyen hidrógeno, halo, alquilo, haloalquilo, hidroxilo y alcoxilo.

El término “heteroalquilo”, tal como se usa en el presente documento solo o como parte de un resto más grande, se refiere a un radical alquilo tal como se define en el presente documento con uno o más heteroátomos que reemplazan un átomo de carbono por el resto. Se hace referencia alternativamente a estos grupos heteroalquilo usando los términos éter, tioéter, amina y similares.

El término “heterociclilo”, tal como se usa en el presente documento solo o como parte de un resto más grande, se refiere a radicales en forma de anillo que contienen heteroátomo saturados, parcialmente saturados e insaturados, en los que los heteroátomos pueden seleccionarse de nitrógeno, azufre y oxígeno. Estos grupos heterociclilo pueden estar no sustituidos o estar sustituidos en uno o más átomos dentro del sistema de anillos. El anillo heterocíclico puede contener uno o más grupos oxo.

El término “heterocicloalquilo”, tal como se usa en el presente documento solo o como parte de un resto más grande, se refiere a un sistema de anillos no aromático que contiene al menos un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre. El anillo de heterocicloalquilo puede opcionalmente condensarse a o unirse de otra manera a otros anillos de heterocicloalquilo y/o anillos de hidrocarburos no aromáticos. Los grupos heterocicloalquilo preferidos tienen de 3 a 7 miembros. Los ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen, por ejemplo, piperazina, morfolina, piperidina, tetrahidrofurano, pirrolidina y pirazol. Los grupos heterocicloalquilo monocíclico preferidos incluyen piperidilo, piperazinilo, morfolinilo, pirrolidinilo, tiomorfolinilo, tiazolidinilo, 1,3-dioxolanilo, 1,4-dioxanilo, tetrahidrofurano, tetrahidrotiofenilo, tetrahidropirano y similares. Los radicales heterocicloalquilo también pueden ser parcialmente insaturados. Los ejemplos de tales grupos incluyen dihidrotienilo, dihidropirano, dihidrofurilo y dihidrotiazolilo.

El término “heteroarilo”, tal como se usa en el presente documento solo o como parte de un resto más grande, se refiere a un sistema de anillos aromáticos que contiene al menos un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre. El anillo de heteroarilo puede condensarse o unirse de otra manera a uno o más anillos de heteroarilo, anillos de hidrocarburos aromáticos o no aromáticos o anillos de heterocicloalquilo. Adicionalmente, el grupo heteroarilo puede estar no sustituido o sustituido en uno o más átomos de un sistema de anillos, o puede contener uno o más grupos oxo. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, piridina, furano, tiofeno, carbazol y pirimidina. Los ejemplos preferidos de grupos heteroarilo incluyen tienilo, benzotienilo, piridilo, quinolilo, pirazinilo, pirimidilo, imidazolilo, bencimidazolilo, furanilo, benzofuranilo, tiazolilo, benzotiazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, isotiazolilo, bencisotiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirrolilo, indolilo, pirazolilo, benzopirazolilo, purinilo, benzooxazolilo y carbazolilo.

El término “acilo” significa un grupo H-C(O)- o alquil-C(O)- en el que el grupo alquilo, de cadena lineal, ramificado o cíclico, es tal como se describió previamente. Los grupos acilo a modo de ejemplo incluyen formilo, acetilo, propanoilo, 2-metilpropanoilo, butanoilo y caproilo.

5 El término “arilo” significa un grupo aril-C(O)- en el que el grupo arilo es tal como se describió previamente. Los grupos aroilo a modo de ejemplo incluyen benzoilo y 1- y 2-naftoilo.

10 El término “solvato” significa una asociación física de un compuesto de esta invención con una o más moléculas de disolvente. Esta asociación física incluye grados variables de enlaces iónicos y covalentes, incluyendo enlaces de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato podrá aislarse, por ejemplo cuando se incorporan una o más moléculas de disolvente en la red cristalina del sólido cristalino. “Solvato” abarca solvatos tanto en fase de disolución como aislables. Los solvatos a modo de ejemplo incluyen etanolatos, metanolatos y similares. “Hidrato” es un solvato en el que la(s) molécula(s) de disolvente es/son H<sub>2</sub>O.

15 Los compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero difieren en la naturaleza o secuencia de unión de sus átomos o de la disposición de sus átomos en el espacio se denominan “isómeros”. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan “estereoisómeros”. Los estereoisómeros que no son imágenes especulares unos de otros se denominan “diastereómeros” y aquéllos que son imágenes especulares no superponibles unos de otros se denominan “enantiómeros”. Cuando un compuesto tiene un centro asimétrico, por ejemplo, un átomo de carbono que está unido a cuatro grupos diferentes, es posible un par de enantiómeros. Un enantiómero puede caracterizarse mediante la configuración absoluta de su centro asimétrico y se describe mediante las reglas de secuenciación R y S de Cahn y Prelog, que se conocen bien por los expertos en la técnica.

20 Además, los enantiómeros pueden caracterizarse por la manera en la que una disolución del compuesto rota un plano de luz polarizada y se designan como dextrógiros o levógiros (es decir, como isómeros (+) o (-) respectivamente). Un compuesto quiral puede existir o bien como enantiómero individual o bien como una mezcla de los mismos. Una mezcla que contiene proporciones iguales de los enantiómeros se denomina una “mezcla racémica”.

25 Los compuestos de esta invención pueden presentar uno o más centros asimétricos; estos compuestos pueden producirse por lo tanto como estereoisómeros (R) o (S) individuales o como mezclas de los mismos. A menos que se indique lo contrario, la memoria descriptiva y las reivindicaciones pretenden incluir tanto enantiómeros individuales así como mezclas, racémicas o no, de los mismos.

30 Ciertos compuestos de esta invención pueden presentar los fenómenos de tautomería y/o isomería estructural. Por ejemplo, ciertos compuestos descritos en el presente documento pueden adoptar una configuración E o Z alrededor de un doble enlace carbono-carbono o pueden ser una mezcla de E y Z. Esta invención abarca cualquier forma tautomérica o isomérica estructural y mezclas de los mismos.

35 A menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras excepto por el reemplazo de un hidrógeno por un deuterio o tritio, o el reemplazo de un carbono por un carbono enriquecido en <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C están dentro del alcance de esta invención. Estos compuestos son útiles como, por ejemplo, como herramientas analíticas o sondas en ensayos biológicos.

40 Tal como se usa en el presente documento, “trastorno relacionado con SK”, “trastorno activado por SK” y “actividad de SK anómala” se refieren todos a un estado caracterizado por una actividad catalítica de SK inadecuada, es decir, subactividad o, más comúnmente, sobreactividad. La actividad catalítica inadecuada puede originarse como resultado de cualquiera de: (1) expresión de SK en células que normalmente no expresan SK, (2) actividad catalítica de SK aumentada que conduce a procesos celulares no deseados, tales como, sin limitación, proliferación celular, regulación génica, resistencia a apoptosis y/o diferenciación. Tales cambios en la expresión de SK pueden producirse por la expresión aumentada de SK y/o mutación de SK de tal forma que su actividad catalítica se potencia, (3) actividad catalítica de SK disminuida que conduce a reducciones no deseadas en procesos celulares. Algunos ejemplos de trastornos relacionados con SK, sin limitación, se describen en otra parte en esta solicitud.

45

50 El término “método” se refiere a maneras, medios, técnicas y procedimientos para lograr una tarea dada, incluyendo, pero sin limitarse a, aquellas maneras, medios, técnicas y procedimientos o bien conocidos, o bien desarrollados fácilmente a partir de maneras, medios, técnicas y procedimientos conocidos por los profesionales de las técnicas químicas, farmacéuticas, biológicas, bioquímicas y médicas.

El término “modulación” o “modular” se refiere a la alteración de la actividad catalítica de SK. En particular, modular se refiere a la activación o, preferiblemente, inhibición de la actividad catalítica de SK, dependiendo de la concentración del compuesto o la sal al que se exponga la SK.

55 El término “actividad catalítica” tal como se usa en el presente documento se refiere a la velocidad de fosforilación de esfingosina bajo la influencia de SK.

El término “poner en contacto” tal como se usa en el presente documento se refiere a poner juntos un compuesto de

esta invención y SK de tal manera que el compuesto pueda afectar a la actividad catalítica de SK, o bien directamente, es decir, al interaccionar con la propia SK, o bien indirectamente, es decir, al alterar la ubicación intracelular de SK. Tal “contacto” puede lograrse *in vitro*, es decir, en un tubo de ensayo, una placa de Petri o similar. En un tubo de ensayo, el contacto puede incluir sólo un compuesto y SK o puede incluir células completas. Las células también pueden mantenerse o cultivarse en placas de cultivo celular y ponerse en contacto con un compuesto en ese entorno. En este contexto, la capacidad de un compuesto particular para afectar a un trastorno relacionado con SK puede determinarse antes de que se intente el uso de los compuestos *in vivo* con organismos vivos más complejos. Para células fuera del organismo, existen múltiples métodos, y se conocen bien por los expertos en la técnica, para permitir el contacto de los compuestos con SK, incluyendo, pero sin limitarse a, microinyección directa de células y numerosas técnicas para promover el movimiento de compuestos a través de una membrana biológica.

El término “*in vitro*” tal como se usa en el presente documento se refiere a procedimientos llevados a cabo en un entorno artificial, tal como por ejemplo, sin limitación, en un tubo de ensayo o sistema de cultivo celular. El experto entenderá que, por ejemplo, una enzima SK aislada puede ponerse en contacto con un modulador en un entorno *in vitro*. Alternativamente, una célula aislada puede ponerse en contacto con un modulador en un entorno *in vitro*.

El término “*in vivo*” tal como se usa en el presente documento, se refiere a procedimientos llevados a cabo dentro de un organismo vivo tal como, sin limitación, un ser humano, ratón, rata, conejo, animal bovino, equino, porcino, canino, felino o primate.

El término “ $CI_{50}$ ” o “concentración inhibitoria al 50%” tal como se usa en el presente documento, se refiere a la concentración de un compuesto que reduce un proceso biológico en un 50%. Estos procesos pueden incluir, pero no se limitan a, reacciones enzimáticas, es decir, inhibición de la actividad catalítica de SK, o propiedades celulares, es decir, proliferación celular, apoptosis o producción celular de S1P.

Tal como se usa en el presente documento, “administrar” o “administración” se refiere al suministro de un compuesto o una sal de la presente invención o de una composición farmacéutica que contiene un compuesto o una sal de esta invención a un organismo con el propósito de la prevención o el tratamiento de un trastorno relacionado con SK.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “prevenir”, “prevención” y “previniendo” se refieren a un método para impedir que un organismo adquiera un trastorno relacionado con SK.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “tratar”, “tratamiento” y “tratando” se refieren a un método para aliviar o suprimir un trastorno mediado por SK y/o sus síntomas acompañantes.

El término “organismo” se refiere a cualquier entidad viva que comprende al menos una célula. Un organismo vivo puede ser tan simple como, por ejemplo, una sola célula eucariota o tan complejo como un mamífero. En un aspecto preferido de esta invención, el organismo es un mamífero. En un aspecto particularmente preferido de esta invención, el mamífero es un ser humano.

Una “composición farmacéutica” se refiere a una mezcla de uno o más de los compuestos descritos en el presente documento, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, con otros componentes químicos, tales como portadores y excipientes fisiológicamente aceptables. El propósito de una composición farmacéutica es el de facilitar la administración de un compuesto a un organismo.

El término “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas sales que conservan la eficacia biológica del compuesto original. Estas sales incluyen: (1) sal de adición de ácido que se obtiene mediante la reacción de la base libre del compuesto original con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico y similares, o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido (D) o (L)-málico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico y similares, preferiblemente ácido clorhídrico o ácido (L)-málico; o (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original o bien se reemplaza por un ion de metal, por ejemplo, un ion de metal alcalino, un ion de metal alcalinotérreo o un ion de aluminio; o bien se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina y similares.

Tal como se usa en el presente documento, el término un “portador fisiológicamente aceptable” se refiere a un portador o diluyente que no provoca irritación significativa en un organismo ni suprime la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado. Normalmente, esto incluye aquellas propiedades y/o sustancias que son aceptables para el paciente desde un punto de vista farmacológico/toxicológico y para el químico farmacéutico fabricante desde un punto de vista físico/químico con relación a la composición, formulación, estabilidad, aceptación del paciente y biodisponibilidad.

Un “excipiente”, se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar adicionalmente la administración de un compuesto. Los ejemplos, sin limitaciones, de excipientes incluyen carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa (incluyendo celulosa microcristalina), gelatina, aceites vegetales, polietilenglicoles, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes,

aglutinantes, agentes disgregantes y similares.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" tal como se usa en el presente documento se refiere a aquella cantidad del compuesto que esté administrándose que sea eficaz para reducir o disminuir al menos un síntoma de la enfermedad que esté tratándose o para reducir o retrasar el inicio de uno o más marcadores clínicos o síntomas de la enfermedad. En referencia al tratamiento de cáncer, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a aquella cantidad que tiene el efecto de: (1) reducir el tamaño del tumor, (2) inhibir, es decir, ralentizar en cierta medida, preferiblemente detener, la metástasis tumoral, (3) inhibir, es decir, ralentizar en cierta medida, preferiblemente detener, el crecimiento del tumor y/o (4) aliviar en cierta medida, preferiblemente eliminar, uno o más síntomas asociados con el cáncer.

Los compuestos de esta invención también pueden actuar como profármaco. El término "profármaco" se refiere a un agente que se convierte en el fármaco original *in vivo*. Los profármacos son comúnmente útiles debido a que, en algunas situaciones, pueden ser más fáciles de administrar que el fármaco original. Pueden, por ejemplo, estar biodisponibles mediante administración oral mientras que el fármaco original no. El profármaco también puede tener una solubilidad mejorada en composiciones farmacéuticas con respecto al fármaco original. Como ejemplo, sin limitación, de un profármaco sería un compuesto de la presente invención el que se administra como éster (el "profármaco"), carbamato o urea.

Los compuestos de esta invención también pueden metabolizarse por enzimas en el cuerpo del organismo, tal como un ser humano, para generar un metabolito que pueda modular la actividad de SK.

#### Indicaciones

La esfingosina cinasa (SK), cuya actividad catalítica está modulada por los compuestos y las composiciones de esta invención, es una enzima clave implicada en las rutas de señalización que se activan de forma anómala en una variedad de enfermedades. La siguiente discusión expone los papeles desempeñados por SK en enfermedades hiperproliferativas, inflamatorias y angiogénicas, y en consecuencia proporciona ejemplos de usos de los compuestos y las composiciones de esta invención. Se da a conocer en el presente documento el uso de estos compuestos y composiciones para la prevención y/o tratamiento de enfermedades adicionales en las que SK se activa de forma anómala.

#### Enfermedades hiperproliferativas

La presente invención se refiere a compuestos, a composiciones farmacéuticas y a su uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades hiperproliferativas. Más específicamente, la invención se refiere a compuestos y composiciones farmacéuticas que inhiben la actividad enzimática de SK en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades hiperproliferativas, tales como cáncer, psoriasis, enfermedades proliferativas de células mesangiales, aterosclerosis y reestenosis. La siguiente discusión demuestra el papel desempeñado por SK en varias de estas enfermedades hiperproliferativas. Puesto que están implicados los mismos procesos en las enfermedades enumeradas anteriormente, los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención serán útiles para el tratamiento y/o la prevención de una variedad de enfermedades.

La esfingosina-1-fosfato y la ceramida tienen efectos opuestos sobre la proliferación y apoptosis de células cancerosas. La esfingomielina no es sólo un elemento estructural para membranas celulares sino que también sirve como precursor para potentes mensajeros lipídicos que tienen profundos efectos celulares. El metabolismo inducido por estímulo de estos lípidos está implicado de manera crítica en la biología de células cancerosas. En consecuencia, estas rutas metabólicas ofrecen dianas excitantes para el desarrollo de fármacos anticancerígenos.

La ceramida se produce por la hidrólisis de esfingomielina en respuesta a factores de crecimiento u otros estímulos. La ceramida induce apoptosis en células tumorales, pero puede hidrolizarse adicionalmente por la acción de ceramidasa para producir esfingosina. La esfingosina se fosforila entonces rápidamente por SK para producir S1P, el que es un segundo mensajero crítico que ejerce acciones proliferativas y antiapoptóticas. Por ejemplo, la microinyección de S1P en ovocitos de ratón induce la síntesis de ADN. Adicionalmente, S1P inhibe eficazmente la apoptosis inducida por ceramida en asociación con la disminución de la activación de caspasas. Además, la ceramida potencia la apoptosis en respuesta a fármacos anticancerígenos incluyendo Taxol y etopósido. Estos estudios en diversas líneas celulares indican de manera sistemática que S1P puede inducir proliferación y proteger a las células frente a la apoptosis inducida por ceramida.

Se ha planteado como hipótesis un equilibrio crítico, que puede denominarse un reóstato de ceramida/S1P, para determinar el destino de la célula. En este modelo, el equilibrio entre las concentraciones celulares de ceramida y S1P determina si una célula prolifera o experimenta apoptosis. Después de su exposición a mitógenos u oncoproteínas intracelulares, las células experimentan un rápido aumento en los niveles intracelulares de S1P y la reducción de los niveles de ceramida. Esta situación promueve la supervivencia y proliferación celular. En cambio, la activación de esfingomielinasa en ausencia de la activación de ceramidasa y/o SK da como resultado la acumulación de ceramida y la posterior apoptosis.

SK es la enzima responsable de la producción de S1P en células. El ARN que codifica para SK se expresa en la



mayoría de los tejidos. Una variedad de factores proliferativos, incluyendo activadores PKC, suero de ternero fetal y factor de crecimiento derivado de plaquetas (Olivera *et al.*, 1993, *Nature* 365:557), EGF y TNF $\alpha$  (Dressler *et al.*, 1992, *Science* 255:1715) elevan rápidamente la actividad de SK celular. La actividad de SK aumenta por la fosforilación de la enzima por ERK (Pistón *et al.*, 2003, *EMBO J* 22:5491), en tanto que S1P promueve la señalización a través de la ruta de Ras-Raf-Mek-Erk, estableciendo una cascada de amplificación para la proliferación celular.

La esfingosina cinasa y S1P desempeñan papeles importantes en la patogenia del cáncer. Se ha demostrado un papel oncogénico de SK. En estos estudios, la transfección de SK en fibroblastos NIH/3T3 fue suficiente para promover la formación de focos y el crecimiento celular en agar blando, y para permitir que estas células formaran tumores en ratones NOD/SCID (Xia *et al.*, 2000, *Curr Biol.* 10:1527). Además, la inhibición de SK mediante transfección con un mutante de SK dominante-negativo o mediante tratamiento de células con el inhibidor de SK no específico DMS bloqueó la transformación mediada por H-Ras oncogénico. Puesto que la activación anómala de Ras se produce frecuentemente en cáncer, estos hallazgos sugieren un papel significativo de SK en enfermedad. SK también se ha vinculado con la señalización de estrógenos y tumorigénesis dependiente de estrógenos en células MCF-7 (Nava *et al.*, 2002, *Exp Cell Res* 281:115). Otras rutas o dianas con las que se ha vinculado la actividad de SK en enfermedades hiperproliferativas incluyen la señalización de VEGF por medio de la ruta de Ras y MAP cinasa (Shu *et al.*, 2002, *Mol. Cell Biol.* 22:7758), proteína cinasa C (Nakade *et al.*, 2003, *Biochim Biophys Acta* 1635:104), TNF $\alpha$  (Vann *et al.*, 2002, *J Biol. Chem* 277:12649), factor nuclear de hepatocitos 1 y receptor de ácido retinoico alfa, activación intracelular de calcio y caspasas. Aunque la elucidación de las dianas posteriores a S1P sigue siendo un problema interesante en la biología celular, se ha establecido una validación suficiente de estas rutas para justificar el desarrollo de inhibidores de SK como nuevos tipos de fármacos antiproliferativos.

La hiperproliferación celular es una característica de una variedad de enfermedades, incluyendo, sin limitación, cáncer, psoriasis, enfermedades proliferativas de células mesangiales, aterosclerosis y reestenosis. Por lo tanto, los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención serán útiles para la prevención y/o tratamiento de cáncer, incluyendo tumores sólidos, cánceres hematopoyéticos y metástasis tumorales. Estos cánceres pueden incluir, sin limitación, tumores sólidos tales como cánceres de cabeza y cuello, cánceres pulmonares, cánceres del tracto gastrointestinal, cánceres de mama, cánceres ginecológicos, cánceres testiculares, cánceres de las vías urinarias, cánceres neurológicos, cánceres endocrinos, cánceres de piel, sarcomas, cánceres del mediastino, cánceres retroperitoneales, cánceres cardiovasculares, mastocitosis, carcinosarcomas, cilindroma, cánceres dentales, estesieneuroblastoma, cáncer del uraco, carcinomas de células de Merkel y parangangliomas. Adicionalmente, estos cánceres pueden incluir, sin limitación, cánceres hematopoyéticos tales como linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, leucemias crónicas, leucemias agudas, cánceres mieloproliferativos, discrasias de células plasmáticas y síndromes mielodisplásicos.

La psoriasis es una enfermedad de la piel desfigurante crónica común que se caracteriza por placas endurecidas y escamosas de color rojo y bien delimitadas que pueden ser limitadas o ampliamente dispersas. Aunque la enfermedad es raramente fatal, tiene graves efectos perjudiciales sobre la calidad de vida del paciente, y esto se complica adicionalmente por la falta de terapias eficaces. Existe por tanto una gran necesidad no satisfecha de fármacos eficaces y seguros para este estado. La psoriasis se caracteriza por hiperproliferación local de queratinocitos, inflamación mediada por células T y por angiogénesis localizada. La activación anómala de SK se ha implicado en todos estos procesos. Por lo tanto, se espera que los inhibidores de SK sean de utilidad en la terapia de psoriasis.

Los trastornos hiperproliferativos de células mesangiales se refieren a trastornos ocasionados por la hiperproliferación anómala de células mesangiales en el riñón. Los trastornos hiperproliferativos mesangiales incluyen diversas enfermedades renales humanas tales como glomerulonefritis, nefropatía diabética y nefrosclerosis maligna, así como trastornos tales como síndromes de microangiopatía trombótica, rechazo de trasplantes y glomerulopatías. Dado que la hiperproliferación de células mesangiales está inducida por factores de crecimiento cuya acción depende de una señalización aumentada a través de SK, se espera que los compuestos inhibidores de SK, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención sean de utilidad en la terapia de estos trastornos hiperproliferativos de células mesangiales.

Además de los procesos inflamatorios comentados a continuación, la aterosclerosis y reestenosis se caracterizan por hiperproliferación de células de músculo liso vascular en los sitios de las lesiones. Dado que la hiperproliferación de células de músculo liso vascular está inducida por factores de crecimiento cuya acción depende de una señalización aumentada a través de SK, se espera que los compuestos inhibidores de SK, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención sean de utilidad en la terapia de estos trastornos vasculares.

#### Enfermedades inflamatorias

La presente invención se refiere también a compuestos, composiciones farmacéuticas y métodos útiles en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades inflamatorias. Más específicamente, la invención se refiere a compuestos y composiciones farmacéuticas que inhiben la actividad enzimática de SK para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades inflamatorias, tales como enfermedad inflamatoria del intestino, artritis, aterosclerosis, asma, alergia, enfermedad inflamatoria de los riñones, choque circulatorio, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar

obstructiva crónica, inflamación dérmica, enfermedad periodontal, psoriasis y enfermedades de inmunidad mediadas por células T, incluyendo encefalomiелitis alérgica, neuritis alérgica, rechazo de aloinjertos en trasplante, enfermedad de injerto contra huésped, miocarditis, tiroiditis, nefritis, lupus eritematoso sistémico y diabetes mellitus insulino-dependiente. La siguiente discusión demuestra el papel desempeñado por SK en varias de estas enfermedades inflamatorias. Puesto que los mismos procesos están implicados en las enfermedades enumeradas anteriormente, los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención serán útiles para el tratamiento y/o la prevención de una variedad de enfermedades.

La enfermedad inflamatoria del intestino (IBD) abarca un grupo de trastornos caracterizados por inflamación patológica del intestino grueso. La enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa son las formas mejor conocidas de IBD, y ambas están dentro de la categoría de "IBD idiopática" porque sus etiologías han de ser aún dilucidadas, aunque los mecanismos propuestos implican mediadores infecciosos e inmunológicos. Estudios sobre la etiología y terapia de IBD se han visto ampliamente facilitados por el desarrollo de varios modelos animales que imitan los trastornos clínicos e inmunopatológicos observados en seres humanos. A partir de estudios con estos modelos, queda claro que las manifestaciones completas de IBD dependen de la sinergia entre las respuestas inmunitarias humores y celulares. La noción de que las células inmunitarias y citocinas desempeñan papeles críticos en la patogenia de IBD está bien establecida; sin embargo, los mecanismos moleculares mediante los cuales se produce esto no están aún definidos claramente. Tal como se describe a continuación, las citocinas que promueven la inflamación en el intestino aquejado de IBD, activan todas un mediador común, esfingosina cinasa (SK). De la manera más prominente, el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) ha mostrado desempeñar un papel significativo en IBD, de tal forma que la terapia de anticuerpos dirigida contra esta citocina, es decir, Remicade, podría ser un tratamiento prometedor. TNF $\alpha$  activa varios procesos que han mostrado contribuir a IBD y es necesario tanto para el inicio como para la persistencia de la respuesta Th1. Por ejemplo, TNF $\alpha$  ha mostrado actuar a través de la inducción del factor nuclear kappa B (NF $\kappa$ B) que se ha implicado en el aumento de las enzimas proinflamatorias óxido nítrico sintasa (NOS) y ciclooxigenasa-2 (COX-2). COX-2 ha mostrado desempeñar un papel importante en la inflamación de IBD a través de su producción de prostaglandinas, y estrés oxidativo tal como el mediado por óxido nítrico producido por NOS también ha mostrado agravar la inflamación de IBD.

Una ruta común de activación inmunitaria en IBD es el flujo de entrada local de mastocitos, monocitos, macrófagos y neutrófilos polimorfonucleares lo que da como resultado la amplificación secundaria del proceso de inflamación y produce las manifestaciones clínicas de las enfermedades. Esto da como resultado números notablemente aumentados de mastocitos en la mucosa del íleon y colon de pacientes con IBD, lo que va acompañado por aumentos dramáticos en TNF $\alpha$  (He, 2004, *World J Gastroenterology* 10 (3):309). Los productos secretados de mastocitos adicionales, incluyendo histamina y triptasa, pueden ser importantes en las IBD. Por lo tanto, queda claro que las cascadas inflamatorias desempeñan papeles críticos en la patología de las IBD.

Los mecanismos y los efectos de la interconversión de esfingolípidos han sido objeto de un conjunto creciente de investigación científica. La esfingomielina no es sólo un componente estructural de membranas celulares, sino que también sirve como precursor para los potentes lípidos bioactivos ceramida y esfingosina-1-fosfato (S1P). Se cree que un reóstat de ceramida:S1P determina el destino de la célula, de tal forma que las concentraciones celulares relativas de ceramida y S1P determinan si una célula prolifera o experimenta apoptosis. La ceramida se produce por la hidrólisis de esfingomielina en respuesta a estreses inflamatorios, incluyendo TNF $\alpha$ , y puede hidrolizarse por ceramidasa para producir esfingosina. La esfingosina se fosforila entonces rápidamente por esfingosina cinasa (SK) para producir S1P. La ceramida y SK también se activan por citocinas y factores de crecimiento, conduciendo a rápidos aumentos en los niveles intracelulares de S1P y a la reducción de los niveles de ceramida. Esta situación promueve la proliferación celular e inhibe la apoptosis. La desregulación de la apoptosis en fagocitos es un componente importante del estado inflamatorio crónico en IBD, y S1P ha mostrado proteger a los neutrófilos frente a la apoptosis en respuesta a Fas, TNF $\alpha$  y ceramida. De manera similar, la apoptosis en macrófagos se bloquea por S1P.

Además de su papel en la regulación de la proliferación y apoptosis celular, S1P ha mostrado tener varios efectos importantes sobre células que median en funciones inmunitarias. Plaquetas, monocitos y mastocitos secretan S1P después de su activación, promoviendo cascadas inflamatorias en el sitio de daño tisular. Se requiere la activación de SK para las respuestas de señalización, puesto que la capacidad de TNF $\alpha$  para inducir la expresión de moléculas de adhesión mediante la activación de NF $\kappa$ B la imita S1P y la bloquea el inhibidor de SK dimetilesfingosina (Xia *et al.*, 1998, *Proc Natl Acad Sci USA* 95:14196). De manera similar, S1P imita la capacidad de TNF $\alpha$  para inducir la expresión de COX-2 y la síntesis de PGE<sub>2</sub>, y el silenciamiento génico de SK por interferencia de ARN bloquea estas respuestas a TNF $\alpha$  pero no a S1P (Pettus *et al.*, 2003, *FASEB J* 17:1411). S1P es también un mediador del flujo de entrada de Ca<sup>2+</sup> durante la activación de neutrófilos por TNF $\alpha$  y otros estímulos, conduciendo a la producción de superóxido y otros radicales tóxicos (Mackinnon, 2002, *Journal of Immunology* 169 (11):6394).

Un modelo para los papeles desempeñados por metabolitos esfingolípidos en la patología de IBD implica una combinación de acontecimientos en las células epiteliales de colon y mastocitos, macrófagos y neutrófilos reclutados. Al inicio de la enfermedad, las reacciones inmunológicas u otras señales activadoras promueven la liberación de citocinas inflamatorias, particularmente TNF $\alpha$  desde macrófagos y mastocitos. Las acciones de TNF $\alpha$  están mediadas a través de su activación de la producción de S1P. Por ejemplo, TNF $\alpha$  induce la

producción de S1P en células endoteliales (Xia *et al.*, 1998, *Proc Natl Acad Sci USA* 95:14196), neutrófilos (Niwa *et al.*, 2000, *Life Sci* 66:245) y monocitos mediante la activación de esfingomielinasa, ceramidasa y SK. S1P es un actor fundamental en la ruta puesto que tiene acciones pleiotrópicas en las células epiteliales de la mucosa, macrófagos, mastocitos y neutrófilos. Dentro de las células de la mucosa, S1P activa NFκB induciendo de esta manera la expresión de moléculas de adhesión, COX-2 dando como resultado la síntesis de PGE<sub>2</sub>, y NOS que produce óxido nítrico. En conjunto, estos factores quimiotácticos y las moléculas de adhesión promueven la infiltración de neutrófilos en la mucosa. Al mismo tiempo, S1P activa los neutrófilos dando como resultado la liberación de radicales libres de oxígeno que adicionalmente inflaman y destruyen tejido epitelial. De manera similar, S1P promueve la activación y desgranulación de mastocitos.

Dado que los procesos implicados en IBD se inducen por citocinas y factores de crecimiento cuya acción depende de una señalización aumentada a través de SK, se espera que los compuestos inhibidores de SK, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención sean de utilidad en la terapia de IBD.

La artritis reumatoide (RA) es una enfermedad crónica y sistémica que se caracteriza por hiperplasia sinovial, infiltración celular masiva, erosión del cartílago y hueso y una respuesta inmunitaria anómala. Estudios sobre la etiología y terapia de la artritis reumatoide se han visto ampliamente facilitados por el desarrollo de modelos animales que imitan los trastornos clínicos e inmunopatológicos observados en seres humanos. A partir de estudios en estos modelos, queda claro que las manifestaciones completas de RA dependen de la sinergia entre las respuestas inmunitarias humorales y celulares. La noción de que las células inmunitarias, especialmente neutrófilos, y citocinas desempeñan papeles críticos en la patogenia de la artritis está bien establecida. Sin embargo, los mecanismos mediante los cuales se produce esto no están completamente dilucidados.

La fase temprana de inflamación reumática se caracteriza por infiltración de leucocitos en tejidos, especialmente por neutrófilos. En el caso de RA, se produce esto principalmente en articulaciones en las que la infiltración de leucocitos da como resultado sinovitis y engrosamiento del sinovio que producen los síntomas típicos de calor, enrojecimiento, hinchazón y dolor. Al progresar la enfermedad, la colección aberrante de células invaden y destruyen el cartílago y hueso dentro de la articulación conduciendo a deformidades y dolor crónico. Las citocinas inflamatorias TNFα, IL-1β e IL-8 actúan como mediadores críticos de esta infiltración, y estas citocinas están presentes en el fluido sinovial de pacientes con RA.

Los leucocitos se ubican en sitios de lesión inflamatoria como resultado de las acciones integradas de moléculas de adhesión, citocinas y factores quimiotácticos. En artritis inducida por lipopolisacáridos en el conejo, la producción de TNFα e IL-1β en la fase inicial de la inflamación iba en paralelo al transcurso de tiempo de la infiltración de leucocitos. La adherencia de neutrófilos al endotelio vascular es una primera etapa en la extravasación de células dentro del intersticio. Este proceso está mediado por selectinas, integrinas y moléculas de adhesión endoteliales, por ejemplo, ICAM-1 y VCAM-1. Puesto que TNFα induce la expresión de ICAM-1 y VCAM-1 y está presente a altas concentraciones en articulaciones artríticas, es probable que esta proteína desempeñe un papel fundamental en la patogenia de la enfermedad. Esto está soportado por la actividad clínica de terapias anti-TNFα tales como Remicade. Después de la adherencia al endotelio, los leucocitos migran a lo largo de un gradiente de concentración de factor quimiotáctico. Un proceso típico adicional en la progresión de RA es la potenciación del riesgo sanguíneo al sinovio a través de angiogénesis. La expresión del factor angiogénico clave VEGF está inducida potentemente por citocinas proinflamatorias incluyendo TNFα. En conjunto, estos datos apuntan a papeles importantes de TNFα, leucocitos, moléculas de adhesión a leucocitos, factores quimiotácticos de leucocitos y angiogénesis en la patogenia de la lesión artrítica.

Al inicio de la enfermedad, las reacciones inmunológicas u otras señales activadoras promueven la liberación de citocinas inflamatorias, particularmente TNFα e IL-1β desde macrófagos y mastocitos. Se produce la ceramida por la hidrólisis de esfingomielina en respuestas a estreses inflamatorios, incluyendo TNFα e IL-1β (Dressler *et al.*, 1992, *Science* 255:1715). La ceramida puede hidrolizarse adicionalmente por ceramidasa para producir esfingosina que se fosforila entonces rápidamente por SK para producir S1P. La ceramidasa y SK también se activan por citocinas y factores de crecimiento, conduciendo a rápidos aumentos en los niveles celulares de S1P y a la reducción de los niveles de ceramida. Esta situación promueve la proliferación celular e inhibe la apoptosis. La desregulación de la apoptosis en fagocitos es una componente importante del estado inflamatorio crónico en artritis, y S1P ha mostrado proteger a los neutrófilos frente a la apoptosis en respuesta a Fas, TNFα y ceramida. De manera similar, la apoptosis de macrófagos la bloquea S1P.

Además de su papel en la regulación de la proliferación celular y la apoptosis, S1P es un actor fundamental en la ruta puesto que tiene acciones pleiotrópicas en las células endoteliales, leucocitos, condrocitos y células sinoviales. Dentro de las células endoteliales, S1P activa NFκB induciendo de esta manera la expresión de múltiples moléculas de adhesión y COX-2 dando como resultado la síntesis de PGE<sub>2</sub>. En conjunto, este factor quimiotáctico y las moléculas de adhesión promueven la infiltración de neutrófilos al interior del sinovio. Al mismo tiempo, S1P activa directamente los neutrófilos dando como resultado radicales libres de oxígeno que destruyen tejido articular. La progresión de RA está asociada con un cambio de un entorno Th1 a uno Th2, y la esfingosina es selectivamente inhibitoria hacia células Th1. En consecuencia, inhibir la conversión de esfingosina en S1P debe atenuar la progresión de la enfermedad. Plaquetas, monocitos y mastocitos secretan S1P después de su activación,

promoviendo cascadas inflamatorias en el sitio de daño tisular (Yatomi *et al.*, *Blood* 86:193 (1995)). S1P promueve también la secreción de proteasas desde condrocitos que contribuyen a la destrucción articular. Finalmente, la expresión mediada por S1P de VEGF promueve la angiogénesis necesaria para soportar la hiperproliferación de células sinoviales. En consecuencia, inhibir la conversión de esfingosina en S1P debe atenuar la progresión de la enfermedad.

Puesto que los procesos implicados en la artritis se inducen por citocinas y factores de crecimiento cuya acción depende de una señalización aumentada a través de SK, se espera que los compuestos inhibidores de SK, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención sean de utilidad en la prevención y/o terapia de artritis.

La aterosclerosis es una compleja enfermedad vascular que implica una serie de acontecimientos celulares y moleculares coordinados característicos de reacciones inflamatorias. En respuesta a lesión vascular, las primeras lesiones ateroscleróticas se inician por reacciones inflamatorias agudas, mediadas principalmente por monocitos, plaquetas y linfocitos T. Estas células inflamatorias se activan y reclutan al interior del espacio vascular subendotelial a través de factores quimiotácticos expresados localmente y moléculas de adhesión expresadas en la superficie de células endoteliales. El reclutamiento continuo de células inflamatorias circulantes adicionales dentro de la pared vascular lesionada potencia la reacción inflamatoria al activar adicionalmente la migración y proliferación de células de músculo liso vascular (VSM). Esta reacción inflamatoria vascular crónica conduce a la formación de capa fibrosa, que es un medio inflamatorio rico en oxidantes compuesto por monocitos/macrófagos y células VSM. Con el tiempo, esta capa fibrosa puede desestabilizarse y romperse por metaloproteinasas extracelulares secretadas por monocitos/macrófagos residentes. La capa fibrosa rota puede obstruir fácilmente vasos dando como resultado isquemia cardíaca o cerebral aguda. Este mecanismo subyacente de la aterosclerosis indica que la activación de monocitos/macrófagos y la migración y proliferación de células VSM desempeñan papeles críticos en el desarrollo y la progresión de lesiones ateroscleróticas. De manera importante, sugiere también que un enfoque terapéutico que bloquee las actividades de estas células inflamatorias vasculares o la proliferación de células de músculo liso debe poder prevenir la progresión y/o el desarrollo de aterosclerosis.

SK se expresa enormemente en plaquetas permitiéndoles desfosforilar esfingosina circulante para producir S1P. En respuesta a lesión de vasos, las plaquetas liberan grandes cantidades de S1P en los sitios de lesión que pueden ejercer efectos mitógenos sobre células VSM al activar receptores de S1P. S1P también es producido en células endoteliales y VSM activadas. En estas células, el S1P producido de manera intracelular funciona como una molécula de segundo mensajero, regulando la homeostasis de  $Ca^{2+}$  asociada con la proliferación celular y supresión de la apoptosis. Además, la desregulación de la apoptosis en fagocitos es una componente importante del estado inflamatorio crónico de la aterosclerosis, y S1P protege a los granulocitos frente a la apoptosis. En conjunto, estos estudios indican que la activación de SK altera el metabolismo de esfingolípidos a favor de la formación de S1P, dando como resultado respuestas celulares proinflamatorias e hiperproliferativas.

Además de su papel en la regulación de la proliferación de células de apoptosis, S1P ha mostrado tener varios efectos importantes sobre células que median en funciones inmunitarias. Las plaquetas y los monocitos secretan citocinas, factores de crecimiento y S1P después de su activación, promoviendo cascadas inflamatorias en el sitio de daño tisular. Por ejemplo,  $TNF\alpha$  ha demostrado actuar a través de la inducción del factor nuclear kappa B ( $NF\kappa B$ ), que se ha implicado en el aumento de las enzimas proinflamatorias óxido nítrico sintasa (NOS) y ciclooxigenasa-2 (COX-2). COX-2 podría desempeñar un papel clave en la inflamación de la aterosclerosis a través de su producción de prostaglandinas, y el estrés oxidativo tal como el mediado por óxido nítrico producido por NOS también ha mostrado que agrava la inflamación. Se requiere la activación de SK para respuestas de señalización puesto que la capacidad de las citocinas inflamatorias para inducir la expresión de moléculas de adhesión por medio de la activación de  $NF\kappa B$  se imita por S1P. De manera similar, S1P imita la capacidad de  $TNF\alpha$  para inducir la expresión de COX-2 y la síntesis de  $PEG_2$ , y el silenciamiento génico de SK por interferencia de ARN bloquea estas respuestas a  $TNF\alpha$  pero no a S1P. S1P es también un mediador del flujo de entrada de  $Ca^{2+}$  durante la activación de granulocitos, conduciendo a la producción de superóxido y otros radicales tóxicos.

En conjunto, estos estudios indican que SK es una nueva diana molecular para aterosclerosis. El uso de inhibidores de SK como agentes antiateroscleróticos evitará la activación perjudicial de leucocitos, así como prevendrá la activación e hiperproliferación de células de músculo liso, haciendo que los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención sean útiles para el tratamiento y/o la prevención de aterosclerosis.

El criterio de valoración fisiológico en la patología del asma es el estrechamiento de los tubos bronquiales debido a inflamación. En una gran parte de los casos de asma, la inflamación se inicia y amplifica después por la exposición a alérgenos. Después de su inhalación, estos alérgenos, se unen a IgE circulante y luego se unen a los receptores de superficie  $Fc\epsilon RI$  de alta afinidad expresados por células inflamatorias que residen en la mucosa bronquial. Esta unión extracelular conduce a una cascada de acontecimientos de señalización dentro de las células inflamatorias, culminando en la activación de estas células y la secreción de múltiples factores que desencadenan que las células que revisten las vías respiratorias bronquiales se hinchen, dando como resultado tubos bronquiales restringidos e intercambio de aire disminuido. El proceso de inflamación en respuesta a la exposición inicial a alérgenos podría no remitir por completo. Además, exposiciones adicionales podrían conducir a una respuesta exagerada denominada hiperreactividad bronquial. Este estado hiperreactivo puede conducir a un estado permanente de vías respiratorias

restringidas a través de la remodelación de las vías respiratorias. En consecuencia, las respuestas inflamatorias no revisadas a una exposición a alérgenos inicial pueden dar como resultado inflamación crónica y constricción bronquiolar permanente. Por lo tanto, inhibir o disminuir esta inflamación exagerada probablemente reducirá los síntomas asociados con asma.

5 Muchos estudios han revelado la implicación de mastocitos en el proceso inflamatorio que conduce a asma, y SK ha mostrado estar implicada en la activación de mastocitos estimulada por alérgenos, una etapa crítica en el proceso inflamatorio bronquial. En células RBL-2H3 de leucemia basófila de rata, la unión de IgE/Ag al receptor FcεRI de alta afinidad conduce a la activación de SK y a la conversión de esfingosina en S1P (Choi *et al.*, 1996, *Nature* 380:634).  
10 El S1P recién formado aumenta los niveles de calcio intracelular, lo que es necesario para la activación de mastocitos. Alternativamente, altas concentraciones de esfingosina reducen la síntesis de leucotrienos mediada por la exposición a IgE/Ag y disminuyen la transcripción y secreción de citocinas (Prieschl *et al.*, 1999, *J Exp Med* 190:1).

Además del papel clave de SK y S1P en la activación de mastocitos, S1P también tiene efectos directos sobre la señalización posterior en la ruta de la inflamación del asma. Ammit y colaboradores demostraron niveles de S1P  
15 aumentados en fluido de lavado broncoalveolar (BAL) recogido de pacientes asmáticos 24 horas después de la exposición a alérgenos en comparación con sujetos no asmáticos (Ammit *et al.*, 2001, *FASEB J* 15:1212). Junto con el descubrimiento de que los mastocitos activados producen y secretan S1P, estos resultados revelan una correlación entre S1P y la respuesta inflamatoria asmática. Para evaluar un posible papel de la exposición de SK y S1P a la respuesta celular, se hicieron crecer cultivos de ASM en presencia de S1P (Ammit *et al.*, 2001 *Id*). Además,  
20 células de músculo liso de las vías respiratorias (ASM) responden a estímulos dependientes de S1P y SK, tales como TNFα e IL-1β. El tratamiento con S1P aumenta la hidrólisis de fosfoinosítidos y la movilización de calcio intracelular, que promueven ambos la contracción de ASM. Además, el tratamiento con S1P aumenta la síntesis de ADN, el número de células y la progresión acelerada de células ASM de la fase G<sub>1</sub> a S.

Además de los efectos directos sobre las células ASM, S1P regula también la secreción de citocinas y la expresión  
25 de moléculas de adhesión celular que amplifican la respuesta inflamatoria a través del reclutamiento de leucocitos y que facilitan la interacción de componentes extracelulares. S1P, al igual que TNFα, induce la secreción de IL-6 e aumenta la expresión de moléculas de adhesión celular tales como VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina (Shimamura *et al.*, 2004, *Eur J Pharmacol* 486:141). Además de los efectos de S1P sobre la activación de mastocitos, los múltiples papeles de S1P, y así de SK, en la fase inflamatoria bronquiolar de la patogenia del asma indican claramente una  
30 oportunidad para la intervención farmacológica tanto en las fases agudas como crónicas de esta enfermedad.

Sobre todo, SK es una diana para nuevas terapias contra el asma. El uso de inhibidores de SK como agentes contra el asma inhibirá la activación mediada por citocinas de leucocitos, previniendo de esta manera la activación  
35 perjudicial de leucocitos, así como previniendo también la hiperproliferación de células de músculo liso de las vías respiratorias, haciendo que los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención sean útiles para el tratamiento y/o la prevención de asma.

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), al igual que el asma, incluye obstrucción del flujo de aire e hipersensibilidad que está asociada con una activación aberrante de neutrófilos en tejido pulmonar. Esto se  
40 manifiesta clínicamente como bronquitis crónica, fibrosis o enfisema, que en conjunto constituyen la cuarta causa principal de muerte en los Estados Unidos. Puesto que la activación de células inflamatorias por insultos químicos en EPOC se produce a través de rutas mediadas por NFκB similares a las activadas durante el asma, es probable que los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención también sean útiles para el tratamiento y/o la prevención de EPOC.

La inflamación está impllcada en una variedad de trastornos de la piel, incluyendo psoriasis, dermatitis atópica, sensibilidad al contacto y acné, que afectan a más del 20% de la población. Aunque los corticosteroides tópicos se  
45 han usado ampliamente, sus efectos adversos evitan el uso a largo plazo. Puesto que las respuestas inflamatorias incluyen normalmente una activación aberrante de las rutas de señalización detalladas anteriormente, es probable que los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención también sean útiles para el tratamiento de estas enfermedades de la piel.

Una variedad de enfermedades incluyendo encefalomiелitis alérgica, neuritis alérgica, rechazo de aloinjertos en  
50 trasplante, enfermedad de injerto contra huésped, miocarditis, nefritis, tiroiditis, lupus eritematoso sistémico y diabetes mellitus insulín dependiente pueden inducirse por la activación inadecuada de células T. Las características comunes de la patogenia de estas enfermedades incluyen infiltración por células mononucleares, expresión de células T autorreactivas CD4 y CD8 y la señalización hiperactiva por mediadores inflamatorios tales como IL-1, IL-6 y TNFα. Puesto que las respuestas inflamatorias incluyen normalmente la activación aberrante de  
55 las rutas de señalización detalladas anteriormente, es probable que los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención también sean útiles para el tratamiento de estas enfermedades de inmunidad mediadas por células T.

#### Enfermedades angiogénicas

La presente invención también se refiere a compuestos, composiciones farmacéuticas y métodos útiles para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades que implican angiogénesis no deseada. Más específicamente, la invención se refiere al uso de compuestos químicos y composiciones que inhiben la actividad enzimática de esfingosina cinasa para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades angiogénicas, tales como retinopatía diabética, artritis, cáncer, psoriasis, sarcoma de Kaposi, hemangiomas, angiogénesis miocárdica, neovascularización de placas ateroscleróticas y enfermedades angiogénicas oculares tales como neovascularización coroidea, retinopatía del prematuro (fibroplasias retrolenticulares), degeneración macular, rechazo de injerto de córnea, rubeosis, glaucoma neurovascular y síndrome de Oster-Webber. La siguiente discusión demuestra el papel desempeñado por SK en varias de estas enfermedades angiogénicas. Puesto que los mismos procesos están implicados en las enfermedades enumeradas anteriormente, los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención serán útiles para el tratamiento y/o la prevención de una variedad de enfermedades.

Angiogénesis se refiere al estado en el cuerpo en el que varios factores de crecimiento u otros estímulos promueven la formación de nuevos vasos sanguíneos. Tal como se describe a continuación, este proceso es crítico para la patología de una variedad de enfermedades. En cada caso, la angiogénesis excesiva permite la progresión de una enfermedad y/o produce efectos no deseados en el paciente. Puesto que mecanismos bioquímicos conservados regulan la proliferación de células endoteliales vasculares que forman estos nuevos vasos sanguíneos, es decir, neovascularización, se espera que la identificación de métodos para inhibir estos mecanismos tenga utilidad en el tratamiento y/o la prevención de una variedad de enfermedades. La siguiente discusión proporciona detalles adicionales sobre cómo los compuestos, las composiciones y los métodos de la presente invención pueden usarse para inhibir la angiogénesis en varias de estas enfermedades.

La retinopatía diabética es una causa principal de deterioro de la visión, y la elevación en la expresión de factores de crecimiento contribuye a la angiogénesis patógena en esta enfermedad. En particular, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un factor contribuyente prominente de la formación de nuevos vasos en la retina diabética (Frank *et al.*, 1997, *Arch Ophthalmol* 115: 1036, Sone *et al.*, 1997, *Diabetología* 40: 726) y VEGF ha mostrado estar elevado en pacientes con retinopatía diabética proliferativa (Aiello *et al.*, 1994, *N Engl J Med* 331: 1480). Además de la retinopatía diabética, otras varias enfermedades oculares debilitantes, incluyendo degeneración macular relacionada con la edad y neovascularización coroidea, están asociadas con la excesiva angiogénesis que está mediada por VEGF y otros factores de crecimiento (Grant *et al.*, 2004, *Expert Opin Investig Drugs* 13:1275).

En la retina, VEGF se expresa en el epitelio pigmentado, la retina neurosensorial, los pericitos y la capa de músculo liso vascular. VEGF induce la proliferación de células endoteliales, favoreciendo la formación de nuevos vasos en la retina (Pe'er *et al.*, 1995, *Lab Invest* 72:638). Al mismo tiempo, el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) en la retina se activa, y este factor actúa en sinergia con VEGF de tal forma que los dos juntos inducen la formación de nuevos vasos en los que la matriz subendotelial es mucho más débil que en los vasos normales. Adicionalmente, VEGF facilita la extravasación de fluidos en el intersticio, en donde se forman exudados en el tejido retiniano. VEGF promueve también la fenestración de células endoteliales, un proceso que puede dar origen a canales intercelulares a través de los cuales los fluidos pueden derramarse, y altera las uniones apretadas entre células. Así, la reducción de la actividad de VEGF en la retina es probable que reduzca eficazmente el desarrollo y la progresión de angiogénesis retiniana y derrame vascular que subyace en el proceso retinopático.

La citocina proinflamatoria  $TNF\alpha$  también ha demostrado desempeñar un papel en la retinopatía diabética puesto que altera el citoesqueleto de células endoteliales, dando como resultado una función de barrera con fugas y la activación de células endoteliales (Camussi *et al.*, 1991, *Int Arch Allergy Appl Immunol* 96:84). Estos cambios en células endoteliales retinianas son fundamentales en las patologías de la retinopatía diabética.

Una vinculación entre las acciones de VEGF y SK puede estar implicada en el impuso de la retinopatía. SK ha mostrado mediar en la activación inducida por VEGF de proteínas cinasas activadas por *ras* y mitógenos (Shu *et al.*, 2002, *Mol. Cell Biol.* 22:7758). VEGF ha mostrado potenciar las respuestas de señalización intracelular a S1P, aumentando así sus acciones angiogénicas (Igarashi *et al.*, 2003, *Proc Natl Acad Sci USA* 100:10664). S1P también ha mostrado estimular la actividad NF $\kappa$ B (Xia *et al.*, 1998, *Proc Natl Acad Sci USA* 95:14196) conduciendo a la producción de COX-2, moléculas de adhesión y producción adicional de VEGF, que se han vinculado todas ellas con angiogénesis. Además, la expresión de la isoforma endotelial de óxido nítrico sintasa (eNOS), una molécula de señalización clave en células endoteliales vasculares modula una serie amplia de funciones incluyendo respuestas angiogénicas, está regulada por SK (Igarashi *et al.*, 2000 *J Biol. Chem* 275:32363). Claramente, SK es un regulador fundamental de la angiogénesis, soportando esta hipótesis de que su manipulación farmacológica puede ser terapéuticamente útil. S1P también ha mostrado estimular la producción de NF $\kappa$ B que se ha demostrado que es angiogénica. NF $\kappa$ B conduce a la producción de COX-2, moléculas de adhesión y la producción de VEGF adicional, que se han vinculado todas ellas con angiogénesis.

Uno de los sitios de intervención más atractivos en esta ruta es la conversión de esfingosina en S1P por la enzima SK. SK es la enzima clave responsable de la producción de S1P y de la síntesis de S1P en células de mamífero, lo que facilita la supervivencia y proliferación celular, y media en procesos críticos implicados en angiogénesis e inflamación, incluyendo respuestas a VEGF (Shu *et al.*, 2002, *Mol Cell Biol.* 22:7758) y  $TNF\alpha$  (Xia *et al.*, 1998, *Proc Natl Acad Sci USA* 95:14196). Por lo tanto, la inhibición de la producción de S1P es un punto potencialmente

importante de intervención terapéutica para retinopatía diabética.

El papel desempeñado por la angiogénesis en el cáncer está bien reconocido. El crecimiento de un tumor depende de la neovascularización por lo que pueden proporcionarse nutrientes a las células tumorales. El principal factor que promueve la proliferación de células endoteliales durante la neovascularización tumoral es VEGF. Tal como se describió anteriormente, la señalización a través de receptores de VEGF depende de las acciones de SK. Por lo tanto, los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención tendrán utilidad en el tratamiento del cáncer.

Más de 50 enfermedades oculares se han vinculado con la formación de neovascularización coroidea, aunque las tres principales enfermedades que provocan esta patología son degeneración macular relacionada con la edad, miopía y traumatismo ocular. Aunque la mayoría de estas causas son idiopáticas, entre las causas conocidas están relacionadas con la degeneración, tumores, tumores coroides y/o traumatismo. Entre los usuarios de lentes de contacto blandas, la neovascularización coroidea puede estar provocada por la falta de oxígeno al globo ocular. Como la neovascularización coroidea está inducida por factores de crecimiento cuya acción depende de una señalización aumentada a través de SK, se espera que los compuestos inhibidores de SK, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención sean de utilidad en la terapia de trastornos de neovascularización coroidea.

Los hemangiomas son enfermedades angiogénicas caracterizadas por la proliferación de endotelio capilar con la acumulación de mastocitos, fibroblastos y macrófagos. Representan los tumores más frecuentes en la infancia, y se caracterizan por un rápido crecimiento neonatal (fase de proliferación). A la edad de 6 a 10 meses, la velocidad de crecimiento de hemangiomas se vuelve proporcional a la velocidad de crecimiento del niño, seguida por una regresión muy lenta durante los siguientes 5 a 8 años (fase involutiva). La mayoría de los hemangiomas se producen como tumores individuales, mientras que aproximadamente el 20% de los niños afectados tienen múltiples tumores, que pueden aparecer en cualquier sitio del cuerpo. Varios estudios han proporcionado una retrospectiva sobre la histopatología de estas lesiones. En particular, los hemangiomas en proliferación ofrecen altos niveles de antígeno nuclear de células en proliferación (un marcador para células en la fase S), colagenasa tipo IV, VEGF y FGF-2. Puesto que los hemangiomas se inducen por factores de crecimiento cuya acción depende de una señalización aumentada a través de SK, se espera que los compuestos inhibidores de SK, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención sean de utilidad en la terapia de hemangiomas.

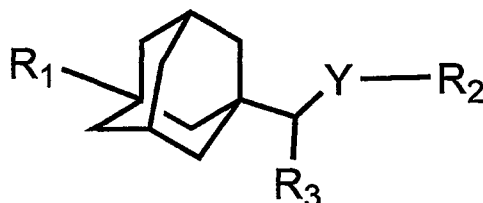
La psoriasis y el sarcoma de Kaposi son enfermedades angiogénicas y proliferativas de la piel. Las lesiones psoríasicas hipervasculares expresan altos niveles del inductor angiogénico IL-8, mientras que disminuye la expresión del inhibidor endógeno TSP-1. El sarcoma de Kaposi (KS) es el tumor más común asociado con la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y en este escenario casi siempre está asociado con la infección por el virus del herpes humano 8. Las características típicas de KS son células en forma de husillo en proliferación, que se considera que son células tumorales y células endoteliales que forman vasos sanguíneos. KS es una enfermedad mediada por citocinas, altamente sensible a diferentes mediadores inflamatorios tales como IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  e IFN- $\gamma$  y factores angiogénicos. Puesto que la progresión de psoriasis y KS se inducen por factores de crecimiento cuya acción depende de la señalización aumentada a través de SK, se espera que los compuestos inhibidores de SK, las composiciones farmacéuticas y los métodos de esta invención sean de utilidad en la terapia de estos trastornos.

#### Ejemplos























La presente invención puede entenderse mejor con referencia a los siguientes ejemplos. Estos ejemplos pretenden ser representativos de realizaciones específicas de la invención, y no se pretende que limiten el alcance de la invención.

Los compuestos representativos de la invención incluyen aquellos en las tablas 1 y 2. Las estructuras fueron nombradas usando Chemdraw Ultra, versión 7.0.1, disponible de CambridgeSoft Corporation, 100 CambridgePark Drive, Cambridge, MA 02140, EE.UU.

Tabla 1. Compuestos representativos de la invención

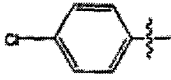

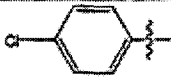
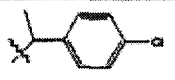
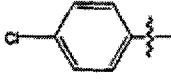
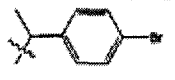
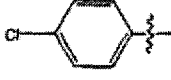
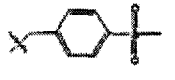
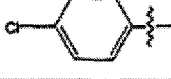
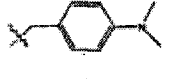

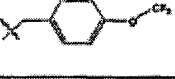

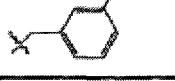

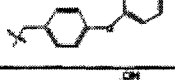
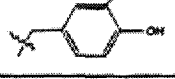
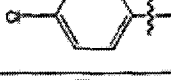


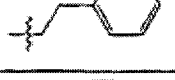


















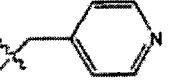
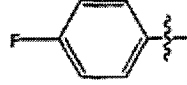
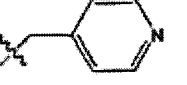
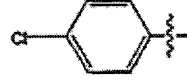
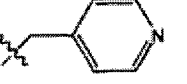
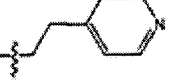
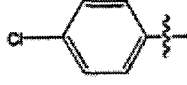



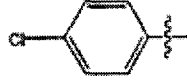












Comp.	Nombre químico	Y	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Ejemplo de referencia 1	Isopropilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
Ejemplo de referencia 2	Ciclopropilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
Ejemplo de referencia 3	(2-Etilsulfanil-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
4	Fenilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
Ejemplo de referencia 5	(4-Hidroxi-fenil)-amida de ácido adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$	H	
6	(4-Hidroxi-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
7	Éster 4-([3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carbonil]-amino); fenílico de ácido acético	NH	$\equiv 0$		
8	(2,4-Hidroxi-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
9	(3-Hidroximetil-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
Ejemplo de referencia 10	(4-Cianometil-fenil)-amida de ácido adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$	H	
11	(4-Cianometil-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
12	Bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		



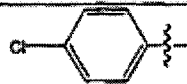




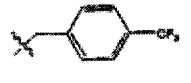
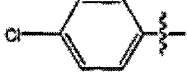
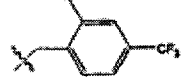
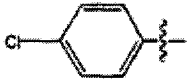
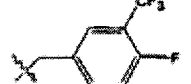

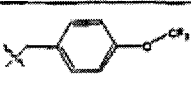

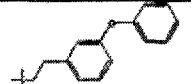




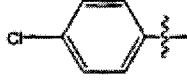
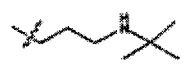
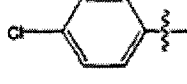

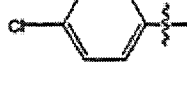









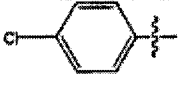

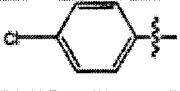
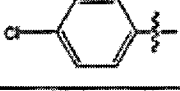

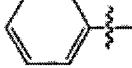

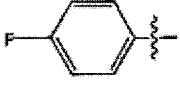
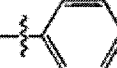
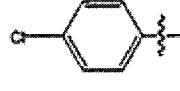
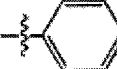





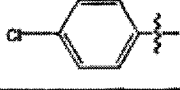

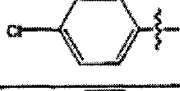




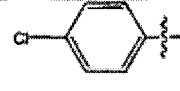


13	4-terc-butil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
14	4-Metilsulfanil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
15	3-Trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
16	4-Trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
17	3,5-Bis-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
18	3-Fluoro-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
19	2-fluoro-4-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
20	3,5-Difluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
21	3,4-Difluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
22	3,4,5-Trifluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
23	3-Cloro-4-fluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
24	4-Fluoro-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
25	2-Cloro-4-fluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
26	4-Cloro-3-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		


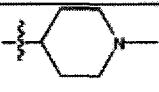

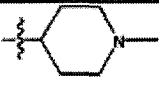

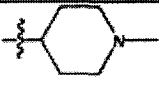
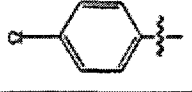
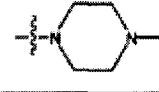



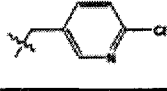
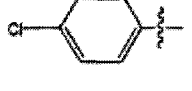

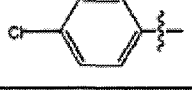
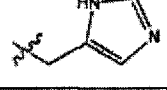
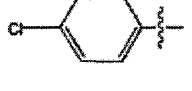
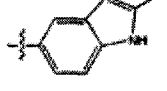
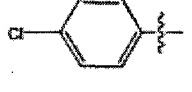
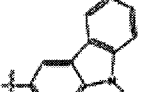

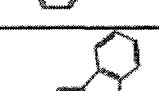



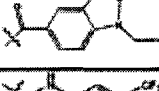




27	3-Aminometil-2,4,5,6-tetracloro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
28	[1-(4-Cloro-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
29	[1-(4-Bromo-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
30	4-Metansulfonil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
31	4-Dimetilamino-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
32	4-Trifluorometoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
33	3-Trifluorometoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
34	4-Fenoxi-bencilamida de ácido adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
Ejemplo de referencia 35	3,4-Dihidroxi-bencilamida de ácido adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$	H	
36	3,4-Dihidroxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
37	Fenetil-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
38	[2-(4-Fluoro-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
39	[2-(4-Bromo-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
40	[2-(4-Hidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
41	4-Fenoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		
42	[2-(3-Bromo4-metoxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv 0$		

Ejemplo de referencia 43	[2-(3,4-Dihidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O	H	
44	[2-(3,4-Dihidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
45	[2-(2-Benzo[1,3]dioxol-5-il)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
Ejemplo de referencia 46	[2-(3-Fenoxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
Ejemplo de referencia 47	[2-(4-Fenoxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
48	(3-Fenil-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
49	(Bifenil-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
Ejemplo de referencia 50	(1-Metil-piperidin-4-il)-amida de ácido adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O	H	
51	(1-Metil-piperidin-4-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
52	(4-Metil-piperazin-1-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
Ejemplo de referencia 53	(3-terc-Butil-amino-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
54	(3-Pirrolidin-1-il-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
55	[3-(2-Oxo-pirrolidin-1-il)-propil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		
Ejemplo de referencia 56	[2-(1-Metil-pirrolidin-2-il)-etil]-amida de ácido adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O	H	
57	[2-(1-Metil-pirrolidin-2-il)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ O		

58	(2-Morfolin-4-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
59	(2-Piperazin-1-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
Ejemplo de referencia 60	(Piridin-4-ilmetil)-amida de ácido adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0	H	
61	(Piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-fluoro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
62	(Piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
Ejemplo de referencia 63	(Piridin-4-ilmetil)-amida de ácido adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0	H	
64	(2-Piridin-4-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
65	(3-Imidazol-1-il-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
66	(2-Metil-1H-indol-5-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
67	(1H-Tetrazol-5-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
68	(9-Etil-9H-carbazol-3-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
Ejemplo de referencia 69	[4-(4-Cloro-fenil)-tiazol-2-il]-amida de ácido adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0	H	
Ejemplo de referencia 70	[4-(4-Cloro-fenil)-tiazol-2-il]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
71	Benzotiazol-2-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		
72	(5-Cloro-benzooxazol-2-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\equiv$ 0		

73	(9H-Purin-6-il)- amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico	NH	$\text{=O}$		
Ejemplo de referencia 75	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-isopropil-amina	NH	H		
76	4- y -fenol	NH	H		
77	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-trifluorometil-bencil)-amina	NH	H		
78	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(2-fluoro-4-trifluorometil-bencil)-amina	NH	H		
79	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-fluoro-3-trifluorometil-bencil)-amina	NH	H		
80	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-trifluorometoxi-bencil)-amina	NH	H		
81	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-[2-(3-fenoxi-fenil)-etil]-amina	NH	H		
82	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(1-metil-piperidin-4-il)-amina	NH	H		
83	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-metil-piperazin-1-il)-amina	NH	H		
Ejemplo de referencia 84	N-terc-Butil-N'-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-propan-1,3-diamina	NH	H		
85	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(3-pirrolidin-1-il-propil)-amina	NH	H		
86	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-[2-(1-metil-pirrolidin-2-il)-etil]-amina	NH	H		
87	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(2-morfolin-4-il-etil)-amina	NH	H		
88	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-piridin-4-ilmetil-amina	NH	H		

89	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(9-etil-9H-carbazol-3-il)-amina	NH	H		
90	[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-[5-(4-cloro-fenil)thiazol-2-il]-amina	NH	H		
Ejemplo de referencia 91	1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etilamina	NH	CH <sub>3</sub>		H
Ejemplo de referencia 92	1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil]-isopropil-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
Ejemplo de referencia 93	Fenil-[1-(3-fenil-adamantan-1-il)-etil]-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
94	{1-[3-(4-Fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-fenil-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
95	{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-fenil-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
Ejemplo de referencia 96	(1-Adamantan-1-il-etil)-bencil-amina	NH	CH <sub>3</sub>	H	
97	Bencil-[1-(3-fenil-adamantan-1-il)-etil]-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
98	Bencil-[1-[3-(4-fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil]-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
99	Bencil-[1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil]-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
100	(4-terc-butil-bencil)-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]etil}amina	NH	CH <sub>3</sub>		
101	[1-(4-Bromo-fenil)-etil]-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
Ejemplo de referencia 102	(1-Adamantan-1-il-etil)-[2-(4-bromo-fenil)-etil]-amina	NH	CH <sub>3</sub>	H	
103	[2-(4-Bromo-fenil)-etil]-[1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil]-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
Ejemplo de referencia 104	(1-Adamantan-1-il-etil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amina	NH	CH <sub>3</sub>	H	

Ejemplo de referencia 105	{1-[3-(4-Fenil)-adamantan-1-il]-etil}-[1-(3-fenil-adamantan-1-il)-etil]-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
106	{1-[3-(4-Fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(1-metil-piperidin-4-il)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
107	{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(1-metil-piperidin-4-il)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
108	{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(4-metil-piperazin-1-il)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
Ejemplo de referencia 109	{1-[3-(Fenil)-adamantan-1-il]-etil}-piridin-4-ilmetil)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
110	{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(6-cloro-piridin-3-ilmetil)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
111	{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(2-piridin-4-il-etil)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
112	{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(3H-imidazol-4-ilmetil)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
113	{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(2-metil-1H-indol-5-il)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
114	{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(9-etil-9H-carbazol-3-il)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
115	{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(9-etil-9H-carbazol-3-ilmetil)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
Ejemplo de referencia 116	{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amida de ácido 9-etil-9H-carbazol-3-carboxílico	NH	CH <sub>3</sub>		
Ejemplo de referencia 117	1-[1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil]-3-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-urea	NH	CH <sub>3</sub>		
Ejemplo de referencia 118	1-[1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil]-3-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-urea	NH	CH <sub>3</sub>		
119	(4-Bromo-tiofen-2-ilmetil)-[1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil]-amina	NH	CH <sub>3</sub>		



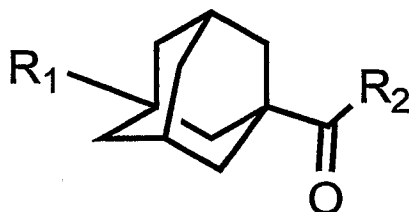
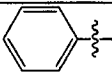
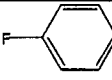
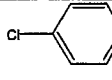
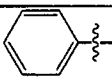
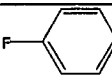
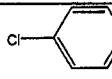
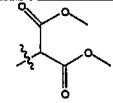
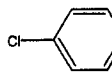
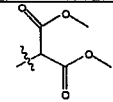
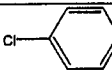
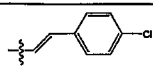
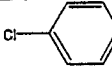
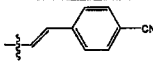
Ejemplo de referencia 120	{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(4-fenil-tiofen-2-ilmetil)-amina	NH	CH <sub>3</sub>		
---------------------------	--	----	-----------------	--	---

Tabla 2. Compuestos representativos de la invención



Comp.	Nombre Químico		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
121	Ácido 3-fenil-adamantan-1-carboxílico			OH
122	Ácido 3-(4-fluoro-fenil)-adamantan-1-carboxílico			OH
123	Ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico			OH
124	1-Adamantan-1-il-etanona		H	CH <sub>3</sub>
125	1-(3-Fenil-adamantan-1-il)-etanona			CH <sub>3</sub>
126	1-[3-(4-Fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etanona			CH <sub>3</sub>
127	1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etanona			CH <sub>3</sub>
128	Éster dimetilico de ácido 2-(adamantan-1-carbonil)-malónico		H	
129	Éster dimetilico de ácido 2-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carbonil]-malónico			
130	3-(4-Cloro-fenil)-1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-propenona			
131	4-{3-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]3-oxo-propenil}-benzonitrilo			

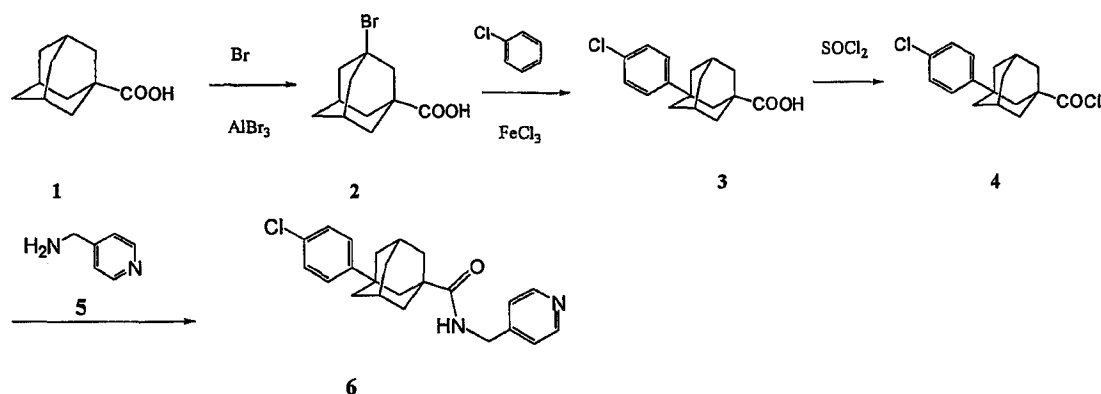


132	1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(4-hidroxi-fenil)-propenona	
133	1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-naftalen-2-il-propenona	
134	1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(6-cloro-piridin-3-il)-propenona	
135	1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(1H-imidazol-4-il)-propenona	
136	1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(9-etil-9H-carbazol-3-il)-propenona	
137	1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(4-fenil-tiofen-2-il)-propenona	

Métodos generales. Se obtuvieron los espectros de RMN en instrumentos Varian 300 en  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO}-d_6$ . Los desplazamientos químicos se mencionan con relación a TMS para espectros  $^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -RMN. Se secaron y destilaron los disolventes antes de usarse. Las reacciones que requerían condiciones anhidras se llevaron a cabo bajo una atmósfera de nitrógeno y se llevó a cabo cromatografía en columna sobre gel de sílice (Merck, gel de sílice 60, 230-400 de malla) Todos los reactivos y materiales disponibles comercialmente se usaron sin purificación adicional.

Ejemplo 1. Método para la síntesis de (piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico, Compuesto 62

Como ejemplo, se describe un procedimiento para la síntesis del compuesto 62 en el esquema 1. La bromación directa del ácido adamantan-1-carboxílico (1) en presencia de cloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) dio derivado de 3-bromuro (2) de 1 que se convirtió en (3) mediante la reacción de reacción de Friedel-Crafts. Se hizo reaccionar 3 con cloruro de tionilo ( $\text{SOCl}_2$ ) para dar cloruros 3-R-sustituido-1-adamantancarbonilo 4. Mediante reacción de 4 con una amina sustituida, por ejemplo, 4-aminometilpiridina (5), en THF, (6, también representado como compuesto 62) y se obtuvieron compuestos de amida relacionados.



Esquema 1.

Más específicamente, se añadió ácido adamantan-1-carboxílico (1) (45 g, 0,25 mol) a una mezcla de  $\text{AlCl}_3$  (45 g, 0,34 mol) y  $\text{Br}_2$  (450 g) a  $0^\circ\text{C}$  y se agitó a  $0-10^\circ\text{C}$  durante 48 h, se mantuvo 5 h a aproximadamente  $20^\circ\text{C}$ , se vertió en 500 g de hielo triturado, se diluyó con 300 ml de  $\text{CHCl}_3$  y se decoloró con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  sólido. Se extrajo la fase acuosa con  $\text{Et}_2\text{O}$  (50 ml x 2). Se lavó la disolución orgánica combinada con  $\text{H}_2\text{O}$  y se extrajo con  $\text{NaOH}$  al 10%. Se acidificó la extracción alcalina con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 N y proporcionó 49 g (rendimiento = 75,7%) de ácido 3-bromo-adamantan-1-carboxílico (2).

A lo largo de un periodo de 30 minutos, se añadió ácido 3-bromo-adamantan-1-carboxílico (2) (16,0 g, 61,7 mmoles) en 50 ml de clorobenceno seco a  $-10^\circ\text{C}$  a 100 ml de clorobenceno seco y 9,3 g, 70 mmoles de  $\text{AlCl}_3$ . Entonces se calentó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora y después se calentó hasta  $90^\circ\text{C}$  durante 10 horas.

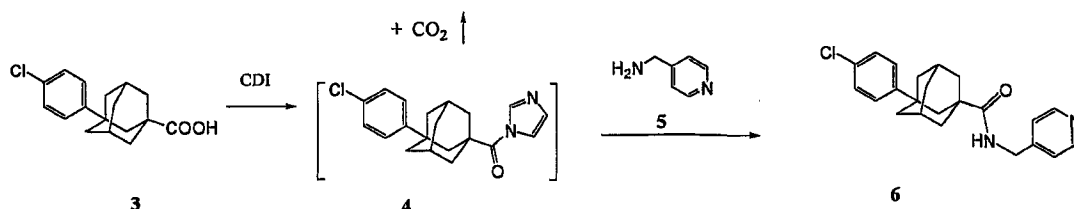
Entonces se vertió la mezcla en 200 g de hielo triturado y el material filtrado para proporcionar 14,2 g (rendimiento = 79,3%) de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico (3).

Se hizo reaccionar 3 con una cantidad equimolar de 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI) para dar 3-R-sustituido-1-adamantancarbonilimidazol intermedio (4). Mediante la reacción de 4 con una amina sustituida, se obtuvo la adamantilamida correspondiente.

Por ejemplo, la reacción de 3 con 4-aminometilpiridina (5), en tolueno, produjo (piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico (6 también representado como compuesto 62) con un rendimiento del 92,6% y un punto de fusión de 128-130°C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,72-2,25 (m, 12H, Admant-CH), 4,44-4,46 (d, J = 6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>-Py), 6,18 (m, 1H, HN), 7,13-7,15 (d, J = 6 Hz, 2H, H-Py), 7,15-7,30 (m, 4H, H-Ph), 8,52-8,54 (d, J = 6 Hz, 2H, H-Py); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,98, 35,73, 36,71, 38,77, 42,18, 42,37, 44,88, 122,38, 125,30, 126,57, 128,56, 129,26, 148,39, 150,20 177,76; EM m/z (intensidad rel.) 381,50 (MH<sup>+</sup>, 100), 383,41 (90), 384,35 (80).

#### Ejemplo 2. Un segundo método para la síntesis del compuesto 62

Un segundo método para la síntesis del compuesto 62 y adamantilamidas relacionadas se describe en el esquema 2. Se preparó el 3-fenilo sustituido intermedio (3) tal como se describió anteriormente. Se hizo reaccionar 3 con 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI) para dar 3-R-sustituido-1-adamantancarbonilimidazol intermedio (4). Mediante la reacción de 4 con una amina sustituida, por ejemplo 4-aminometilpiridina 5, en tolueno, se obtuvo (piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico 6.



Esquema 2.

Puede sintetizarse eficazmente un conjunto diverso de ariladamantanos sustituidos mediante condensación de diversos compuestos aromáticos con 2, y una variedad de tales compuestos están disponibles comercialmente. Adicionalmente, la amidación de 3 puede completarse eficazmente usando una variedad de reactivos de acoplamiento y compuestos que contienen aminas primarias. El ejemplo siguiente proporciona varios representantes de los productos de este procedimiento; sin embargo, estos métodos pueden adaptarse para producir muchas adamantilamidas relacionadas estructuralmente que se considera que son materia de esta invención.

#### Ejemplo 3. Síntesis de adamantilamidas

Se usaron los métodos descritos en el ejemplo 1 ó 2 para preparar una biblioteca de adamantilamidas sustituidas. Los datos proporcionados a continuación incluyen: la cantidad sintetizada, el rendimiento de la reacción de amidación, el punto de fusión (p.f.) del compuesto, datos de espectros de masas (EM) para el compuesto, y datos de espectros de RMN para el compuesto.

Compuesto 1: isopropilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. Rendimiento = 81%; p.f.: 140-141,5°C; EM m/z (intensidad rel.) 332 (MH<sup>+</sup>, 95).

Compuesto 2: ciclopropilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 90 mg, Rendimiento = 78,3%; p.f.: 145-148°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0,44-0,46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 0,76-0,78 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,59-1,92 (m, 12H, Admant-CH), 2,25 (s, 2H, Admant-CH), 2,62-2,65 (m, 1H, CH), 5,64 (m, 1H, HN), 7,28-7,30 (m, 4H, H-Ph); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6,7, 22,7, 28,8, 35,5, 36,5, 38,4, 42,0, 44,5, 126,2, 128,1, 131,4, 148,2, 178,5; EM m/z (intensidad rel.) 330,46 (MH<sup>+</sup>, 100), 331,47 (25), 332,46 (35).

Compuesto 3: (2-etilsulfanil-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 180 mg, Rendimiento = 92,0%; p.f.: 101-103°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,24-1,29 (t, J=7,5 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,74-1,97 (m, 12H, Admant-CH), 2,27 (s, 2H, Admant-CH), 2,52-2,59 (q, J=7,5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,65-2,70 (t, J=7,5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,41-3,47 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,12 (m, 1H, HN), 7,24-7,28 (m, 4H, Ar-H), 7,38-7,45 (m, 2H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 15,1, 25,7, 29,0, 31,6, 35,8, 36,7, 38,3, 38,6, 42,0, 42,3, 44,7, 126,6, 128,5, 148,6, 177,6; EM m/z (intensidad rel.) 373,6 (MH<sup>+</sup>, 100), 374,6 (25), 375,6 (40).

Compuesto 4: fenilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 120 mg, Rendimiento = 68,5%; p.f.: 190-192°C; EM m/z (intensidad rel.) 366 (MH<sup>+</sup>, 35).

Compuesto 5: (4-hidroxifenil)-amida de ácido adamantan-1-carboxílico. 77 mg, Rendimiento = 57%; p.f.: 224-226°C; EM m/z (intensidad rel.) 272 (MH<sup>+</sup>, 50).

- Compuesto 6: (4-hidroxi-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. Rendimiento = 66%; p.f.: 240-242°C;  $^1\text{H}$ -RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,86-2,32 (m, 14H, Admant-H), 6,75-6,78 (d, J = 9 Hz, 2H, Ar-H), 7,26-7,33 (m, 6H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  23,7, 28,8, 29,4, 29,7, 30,3, 35,5, 38,5,3, 38,7, 42,0, 44,6, 115,7, 122,5, 126,3, 128,3, 140,6, 173,6; EM m/z (intensidad rel.) 382 ( $\text{MH}^+$ , 50).
- 5 Compuesto 7: éster 4-[[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carbonil]-amino]-fenílico de ácido acético. 140 mg, Rendimiento = 85%; p.f.: 176-178°C; EM m/z (intensidad rel.) 424 ( $\text{MH}^+$ , 75), 425 (50), 426 (55).
- Compuesto 8: (2,4-dihidroxi-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 5 mg, Rendimiento = 4%; p.f.: 242-244°C; EM m/z (intensidad rel.) 398 ( $\text{MH}^+$ , 20).
- 10 Compuesto 9: (3-hidroximetil-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 74 mg, Rendimiento = 38%; p.f.: 173-175°C; EM m/z (intensidad rel.) 396 ( $\text{MH}^+$ , 90).
- Compuesto 10: (4-cianometil-fenil)-amida de ácido adamantan-1-carboxílico. 51, mg, Rendimiento = 4%; p.f.: 184-186°C; EM m/z (intensidad rel.) 295 ( $\text{MH}^+$ , 50).
- Compuesto 11: (4-cianometil-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 92 mg, Rendimiento = 46%; p.f.: 157-159°C; EM m/z (intensidad rel.) 405 ( $\text{MH}^+$ , 20).
- 15 Compuesto 12: bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 144 mg, Rendimiento = 75,8%; p.f.: 134-136°C; EM m/z (intensidad rel.) 380 ( $\text{MH}^+$ , 75).
- Compuesto 13: 4-terc-butil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 35 mg, Rendimiento = 62%; p.f.: 187-189°C; EM m/z (intensidad rel.) 436 ( $\text{MH}^+$ , 30).
- 20 Compuesto 14: 4-metilsulfanil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 100 mg, Rendimiento = 47%; p.f.: 139-141°C;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,73-1,98 (m, 12H, Admant-CH), 2,26 (s, 2H, Admant-CH), 2,47 (s, 3H,  $\text{SCH}_3$ ), 4,38-4,40 (d, J=6 Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5,84 (s(a); 1H, HN), 7,16-7,24 (m, 4H, Ar-H), 7,26-7,30 (in, 4H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  15,9, 28,8, 35,5, 36,5, 38,4, 41,7, 42,0, 42,9, 44,6, 126,2, 126,7, 128,2, 131,4, 135,2, 137,5, 148,1, 177,2; EM m/z (intensidad rel.) 426,6 ( $\text{MH}^+$ , 100), 427,6 (30), 428,6 (32).
- 25 Compuesto 15: 3-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 190 mg, Rendimiento = 81%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,58-2,00 (m, 12H, Admant-CH), 2,28 (s, 2H, Admant-CH), 4,50-4,52 (d, J=6 Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,02 (m, 1H, HN), 7,26-7,29 (m, 4H, Ar-H), 7,44-7,54 (m, 4H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  28,8, 35,5, 36,5, 38,5, 41,8, 42,0, 42,8, 44,5, 124,0, 126,2, 128,1, 129,0, 130,7, 139,9, 148,3, 177,2; EM m/z (intensidad rel.) 448,2 ( $\text{MH}^+$ , 100).
- 30 Compuesto 16: 4-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 180 mg, Rendimiento = 80%; p.f.: 165-167°C;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,74-1,99 (m, 12H, Admant-CH), 2,28 (s, 2H, Admant-CH), 4,48-4,50 (d, J=6 Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,03 (m, 1H, HN), 7,24-7,30 (m, 4H, Ar-H), 7,34-7,36 (d, J=6 Hz, 2H, Ar-H), 7,57-7,59 (d, J=6 Hz, 2H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29,0, 35,7, 36,7, 38,3, 38,7, 42,2, 42,3, 43,1, 43,9, 44,8, 125,9, 126,6, 127,9, 128,5, 131,9, 142,9, 148,4, 177,8; EM m/z (intensidad rel.) 448,2 ( $\text{MH}^+$ , 100).
- 35 Compuesto 17: 3,5-bis-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 168 mg, Rendimiento = 65%; p.f.: 125-127°C;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,75-2,00 (m, 12H, Admant-CH), 2,28 (s, 2H, Admant-CH), 4,53-4,55 (d, J=6 Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,24 (m, 1H, HN), 7,23-7,30 (m, 4H, Ar-H), 7,69 (s, 2H, Ar-H), 7,77 (s, 1H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  28,9, 35,6, 36,7, 38,6, 42,0, 42,2, 42,6, 44,7, 121,5, 125,5, 126,5, 127,6, 128,5, 131,8, 141,8, 148,4, 178,1; EM m/z (intensidad rel.) 516,2 ( $\text{MH}^+$ , 100).
- 40 Compuesto 18: 3-fluoro-5-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 210 mg, Rendimiento = 90%; p.f.: 92-94°C;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,75-2,00 (m, 12H, Admant-CH), 2,29 (s, 2H, Admant-CH), 4,48-4,50 (d, J=6 Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,07 (m, 1H, HN), 7,14-7,29 (m, 7H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  28,9, 35,6, 36,6, 38,3, 38,7, 42,0, 42,1, 42,6, 44,7, 111,7, 112,0, 117,7, 118,0, 119,8, 126,5, 128,5, 131,8, 143,2, 148,4, 161,2, 164,5, 178,1; EM m/z (intensidad rel.) 466,2 ( $\text{MH}^+$ , 100).
- 45 Compuesto 19: 2-fluoro-4-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 156 mg, Rendimiento = 67%; p.f.: 190-192°C;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,60-1,96 (m, 12H, Admant-CH), 2,28 (s, 2H, Admant-CH), 4,51-4,53 (d, J=6 Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,08 (m, 1H, HN), 7,26-7,44 (m, 7H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  15,7, 29,0, 35,7, 36,7, 38,7, 42,2, 44,8, 113,3, 121,5, 126,6, 128,5, 130,8, 131,9, 148,4, 177,7; EM m/z (intensidad rel.) 466,1 ( $\text{MH}^+$ , 100).
- 50 Compuesto 20: 3,5-difluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 160 mg, Rendimiento = 85%; p.f.: 59-61°C;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,75-2,03 (m, 12H, Admant-CH), 2,29 (s, 2H, Admant-CH), 4,38-4,41 (d, J=6 Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,00 (m, 1H, HN), 6,67-6,81 (m, 3H, Ar-H), 7,29 (s, 4H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  28,9, 35,7, 36,7, 38,1, 38,7, 42,1, 42,3, 42,8, 44,1, 44,7, 103,0, 110,2, 126,6, 128,5, 131,9, 148,4, 164,9, 178,0; EM m/z (intensidad rel.) 416,59 ( $\text{MH}^+$ , 100), 417,59 (35), 418,59 (40), 419,60 (20).

- 5 Compuesto 21: 3,4-difluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 179 mg, Rendimiento = 86%; p.f.: 100-102°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,74-1,98 (m, 12H, Admant-CH), 2,28 (s, 2H, Admant-CH), 4,38-4,41 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5,96 (m, 1H, HN), 6,98 (s, 1H, Ar-H), 7,06-7,12 (in, 2H, Ar-H), 7,24-7,30 (m, 4H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29,0, 35,7, 36,7, 38,7, 42,0, 42,1, 42,7, 44,8, 116,7, 117,7, 123,7, 126,6, 128,5, 148,5, 177,8; EM m/z (intensidad rel.) 416,4 (MH<sup>+</sup>, 100).
- 10 Compuesto 22: 3,4,5-trifluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 195 mg, Rendimiento = 90%; p.f.: 106-108°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,75-1,98 (m, 12H, Admant-CH), 2,29 (s, 2H, Admant-CH), 4,36-4,38 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,03 (m, 1H, HN), 6,82-6,89 (t, J=7,5 Hz, 2H, Ar-H), 7,28 (s, 4H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,9, 35,6, 36,7, 38,7, 42,1, 42,4, 44,7, 111,3, 111,4, 111,5, 123,3, 125,5, 126,6, 128,5, 129,8, 131,8, 135,6, 148,4, 178,0; EM m/z (intensidad rel.) 434,5 (MH<sup>+</sup>, 100).
- 15 Compuesto 23: 3-cloro-4-fluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 143 mg, Rendimiento = 66,2%; p.f.: 112-114°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,74-1,98 (m, 12H, Admant-CH), 2,28 (s, 2H, Admant-CH), 4,37-4,39 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5,99 (m, 1H, HN), 7,08 (s, 1H, Ar-H), 7,10-7,12 (m, 1H, Ar-H), 7,28-7,30 (m, 5H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,8, 35,5, 36,5, 38,5, 41,8, 42,0, 42,3, 44,6, 116,8, 126,2, 127,2, 128,2, 129,6, 148,0, 177,2; EM m/z (intensidad rel.) 432,5 (MH<sup>+</sup>, 50).
- 20 Compuesto 24: 4-fluoro-3-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 220 mg, Rendimiento = 94%; p.f.: 111-113°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,72-1,96 (m, 12H, Admant-CH), 2,25 (s, 2H, Admant-CH), 4,39-4,41 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,31-6,34 (m, 1H, HN), 7,03-7,22 (m, 2H, Ar-H), 7,25-7,29 (m, 3H, Ar-H), 7,38-7,45 (m, 2H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,8, 35,5, 36,7, 37,7, 38,6, 38,7, 42,1, 42,3, 43,2, 44,7, 117,3, 126,2, 126,5, 128,5, 133,2, 148,4, 177,8; EM m/z (intensidad rel.) 466,6 (MH<sup>+</sup>, 100).
- 25 Compuesto 25: 2-cloro-4-fluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 145 mg, Rendimiento = 97,3%; p.f.: 132-134°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,72-2,03 (m, 12H, Admant-CH), 2,25 (s, 2H, Admant-CH), 4,45-4,47 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,23 (m, 1H, HN), 6,90-6,9,6 (m, 1H, Ar-H), 7,08-7,18 (m, 2H, Ar-H), 7,26-7,33 (m, 4H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29,0, 35,7, 36,7, 38,4, 38,6, 41,2, 42,2, 42,4, 44,7, 114,4, 117,0, 126,6, 128,5, 131,5, 148,5, 163,7, 177,7; EM m/z (intensidad rel.) 432,54 (MH<sup>+</sup>, 100), 433,55 (25), 434,54 (80), 435,54 (30), 436,64 (25).
- 30 Compuesto 26: 4-cloro-3-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 136 mg, Rendimiento = 92,0%; p.f.: 77-79°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,58-1,99 (m, 12H, Admant-CH), 2,29 (s, 2H, Admant-CH), 4,45-4,47 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,05 (m, 1H, HN), 7,26-7,31 (m, 4H, H-Ph), 7,36-7,39 (d, J=9 Hz, 1H, Ar-H), 7,44-7,47 (d, J=9 Hz, 1H, Ar-H), 7,66 (s, 1H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,7, 35,5, 36,5, 38,5, 41,9, 42,3, 44,6, 126,2, 126,4, 128,3, 131,6, 131,8, 137,8, 148,0, 177,3; EM m/z (intensidad rel.) 482,55 (MH<sup>+</sup>, 100), 483,55 (35), 484,35 (70).
- 35 Compuesto 27: 3-aminometil-2,4,5,6-tetracloro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 70 mg, Rendimiento = 31%; p.f.: 170-172°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,60 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 1,72-1,94 (m, 12H, Admant-CH), 2,25 (s, 2H, Admant-CH), 4,19 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4,79-4,81 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5,91 (m(a), 1H, HN), 7,26-7,27 (m, 4H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,7, 35,5, 36,4, 38,4, 40,9, 41,9, 43,7, 44,5, 122,9, 125,2, 125,9, 126,2, 128,1, 129,3, 131,4, 131,8, 134,1, 134,3, 139,2, 148,0, 176,6; EM m/z (intensidad rel.) 546,9 (MH<sup>+</sup>, 100).
- 40 Compuesto 28: [1-(4-cloro-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 113 mg, Rendimiento = 53%; p.f.: 204-206°C(B); <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,44-1,46 (d, J=6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,58-1,94 (m, 12H, Admant-CH), 2,27 (s, 2H, Admant-CH), 5,06-5,11 (m, 1H, CH), 5,75-5,78 (m(a), 1H, HN), 7,20-7,31 (m, 8H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 22,0, 29,0, 35,7, 36,7, 38,6, 38,7, 41,8, 42,2, 44,8, 48,1, 126,3, 126,6, 127,7, 128,5, 129,0, 131,8, 133,2, 142,3, 148,5, 176,6; EM m/z (intensidad rel.) 428,4 (MH<sup>+</sup>, 100).
- 45 Compuesto 29: [1-(4-bromo-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 69 mg, Rendimiento = 29%; p.f.: 218-220°C; EM m/z (intensidad rel.) 472 (MH<sup>+</sup>, 80), 474 (MH<sup>+</sup>, 100).
- 50 Compuesto 30: 4-metansulfonil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 189 mg, Rendimiento = 82%; p.f.: 115-117°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,75-2,00 (m, 12H, Admant-CH), 2,29 (s, 2H, Admant-CH), 3,02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,51-4,53 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,19 (m, 1H, HN), 7,16-7,28 (m, 4H, Ar-H), 7,40-7,43 (d, J=9 Hz, 2H, Ar-H), 7,84-7,87 (d, J=9 Hz, 2H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29,0, 35,5, 35,7, 36,7, 37,7, 38,5, 38,7, 42,0, 42,2, 44,6, 44,7, 117,7, 125,6, 126,6, 127,7, 128,1, 129,9, 131,7, 137,4, 139,1, 145,9, 148,6, 178,0; EM m/z (intensidad rel.) 458,3 (MH<sup>+</sup>, 100).
- 55 Compuesto 31: 4-dimetilamino-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 161 mg, Rendimiento = 76,1%; p.f.: 154-156°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,72-1,97 (m, 12H, Admant-CH), 2,36 (s, 2H, Admant-CH), 2,94 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4,32-4,34 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5,73 (m, 1H, HN), 6,68-6,71 (d, J=9 Hz, 2H, Ar-H), 7,13-7,16 (d, J=9 Hz, 2H, Ar-H), 7,28 (s, 4H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 15,7, 29,0, 35,8, 38,7, 40,9, 42,3, 43,4, 44,8, 112,9, 126,6, 128,5, 129,2, 137,7, 140,9, 173,4; EM m/z (intensidad rel.) 422,66 (M<sup>+</sup>, 100), 423,66 (MH<sup>+</sup>, 90), 424,64 (60).

- Compuesto 32: 4-trifluorometoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 200 mg, Rendimiento = 86,2%; p.f.: 119-121°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,72-2,02 (m, 12H, Admant-CH), 2,24 (s, 2H, Admant-CH), 4,39-4,41 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,27 (s, 1H, HN), 7,06-7,26 (m, 8H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29,0, 35,7, 35,8, 36,7, 38,4, 38,7, 42,1, 42,4, 42,8, 43,6, 44,8, 121,2, 121,6, 126,3, 126,6, 128,5, 128,7, 129,1, 137,5, 148,4, 177,9; EM m/z (intensidad rel.) 464,4 (MH<sup>+</sup>, 70).
- Compuesto 33: 3-trifluorometoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 200 mg, Rendimiento = 86%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,75-2,00 (m, 12H, Admant-CH), 2,28 (s, 2H, Admant-CH), 4,45-4,47 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,00 (m, 1H, FIN), 7,01-7,19 (m, 3H, Ar-H), 7,24-7,38 (m, 5H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29,0, 35,7, 36,7, 38,7, 42,0, 42,2, 42,8, 44,8, 119,8, 125,9, 126,6, 128,5, 130,2, 131,8, 141,5, 148,6, 149,7, 177,8; EM m/z (intensidad rel.) 464,2 (MH<sup>+</sup>, 100).
- Compuesto 34: 4-fenoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 170 mg, Rendimiento = 72,0%; p.f.: 121-123°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,58-1,99 (m, 12H, Admant-CH), 2,27 (s, 2H, Admant-CH), 4,41-4,43 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5,88 (m, 1H, HN), 6,95-7,02 (m, 3H, Ar-H), 7,09-7,14 (m, 1H, Ar-H), 7,20-7,36 (m, 9H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,8, 35,6, 36,5, 38,5, 42,0, 42,9, 43,9, 44,6, 118,8, 118,9, 123,3, 128,2, 129,0, 129,6, 131,4, 133,1, 148,1, 156,5, 156,9, 176,9; EM m/z (intensidad rel.) 472,36 (MH<sup>+</sup>, 100), 473,36 (30), 474,37 (30).
- Compuesto 35: 3,4-dihidroxi-bencilamida de ácido adamantan-1-carboxílico. 143 mg, Rendimiento = 48%; p.f.: 184-186°C; EM m/z (intensidad rel.) 302 (MH<sup>+</sup>, 8).
- Compuesto 36: 3,4-dihidroxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 134 mg, Rendimiento = 65%; p.f.: 73-75°C; EM m/z (intensidad rel.) 412 (MH<sup>+</sup>, 10).
- Compuesto 37: fenetil-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 150 mg, Rendimiento = 76%; p.f.: 123-125°C; EM m/z (intensidad rel.) 394 (MH<sup>+</sup>, 14).
- Compuesto 38: [2-(4-fluoro-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 156 mg, Rendimiento = 78%; p.f.: 103-105°C; EM m/z (intensidad rel.) 412 (MH<sup>+</sup>, 52), 413 (17), 414 (20).
- Compuesto 39: [2-(4-bromo-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 30 mg, Rendimiento = 55%; p.f.: 114-116°C; EM m/z (intensidad rel.) 472 (MH<sup>+</sup>, 38), 474 (MH<sup>+</sup>, 42).
- Compuesto 40: [2-(4-hidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 112 mg, Rendimiento = 55%; p.f.: 174-176°C; EM m/z (intensidad rel.) 410 (MH<sup>+</sup>, 100), 411 (25), 412 (33).
- Compuesto 41: [2-(4-metoxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 159 mg, Rendimiento = 75%; p.f.: 108-110°C; EM m/z (intensidad rel.) 424 (MH<sup>+</sup>, 55), 425 (18), 426 (20).
- Compuesto 42: [2-(3-bromo-4-metoxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 220 mg, Rendimiento = 87,5%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,63-1,89 (m, 12H, Admant-CH), 2,25 (s, 2H, Admant-CH), 2,71-2,76 (t, J=7,5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,42-3,48 (q, J=12 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>), 3,87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5,62 (s(a), 1H, NH), 6,82-6,84 (d, J=6 Hz, 1H, Ar-H), 7,07-7,09 (d, J=6 Hz, 1H, Ar-H), 7,27-7,30 (m, 4H, Ar-H), 7,36 (s, 1H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29,0, 34,6, 35,7, 36,7, 38,6, 40,8, 41,9, 42,2, 44,8, 56,5, 112,3, 111,7, 126,6, 128,5, 128,6, 129,0, 132,8, 133,9, 148,6, 154,7, 177,6; EM m/z (intensidad rel.) 502 (MH<sup>+</sup>, 80), 503 (25), 504 (MH<sup>+</sup>, 100), 505 (33).
- Compuesto 43: [2-(3,4-dihidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido adamantan-1-carboxílico. 69 mg, Rendimiento = 24%; p.f.: 98-100°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 0,94-0,98 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,60-1,95 (m, 15H, Admant-CH), 3,12-3,15 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,39-6,41 (d, J = 6 Hz, 1H, Ar-H), 6,54 (s, 1H, Ar-H), 6,60-6,62 (d, J = 6 Hz, 1H, Ar-H), 7,35 (s, 1H, NH); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 27,6, 29,4, 35,1, 36,9, 37,8, 38,6, 44,6, 46,4, 114,8, 116,9, 119,4, 131,4, 145,6, 164,4; EM m/z (intensidad rel.) 316,5 (MH, 50), 317,5 (8).
- Compuesto 44: [2-(3,4-dihidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 100 mg, Rendimiento = 47,0%; p.f.: 124-126°C; EM m/z (intensidad rel.) 426 (MH, 100).
- Compuesto 45: (2-benzo[1,3]dioxol-5-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 190 mg, Rendimiento = 87%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,71-1,90 (m, 12H, Admant-CH), 2,24 (s, 2H, Admant-CH), 2,70-2,75 (t, J= 6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,42-3,48 (q, J= 6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5,61. (m, 1H, NH), 5,93 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,60-6,63 (d, J = 9 Hz, 1 H, Ar-H), 6,67 (s, 1H, Ar-H), 6,73-6,76 (d, J = 9 Hz, 1H, Ar-H), 7,26-7,29 (m, 4H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,6, 28,8, 35,4, 35,5, 36,4, 38,3, 40,6, 41,6, 42,0, 43,8, 44,5, 100,8, 108,2, 109,0, 121,5, 126,2, 128,1, 132,5, 146,0, 148,2, 177,0; EM m/z (intensidad rel.) 438,28 (MH<sup>+</sup>, 100), 439,29 (45), 440,28 (55).
- Compuesto 46: [2-(3-fenoxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 200 mg, Rendimiento = 82%; p.f.: 114-116°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,70-1,95 (m, 12H, Admant-CH), 2,23 (s, 2H, Admant-CH), 2,75-2,80 (t, J=7,5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,45-3,51 (q, J=12 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>), 5,63 (s(a), 1H, NH), 6,83-7,01 (m, 5H, Ar-H), 7,07-7,18 (m, 2H, Ar-H), 7,22-7,35 (m, 6H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,8, 29,0, 35,8, 36,7, 38,6, 40,7, 41,9, 42,3, 44,8, 116,9, 117,1, 119,2, 119,4, 123,5, 123,6, 123,9, 126,6, 128,5, 130,0, 130,2, 141,7,

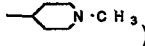
148,3, 157,4, 177,7; EM m/z (intensidad rel.) 486,58 (MH<sup>+</sup>, 93), 487,56 (60), 488,55 (68), 489,54 (25).

Compuesto 47: [2-(4-fenoxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 224 mg, Rendimiento= 92%; p.f.: 88-90°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,71-1,90 (m, 12H, Admant-CH), 2,24 (s, 2H, Admant-CH), 2,77-2,81 (t, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,48-3,51 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 5,63 (s(a), 1H, NH), 6,94-7,00 (m, 4H, Ar-H), 7,09-7,35 (m, 9H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29,1, 29,3, 35,2, 35,8, 36,7, 38,7, 40,9, 41,9, 42,3, 44,8, 118,9, 119,4, 123,5, 126,6, 128,6, 129,3, 130,0, 130,4, 131,8, 134,2, 148,7, 156,1, 157,6, 177,5; EM m/z (intensidad rel.) 486,58 (MH<sup>+</sup>, 93), 487,56 (60), 488,55 (68), 489,54 (25).

Compuesto 48: (3-fenil-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 195 mg, Rendimiento = 59%; p.f.: 97-100°C; EM m/z (intensidad rel.) 408 (MH<sup>+</sup>, 55).

Compuesto 49: (bifenil-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 200 mg, Rendimiento = 87,7%; p.f.: 208-210°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,74-2,09 (m, 12H, Admant-CH), 2,26 (s, 2H, Admant-CH), 4,48-4,50 (d, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5,94 (m, 1H, HN), 7,29-7,37 (m, 6H, Ar-H), 7,42-7,46 (m, 3H, Ar-H), 7,55-7,59 (m, 4H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 15,7, 29,0, 35,8, 36,7, 38,8, 42,0, 42,3, 43,4, 44,9, 126,6, 127,3, 127,6, 127,7, 128,4, 128,5, 129,0, 137,7, 140,9, 148,5, 177,4; EM m/z (intensidad rel.) 456,59 (MH<sup>+</sup>, 90), 457,57 (20), 458,56 (30).

Compuesto 50: (1-metil-piperidin-4-il)-amida de ácido adamantan-1-carboxílico. 120 mg, Rendimiento = 76%; p.f.: 157-159°C; EM m/z (intensidad rel.) 277 (MH<sup>+</sup>, 100).

Compuesto 51: (1-metil-piperidin-4-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 136 mg, Rendimiento = 74,4%; p.f.: 146-148°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,06-2,77 (m, 25H, Admant-CH, , 4,44-3,70 (m, 1H, CH), 5,41-5,43 (m, 1H, HN), 7,26-7,29 (m, 4H, H-Ar); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 11,6, 29,1, 32,5, 35,8, 36,7, 38,6, 41,9, 42,2, 44,8, 46,0, 46,4, 54,7, 126,6, 128,5, 131,8, 148,6, 176,8; EM m/z (intensidad rel.) 387 (MH<sup>+</sup>, 100).

Compuesto 52: (4-metil-piperazin-1-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 182 mg, Rendimiento = 66,2%; p.f.: 142-147°C; EM m/z (intensidad rel.) 387 (MH<sup>+</sup>, 48).

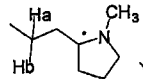
Compuesto 53: (3-terc-butilamino-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 160 mg, Rendimiento = 79%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,11 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 1,69-1,95 (m, 14H, Admant-CH, CH<sub>2</sub>), 2,18 (m, 1H, HN), 2,25 (s, 2H, Admant-CH), 2,70-2,74 (t, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,33-3,38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,16-7,27 (m, 4H, Ar-H), 7,42 (m, 1H, HN); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,5, 28,7, 29,1, 29,4, 35,9, 36,7, 38,8, 39,3, 39,7, 41,1, 41,8, 42,3, 42,6, 45,0, 46,0, 51,8, 126,3, 128,3, 128,4, 148,8, 177,8; EM m/z (intensidad rel.) 403,1 (MH<sup>+</sup>, 100).

Compuesto 54: (3-pirrolidin-1-il-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 184 mg, Rendimiento = 92%; p.f.: 86-88°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,63-1,92 (m, 18H, Admant-CH, CH<sub>2</sub>), 2,24 (s, 2H, Admant-CH), 2,50 (s, 4H, CH<sub>2</sub>), 2,58-2,62 (t, J=6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,33-3,38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,19-7,28 (m, 4H, Ar-H), 7,92 (m, 1H, HN); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 23,7, 26,5, 29,1, 35,9, 36,7, 38,7, 40,7, 41,7, 42,3, 44,9, 54,4, 56,4, 126,6, 128,4, 129,6, 131,6, 148,8, 177,6; EM m/z (intensidad rel.) 401,25 (MH<sup>+</sup>, 100).

Compuesto 55: [3-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-propil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 190 mg, Rendimiento = 98%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,60-2,12 (m, 16H, ciclo-CH<sub>2</sub>, Admant-CH), 2,27 (s, 2H, Admant-CH), 2,36-2,47 (t, J=7,5 Hz, 2H, ciclo-CH<sub>2</sub>), 3,15-3,20 (t, J=7,5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,32-3,42 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 7,09 (m, 1H, HN), 7,18-7,32 (m, 4H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 18,2, 26,5, 29,1, 31,1, 35,0, 35,9, 36,7, 38,5, 39,5, 42,0, 42,4, 44,8, 47,6, 126,7, 128,4, 166,5, 177,9; EM m/z (intensidad rel.) 415,6 (MH<sup>+</sup>, 100).

Compuesto 56: [2-(1-metil-pirrolidin-2-il)-etil]-amida de ácido adamantan-1-carboxílico. 23 mg, Rendimiento = 33%; p.f.: 82-84 °C; EM m/z (intensidad rel.) 291 (MH<sup>+</sup>, 100).

Compuesto 57: [2-(1-metil-pirrolidin-2-il)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 200 mg,

Rendimiento = 61,7%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,68-2,36 (m, 24H, Admant-CH, , 2,98-3,04 (m, 1H, CH<sup>+</sup>), 3,17-3,27 (m, 1H, Ha), 3,45-3,53 (m, 1H, Hb), 7,24-7,30 (m, 4H, H-Ar); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 22,9, 28,6, 29,1, 29,5, 35,9, 36,7, 38,6, 40,9, 41,7, 42,4, 44,7, 57,3, 65,0, 126,5, 128,4, 131,6, 148,8, 177,4; EM m/z (intensidad rel.) 401 (MH<sup>+</sup>, 100). Sal de HCl: p.f.: 68-70°C.

Compuesto 58: (2-morfolin-4-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 147 mg, Rendimiento = 73%; p.f.: 110-112°C; EM m/z (intensidad rel.) 403 (MH<sup>+</sup>, 100).

Compuesto 59: (2-piperazin-1-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 144 mg, Rendimiento = 72%, aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,65-1,97 (m, 15H, NH, ciclo-CH<sub>2</sub>, Admant-CH), 2,27 (s, 2H, Admant-CH), 2,36-2,50 (m, 6H, ciclo-CH<sub>2</sub>), 2,87-2,9C (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,30-3,95 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,34 (m, 1H, HN), 7,18-7,29 (m,

4H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  28,8, 35,6, 36,4, 38,4, 41,6, 42,1, 44,5, 46,2, 52,7, 54,1, 56,8, 126,3, 128,2, 148,4, 156,2, 177,3; EM m/z (intensidad rel.) 402,6 ( $\text{MH}^+$ , 100).

Compuesto 60: (piridin-4-ilmetil)-amida de ácido adamantan-1-carboxílico. 200 mg, Rendimiento = 74%; p.f.: 155-157°C; EM m/z (intensidad rel.) 285,63 ( $\text{MH}^+$ , 100), 286,71 (40).

- 5 Compuesto 61: (piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-Fluoro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 105 mg, Rendimiento = 97%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 365 ( $\text{MH}^+$ , 90).

- 10 Compuesto 62: (piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. Rendimiento = 92,6%; p.f.: 128-130°C;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,72-2,25 (m, 12H, Admant-CH), 4,44-4,46 (d, J = 6 Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ -Py), 6,18 (m, 1H, HN), 7,13-7,15 (d, J = 6Hz, 2H, H-Py), 7,15-7,30 (m, 4H, H-Ph), 8,52-8,54 (d, J = 6 Hz, 2H, H-Py);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  28,98, 35,73, 36,71, 38,77, 42,18, 42,37, 44,88, 122,38, 125,30, 126,57, 128,56, 129,26, 148,39, 150,20 177,76; EM m/z (intensidad rel.) 381,50 ( $\text{MH}^+$  100), 383,41 (90), 384,35 (80).

Compuesto 63: (2-piridin-4-il-etil)-amida de ácido adamantan-1-carboxílico. 175 mg, Rendimiento = 61%; p.f.: 151-153°C; EM m/z (intensidad rel.) 285 ( $\text{MH}^+$ , 100).

- 15 Compuesto 64: (2-piridin-4-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 70 mg, Rendimiento = 55,7%; p.f.: 144-147°C; EM m/z (intensidad rel.) 395 ( $\text{MH}^+$ , 100).

- 20 Compuesto 65: (3-imidazol-1-il-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 195 mg, Rendimiento = 95%; p.f.:128-130°C;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,70-2,00 (m, 14H,  $\text{CH}_2$ , Admant-CH), 2,27 (s, 2H, Admant-CH), 3,25-3,32 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3,96-4,00 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5,65 (m, 1H, HN), 6,95 (s, 1H, imidazol-H), 7,07 (s, 1H, imidazol-H), 7,26-7,28 (m, 4H, Ar-H), 7,49 (s, 1H, imidazol-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29,0, 31,5, 35,7, 36,7, 37,0, 38,6, 41,9, 42,2, 44,8, 45,0, 119,1, 126,3, 126,6, 128,5, 129,8, 131,8, 137,3, 148,5, 178,0; EM m/z (intensidad rel.) 398,66 ( $\text{MH}^+$ , 100), 399,62 (45), 400,63 (60), 401,60 (20).

Compuesto 66: (2-metil-1H-indol-5-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. Rendimiento = 56%; p.f.: 145-147°C; EM m/z (intensidad rel.) 419 ( $\text{MH}^+$ , 35).

- 25 Compuesto 67: (1 H-tetrazol-5-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 120 mg, Rendimiento = 67%; p.f.: >240°C; EM m/z (intensidad rel.) 358,2 ( $\text{MH}^+$ , 100), 359,1 (35), 361,1 (60).

Compuesto 68: (9-etil-9H-carbazol-3-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 111 mg, Rendimiento = 46%; p.f.: 165-167°C; EM m/z (intensidad rel.) 482,67 ( $\text{MH}^+$ , 100), 483,67 (65), 484,66 (55).

Compuesto 69: [4-(4-cloro-fenil)-tiazol-2-il]-amida de ácido adamantan-1-carboxílico. 182 mg, Rendimiento = 49%; p.f.: 162-164°C; EM m/z (intensidad rel.) 373 ( $\text{MH}^+$ , 100).

- 30 Compuesto 70: [4-(4-cloro-fenil)-tiazol-2-il]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. Rendimiento = 56%; p.f.: 172-174°C; EM m/z (intensidad rel.) 483 ( $\text{MH}^+$ , 20).

Compuesto 71: benzotiazol-2-ilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. Rendimiento = 48,8%; p.f.: 209-211°C; EM m/z (intensidad rel.) 423 ( $\text{MH}^+$ , 50).

- 35 Compuesto 72: (5-cloro-benzooxazol-2-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. Rendimiento = 45%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 441 ( $\text{MH}^+$ , 18).

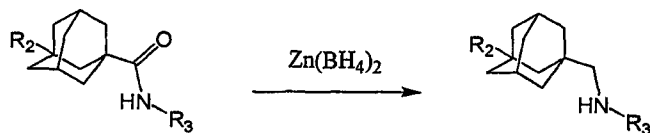
- 40 Compuesto 73: (9H-purin-6-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. 180 mg, Rendimiento = 88,2%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,84-2,21 (m, 13H, NH, Admant-CH), 2,38 (s, 2H, Admant-CH), 7,07 (s, 1H, Ar-H), 7,30 (m, 4H, Ar-H), 7,63 (s, 1H, Ar-H), 8,38 (s, 1H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  28,8, 35,5, 36,7, 37,7, 38,7, 42,1, 44,6, 45,1, 117,7, 123,2, 125,5, 126,5, 126,6, 128,7, 129,9, 130,1, 132,1, 137,4, 147,8, 174,3; EM m/z (intensidad rel.) 408,6 ( $\text{MH}^+$ , 100).

#### Ejemplo 4 .Método para la conversión de adamantilamidas en adamantilaminas

Como ejemplo, se describe un procedimiento para la síntesis de los compuestos de adamantilamina en el esquema 3. Varias adamantilamidas, preparadas tal como se describió anteriormente, se convirtieron en sus adamantilaminas correspondientes mediante la reducción del grupo carbonilo con  $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$  (esquema 3).

- 45 Se preparó borohidruro de zinc ( $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$ ) mediante métodos conocidos en la técnica. Brevemente, se colocaron 20,8 g (165 mmoles) de  $\text{ZnCl}_2$  fusionado recientemente y 12,9 g (330 mmoles) de  $\text{NaBH}_4$  en un matraz de brazo lateral de 250 ml seco equipado con un condensador de reflujo. A esto se le añadieron 250 ml de THF seco usando una aguja de doble punta y se agitó la mezcla durante 24 horas a temperatura ambiente. Se estimó el contenido de hidruro activo de la disolución sobrenadante mediante la extinción de alícuotas con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 N y se estimó la
- 50 cantidad de hidrógeno que se desprendía usando una bureta de gas. La solución sobrenadante final contenía  $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$  0,66 M, y se usó para reacciones adicionales tal como sigue.

El método general para la conversión de adamantilamidas en adamantilaminas correspondientes implicaba combinar 100 mg de una adamantilamida con 2,0 ml de  $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$  (0,36 M, 2,3 mmoles) en THF. Se sometió la mezcla a reflujo durante 24 horas, y se extinguió cualquier exceso de hidruro presente mediante la adición de 1 ml de agua. Normalmente, se saturó entonces la mezcla con  $\text{K}_2\text{CO}_3$  y se filtró la capa de sobrenadante y se secó sobre  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , y se eliminó el disolvente mediante evaporación. Entonces se purificó el residuo mediante cromatografía de vaporización instantánea (acetato de etilo/hexano = 1:4) para dar el compuesto de adamantilamina.



Esquema 3

El siguiente ejemplo proporciona varios representantes de productos de este procedimiento; sin embargo, estos métodos pueden adaptarse para producir muchas adamantilaminas relacionadas estructuralmente que se considera que son materia de esta invención.

#### Ejemplo 5. Síntesis de adamantilaminas.

Se usaron los métodos descritos en el ejemplo 4 para preparar un banco de adamantilaminas sustituidas. Los datos proporcionados a continuación incluyen: la cantidad sintetizada, el rendimiento de la reacción de reducción; el punto de fusión (p.f.) del compuesto; datos de espectros de masa (EM) para el compuesto; y datos de espectros de RMN para el compuesto.

Compuesto 75: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-isopropil-amina. 39 mg, Rendimiento = 41%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 318 ( $\text{MH}^+$ , 20).

Compuesto 76: 4-[[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-amino]-fenol. 75 mg, Rendimiento = 66%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,60-1,86 (m, 12H, Admant-H), 2,22 (s, 2H, Admant-H), 2,58-2,62 (m, 1H, NH), 2,83 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,53-6,56 (d,  $J=9$  Hz, 2H, Ar-H), 6,68-6,71 (d,  $J=9$  Hz, 2H, Ar-H), 7,28 (s, 4H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14,3, 29,0, 34,9, 36,1, 36,7, 39,9, 42,6, 46,3, 57,4, 114,1, 116,1, 126,3, 128,1, 131,2, 143,2, 147,3, 148,9; EM m/z (intensidad rel.) 368,6 ( $\text{MH}^+$ , 100), 369,6 (50), 370,6 (30).

Compuesto 77: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-trifluorometil-bencil)-amina. 23 mg, Rendimiento = 28%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,55-1,83 (m, 1314, Admant-H), 2,18 (s, 2H, Admant-H), 2,32 (s, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 3,84 (s, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 7,27 (s, 4H, Ar-H), 7,43-7,45 (d,  $J=6$  Hz, 2H, Ar-H), 7,56-7,58 (d,  $J=6$  Hz, 2H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29,1, 34,7, 36,3, 36,7, 40,0, 42,7, 46,5, 54,1, 61,7, 125,1, 126,3, 128,0, 131,1, 144,9, 149,1; EM m/z (intensidad rel.) 434,4 ( $\text{MH}^+$ , 60), 435,4 (25), 436,4 (30).

Compuesto 78: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(2-fluoro-4-trifluorometil-bencil)-amina. 21 mg, Rendimiento = 24%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,55-1,83 (m, 12H, Admant-H), 2,20 (s, 2H, Admant-H), 2,32 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3,88 (s, 2H, Ar- $\text{CH}_2$ ), 7,26-7,27 (s, 4H, Ar-H), 7,29-7,31 (m, 2H, Ar-H), 7,49-7,53 (m, 2H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29,0, 34,6, 36,2, 36,7, 39,9, 42,7, 46,5, 47,6, 61,7, 112,4, 112,7, 120,8, 126,3, 128,0, 130,4, 131,8, 149,1; EM m/z (intensidad rel.) 452,7 ( $\text{MH}^+$ , 100), 453,7 (30), 454,7 (40).

Compuesto 79: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-fluoro-3-trifluorometil-bencil)-amina. 24 mg, Rendimiento = 38%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,28-1,82 (m, 12H, Admant-H), 2,19 (s, 2H, Admant-H), 2,51-2,55 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2,88-2,90 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 3,40 (s, 1H, NH), 3,76-3,80 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 4,08-4,13 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 7,14-7,29 (m, 5H, Ar-H), 7,57 (m, 2H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  28,5, 34,3, 35,5, 36,4, 39,8, 41,9, 42,1, 46,3, 61,2, 66,7, 117,4, 117,7, 126,0, 128,2, 129,0, 130,5, 131,6, 135,9, 147,7, 158,1, 161,5; EM m/z (intensidad rel.) 452,4 ( $\text{MH}^+$ , 100), 453,4 (50), 454,4 (60).

Compuesto 80: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-trifluorometoxi-bencil)-amina. 23 mg, Rendimiento = 36%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,28-1,80 (m, 12H, Admant-H), 2,15 (s, 2H, Admant-H), 2,53-2,57 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 2,84-2,90 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 3,38 (m, 1H, NH), 3,68-3,75 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 4,14-4,19 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 7,13-7,16 (d,  $J=9$  Hz, 2H, Ar-H), 7,36-7,39 (d,  $J=9$  Hz, 2H, Ar-H), 7,25-7,27 (m, 4H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  28,5, 29,0, 34,6, 36,3, 39,7, 40,0, 42,7, 46,5, 53,9, 61,7, 66,2, 120,7, 121,2, 126,0, 126,3, 128,1, 129,0, 131,6, 132,9, 147,9; EM m/z (intensidad rel.) 450,6 ( $\text{MH}^+$ , 70), 451,6 (30), 452,6 (40).

Compuesto 81: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-[2-(3-fenoxi-fenil)-etil]-amina. 27 mg, Rendimiento = 42%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,50-1,82 (m, 13H, Admant-CH, NH), 2,16 (s, 2H, Admant-CH), 2,34 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,76-2,84 (m, 4H,  $\text{NCH}_2$ ), 5,63 (s(a), 1H, NH), 6,83-7,01 (m, 5H, Ar-H), 7,07-7,18 (m, 2H, Ar-H), 7,22-7,35 (m, 6H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29,1, 34,6, 36,1, 36,7, 40,0, 42,7, 46,5, 52,1, 62,3, 116,4, 118,8, 119,1, 123,1, 123,6, 126,3, 128,0, 129,5, 142,2, 149,1, 157,1; EM m/z (intensidad rel.) 472,4 ( $\text{MH}^+$ , 100), 473,3 (70), 474,3



(80).

Compuesto 82: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(1-metil-piperidin-4-il)-amina. 12 mg, Rendimiento = 6%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 373,6 ( $MH^+$ , 100), 374,6 (25), 375,6 (36).

5 Compuesto 83: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-metil-piperazin-1-il)-amina. Rendimiento = 12%; aceite;  $^1H$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1,54-1,82 (m, 12H, Admant-H), 2,17 (s, 2H, Admant-H), 2,52 (s, 2H,  $CH_2$ ), 2,63 (s, 3H,  $NCH_3$ ), 2,77-2,80 (m, 4H,  $NCH_2$ ), 2,98-3,15 (m, 4H,  $NCH_2$ ), 7,28 (s, 4H, Ar-H);  $^{13}C$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  28,8, 29,0, 34,3, 36,2, 39,8, 40,0, 42,3, 42,6, 45,9, 46,5, 50,4, 51,5, 54,6, 58,5, 59,6, 60,3, 126,3, 128,0, 131,2, 148,1, 149,4; EM m/z (intensidad rel.) 374,7 ( $MH^+$ , 30), 375,7 (5), 376,7 (8).

10 Compuesto 84: N-terc-Butil-N'-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-propan-1,3-diamina. Rendimiento = 18%; aceite;  $^1H$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1,29-1,32 (m, 6H,  $CH_2$ ), 1,55-1,90 (m, 21H, Admant-CH,  $C(CH_3)_3$ ), 2,21-2,46 (m, 2H, Admant-CH), 2,42-2,87 (m, 2H, NH), 3,29-3,31 (d,  $J=6$  Hz, 2H,  $CH_2$ ), 7,26-7,28 (m, 4H, Ar-H);  $^{13}C$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  26,4, 26,6, 28,6, 28,7, 28,8, 36,2, 38,2, 38,4, 38,6, 39,7, 42,7, 44,6, 126,3, 128,0; EM m/z (intensidad rel.) 389,6 ( $MH^+$ , 100).

15 Compuesto 85: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(3-pirrolidin-1-il-propil)-amina. 15 mg, Rendimiento = 15%; p.f.: 138-140°C;  $^1H$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1,56-1,91 (m, 18H, Admant-CH,  $CH_2$ ), 2,21-2,46 (m, 5H, Admant-CH, NH,  $CH_2$ ), 2,72-2,89 (m, 6H,  $CH_2$ ), 3,52 (m, 2H,  $CH_2$ ), 7,26-7,28 (m, 4H, Ar-H);  $^{13}C$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  22,8, 22,9, 23,3, 28,6, 29,8, 34,6, 35,6, 36,6, 39,6, 39,8, 42,1, 42,2, 46,1, 56,6, 61,2, 61,3, 62,2, 126,2, 128,2, 131,5, 147,9; EM m/z (intensidad rel.) 387,6 ( $MH^+$ , 100), 388,6 (60), 389,6 (65).

20 Compuesto 86: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-[2-(1-metil-pirrolidin-2-il)-etil]-amina. 23 mg, Rendimiento = 24%; aceite;  $^1H$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1,54-1,87 (m, 20H,  $CH_2$ , Admant-H), 2,18 (s, 2H, Admant-H), 2,29-2,41 (m, 4H,  $CH_2$ ), 2,62 (m, 3H,  $NCH_3$ ), 2,87-3,18 (m, 1H, NCH), 3,36 (m, 1H, NH), 7,27 (s, 4H, Ar-H);  $^{13}C$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  29,0, 36,2, 36,7, 40,0, 40,6, 42,7, 46,6, 48,6, 57,2, 64,7, 126,3, 128,0; EM m/z (intensidad rel.) 387,4 ( $MH^+$ , 100), 388,4 (33), 389,4 (40).

25 Compuesto 87: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(2-morfolin-4-il-etil)-amina. 9 mg, Rendimiento = 9%; aceite;  $^1H$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1,57-1,90 (m, 16H, Admant-H), 2,25 (s, 2H, Admant-H), 2,36-2,47 (m, 4H,  $CH_2$ ), 2,73-2,99 (m, 4H,  $NCH_2$ ), 3,57-3,58 (m, 2H,  $NCH_2$ ), 4,32 (m, 1H, NH), 7,27 (s, 4H, Ar-H);  $^{13}C$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  28,6, 29,1, 35,7, 36,2, 39,7, 40,0, 46,6, 47,4, 53,8, 54,5, 55,4, 62,9, 67,1, 126,1, 16,3, 128,0, 128,2; EM m/z (intensidad rel.) 389,7 ( $MH^+$ , 100), 390,7 (33), 391,7 (40).

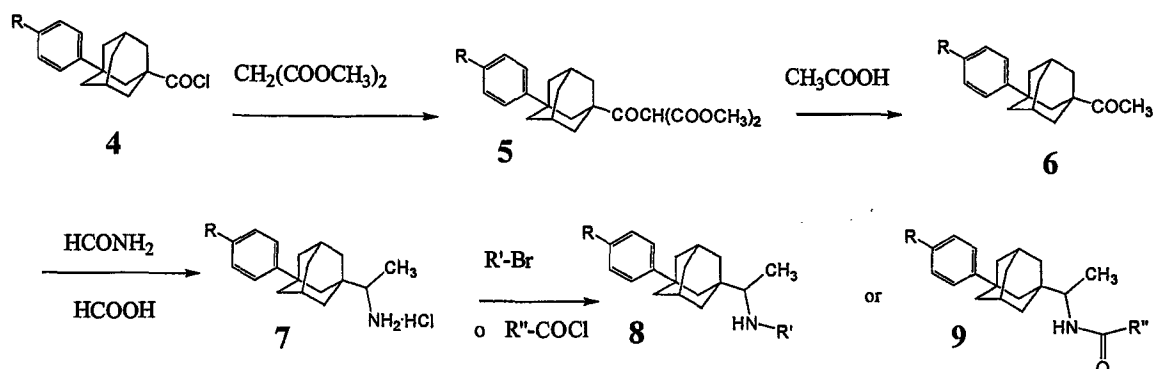
30 Compuesto 88: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-piridin-4-ilmetil-amina. Rendimiento = 72%; aceite;  $^1H$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1,55-1,84 (m, 12H, Admant-H), 2,20 (s, 2H,  $CH_2$ ), 2,29 (s, 2H, Admant-H), 3,90 (s, 2H, Ar- $CH_2$ ), 7,26-7,28 (s, 4H, Ar-H), 7,49-7,51 (d,  $J = 6$  Hz, 2H, Ar-H), 8,59-8,51 (d,  $J=6$  Hz, 2H, Ar-H);  $^{13}C$ -RMN (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  28,9, 34,6, 36,0, 36,5, 39,8, 42,5, 46,3, 52,6, 61,7, 123,9, 126,2, 127,9, 128,0, 131,0, 146,8, 148,9, 154,6; EM m/z (intensidad rel.) 367,7 ( $MH^+$ , 100), 368,7 (35), 369,7 (60).

35 Compuesto 89: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(9-etil-9H-carbazol-3-il)-amina. 77 mg, Rendimiento = 81%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 468 ( $MH^+$ , 20).

Compuesto 90: [3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-[5-(4-cloro-fenil)-tiazol-2-il]-amina. 15,5 mg, Rendimiento = 21%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 469 ( $MH^+$ , 30).

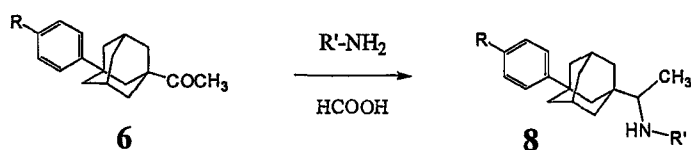
#### Ejemplo 6. Métodos para la síntesis de compuestos de adamantiletilamina y adamantiletilamida.

40 Como ejemplo, se describe un procedimiento para la síntesis de los compuestos de adamantiletilamina y adamantiletilamida en el esquema 4. Se prepararon cloruros de 1-adamantancarbonilo sustituidos (4) tal como se describió en el ejemplo 1. La reacción de 4 con malonato de dimetilo en tolueno en presencia de hidróxido de sodio produjo (3-R-sustituido-fenil-1-adamantancarbonil)malonatos de dimetilo (5), los cuales se hidrolizaron mediante una mezcla de ácido acético con agua y ácido sulfúrico (razón  $CH_3COOH-H_2O-H_2SO_4$  10:3:1) para producir la 3-R-sustituido-fenil-1-adamantil metil cetona correspondiente (6). Se hizo reaccionar la cetona 6 con formamida y ácido fórmico (reacción Leukart) para producir 7, el cual puede modificarse mediante o bien alquilación o bien acilación para producir compuestos de adamantiletilamina (8) o compuestos de adamantiletilamida (9).



Esquema 4

Se describe un segundo método para la síntesis de los compuestos de adamantiletilamina en el esquema 5. Se preparó 3-R-sustituido-fenil-1-adamantil metil cetona (6) tal como se describió anteriormente. Mediante la reacción de 6 con una amina primaria sustituida en ácido fórmico, es decir, una reacción de Wallach, puede obtenerse el compuesto de adamantiletilamina correspondiente (8). Por ejemplo, mediante la reacción de 4-cloro-6 con 4-amino-1-metilpiperidina, que se sintetizó mediante conversión de N-metilpiperidona en la oxima correspondiente seguido por reducción para dar el compuesto amino usando hidruro de litio y aluminio ( $\text{LiAlH}_4$ ), se obtuvo {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(1-metil-piperidin-4-il)-amina, también denominado compuesto 107.



Esquema 5

El siguiente ejemplo proporciona varios representantes de los productos de estos procedimientos; sin embargo, estos métodos pueden adaptarse para producir muchos compuestos de adamantiletilamina o adamantiletilamida relacionados estructuralmente que se considera que son materia de esta invención.

#### Ejemplo 7. Síntesis de compuestos de adamantiletilamina

Se usaron los métodos descritos en el ejemplo 6 para preparar una biblioteca de compuestos de adamantiletilamina sustituidos. Los datos proporcionados a continuación incluyen: la cantidad sintetizada, el rendimiento de la reacción, el punto de fusión (p.f.) del compuesto, datos de espectros de masas (EM) para el compuesto, y datos de espectros de RMN para el compuesto.

Compuesto 91: 1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etilamina. Rendimiento = 77%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,95-0,98 (m, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,30-2,22 (m, 16H, Admant-CH,  $\text{NH}_2$ ), 4,24-4,30 (m, 1H, CH), 7,26-7,29 (m, 4H, H-Ar); EM m/z (intensidad rel.) 290,4 ( $\text{MH}^+$ , 40).

Compuesto 92: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-isopropil-amina. Rendimiento = 27%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,91-0,94 (d,  $J=6$  Hz, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 1,15-1,68 (m, 12H, Admant-CH), 1,81 (m, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,19 (s, 2H, Admant-CH), 3,74-3,76 (m, 1H, HN), 4,24-4,30 (m, 1H, CH), 7,26-7,29 (m, 4H, H-Ar).

Compuesto 93: fenil-[1-(3-fenil-adamantan-1-il)-etil]-amina.

Compuesto 94: {1-[3-(4-Fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-fenil-amina.

Compuesto 95: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-fenil-amina. Rendimiento = 19%; aceite.

Compuesto 96: (1-adamantan-1-il-etil)-bencil-amina. Rendimiento = 64%; p.f.: 62-64°C;  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,12-1,16 (d,  $J=8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,56-2,01 (m, 17H, Admant-CH,  $\text{CH}_2$ ), 3,03 (m, 1H, HN), 4,24-4,40 (m, 1H, CH), 7,26-7,30 (m, 4H, Ar-H), 8,32 (s, 1H, Ar-H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11,6, 29,1, 32,5, 35,8, 36,7, 38,6, 41,9, 42,2, 44,8, 46,0, 46,4, 54,7, 126,6, 128,5, 131,8, 148,6; EM m/z (intensidad rel.) 270,5 ( $\text{MH}^+$ , 10).

Compuesto 97: Bencil-[1-(3-fenil-adamantan-1-il)-etil]-amina. Rendimiento = 41%; aceite.

Compuesto 98: Bencil-{1-[3-(4-fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina. Rendimiento = 42%; aceite;  $^1\text{H}$ -RMN (300

MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0,92-0,95 (d, J=6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,49-2,10 (m, 21H, Admant-CH, CH<sub>2</sub>), 2,19-2,29 (m, 6H, NCH), 2,79-2,94 (m, 1H, HN), 6,94-7,04 (m, 2H, Ar-H), 7,28-7,35 (m, 2H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,98, 35,73, 36,71, 38,77, 42,18, 42,37, 44,88, 122,38, 125,30, 126,57, 128,56, 129,26, 148,39, 150,2; EM m/z (intensidad rel.) 364,5 (MH<sup>+</sup>, 75), 365,5 (20).

5 Compuesto 99. Bencil-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina. Rendimiento = 25%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,13-1,17 (d, J=8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,59-2,05 (m, 15H, Admant-CH, CH<sub>2</sub>), 2,23 (s, 2H, Admant-H), 3,03 (m, 1H, HN), 4,04-4,10 (m, 1H, CH), 7,20-7,31 (m, 8H, Ar-H), 8,33-8,35 (s, 1H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 11,6, 29,1, 32,5, 35,8, 36,7, 38,6, 41,9, 42,2, 44,8, 46,0, 46,4, 54,7, 126,6, 128,5, 131,8, 148,6; EM m/z (intensidad rel.) 380,4 (MH<sup>+</sup>, 80).

10 Compuesto 100: (4-terc-butil-bencil)-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina. Rendimiento = 2%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 436,3 (MH<sup>+</sup>, 30).

Compuesto 101: [1-(4-bromo-fenil)-etil]-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina. Rendimiento = 3%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 472,2 (MH<sup>+</sup>, 98), 474,2 (MH<sup>+</sup>, 100).

15 Compuesto 102: (1-adamantan-1-il-etil)-[2-(4-bromo-fenil)-etil]-amina. Rendimiento = 0,4%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 362,2 (M-H<sup>+</sup>, 98), 364,2 (M-H<sup>+</sup>, 100).

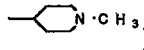
Compuesto 103: [2-(4-bromo-fenil)-etil]-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina. Rendimiento = 11 %; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 472,1 (MH<sup>+</sup>, 50), 474,1 (MH<sup>+</sup>, 60).

20 Compuesto 104: (1-adamantan-1-il-etil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amina. Rendimiento = 16%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0,91-0,94 (d, J=9 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,43-2,00 (m, 23H, Admant-CH, CH<sub>2</sub>), 2,25 (m, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2,47-2,50 (m, 1H, NH), 2,76-2,80 (m, 2H, HC-N); EM m/z (intensidad rel.) 275,2 (M-H<sup>+</sup>, 45).

25 Compuesto 105: (1-metil-piperidin-4-il)-[1-(3-fenil-adamantan-1-il)-etil]-amina. Rendimiento = 29%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0,92-0,95 (d, J=6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,49-2,10 (m, 21H, Admant-CH, CH<sub>2</sub>), 2,19-2,29 (m, 6H, NCH), 2,79-2,94 (m, 1H, HN), 6,94-7,04 (m, 2H, Ar-H), 7,28-7,35 (m, 5H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,98, 35,73, 36,71, 38,77, 42,18, 42,37, 44,88, 122,38, 125,30, 126,57, 128,56, 129,26, 148,39, 150,2; EM m/z (intensidad rel.) 353,6 (MH<sup>+</sup>, 85), 354,6 (25).

30 Compuesto 106: {1-[3-(4-fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(1-metil-piperidin-4-il)-amina. Rendimiento = 11%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0,92-0,95 (d, J=6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,49-2,10 (m, 21H, Admant-CH, CH<sub>2</sub>), 2,19-2,29 (m, 6H, NCH), 2,79-2,94 (m, 1H, HN), 6,94-7,04 (m, 2H, Ar-H), 7,28-7,35 (m, 2H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 28,98, 35,73, 36,71, 38,77, 42,18, 42,37, 44,88, 122,38, 125,30, 126,57, 128,56, 129,26, 148,39, 150,2; EM m/z (intensidad rel.) 371,5 (M-I<sup>+</sup>, 85), 372,5 (50), 373,5 (8).

Compuesto 107: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(1-metil-piperidin-4-il)-amina. Rendimiento = 28%; aceite;

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0,95-0,98 (d, J=6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,30-2,75 (m, 29H, Admant-CH, , 3,74-3,76 (m, 1H, HN), 4,24-4,30 (m, 1H, CH), 7,26-7,29 (m, 4H, H-Ar); EM m/z (intensidad rel.) 387,3 (MH<sup>+</sup>, 65).

35 Compuesto 108: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(4-metil-piperazin-1-il)-amina. Rendimiento = 23%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 389,2 (MH<sup>+</sup>, 100).

Compuesto 109: [1-(3-Fenil-adamantan-1-il)-etil]-piridin-4-ilmetil-amina. Rendimiento = 16%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 347,2 (MH<sup>+</sup>, 30).

Compuesto 110: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(6-cloro-piridin-3-ilmetil)-amina. Rendimiento = 18%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 415,2 (MH<sup>+</sup>, 20).

40 Compuesto 111: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(2-piridin-4-il-etil)-amina. Aceite.

Compuesto 112: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(3H-imidazol-4-ilmetil)-amina. Aceite.

Compuesto 113: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(2-metil-1H-indol-5-il)-amina. Rendimiento = 5%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 417,2 (M<sup>+</sup>-H, 15).

45 Compuesto 114: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(9-etil-9H-carbazol-3-il)-amina. Rendimiento = 60%; p.f.: 70-72°C; EM m/z (intensidad rel.) 482 (M<sup>+</sup>, 50), 483 (MH<sup>+</sup>, 25), 484 (20).

Compuesto 115: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(9-etil-9H-carbazol-3-ilmetil)-amina. Rendimiento = 13%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 496,2 (M-H<sup>+</sup>, 30).

Compuesto 116: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amida de ácido 9-etil-9H-carbazol-3-carboxílico. Rendimiento = 28.

Compuesto 117: 1-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-3-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-urea. Rendimiento = 6%; p.f.: 103-105°C; EM m/z (intensidad rel.) 511,2 (MH<sup>+</sup>, 5).

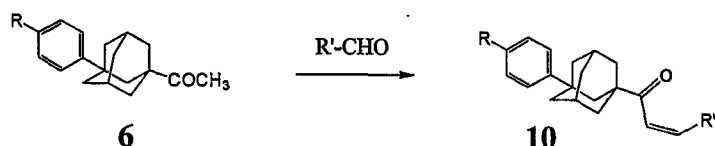
Compuesto 118: 1-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-3-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-urea. p.f.: 103-105°C; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1,05-1,07 (d, J=6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,50-1,80 (m, 12H, Admant-CH), 2,18 (s, 2H, Admant-CH), 3,62-3,68 (m, 1H, CH), 4,83-4,86 (m, 1H, HN), 6,91-6,94 (m, 1H, NH-Ar), 7,20-7,28 (m, 4H, Ar-H), 7,32-7,35 (d, J=9 Hz, 1H, Ar-H), 7,48-7,51 (d, J=9 Hz, 1H, Ar-H), 7,60 (s, 1H, Ar-H); <sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 15,2, 28,8, 36,0, 36,5, 37,6, 37,8, 42,4, 54,0, 56,1, 117,8, 122,8, 126,2, 128,1, 131,8, 132,7, 154,6; EM m/z (intensidad rel.) 511 (MH<sup>+</sup>, 5).

Compuesto 119: (4-bromo-tiofen-2-ilmetil)-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina. Rendimiento = 8%; aceite; EM m/z (intensidad rel.) 464,1 (MH<sup>+</sup>, 50).

Compuesto 120: {1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(4-fenil-tiofen-2-ilmetil)-amina. Rendimiento = 8%; aceite; m/z (intensidad rel.) 463,0 (MH<sup>+</sup>, 100).

#### Ejemplo 8. Método para la síntesis de adamantilpropenonas

Como ejemplo, se describe un procedimiento para la síntesis de compuestos de adamantilpropenona en el esquema 5. Se preparó 3-R-sustituido-fenil-1-adamantil metil cetona (6) tal como se describió anteriormente. Mediante la reacción de 6 con un aldehído sustituido, puede obtenerse el compuesto de adamantilpropenona correspondiente (10). Por ejemplo, mediante la reacción de 4-cloro-6 con 4-hidroxibencilaldehído, se obtuvo 1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(4-hidroxi-fenil)-propenona, también denominado compuesto 132.



Esquema 5

#### Ejemplo 9. Síntesis de adamantilpropenonas

Se usaron los métodos descritos en el ejemplo 6 para preparar una biblioteca de compuestos de adamantilpropenonas sustituidas. Los datos proporcionados a continuación incluyen: el rendimiento de la reacción, el punto de fusión (p.f.) del compuesto, datos de espectros de masas (EM) para el compuesto.

Compuesto 121: ácido 3-fenil-adamantan-1-carboxílico.

Compuesto 122: ácido 3-(4-fluoro-fenil)-adamantan-1-carboxílico.

Compuesto 123: ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico. Rendimiento = 79%;

Compuesto 124: 1-adamantan-1-il-etanona. p.f.: 44-46°C.

Compuesto 125: 1-(3-fenil-adamantan-1-il)-etanona. Rendimiento = 54%; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,73-2,10 (m, 12H, Admant-CH), 2,14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,27 (s, 2H, Admant-CH), 7,25-7,26 (m, 1H, Ar-H), 7,30-7,36 (m, 4H, H-Ar).

Compuesto 126: 1-[3-(4-Fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etanona. Rendimiento = 59%; 59%; aceite; <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,73-1,90 (m, 12H, Admant-CH), 2,10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,27 (s, 2H, Admant-CH), 6,96-7,04 (m, 2H, Ar-H), 7,28-7,35 (m, 2H, H-Ar).

Compuesto 127: 1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etanona. Rendimiento = 54% (2 etapas); p.f.: 54-56°C.

Compuesto 128: éster dimetilico de ácido 2-(adamantan-1-carbonil)-malónico. Rendimiento = 80%; aceite.

Compuesto 129: éster dimetilico de ácido 2-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carbonil]-malónico. Rendimiento = 91%; aceite.

Compuesto 130: 3-(4-cloro-fenil)-1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-propenona. Rendimiento = 18%.

Compuesto 131: 4-[3-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-oxo-propenil]-benzonitrilo.

Compuesto 132: 1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(4-hidroxi-fenil)-propenona. Rendimiento = 16%; p.f.: 87-89°C; EM m/z (intensidad rel.) 393,2 (MH<sup>+</sup>, 100).

Compuesto 133: 1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-naftalen-2-il-propenona. Rendimiento = 20%; p.f.: 82-84°C.

Compuesto 134: 1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(6-cloro-piridin-3-il)-propenona. Rendimiento = 4%.

Compuesto 135: 1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(1H-imidazol-4-il)-propenona. Rendimiento = 3%; aceite.

5 Compuesto 136: 1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(9-etil-9H-carbazol-3-il)-propenona. Rendimiento = 3%; p.f.: 138-140°C.

Compuesto 137: 1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-3-(4-fenil-tiofen-2-il)-propenona. Rendimiento = 13%.

#### Ejemplo 10. Ensayos para determinar la inhibición de la actividad de SK humana

10 Se ha establecido un ensayo para identificar inhibidores de SK humana recombinante (French *et al.*, 2003, *Cancer Res* 63: 5962). Se subclonó ADNc para SK humana en un vector de expresión bacteriana pGEX, que da como resultado expresión de la enzima como una proteína de fusión con glutatión-S-transferasa, y entonces se purifica la proteína de fusión en una columna de glutatión inmovilizado. Se mide la actividad de SK mediante incubación de la SK recombinante con [<sup>3</sup>H]esfingosina y ATP 1 mM en condiciones definidas, seguido por extracción de la mezcla de ensayo con cloroformo:metanol en condiciones básicas. Esto da como resultado el reparto de la [<sup>3</sup>H]esfingosina sin reaccionar en la fase orgánica, mientras que la [<sup>3</sup>H]S1P recién sintetizada se reparte en la fase acuosa. Entonces se  
15 cuantifica la radiactividad en alícuotas de la fase acuosa como una medida de la formación de [<sup>3</sup>H]S1P. Existe un nivel de reaproto de fondo bajo de [<sup>3</sup>H]esfingosina en la fase acuosa y la adición de SK recombinante aumenta en gran medida la formación de [<sup>3</sup>H]S1P. Un control positivo, DMS, inhibe completamente la actividad de SK a concentraciones superiores a 25 µM.

20 En un procedimiento de ensayo alternativo, se incubó la SK humana recombinante con esfingosina no marcada y ATP tal como se describió anteriormente. Después de 30 minutos, se terminaron las reacciones mediante la adición de acetonitrilo para extraer directamente la S1P recién sintetizada. Entonces se cuantifica la cantidad de S1P en las muestras tal como sigue. Se usan D-eritro-esfingosina con base C<sub>17</sub> y S1P C<sub>17</sub> como patrones internos para esfingosina y S1P, respectivamente. Estos esfingolípidos unidos a ácido graso de diecisiete carbonos no se producen de manera natural, haciendo estos análogos patrones excelentes. Entonces se fraccionan los lípidos mediante cromatografía líquida de alto rendimiento usando una columna de fase inversa C8 eluída con formiato de amonio metanólico 1 mM/formiato de amonio acuoso 2 mM. Se usa una CL-EM/EM Finnigan LCQ Classic en la reacción múltiple monitorizando el modo de ionización positivo para adquirir iones a *m/z* de 300 (ión precursor) → 282 (ión de producto) para esfingosina y 380 → 264 para S1P. Se generan curvas de calibración representando las razones de área de pico de los patrones sintéticos para cada esfingolípidos, y se usan para determinar las cantidades normalizadas de esfingosina y S1P en las muestras.  
30

#### Ejemplo 11. Inhibición de SK humana por los compuestos de esta invención

35 Se sometió a prueba cada compuesto de esta invención para determinar su capacidad de inhibición de SK recombinante usando el ensayo CL/EM/EM descrito anteriormente. Normalmente, se disolvieron los compuestos individualmente en dimetilsulfóxido y se sometieron a prueba a una concentración final de 6 µg/ml. Los resultados para los ensayos se muestran en la tabla 3. Los datos demuestran que los compuestos de fórmula I demostraron una gama de capacidades para inhibir la actividad *in vitro* de SK recombinante. Varios compuestos provocaron supresión completa de la actividad de SK a la concentración de 6 microgramos/ml (que corresponden a aproximadamente 15 micromolar). Tal como se detalla en los ejemplos a continuación, pueden lograrse concentraciones considerablemente más altas de los compuestos en la sangre de ratones que reciben los compuestos mediante administración oral, indicando que los compuestos son suficientemente potentes para ser terapéuticamente útiles.  
40

Aunque muchos compuestos inhibieron la enzima SK purificada, fue útil determinar sus capacidades para inhibir SK endógena en una célula intacta. Se ha descrito previamente un ensayo de célula intacta en la que, después del tratamiento con un compuesto de prueba, se incuban células de carcinoma de mama humanas MDA-MB-231 con [<sup>3</sup>H]esfingosina a una concentración final de 1 µM (French *et al.*, *Cancer Res* 63: 5962 (2003)). Las células captan la [<sup>3</sup>H]esfingosina exógena y la convierten en [<sup>3</sup>H]S1P a través de la acción de SK endógena. La [<sup>3</sup>H]S1P resultante se aísla mediante separación basándose en carga tal como se indicó anteriormente. Los resultados de este ensayo se indican en la Tabla 3. Los datos demuestran que muchos de los compuestos que inhiben SK purificada también inhiben la actividad de SK en la célula intacta. Para estudios de potencia, se expusieron células MDA-MB-231 a concentraciones variables de un compuesto de prueba y entonces se sometieron a ensayo para determinar la conversión de [<sup>3</sup>H]esfingosina en [<sup>3</sup>H]S1P. Cada uno de los compuestos disminuyó la formación de [<sup>3</sup>H]S1P en un modo dependiente de dosis, con valores de CI<sub>50</sub> que oscilan entre 15 y 64 µM. Estos resultados demuestran que los compuestos de fórmula I o II inhiben eficazmente la actividad de SK en células intactas.  
50

55 Tabla 3. Inhibición de la actividad de SK. Se incubó SK humana con 6 µg/ml de los compuestos indicados, y después se sometieron a ensayo para determinar la actividad tal como se describió anteriormente. Los valores en la columna marcada "SK recombinante (% de inhibición)" representan el porcentaje de actividad de SK que se inhibió.

- 5 Se incubaron células MDA-MB-231 con 20 µg/ml de los compuestos indicados y después se sometieron a ensayo para determinar la actividad de SK endógena tal como se indicó anteriormente. Los valores en la columna marcada "S1P celular (% de inhibición)" representan el porcentaje de producción de S1P que se inhibió. Además, se trataron células 1 MDA-MB-23 con concentración variable de ciertos compuestos y se determinó la cantidad de S1P producida por las células. Los valores en la columna marcada "S1P celular  $CI_{50}$  (µM)" representan la concentración del compuesto requerida para inhibir la producción de S1P en un 50%. ND = no determinado.

Compuesto	SK recombinante (% de inhibición)	S1P Celular (% de inhibición)	S1P Celular $CI_{50}$ (µM)
1	38	0	ND
2	0	ND	ND
3	6	ND	ND
4	44	14	ND
5	100	17	ND
6	72	90	15
7	100	96	ND
8	49	0	ND
9	84	40	ND
10	3	9	ND
11	17	0	ND
12	36	3	ND
13	78	0	ND
14	19	ND	ND
16	8	ND	ND

17	56	ND	ND
18	0	ND	ND
20	0	ND	ND
21	65	ND	ND
22	56	ND	ND
23	0	ND	ND
24	20	ND	ND
25	47	ND	ND
26	36	ND	ND
27	50	ND	ND
28	6	ND	ND
29	55	0	ND
30	1	ND	ND
31	74	ND	ND
32	17	ND	ND
33	10	ND	ND
34	0	ND	ND
35	87	0	ND
36	37	72	ND
37	24	36	ND
38	40	34	ND
39	19	26	ND
40	100	52	ND
41	67	23	ND
42	5	ND	ND
43	0	0	ND
44	33	88	35
45	64	ND	ND
46	4	ND	ND
47	26	ND	ND
48	36	14	ND
49	33	ND	ND
50	0	44	ND
51	84	88	25
52	54	61	ND

53	52	ND	ND
54	95	ND	ND
55	8	ND	ND
56	33	40	ND
57	30	83	60
58	67	55	ND
59	0	ND	ND
60	0	23	ND
61	58	24	ND
62	13	92	26
63	0	39	ND
64	41	80	63
65	3	ND	ND
66	92	8	ND
67	10	ND	ND
68	17	0	ND
69	40	13	ND
70	33	4	ND
71	27	0	ND
72	14	1	ND
73	53	ND	ND
74	0	28	ND
75	ND	41	ND
76	42	ND	ND
77	27	ND	ND
78	43	ND	ND
79	19	ND	ND
80	5	ND	ND
81	67	ND	ND
82	75	ND	ND
83	60	88	16
84	84	ND	ND
85	0	ND	ND
86	6	ND	ND
87	75	55	64



88	1	ND	ND
89	37	1	ND
90	26	16	ND
93	70	ND	ND
104	0	ND	ND
114	33	46	51
118	77	5	ND
130	38	ND	ND
131	41	ND	ND
132	8	ND	ND
133	36	ND	ND
134	52	ND	ND
135	64	ND	ND

#### Ejemplo 12. Selectividad de los inhibidores de SK de esta invención

Un problema común con los intentos por desarrollar inhibidores de proteína cinasa es la falta de selectividad hacia la cinasa objetivo puesto que la mayoría de estos compuestos interaccionan con dominios de unión de nucleótidos que están altamente conservados entre cinasas. Para determinar si los compuestos de esta invención son inhibidores de cinasa no selectivos, se determinaron los efectos del inhibidor SK, compuesto 62, en un panel diverso de 20 cinasas purificadas. Se sometió a prueba el compuesto a una concentración individual de 50  $\mu$ M. Las cinasas y los efectos del inhibidor de SK se muestran en la tabla 4.

Los datos indican especificidad alta del compuesto 62 para SK ya que este compuesto no inhibió significativamente ninguna de las 20 cinasas diversas sometidas a prueba. El panel incluyó tanto serina/treonina cinasas como tirosina cinasas, así como varias que se regulan por su interacción con lípidos. En general, los datos indican que los efectos biológicos de los compuestos de esta invención no están mediados por inhibición fuera de la diana de proteínas cinasas.

Tabla 4. Selectividad del compuesto 62. Los valores representan el porcentaje de actividad de control de la cinasa indicada en presencia de 50  $\mu$ M del compuesto 62.

Cinasa	Compuesto 62	Cinasa	Compuesto 62
Ca <sup>2+</sup> /calmodulina PK IV	81 $\pm$ 3	MEK cinasa 1	104 $\pm$ 3
Abl	98 $\pm$ 0	CHK1	142 $\pm$ 13

Aurora-A	103 $\pm$ 1	EFGR	101 $\pm$ 3
Proteína cinasa C $\alpha$	86 $\pm$ 5	Fyn	84 $\pm$ 5
Proteína cinasa C $\epsilon$	101 $\pm$ 1	cSrc	115 $\pm$ 3
CDK1/ciclinaB	105 $\pm$ 1	IKK $\alpha$	150 $\pm$ 16
CDK2/ciclinaE	106 $\pm$ 6	PKA	104 $\pm$ 5
P38 MAP cinasa 1	94 $\pm$ 2	PKB $\alpha$	95 $\pm$ 2
P38 MAP cinasa 2	109 $\pm$ 5	PKBy	105 $\pm$ 8
PDK1	116 $\pm$ 3	cRaf	96 $\pm$ 5

#### Ejemplo 13. Perfiles de citotoxicidad de inhibidores de SK de esta invención

Para evaluar adicionalmente la efectividad biológica de los compuestos en células intactas, se evaluó cada compuesto para determinar la citotoxicidad usando líneas de células cancerígenas humanas. Estos experimentos siguieron métodos que se han usado extensamente. Las líneas de células evaluadas incluyeron células de adenocarcinoma de mama humanas MCF y células epiteliales de mama humanas no transformadas MCF-10A. Se trataron las líneas de células indicadas con dosis variables del compuesto de prueba durante 48 horas. Entonces se determinó la supervivencia celular usando el ensayo de unión SRB (Skehan *et al.*, 1990, *JNatl Cancer Inst* 82: 1107), y se calculó la concentración de compuesto que inhibió proliferación en un 50% (la  $CI_{50}$ ). Las citotoxicidades de los compuestos de esta invención se resumen en la tabla 5. Los valores (en  $\mu M$ ) representan la media  $\pm$  D.E. para ensayos por duplicado. Como muestran los datos, los compuestos de esta invención son antiproliferativos de submicromolar a micromolar baja.

En muchos casos, las células MCF-7 transformadas eran significativamente más sensibles que las células MCF-10A no transformadas. Esto indica que los compuestos inhibirán el crecimiento de células tumorales sin inducir toxicidad en células normales dentro del paciente. En general, los datos demuestran que estos compuestos pueden entrar en células intactas e impedir su proliferación, los que los hace útiles para las indicaciones descritas anteriormente.

Tabla 5. Actividad anticancerígena de los compuestos de esta invención. Se determinó la citotoxicidad de los compuestos indicados hacia células de cáncer de mama humanas (MCF-7) y células epiteliales de mama humanas no transformadas (MCF-10A). Los valores representan la  $CI_{50}$  media para la inhibición de proliferación celular. ND = no determinado.

Compuesto	MCF-7 $CI_{50}$ ( $\mu M$ )	MCF-10A $CI_{50}$ ( $\mu M$ )	Compuesto	MCF-7 $CI_{50}$ ( $\mu M$ )	MCF-10A $CI_{50}$ ( $\mu M$ )
1	23	151	71	21	118
2	20	ND	72	2	6

3	18	ND		73	80	ND
4	72	137		74	3	70
5	ND	30		75	11	ND
6	5	15		76	5	ND
7	3	ND		77	ND	ND
8	47	94		78	30	ND
9	9	17		79	ND	ND
10	ND	170		80	ND	ND
11	87	87		81	ND	ND
12	11	99		82	ND	ND
13	51	115		83	5	ND
14	36	ND		84	ND	ND
15	> 112	ND		85	ND	ND
16	17	ND		86	5	ND
17	17	ND		87	38	33
18	19	ND		88	11	ND
19	> 108	ND		89	74	41
20	33	ND		90	96	107
21	27	ND		91	5	4
22	18	ND		92	2	6
23	23	ND		93	15	ND
24	17	ND		94	0.6	ND
25	87	ND		95	22	68
26	19	ND		96	9	9
27	8	ND		97	0.5	ND
28	64	ND		98	3	ND
29	7	106		99	0.7	ND
30	14	ND		100	0.3	ND
31	74	ND		101	10	ND
32	24	ND		102	2	ND
33	30	ND		103	ND	ND
34	> 106	ND		104	34	ND
35	19	ND		105	5	14
36	13	9		106	2	6
37	5	127		107	1	1

38	9	40		108	5	ND
39	15	106		109	26	ND
40	6	37		110	6	ND
41	6	71		111	13	ND
42	> 100	ND		112	5	ND
43	27	ND		113	14	ND
44	6	9		114	55	9
45	17	ND		115	1	ND
46	91	ND		116	6	ND
47	16	ND		117	3	ND
48	ND	ND		118	ND	ND
49	68	ND		119	11	ND
50	181	ND		120	108	ND
51	8	25		121	13	176
52	10	15		122	155	182
53	11	ND		123	48	95
54	11	ND		124	11	105
55	ND	ND		125	8	59
56	10	ND		126	2	6
57	6	8		127	6	16
58	20	36		128	34	63
59	ND	ND		129	16	105
60	7	ND		130	7	ND
61	ND	ND		131	27	ND
62	17	21		132	17	ND
63	11	ND		133	13	ND
64	8	20		134	16	ND
65	ND	ND		135	3	ND
66	19	53		136	8	ND
67	ND	ND		137	9	ND
68	54	104				
69	30	106				
70	7	103				

**Ejemplo 14. Estudio de la actividad anticancerígena de los inhibidores de SK de esta invención**

Los datos proporcionados anteriormente demuestran las capacidades de los compuestos de esta invención para inhibir la proliferación de células de carcinoma de mama humanas. Para examinar la gama de actividad anticancerígena de compuestos representativos, se determinaron las potencias químicas terapéuticas de los compuestos 62 y 57 hacia un panel de líneas de células tumorales humanas variadas que representan varios tipos de tumor principal. Los datos se describen en la tabla 6, y demuestran que los compuestos de esta invención tienen

actividad anticancerígena contra una amplia variedad de cánceres.

Tabla 6. Potencias de inhibidores de SK hacia líneas de células tumorales humanas. Se trataron células sembradas en placa de manera dispersa con un inhibidor de SK durante 48 horas, y se determinó la viabilidad celular usando tinción con sulforodamina B y se comparó con células tratadas con vehículo (DMSO). Los valores son la media  $\pm$  D.E. de al menos tres experimentos separados.

Línea de células	Tejido	CI <sub>50</sub> (mM)	
		Compuesto 62	Compuesto 57
1025LU	Melanoma	33,7 $\pm$ 2,7	7,2 $\pm$ 0,8
A-498	Riñón	12,2 $\pm$ 6,0	8,0 $\pm$ 3,5
Caco-2	Colon	11,8 $\pm$ 5,6	3,2 $\pm$ 2,0
DU145	Próstata	21,9 $\pm$ 1,5	8,7 $\pm$ 3,3
Hep-G2	Hígado	6,0 $\pm$ 2,6	5,0 $\pm$ 1,8
HT-29	Colon	48,1 $\pm$ 7,6	9,6 $\pm$ 4,0
MCF-7	Mama, ER+	18,4 $\pm$ 7,4	12,1 $\pm$ 3,1
MDA-MB-231	Mama, ER-	29,1 $\pm$ 11,1	12,5 $\pm$ 2,5
Panc-1	Páncreas	32,8 $\pm$ 0,1	14,1 $\pm$ 6,3
SK-OV-3	Ovario	10,5 $\pm$ 2,6	9,2 $\pm$ 2,8
T24	Vejiga	39,4 $\pm$ 7,4	12,7 $\pm$ 2,8

#### Ejemplo 15. Toxicidad *in vivo* de los inhibidores de SK de esta invención

Por ejemplo, se encontró que los compuestos 62 y 57 eran solubles hasta al menos 15 mg/ml (~30-40 mM) en DMSO:PBS para la administración intraperitoneal (IP) o en PEG400 para dosificación oral. Estudios de toxicidad aguda usando dosificación IP no demostró toxicidad inmediata o retrasada en ratones Swiss-Webster hembra tratados hasta con al menos 50 mg/kg de compuestos 62 y 57. Inyecciones repetidas en los mismos ratones cada dos días durante 15 días mostraron una falta de toxicidad similar. Cada uno de los compuestos también podría administrarse por vía oral a ratones a dosis de hasta al menos 100 mg/kg sin toxicidad notoria.

#### Ejemplo 16. Farmacocinética de los inhibidores de SK de esta invención

Se realizaron estudios farmacocinéticos orales sobre los compuestos 62 y 57. Se disolvió cada compuesto en PEG400 y se administró a ratones Swiss-Webster hembra a una dosis de 100 mg/kg mediante sonda oral. Se anestesió a los ratones y se extrajo sangre por medio de punción cardíaca a los 5 minutos, 30 minutos, 1, 2 y 8 horas. Se determinaron las concentraciones de los compuestos de prueba usando extracción líquido/líquido, patrones internos apropiados y HPLC de fase inversa con detección UV. Se ejecutaron muestras de sangre control para identificar los picos específicos del compuesto. Se calcularon parámetros farmacocinéticos usando el paquete de software de análisis WINNONLIN (Pharsight). Se sometieron a prueba modelos no compartimentales y compartimentales, derivándose los resultados mostrados en la tabla 7 de las ecuaciones de mejor ajuste.

Tabla 7. Datos de farmacocinética oral para inhibidores de SKI

Compuesto	Dosis (mg/kg)	AUC <sub>0-∞</sub>		T <sub>máx</sub> (h)	C <sub>máx</sub> (μM)	T <sub>1/2</sub> (h)
		(μg·h/ml)	(μM·h)			
62	100	172	452	0,5	55,8	7,3
57	100	45	111	2,0	3,8	19,3

Estos estudios demuestran que pueden detectarse cantidades sustanciales de cada compuesto en la sangre 1 hora después de la dosificación oral. Ambos compuestos tienen excelentes propiedades de PK, con un área bajo la curva (AUC) y valores C<sub>máx</sub> (concentración máxima alcanzada en la sangre) que superan la CI<sub>50</sub> para actividad catalítica de SK recombinante, así como para la formación de S1P en el modelo de células intactas durante al menos 8 horas. La semivida alta sugiere actividad prolongada, lo cual reducirá la necesidad de regímenes de dosificación frecuentes. Estas propiedades de PK demuestran que los compuestos de esta invención tienen excelentes propiedades de fármaco, específicamente alta disponibilidad oral con baja toxicidad.

Se realizaron estudios de biodisponibilidad oral en el compuesto 62 disuelto en Tween-80 al 0,375%. Se dosificó a ratones Swiss-Webster hembra con 50 mg/kg de compuesto 62 ya sea por vía intravenosa o por vía oral. Se anestesió a los ratones y se extrajo sangre mediante punción cardíaca en puntos de tiempo que variaban desde 1 minuto hasta 8 horas. Se cuantificaron las concentraciones de compuesto 62 usando extracción líquido-líquido y HPLC de fase inversa acoplada a un espectrómetro de masas con cuadrupolo y trampa iónica. Se realizaron adiciones conocidas a muestras de sangre de patrón interno y analito para identificar picos específicos de compuesto y para desarrollar curvas patrón para cuantificación. Se calcularon los parámetros de farmacocinética usando el paquete de análisis de software WINNONLIN (Pharsight). Se sometieron a prueba modelos no compartimentales y compartimentales, con los resultados a partir de los modelos de mejor ajuste mostrados en la tabla 8.

Tabla 8. Datos de biodisponibilidad para compuesto 62

Ruta	Dosis	AUC <sub>0-∞</sub>	AUC <sub>0-∞</sub>	T <sub>máx</sub>	C <sub>máx</sub>	C <sub>máx</sub>	T <sub>1/2</sub>
	(mg/kg)	(μg·h/ml)	(μM·h)	(h)	(μg/ml)	(μM)	(h)
IV	50	56,9	137	0	31,1	74	1,4
Oral	50	37,5	90,1	0,25	8	19	4,5

Los niveles en sangre del compuesto 62 superaron la  $CI_{50}$  para la inhibición de la actividad de SK durante el estudio completo. La comparación de las farmacocinéticas oral frente a intravenos del compuesto 62 reveló propiedades de biodisponibilidad oral muy buenas ( $F = AUC \text{ (oral)} / AUC \text{ (iv)} = 0,66$ ). Estos resultados demuestran que el compuesto 62 tiene excelentes propiedades de fármaco, específicamente buena disponibilidad oral con baja toxicidad.

#### Ejemplo 17. Actividad antitumoral de los inhibidores de SK de esta invención

Se evaluó la actividad antitumoral de los inhibidores de SK representativos usando un modelo de tumor singeneico que usa la línea de células de adenocarcinoma mamario JC de ratón en crecimiento por vía subcutánea en ratones Balb/c inmunocompetentes (Lee *et al.*, 2003, *Oncol Res* 14:49). Estas células expresan niveles elevados de actividad de SK en relación con las células no transformadas, así como el fenotipo de resistencia a múltiples fármacos debido a actividad de P-glicoproteína.

Los datos se muestran en las figuras 1 y 2. En la figura 1, se inyectó por vía subcutánea a ratones Balb/c, de 6-8 semanas de edad,  $10^6$  células de JC suspendidas en solución salina tamponada con fosfato. Se disolvieron los compuestos 62 y 57 inhibidores de SK en PEG400 y se administraron a ratones cada dos días a una dosis de 100 mg/kg. Se monitorizaron diariamente los pesos corporales y volúmenes de tumor. En la figura 1, el crecimiento tumoral se expresa como el volumen de tumor con respecto al día 1 para cada animal.

Tal como se indica en la figura 1, el crecimiento tumoral en animales tratados con cualquier inhibidor de SK fue significativamente más bajo (>70% reducido el día 16) que el crecimiento tumoral en animales control. Los compuestos 62 y 57 inhibieron el crecimiento tumoral en relación con los controles en un 69 y un 78%, respectivamente. El inserto de la figura 1 indica el peso corporal de los animales durante este experimento. No se observó ninguna diferencia significativa en los pesos corporales de los animales en los tres grupos, indicando la falta de toxicidad exagerada de cualquier inhibidor de SK.

Estudios dosis-respuesta con compuesto 62 demostraron que el compuesto tiene actividad antitumoral cuando se administra por vía oral a dosis de 35 mg/kg o más altas (figura 2). No se observó ninguna toxicidad para los ratones a ninguna dosis.

Se sometieron a prueba compuestos adicionales de esta invención para determinar su capacidad para inhibir el crecimiento de células de adenocarcinoma JC en ratones. Los resultados se resumen en la tabla 9.

Tabla 9. Actividad antitumoral *in vivo* de los inhibidores de SK. Se sometieron a prueba los compuestos indicados en el modelo de tumor JC usando administración o bien intraperitoneal (ip) o bien oral (po). Se indica que un compuesto es activo si suprimió el crecimiento tumoral en al menos el 60% en relación con los tumores en animales control.

Compuesto	Actividad <i>in vivo</i>
44	activo - ip
51	activo - ip y po
57	activo - po
62	activo - ip y po
107	activo - ip

#### Ejemplo 18. Efectos *in vivo* de los inhibidores de SK en permeabilidad vascular inducida por VEGF

Se midieron los efectos de VEGF en el derrame vascular *in vivo* tal como se describió por Miles y Miles (Miles *et al.*, 1952, *J Physiol* 118:228). A grupos de ratones desnudos atímicos hembra (de aproximadamente 20 g) se les administró inyecciones intraperitoneales de DMSO solo o compuesto 62 (75 mg/kg) en un volumen de 50 microlitros. En algunos experimentos, se administró el compuesto 62 mediante sonda oral a una dosis de 100 mg/kg. Tras 30 minutos, se administraron 100 μl de colorante azul de Evan al 0,5% en PBS mediante inyección en la vena de la cola. Treinta minutos más tarde, los ratones recibieron las primeras 3 inyecciones intradérmicas secuenciales (cada 30 minutos) de VEGF (400 ng en 20 μl de PBS por inyección) en el flanco posterior izquierdo. Como control, se administraron inyecciones similares de PBS en el flanco posterior derecho. Treinta minutos después de la última inyección, se evaluó el derrame del colorante desde la vasculatura dentro de la piel midiendo la longitud y la anchura de los puntos de piel de color azul usando calibres.

La administración de un bolo intradérmico de VEGF da como resultado el derrame del colorante unido a proteínas dentro de la piel indicando un aumento local de la permeabilidad vascular. Tal como se indica en la figura 3, cuando

se administró el compuesto 62 o bien por inyección intraperitoneal o bien mediante sonda oral 1 hora antes del tratamiento con VEGF, se redujo el derrame vascular (determinado tres horas más tarde) notablemente. Por tanto, los inhibidores de SK de esta invención tienen la capacidad de suprimir derrame vascular *in vivo* en respuesta a VEGF.

#### 5 Ejemplo 19. Efectos *in vivo* de los inhibidores de SK en retinopatía diabética

Se usaron ratas Sprague-Dawley macho que pesaban 150-175 g. Se produjo diabetes mediante inyección intraperitoneal de estreptozotocina (65 mg/kg en tampón citrato) después de ayuno durante la noche. También se llevaron animales no diabéticos inyectados de manera simulada como controles. Se midió la glucosa en sangre tres días después de la inyección y se usaron animales con glucosa en sangre de más de 250 mg/dl como ratas diabéticas para el estudio. Se monitorizaron los niveles de glucosa en sangre y pesos corporales semanalmente a lo largo del estudio. El día 45, se midió la permeabilidad vascular retiniana en un grupo control y ratas diabéticas (Antonetti *et al.*, 1998, *Diabetes* 47: 1953, Barber *et al.*, 2005, *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46: 2210). Brevemente, se pesaron los animales, se anestesiaron con cetamina/xilazina (80/0,8 mg/kg) y se les inyectó albúmina sérica bovina conjugada con isotiocianato de fluoresceína (FITC-BSA; Sigma número de catálogo A-9771) en la vena femoral. Después de 30 minutos de circulación de FITC-BSA, se sacrificaron las ratas mediante decapitación. Se recogió la sangre del torso para medir la concentración de FITC-BSA, y se enuclearon rápidamente los ojos. Se colocó cada ojo en paraformaldehído al 4% durante 1 hora y se congelaron en medio de incrustación en un baño de isopentano y hielo seco. Se seccionaron los ojos incrustados en parafina sobre un microtomo haciendo secciones de 10 µm. Se retiró la cera de los cortes y se observaron con un microscopio de fluorescencia Olympus OM-2 equipado con una cámara de video Sony CLD. Se midieron las intensidades de fluorescencia de las imágenes digitales usando software Leica Confocal (versión 2.61, edición 1538, LCS Lite, 2004). Se normalizó la intensidad retiniana promedio para cada ojo con respecto a controles no inyectados analizados de la misma manera y a la fluorescencia en plasma del animal. A través de un corte en serie del ojo, esta técnica hace posible la cuantificación de permeabilidad vascular variada en la retina (Antonetti *et al.*, 1998, *Diabetes* 47:1953, Barber *et al.*, 2005, *Ibid*).

Se mantuvieron animales control restantes durante 6 semanas adicionales, es decir, hasta el día 87, como ratas diabéticas restantes que se dividieron en grupos de tratamiento de no tratadas, con compuesto 62 a baja dosis (25 mg/kg) o compuesto 62 a alta dosis (75 mg/kg). Se administró el compuesto 62 mediante inyección intraperitoneal (disuelto en Tween-80 al 0,375%) 5 días a la semana desde el día 45 hasta el día 87. El día 87, se sometieron a prueba todos los animales restantes para verificar la permeabilidad vascular retiniana tal como se describió anteriormente. Los cortes también se tiñeron para determinar la inmunorreactividad de SK usando anticuerpos policlonales de conejo, y se contratiñeron para determinar núcleos usando tinción de Hoescht.

Se dejaron sin tratar las ratas hiperglucémicas durante 45 días para permitir la progresión de la retinopatía. En ese tiempo, se evaluaron las ratas control y diabéticas para determinar la permeabilidad retiniana vascular midiendo el derrame de BSA marcado con FITC dentro de la retina usando el análisis de imagen cuantitativo. Los animales diabéticos tuvieron aumentos sustanciales en el derrame del BSA marcado dentro de la plexiforma interior y capas nucleares externas de la retina. La cuantificación de las imágenes indicó que existe un aumento de aproximadamente 4 veces en la cantidad de derrame de FITC-BSA en las retinas de ratas diabéticas. Por lo tanto, un daño vascular inducido por diabetes sustancial estuvo presente antes del inicio del tratamiento con el inhibidor de SK.

Se sacrificaron todas las ratas supervivientes el día 87 y se midió la retinopatía como el derrame de FITC-BSA dentro de la retina. Tal como se indica en la figura 4, la permeabilidad vascular retiniana en las ratas diabéticas se elevó significativamente en comparación con las ratas control. Los animales diabéticos que habían sido tratados con el compuesto 62 inhibidor de SK, a cualquier dosis, tuvieron niveles sustancialmente reducidos de derrame de FITC-BSA que las ratas diabéticas no tratadas. Este efecto del compuesto se manifestó tanto en la capa de plexiforma interior como en la capa nuclear exterior de la retina.

Se usó la inmunohistoquímica con el anticuerpo anti-SK descrito anteriormente para evaluar la expresión de SK en las retinas de estos animales. La fluorescencia en el epitelio de pigmento retiniano y el segmento exterior no fue específica puesto que estaba presente en muestras incubadas en ausencia del anticuerpo anti-SK. Secciones retinianas de ratas control sólo tuvieron bajos niveles de tinción específica para SK; mientras que la expresión de SK se elevó notablemente en la capa de células ganglionares y en cuerpos celulares específicos y proyecciones en la superficie de contacto de la capa nuclear interior y la capa de plexiforma interior. También se observó una expresión de SK elevada en los animales tratados con compuesto 62 tanto a baja dosis como a alta dosis. Por tanto, el estado hiperglucémico a largo plazo parece estar asociado con la elevación de los niveles de SK retiniana que no están normalizados por tratamiento con el inhibidor de SK. Estos datos de expresión indican que el compuesto 62 suprime de manera muy eficaz la actividad de SK en la retina diabética, evitando de esta manera el aumento de impermeabilidad vascular presente normalmente en retinopatía.

#### Ejemplo 20. Inhibición de la inducción de TNF $\alpha$ de NF $\kappa$ B por los inhibidores de SK

La excelente solubilidad acuosa del compuesto 62 le permitió ser evaluado en una línea de células indicadoras NF $\kappa$ B (figura 5). Fibroblastos transfectados con un elemento de respuesta a NF $\kappa$ B ligado a luciferasa producen altos

niveles de luciferasa después de su exposición a TNF $\alpha$ . La activación de NF $\kappa$ B por TNF $\alpha$  se suprimió de manera dosis-dependiente por el inhibidor de SK, compuesto 62.

#### Ejemplo 21. Inhibición de la expresión de moléculas de adhesión inducida por TNF $\alpha$ por los inhibidores de SK

Al igual que las células endoteliales en el cuerpo, HUVEC proliferarán en respuesta a varios factores de crecimiento, y responderán a citocinas inflamatorias tales como TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Se llevaron a cabo análisis de Western con células endoteliales humanas para evaluar los efectos inhibidores de SK en proteínas de señalización que se conoce que están reguladas por TNF $\alpha$ . En estos experimentos, se privó de suero a las células durante 24 horas y luego se expusieron a TNF $\alpha$  (100 ng/ml) durante 6 horas. Se sometieron a ensayo lisados celulares de células tratadas para las moléculas de adhesión ICAM-1 y VCAM-1. TNF $\alpha$  provocó incrementos marcados en los niveles de expresión de proteínas de adhesión implicadas en el reclutamiento de leucocitos, incluyendo ICAM-1 y VCAM-1. Estos efectos de TNF $\alpha$  se inhibieron al tratar las células con compuesto 62, de manera que se derogó la inducción de ambas proteínas mediante 25  $\mu$ M de compuesto 62.

#### Ejemplo 22. Inhibición de la síntesis de prostaglandinas inducida por TNF $\alpha$ por los inhibidores de SK

Para determinar los efectos de los inhibidores de SK sobre la actividad de Cox-2, se usó un ensayo ELISA para medir la producción de PGE<sub>2</sub> por células epiteliales intestinales de rata IEC6 y células endoteliales humanas tratadas con TNF $\alpha$ . La exposición de cada tipo de célula a TNF $\alpha$  dio como resultado aumentos marcados en la actividad de Cox-2, medida como la producción de PGE<sub>2</sub> (figuras 6A-6B). El compuesto 62 suprimió fuertemente esta inducción de la actividad de Cox-2 por TNF $\alpha$ .

Sobre todo, estos datos demuestran que la inhibición de SK será eficaz para bloquear la cascada inflamatoria en células iniciada por TNF $\alpha$ . Se espera que esto alivie la patología de varias enfermedades inflamatorias, incluyendo IBD, artritis, aterosclerosis y asma.

#### Ejemplo 23. Efectos *in vivo* de los inhibidores de SK en un modelo agudo de enfermedad inflamatoria del intestino

Los presentes inventores han llevado a cabo experimentos con inhibidores de SK usando el modelo de dextranosulfato de sodio (DSS) de IBD. En estos experimentos, a ratones C57BL/6 macho se les proporcionó dieta convencional para roedores y agua *ad libitum*. Después de su aclimatación, se dividieron los animales aleatoriamente en grupos de 5 ó 6 para el tratamiento con DSS (PM de 40.000 de ICN Biomedicals, Inc., Aurora, OH) y con fármaco. Se disolvieron los inhibidores de SK en PEG400, y se administraron una vez al día por sonda oral en un volumen de 0,1 ml por dosis. Se usó Dipentum, un fármaco contra la colitis aprobado por la FDA cuyo principio activo, olsalazina, se convierte en ácido 5-aminosalicílico *in vivo*, como control positivo. Se administró a los ratones agua potable normal o DSS al 2% y se les trató por vía oral con un inhibidor de SK o Dipentum a una dosis de 50 mg/kg al día. Se midió el peso corporal de cada animal cada día, y se puntuó el índice de actividad de enfermedad (DAI) para cada animal en los días 4-6. En el día 6, se sacrificaron los animales mediante dislocación cervical y se extirpó el colon completo y se midió con una precisión de 0,1 cm. Entonces se fijaron porciones del colon, se seccionaron y se evaluaron sus histologías de manera ciega para determinar su puntuación de histología. Se usaron otras porciones del colon para análisis bioquímicos de marcadores de inflamación.

El DAI monitoriza la pérdida de peso, consistencia de las heces y sangre en las heces y es una medida de la gravedad de la enfermedad. Los animales que recibieron agua potable normal y PEG como control de disolvente tuvieron DAI muy bajos a lo largo del experimento (figura 7). La exposición de los ratones a DSS en su agua potable indujo de manera notable síntomas de IBD, incluyendo pérdida de peso y producción de heces blandas, sanguinolentas. La intensidad de la enfermedad se incrementó progresivamente desde el día 4 hasta el momento en que se sacrificaron los ratones en el día 6. El tratamiento de los animales que recibieron DSS con compuesto 62 o Dipentum redujo la intensidad de las manifestaciones de IBD en los ratones, lo más drásticamente en el día 6. Los inhibidores de SK y Dipentum fueron esencialmente equivalentes en cuanto a sus capacidades para reducir el DAI de ratones que recibieron DSS. Debe observarse que este modelo agudo produce síntomas rápidos y drásticos de IBD, haciendo que sea un ensayo muy riguroso para someter a prueba fármacos.

En el día 6, se sacrificaron los animales mediante dislocación cervical y se midió el colon completo para evaluar el acortamiento debido a cicatrización y daño, y luego se fijó, se seccionó y se examinó histológicamente de manera ciega. En comparación con el grupo control de agua, el colon de ratones tratados con DSS y PEG se acortó significativamente (figura 8). Los ratones tratados con DSS que también se trataron con compuesto 62 o Dipentum tuvieron un colon de longitud intermedia, lo que indica una protección sustancial por los fármacos. De nuevo, la respuesta a cualquiera de los inhibidores de SK fue por lo menos tan buena como aquella de ratones tratados con Dipentum.

El examen histológico de secciones de colon de los diversos grupos de tratamiento fue compatible con el criterio de valoración de DAI, revelando un daño marcado en el grupo de DSS solo que se redujo o se anuló en los animales tratados con inhibidor de SK. El colon de animales control tratados con agua demostró morfología normal, mientras que el colon de ratones tratados con DSS solo estaba gravemente inflamado y dañado. Estaban presentes numerosos neutrófilos a lo largo de la sección, junto con criptas gravemente dañadas, e infiltración inflamatoria



moderada con edema submucoso. El colon de animales tratados con DSS y compuesto 62 no mostró daño de cripta ausente o leve, niveles ausentes o bajos de infiltración de células inflamatorias y ausencia de edema en la submucosa.

Como una medida cuantificable de daño, se clasificó el colon para su puntuación de histología, que se basa en la gravedad de inflamación, grado de inflamación, daño a criptas y el porcentaje de área superficial que demuestra la característica. Estas morfologías se puntuaron de manera ciega. Tal como se indica en la figura 9, los animales que recibieron DSS en su agua potable tuvieron puntuaciones de histología sustancialmente más altas (representado IBD moderada a grave) que los animales que recibieron agua potable normal (los cuales tuvieron cierta inflamación leve, posiblemente debido al vehículo PEG). Al igual que con los demás ensayos, las puntuaciones de histología de los ratones a los que se les administró un inhibidor de SK o Dipentum fueron sistemáticamente más bajas que las de los animales con DSS solo, aunque no todos los animales se protegieron completamente. Las puntuaciones DAI y las puntuaciones de histología se correlacionaron bien para los animales individuales, confirmando que la puntuación DAI es un excelente indicador de inflamación y daño de colon.

La actividad de mieloperoxidasa (MPO), la cual refleja el influjo de neutrófilos al interior del colon, se usa comúnmente como medida de inflamación, y se sometió a ensayo en el colon de los ratones de los estudios de colitis por DSS. Según se indica en la figura 10, la actividad MPO estaba altamente elevada en los animales con DSS solo en comparación con controles de agua. El incremento en la actividad MPO se atenuó notablemente en ratones que recibieron dosis diarias de compuesto 62 o Dipentum. Esta reducción en la actividad del marcador de neutrófilos es compatible con la disminución de la aparición de granulocitos observada en las secciones de colon teñidas con H&E. Por lo tanto, el nivel de MPO colónico parece ser un excelente biomarcador para el grado de infiltración tisular por leucocitos inflamatorios.

Se midieron varias citocinas implicadas en inflamación usando el sistema Luminex 100 que permite la cuantificación de múltiples citocinas y factores de crecimiento en un volumen de muestra pequeño. Se examinó la citocina IFN- $\gamma$  de Th1, la citocina IL-10 reguladora, así como las citocinas pro-inflamatorias derivadas de macrófagos, TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 en muestras de colon de ratones en el modelo de DSS de colitis. La figura 11 representa los resultados de estos ensayos, e indica que el tratamiento con DSS promovió la acumulación de todas las citocinas en el colon. De manera importante, las elevaciones de todas las proteínas proinflamatorias, es decir, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF $\alpha$ , se atenuaron en ratones tratados ya sea con inhibidor de SK o Dipentum. De manera inversa, los niveles de la citocina antiinflamatoria IL-10 no se suprimieron por los inhibidores de SK.

Como una medida final de los efectos de los inhibidores de SK en este modelo agudo, se sometieron a ensayo los niveles de S1P en el colon de los animales tratados con DSS usando un método de CL-EM/EM. Esta técnica permite examinar correlaciones entre la actividad biológica y cambios en los niveles de S1P en animales tratados con los inhibidores de SK. Se homogeneizaron muestras de colon de animales de los experimentos de colitis por DSS en PBS frío, con adiciones conocidas de patrones internos (análogos de C<sub>17</sub> de esfingosina y S1P) y se procesaron mediante extracción líquido-líquido. Se determinaron las razones de analito con respecto a patrón interno para cada esfingolípido. Los niveles de S1P fueron notablemente más altos en el colon de ratones tratados con DSS en comparación con los controles de agua (figura 12). De manera importante, los animales que se trataron con compuesto 62 tenían niveles notablemente más bajos de S1P colónico que las muestras con DSS solo.

#### Ejemplo 24. Efectos *in vivo* de inhibidores de SK en un modelo crónico de enfermedad inflamatoria del intestino

Se usó un modelo de 35 días de IBD para evaluar la eficacia de los inhibidores de SK en ratones que experimentan múltiples ciclos de inflamación inducida por DSS. Este modelo crónico es similar al modelo agudo, excepto porque la concentración de DSS en el agua potable es más baja y los animales reciben exposición periódica a DSS (DSS en los días 1-7, agua en los días 8-13, DSS en los días 14-21, agua en los días 22-27 y luego DSS hasta completarse el estudio en el día 35). En estos experimentos, el tratamiento de los ratones con un inhibidor de SK o Dipentum empezó el día 28 y continuó diariamente hasta completarse el estudio. Se monitorizó el índice DAI cada dos días hasta el día 28 y después diariamente hasta el día 35. Se sacrificaron los animales en el día 35, y se midieron cambios en la longitud del colon y los perfiles de citocinas.

La exposición cíclica de ratones a DSS en agua potable causó incrementos reversibles en el DAI (figura 13). El tratamiento de los ratones con compuesto 62 o Dipentum durante la tercera exposición a DSS suprimió significativamente el incremento en DAI experimentado por los ratones control ( $p < 0,001$  para los tres compuestos en el día 35).

Las longitudes de colon de ratones tratados con DSS fueron significativamente más cortas que las de los animales control tratados con agua ( $4,9 \pm 0,2$  cm frente a  $7,8 \pm 0,3$  cm) lo que refleja la cicatrización inducida por inflamación. Al igual que con el modelo agudo, el colon de animales tratados con compuesto 62 o Dipentum tenía longitud intermedia ( $6,2 \pm 0,2$  y  $6,1 \pm 0,2$  cm, respectivamente). Este es un hallazgo significativo ya que los animales no se trataron durante los ciclos de DSS primero y segundo. Por lo tanto, la supresión de la contracción de colon inducida por inflamación puede invertirse mediante fármacos contra la IBD eficaces.

La inmunohistoquímica reveló que la expresión de SK estaba presente a niveles bajos en el colon de ratones control,

no tratados con DSS. La expresión de SK estaba elevada en el colon de ratones tratados con DSS en comparación con controles de agua estando esta expresión claramente reducida en ratones con DSS que también recibieron compuesto 62.

Se evaluaron los niveles de S1P en el colon de ratones de modelo de colitis crónica de una manera idéntica a la descrita para el modelo agudo, y revelaron resultados similares a aquellos en el modelo agudo con niveles de S1P elevados en los ratones tratados con DSS solo en comparación con los controles de agua (figura 14). El tratamiento con el compuesto 62 (oral, 50 mg/kg diariamente; 7 días antes del sacrificio) dio como resultado reducciones significativas de los niveles de S1P (figura 14).

Los niveles de las citocinas proinflamatorias  $\text{TNF}\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  e IL-6 incrementaron sustancialmente en el colon de ratones tratados de manera crónica con DSS; mientras que el nivel de IL-10 no cambió (figura 15). Los ratones tratados con compuesto 62 durante el ciclo de DSS final tuvieron niveles reducidos de citocinas proinflamatorias, mientras que los animales tratados con Dipentum expresaron perfiles de citocinas equivalentes a los del grupo de DSS solo. Esto puede reflejar la presencia de altos números de células inmunitarias residentes en el colon de ratones expuestos de manera crónica a DSS. Sin embargo, la elevación en los niveles de citocinas en los ratones tratados con inhibidor de SK no da como resultado un DAI incrementado ni acortamiento de colon, lo que indica que la señalización inducida por las citocinas inflamatorias se había bloqueado.

Para comparación, también se determinaron los niveles de las mismas citocinas en el suero de los ratones en el momento de sacrificio. Tal como se indica en la figura 16, los niveles circulantes de estas citocinas son notablemente más bajos que los niveles colónicos reflejando la inflamación local en este modelo. DSS incrementó los niveles circulantes de IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-6 e IL-10, mientras que  $\text{TNF}\alpha$  permaneció por debajo del límite de detección del ensayo. Ninguno de los compuestos de prueba afectó a los niveles circulantes de IL-1 $\beta$  o IFN- $\gamma$ , sin embargo, tanto el compuesto 62 como Dipentum redujeron el nivel en suero de IL-6. Por lo tanto, los niveles en suero de IL-6 pueden ser un marcador farmacodinámico útil para los efectos antiinflamatorios de los inhibidores de SK durante pruebas clínicas.

#### Ejemplo 25. Efectos *in vivo* de inhibidores de SK en el modelo de artritis inducida por colágeno en ratones

Se evaluaron las actividades contra la artritis del compuesto 62 inhibidor de SK en el modelo de artritis inducida por colágeno (CIA). Se les inyectó a ratones DBA/1 hembra por vía subcutánea en la cola colágeno tipo II de calidad para inmunización de pollo (Chondrex) emulsionado en adyuvante de Freund completo (Sigma) a 2 mg/ml. Tres semanas más tarde, los ratones recibieron un refuerzo de colágeno en adyuvante de Freund incompleto y se les monitorizó diariamente después de eso para detectar síntomas de artritis. Una vez que los ratones alcanzaron una puntuación clínica y grosor de pata umbral, se aleatorizaron a los siguientes grupos de tratamiento: compuesto 62 (100 mg/kg administrados por vía oral cada día durante 6 días a la semana) o vehículo (Tween-80 al 0,375% administrado con el mismo calendario). Se cuantificó la gravedad de enfermedad en cada animal mediante la medición del volumen de pata trasera con calibres digitales. Se puntuó cada pata basándose en la actividad inflamatoria percibida, en la que cada pata recibe una puntuación de 0-3 tal como sigue: 0 = normal; 1 = enrojecimiento e hinchazón leve, pero definitiva, del tobillo o muñeca, o enrojecimiento e hinchazón aparente limitada a dedos individuales, independientemente del número de dedos afectados; 2 = enrojecimiento e hinchazón moderada del tobillo y la muñeca y 3 = enrojecimiento e hinchazón grave de la pata completa incluyendo dedos, oscilando la puntuación global entre 0-12. Se sometieron a prueba las diferencias entre los grupos de tratamiento usando ANOVA.

Tal como se indica en la figura 17, el tratamiento con cualquier inhibidor de SK redujo drásticamente la respuesta de inflamación, medida como o bien la puntuación clínica promedio (figura 10A) o bien el diámetro de pata trasera promedio (figura 10B), comenzando reducciones significativas el día 5 de tratamiento para ambos criterios de valoración. Al final del experimento en el día 12, el compuesto 62 provocó una reducción del 90% en el incremento de grosor de pata trasera, y una reducción del 67% en la puntuación clínica en comparación con los ratones tratados con vehículo. Ya que se considera que una reducción del 30% de los síntomas es demostrativa de actividad antiartrítica en este ensayo, el inhibidor de SK supera los criterios de eficacia en este modelo.

En el día 12, se sacrificaron los ratones y se extirparon sus extremidades posteriores, se les retiró la piel y el músculo, se fijaron en formalina, se descalcificaron y se incrustaron en parafina. Después se cortaron las extremidades y se tiñeron con hematoxilina/eosina. Se evaluaron las articulaciones tibiotarsales histológicamente para determinar la gravedad de inflamación e hiperplasia sinovial. La artritis inducida por colágeno dio como resultado un fenotipo grave en comparación con ratones no inducidos, manifestado como una inflamación grave e infiltración de células sinoviales, así como resorción ósea significativa. Los ratones que se habían tratado con compuesto 62 tuvieron daño histológico significativamente reducido, que se correlacionaba con el grosor de pata y datos de puntuación clínica.

#### Ejemplo 26. Efectos *in vivo* de inhibidores de SK en el modelo de artritis inducida por adyuvante en ratas

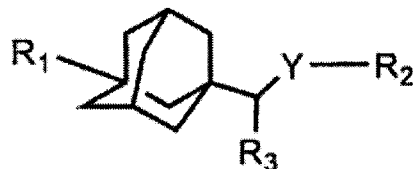
La artritis inducida por adyuvantes es otro ensayo ampliamente usado que recapitula muchas características de artritis reumatoide humana, y por lo tanto es útil en la evaluación de candidatos farmacológicos nuevos. A ratas

Lewis macho de edad y peso coincidentes (150-170 g) se les inyectó por vía subcutánea en la cola 1 mg de *Mycobacterium butyricum* (Difco, seco, muerto) suspendido en 0,1 ml de aceite mineral ligero. Se presentaron síntomas de reactividad inmunitaria después de 2 semanas. Se aleatorizaron ratas sensibles a grupos de tratamiento, y recibieron dosis diarias orales (1 ml) de: disolvente solo (Tween-80 al 0,375%); 100 mg/kg de compuesto 62; 35 mg/kg de compuesto 62; o 5 mg/kg de compuesto 62, o inyecciones intraperitoneales de indometacina (5 mg/kg) cada dos días como control positivo. Se cuantificó la gravedad de enfermedad en cada animal por medición del grosor de la pata trasera. Como anteriormente, se consideró que una reducción del 30% o más era una indicación de actividad antiinflamatoria en este modelo.

Tal como se indica en la figura 17, las ratas tratadas con disolvente solo demostraron un incremento progresivo en el grosor de pata durante el transcurso de los siguientes 10 días. El compuesto 62 inhibió esta respuesta artrítica de una manera dependiente de la dosis, teniendo la dosis más alta una eficacia terapéutica similar a la de la indometacina. El compuesto 62 a dosis de 5, 35 ó 100 mg/kg dio como resultado reducciones del 13, 42 y 76 por ciento en la respuesta artrítica, respectivamente. Por tanto, el compuesto 62 es altamente eficaz en este modelo de artritis.

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato del mismo, en la que:

- 5 Y es -N(R<sub>4</sub>)-;  
 R<sub>1</sub> es fenilo, sustituido con 1 ó 2 halógenos,  
 R<sub>2</sub> es arilo, -alquilarilo, heterocicloalquilo, -alquil-heterocicloalquilo, heteroarilo o -alquil-heteroarilo opcionalmente sustituido;  
 R<sub>3</sub> es H, alquilo u oxo;
- 10 en la que la parte de alquilo y anillo de cada uno de los grupos R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> anteriores está opcionalmente sustituida con hasta 5 grupos que son independientemente alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), halógeno, haloalquilo, -OC(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR'C(O)R'', -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -OH, alcoxilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxialquilo, -CN, -CO<sub>2</sub>H, -SH, -S-alquilo, -SOR'R'', -SO<sub>2</sub>R', -NO<sub>2</sub> o NR'R'',
- 15 en la que R' y R'' son independientemente H o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), y en la que cada parte de alquilo de un sustituyente está opcionalmente sustituida adicionalmente con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados independientemente de halógeno, CN, OH y NH<sub>2</sub>; y  
 R<sub>4</sub> es H o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).
2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R<sub>2</sub> es arilo o -alquilarilo.
3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R<sub>2</sub> es heterocicloalquilo o -alquil-heterocicloalquilo.
- 20 4. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R<sub>2</sub> es heteroarilo o -alquil-heteroarilo.
5. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que el resto arilo o heteroarilo no está sustituido o está sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 grupos seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, alquilo, cianoalquilo, aminoalquilo, tioalcoxilo, trifluorometilo, haloalcoxilo, ariloxilo y alcoxilo.
6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que R<sub>3</sub> es oxo (=O).
- 25 7. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que R<sub>3</sub> es metilo.
8. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que Y es NH.
9. Compuesto según la reivindicación 1, que es:
- Fenilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (4-Hidroxi-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 30 Éster 4-[[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carbonil]-amino]-fenílico de ácido acético;  
 (2,4-Dihidroxi-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (3-Hidroximetil-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (4-Cianometil-fenil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 Bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 35 4-terc-Butil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 4-Metilsulfanil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

- 3-Trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 4-Trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 3,5-bis-Trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 3-Fluoro-5-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 5 2-Fluoro-4-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 3,5-Difluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 3,4-Difluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 3,4,5-Trifluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 3-Cloro-4-fluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 10 4-Fluoro-3-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 2-Cloro-4-fluoro-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 4-Cloro-3-trifluorometil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 3-Aminometil-2,4,5,6-tetraclorobencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- [1-(4-Cloro-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 15 [1-(4-Bromo-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 4-Metanosulfonil-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 4-Dimetilamino-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 4-Trifluorometoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 3-Trifluorometoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 20 4-Fenoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 3,4-Dihidroxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- Fenetil-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- [2-(4-Fluoro-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- [2-(4-Bromo-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 25 [2-(4-Hidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- [2-(4-Hidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 4-Fenoxi-bencilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- [2-(3-Bromo-4-metoxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- [2-(3,4-Dihidroxi-fenil)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 30 (2-Benzo[1,3]dioxol-5-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- (3-Fenil-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- (Bifenil-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- (1-Metil-piperidin-4-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- (4-Metil-piperazin-1-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- 35 (3-Pirrolidin-1-il-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- [3-(2-Oxo-pirrolidin-1-il)-propil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;
- [2-(1-Metil-pirrolidin-2-il)-etil]-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;

- (2-Morfolin-4-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (2-Piperazin-1-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (Piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-fluoro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (Piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 5 (2-Piridin-4-il-etil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (3-Imidazol-1-il-propil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (2-Metil-1H-indol-5-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (1H-Tetrazol-5-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (9-Etil-9H-carbazol-3-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 10 Benzotiazol-2-ilamida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (5-Cloro-benzooxazol-2-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 (9H-Purin-6-il)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico;  
 4-[[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-amino]-fenol;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-trifluorometil-bencil)-amina;  
 15 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(2-fluoro-4-trifluorometil-bencil)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-fluoro-3-trifluorometil-bencil)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-trifluorometoxi-bencil)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-[2-(3-fenoxi-fenil)-etil]-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(1-metil-piperidin-4-il)-amina;  
 20 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(4-metil-piperazin-1-il)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(3-pirrolidin-1-il-propil)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-[2-(1-metil-pirrolidin-2-il)-etil]-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(2-morfolin-4-il-etil)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-piridin-4-ilmetil-amina;  
 25 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-(9-etil-9H-carbazol-3-il)-amina;  
 [3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-ilmetil]-[5-(4-cloro-fenil)-tiazol-2-il]-amina;  
 {1-[3-(4-Fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-fenil-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-fenil-amina;  
 Bencil-{1-[3-(4-fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 30 Bencil-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 (4-terc-Butil-bencil)-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 [1-(4-Bromo-fenil)-etil]-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 [2-(4-Bromo-fenil)-etil]-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;  
 {1-[3-(4-Fluoro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(1-metil-piperidin-4-il)-amina;  
 35 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(1-metil-piperidin-4-il)-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(4-metil-piperazin-1-il)-amina;  
 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(6-cloro-piridin-3-ilmetil)-amina;

{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(2-piridin-4-il-etil)-amina;

{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(3H-imidazol-4-ilmetil)-amina;

{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(2-metil-1H-indol-5-il)-amina;

{1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(9-etil-9H-carbazol-3-il)-amina;

5 {1-[3-(4-Cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-(9-etil-9H-carbazol-3-ilmetil)-amina;

(4-Bromo-tiofen-2-ilmetil)-{1-[3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-il]-etil}-amina;

sales farmacéuticamente aceptables, hidratos o solvatos de los mismos.

10. Compuesto según la reivindicación 1, que es (piridin-4-ilmetil)-amida de ácido 3-(4-cloro-fenil)-adamantan-1-carboxílico, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato de la misma.

10 11. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato del mismo, en combinación con un agente auxiliar, medio o portador farmacéuticamente aceptable.

12. Uso de un compuesto o una sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para la preparación de una composición farmacéutica para tratar una enfermedad seleccionada de una enfermedad hiperproliferativa, una enfermedad inflamatoria o una enfermedad angiogénica.

13. Uso de un compuesto o una sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para la preparación de una composición farmacéutica para tratar una enfermedad seleccionada de cáncer, aterosclerosis, reestenosis, trastornos proliferativos de células mesangiales, psoriasis, angiogénesis miocárdica, neovascularización de placas ateroscleróticas, neovascularización coroidea, retinopatía del prematuro (fibroplasias retrolenticulares), degeneración macular, rechazo de injerto de córnea, rubeosis, glaucoma neurovascular y síndrome de Oster-Webber.

14. Uso de un compuesto o una sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para la preparación de una composición farmacéutica para tratar una enfermedad seleccionada de enfermedad inflamatoria del intestino, artritis, asma, alergia, enfermedad inflamatoria de los riñones, choque circulatorio, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, inflamación de la piel, enfermedad periodontal, psoriasis y enfermedades de inmunidad mediadas por células T.

15. Uso de un compuesto o una sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para la preparación de una composición farmacéutica para tratar enfermedad inflamatoria del intestino o artritis.

16. Compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o composición según la reivindicación 11, para tratar una enfermedad seleccionada de una enfermedad hiperproliferativa, una enfermedad inflamatoria o una enfermedad angiogénica.

17. Compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o composición según la reivindicación 11, para tratar una enfermedad seleccionada de cáncer, aterosclerosis, reestenosis, trastornos proliferativos de células mesangiales, psoriasis, angiogénesis miocárdica, neovascularización de placas ateroscleróticas, neovascularización coroidea, retinopatía del prematuro (fibroplasias retrolenticulares), degeneración macular, rechazo de injerto de córnea, rubeosis, glaucoma neurovascular y síndrome de Oster-Webber.

18. Compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o composición según la reivindicación 11, para tratar una enfermedad seleccionada de enfermedad inflamatoria del intestino, artritis, asma, alergia, enfermedad inflamatoria de los riñones, choque circulatorio, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, inflamación de la piel, enfermedad periodontal, psoriasis y enfermedades de inmunidad mediadas por células T.

19. Compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o composición según la reivindicación 11, para tratar enfermedad inflamatoria del intestino o artritis.

Figura 1

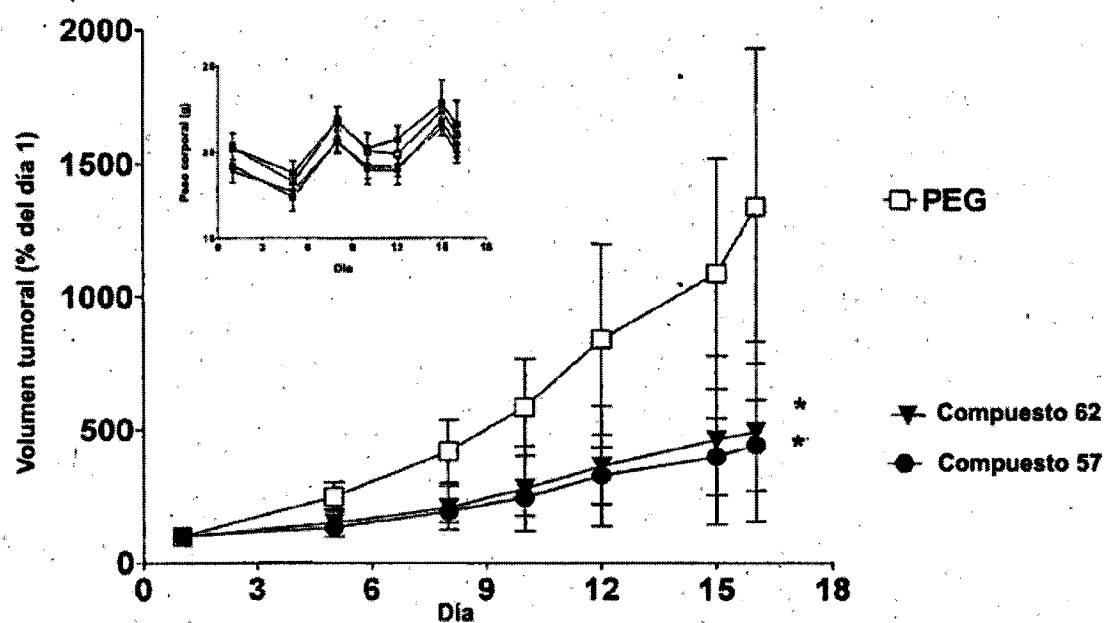




Figura 2

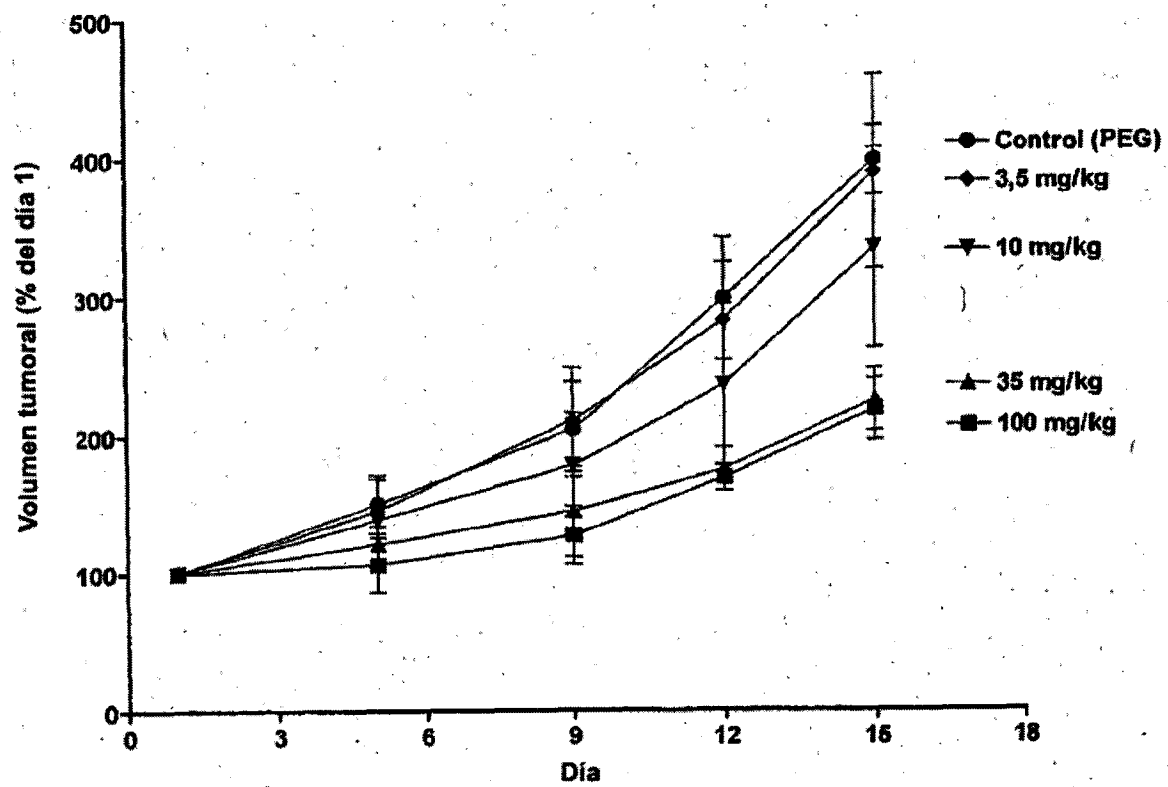


Figura 3

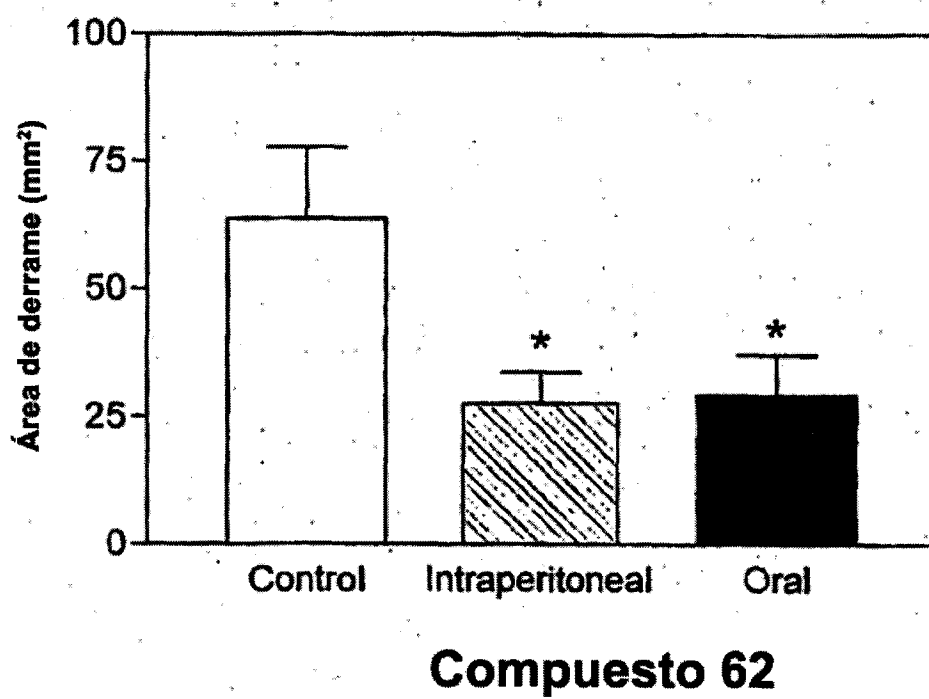


Figura 4

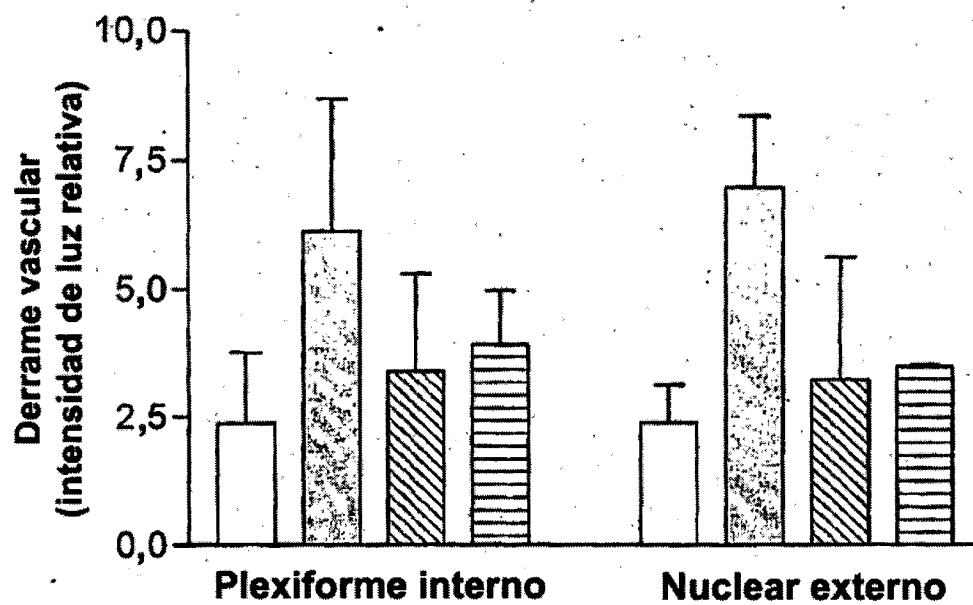


Figura 5

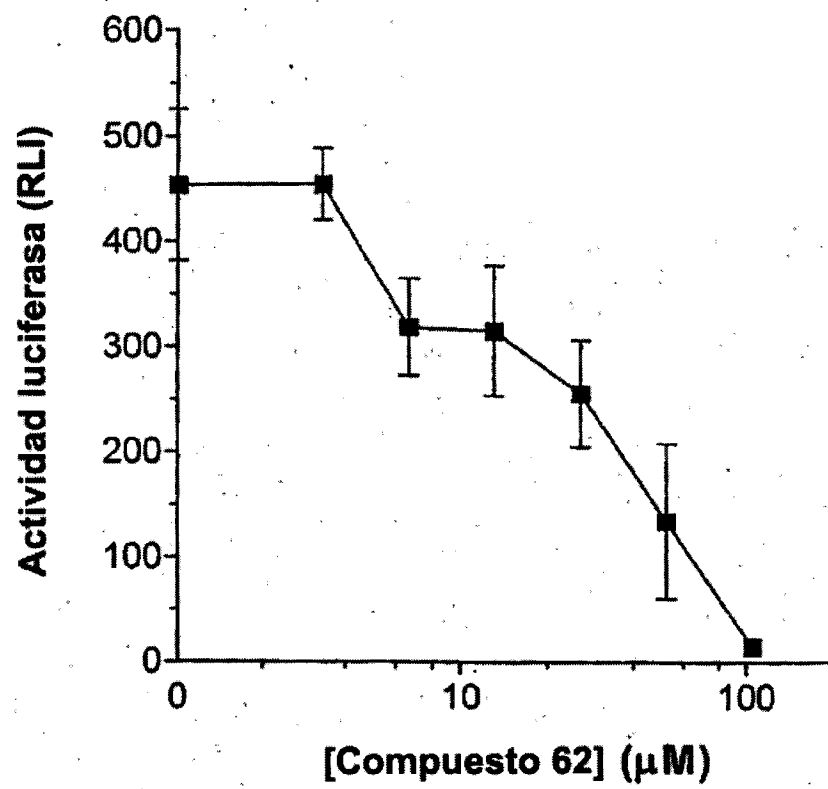


Figura 6

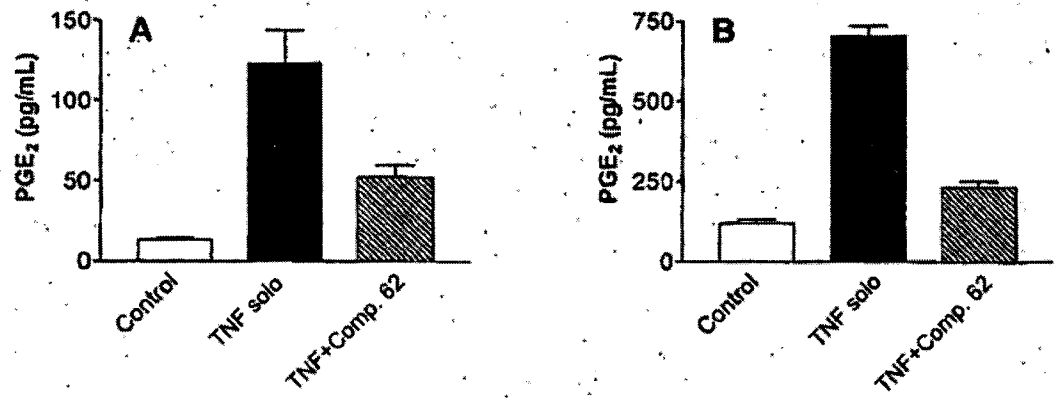


Figura 7

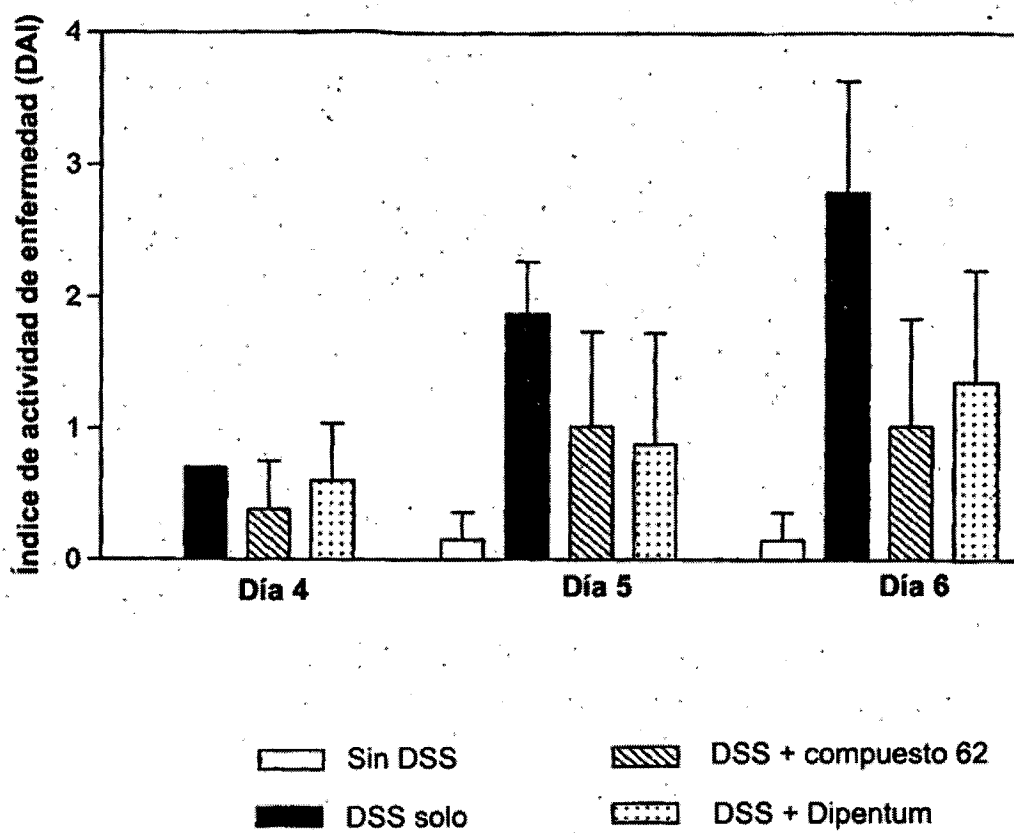


Figura 8

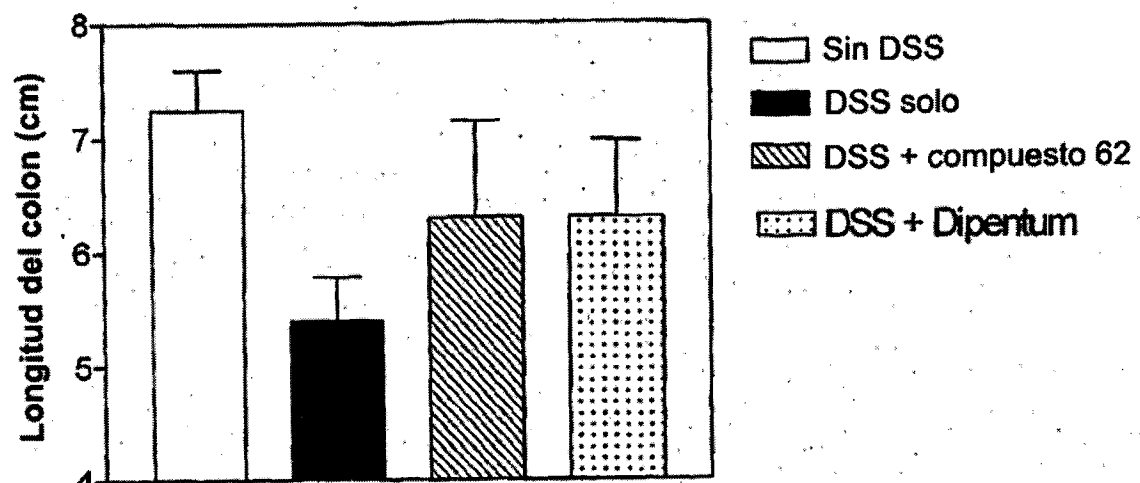


Figura 9

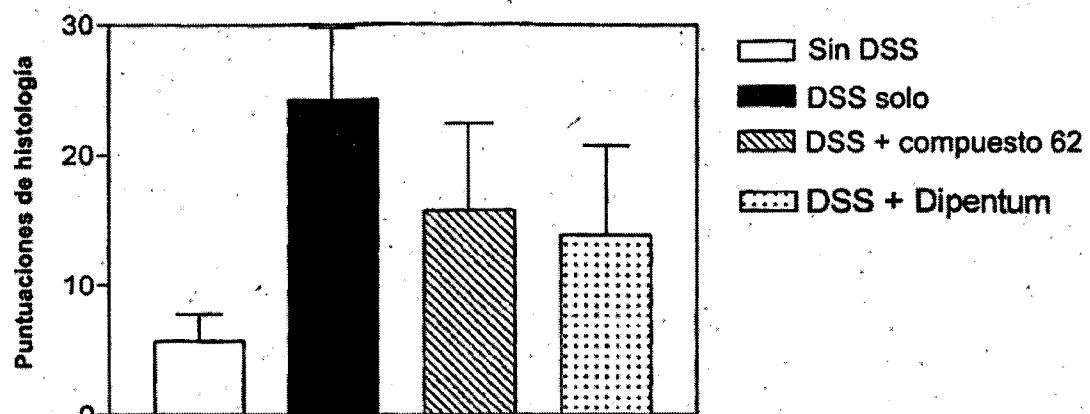




Figura 10

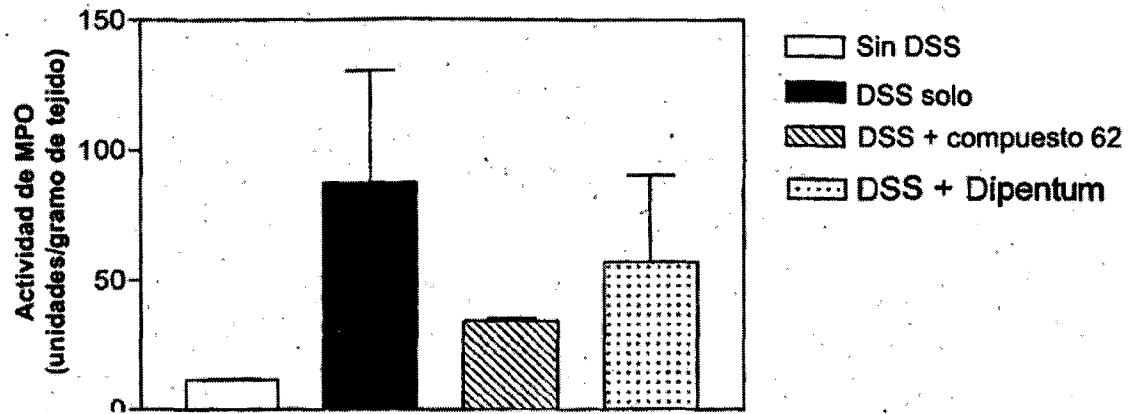


Figura 11

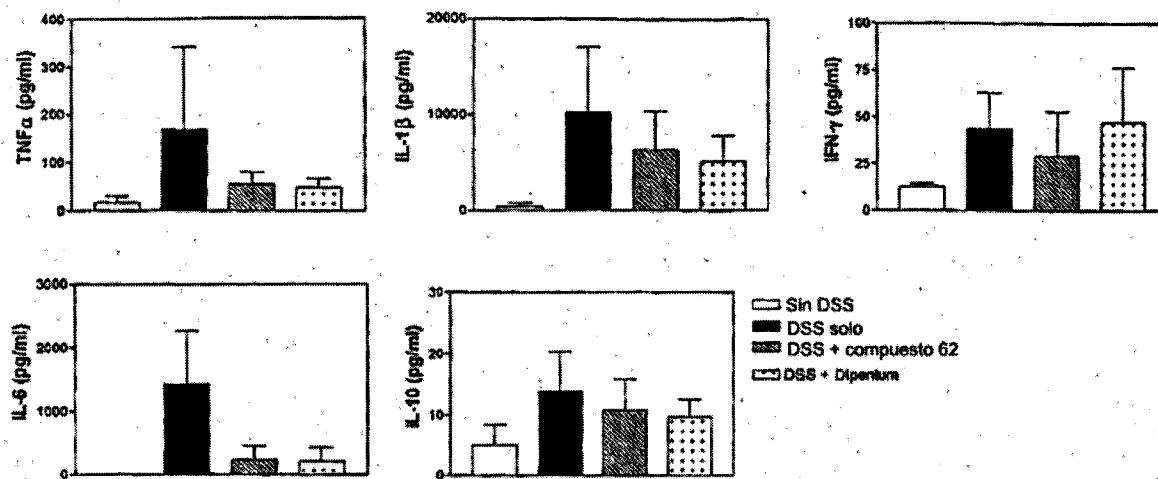


Figura 12

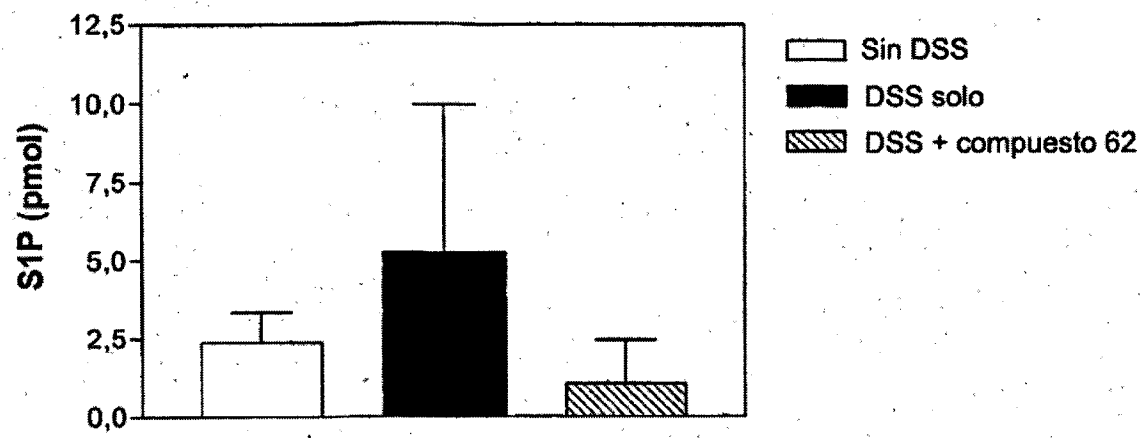


Figura 13

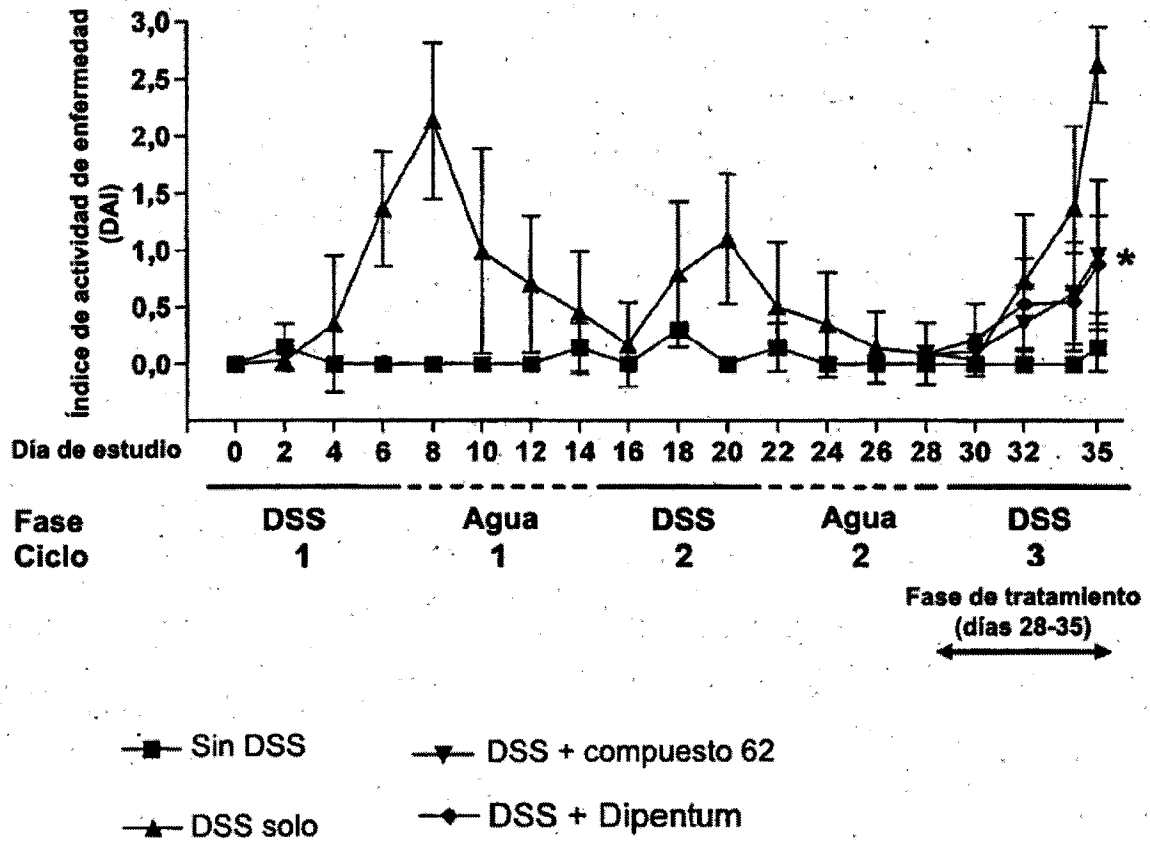


Figura 14

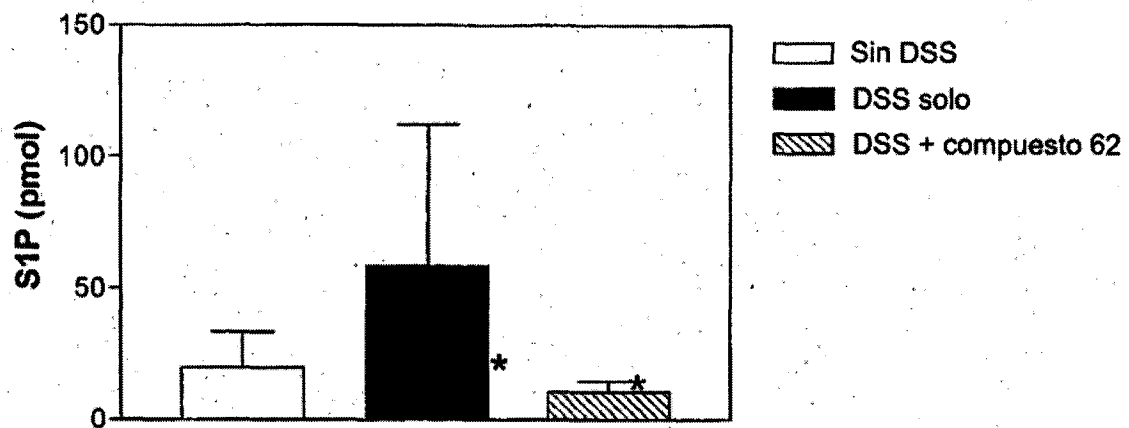


Figura 15

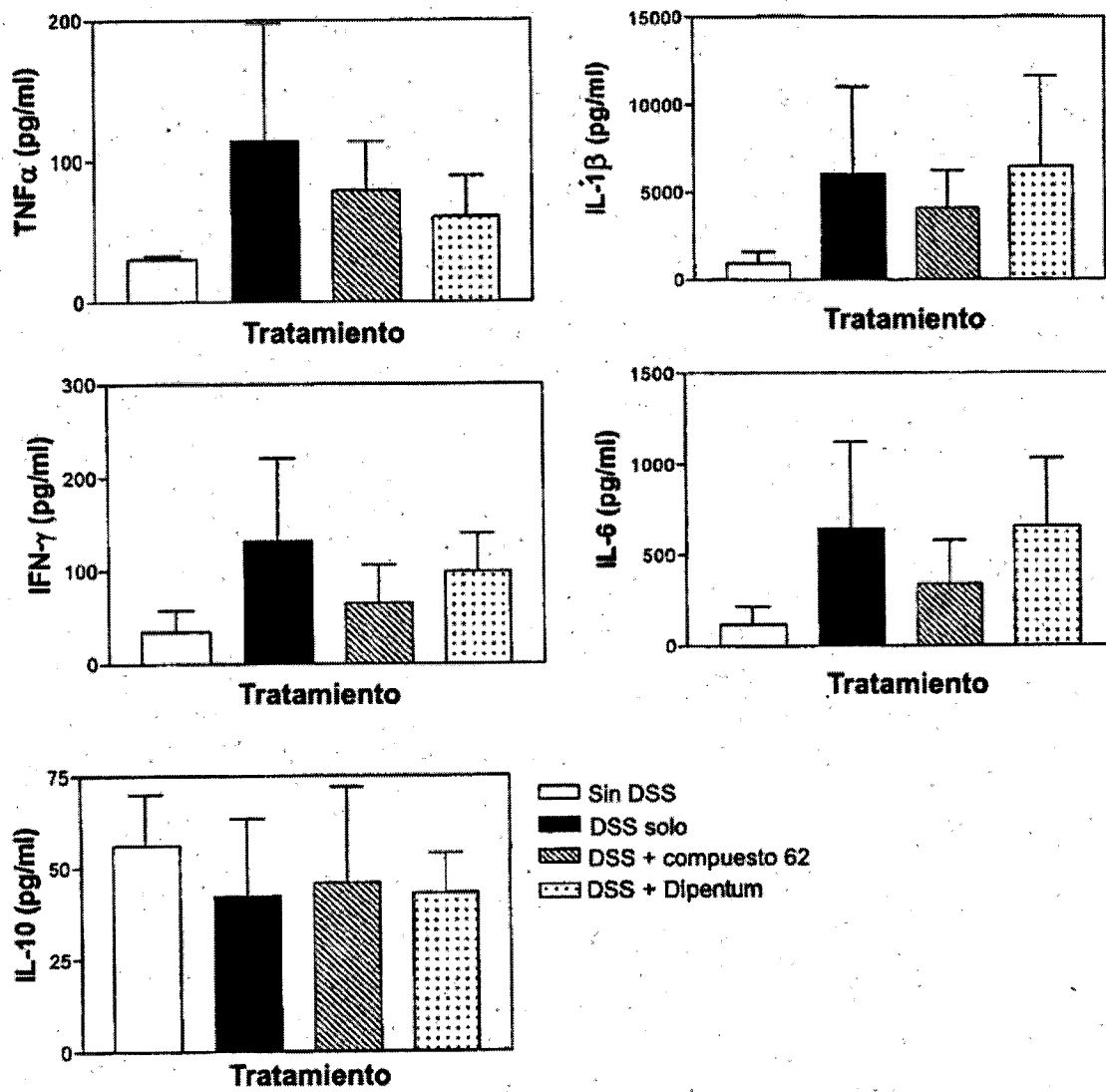


Figura 16

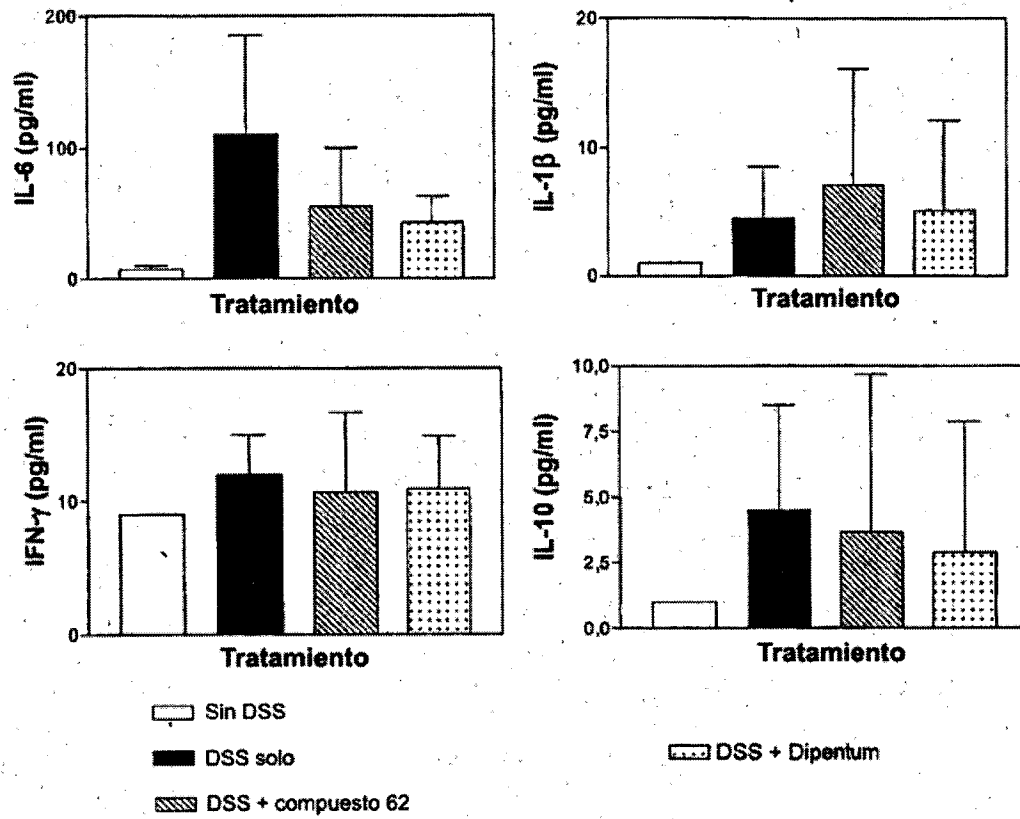


Figura 17

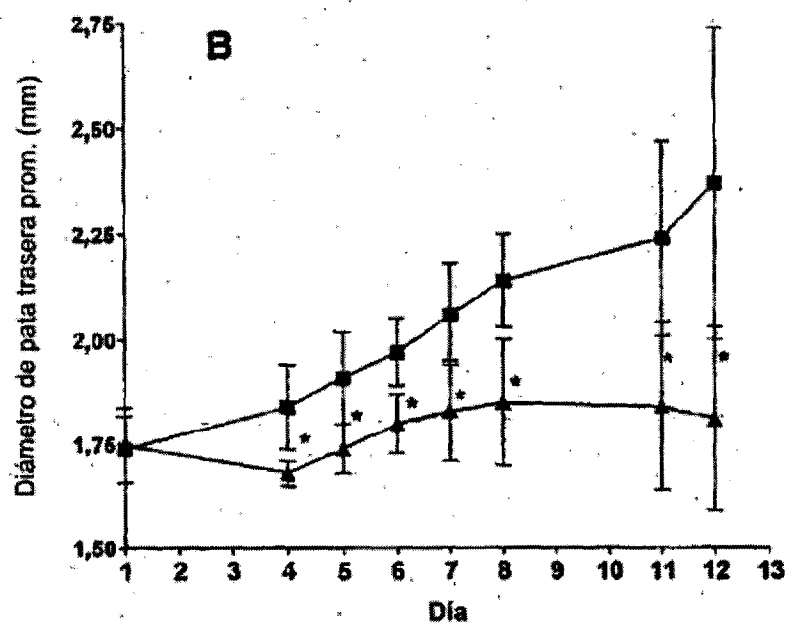
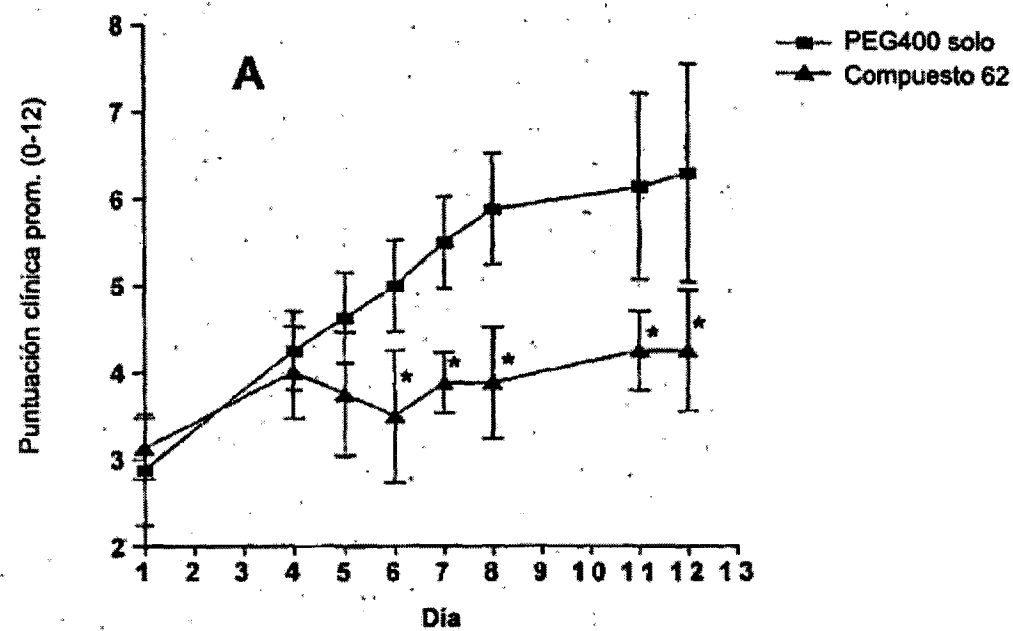




Figura 18

