

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 570 748**

51 Int. Cl.:

C07D 405/04 (2006.01)

A61K 31/4725 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.09.2011 E 11825285 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016 EP 2617720**

54 Título: **Nuevo análogo de cortistatina A y uso del mismo**

30 Prioridad:

17.09.2010 JP 2010209131

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

20.05.2016

73 Titular/es:

**OSAKA UNIVERSITY (100.0%)
1-1 Yamadaoka
Suita-shi, Osaka 565-0871, JP**

72 Inventor/es:

**KOBAYASHI, MOTOMASA;
KOTOKU, NAOYUKI;
ARAI, MASAYOSHI y
TAMURA, SATORU**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 570 748 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

Nuevo análogo de cortistatina A y uso del mismo

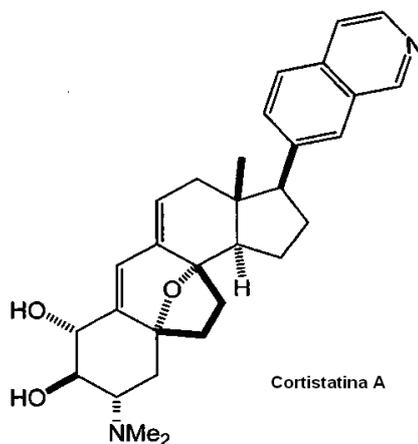
5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un nuevo análogo de cortistatina A y al uso del mismo. Más particularmente, la presente invención se refiere a un nuevo análogo de cortistatina A que es útil para la prevención o el tratamiento de cáncer en que el análogo tiene actividad antiproliferativa frente a células endoteliales vasculares y actividad antiangiogénica.

Antecedentes en la técnica

La lucha contra el cáncer es un gran reto para el ser humano. Para este fin, se han desarrollado activamente fármacos quimioterapéuticos para el cáncer, pero aún no se ha creado ningún fármaco que tenga efectos específicos sobre células cancerígenas. La angiogénesis es esencial en el cáncer para el crecimiento y la metástasis del cáncer sólido. El desarrollo de inhibidores de la angiogénesis para terapia de cáncer tiene una orientación diferente que el desarrollo de fármacos anticancerígenos convencionales basado en acciones directas sobre las células cancerígenas. Los inhibidores de la angiogénesis para la terapia del cáncer afectan al microentorno único que rodea a las células tumorales, y por lo tanto se espera que reduzcan el desarrollo de células cancerígenas resistentes a fármacos y mejoren la especificidad de los efectos sobre las células cancerígenas. Basándose en tal concepto, se han creado los siguientes fármacos: bevacizumab (nombre comercial: Avastin), un anticuerpo monoclonal que inhibe la unión de un factor proangiogénico VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) a su receptor; y sorafenib (nombre comercial: Nexavar) y sunitinib (nombre comercial: Sutent), que inhiben receptores de tirosina quinasa incluyendo el receptor de VEGF. Estos tres fármacos se usan clínicamente, pero tienen problemas en términos de indicación limitada, efectos secundarios, etc. Además, considerando que todos estos fármacos tienen el mismo mecanismo de acción relacionado con la inhibición de la transducción de señal de VEGF, es un problema bastante crucial crear nuevos compuestos farmacéuticos que sean diferentes en estructura química y mecanismo de acción a estos fármacos.

En tales circunstancias, los presentes inventores se han centrado en las células endoteliales vasculares, una pieza clave en la angiogénesis del cáncer, y han analizado sistemáticamente sustancias naturales que tienen actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares. Como resultado, los presentes inventores han descubierto que el extracto de metanol de *Corticium simplex*, una esponja marina de Indonesia, tiene actividad antiproliferativa específica frente a células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC). A continuación, con la orientación de bioensayos, los presentes inventores purificaron sustancias activas a partir del extracto de metanol, analizaron sus estructuras químicas, identificaron cuatro tipos de alcaloides esteroides modificados nuevos que tienen un resto oxabicyclo[3.2.1]octeno y una cadena lateral de isoquinolina, y denominaron a estos alcaloides esteroides cortistatinas. Los presentes inventores confirmaron que, en particular, la cortistatina A, que se representa mediante la siguiente fórmula, muestra una actividad antiproliferativa más de 3000 veces más fuerte frente a células HUVEC ($CI_{50} = 1,8 \text{ nM}$) que frente a otras células cancerígenas, e inhibe la migración y la tubulogénesis de células HUVEC, que se consideran como indicadores esenciales de angiogénesis; y además, demostraron que el mecanismo de tales acciones no está relacionado con la inhibición de la transducción de señal de VEGF (véase la Literatura de No Patente 1 a 3).



Sin embargo, las cortistatinas se pueden obtener solo en pequeñas cantidades a partir de fuentes naturales, y la producción industrial de cortistatinas mediante síntesis química es difícil debido a sus complicadas estructuras químicas. Por lo tanto, se desean nuevos análogos de cortistatina que se puedan producir en masa.

Los análogos conocidos de cortistatina A incluyen, por ejemplo, los que se describen en la Literatura de Patente 1 a 3. Sin embargo, estos análogos tienen una estructura química tan complicada como la de la cortistatina A y requieren múltiples etapas para su síntesis, y de ese modo no son adecuados para la producción industrial en masa.

5 **Lista de referencias**

Literatura de Patente

- 10 Literatura de Patente 1: WO 2010/024930
 Literatura de Patente 2: WO 2009/137337
 Literatura de Patente 3: WO 2009/137335

Literatura de No Patente

- 15 Literatura de No Patente 1:
 Aoki, S., *et al.* J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 3148-3149.
- 20 Literatura de No Patente 2:
 Aoki, S., *et al.* Tetrahedron Lett. 2007, 48, 4485-4488.
- Literatura de No Patente 3:
 25 Aoki, S., *et al.* Bioorg. Med. Chem. 2007, 15, 6758-6762.

Sumario de la invención

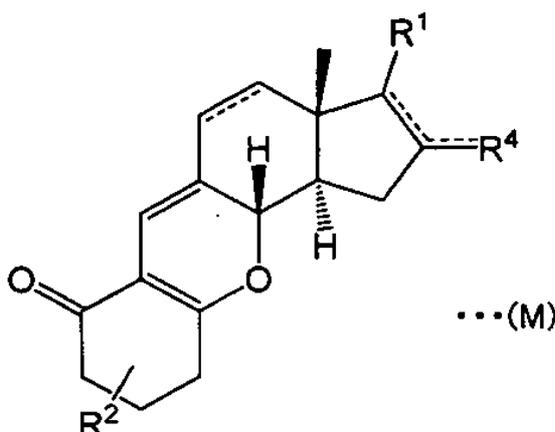
Problema técnico

- 30 Un objetivo de la presente invención es proporcionar un análogo de cortistatina A que se pueda producir en masa mediante síntesis química debido a su estructura química sencilla y retenga las mismas actividades biológicas que las de la cortistatina A; y proporcionar un medicamento para la prevención o el tratamiento de cáncer que comprenda el análogo de cortistatina A como ingrediente activo.

Solución al problema

La presente invención incluye lo siguiente como solución a los problemas mencionados anteriormente.

- 40 (1) Un compuesto representado por la fórmula general (M):



en la que

- 45 R¹ representa un grupo heterocíclico aromático sustituido o sin sustituir seleccionado entre el grupo que consiste en un grupo piridilo, un grupo furilo, un grupo tienilo, un grupo indolilo, un grupo quinolilo, un grupo isoquinolilo, un grupo benzofuranilo, un grupo benzotienilo, un grupo imidazolilo, un grupo benzoimidazolilo, un grupo tiazolilo, un grupo oxazolilo, un grupo pirazolilo, un grupo pirimidilo, un grupo pirazinilo, un grupo isoxazolilo, un grupo isoindolilo y un grupo pirrolilo,
- 50 R² representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo sustituido o sin sustituir que tiene de 1 a 3 átomos de

carbono, OR^3 , $N(R^3)_2$, $C(=O)OR^3$ o $C(=O)N(R^3)_2$,

R^3 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

R^4 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de oxígeno u OR^5 ,

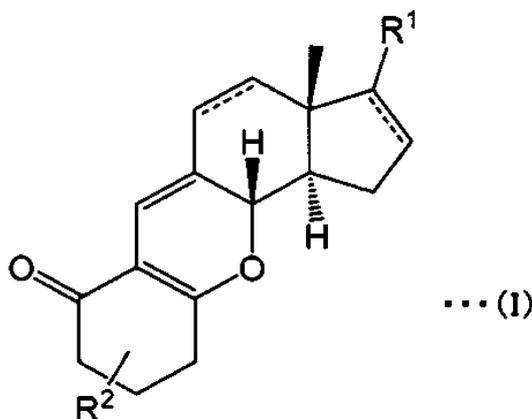
5 R^5 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono, o un grupo acilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono, y

un sustituyente del grupo heterocíclico aromático sustituido o del grupo alquilo sustituido se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en un átomo de flúor, un átomo de cloro, un grupo ciano, un grupo hidroxilo, un grupo nitro, un grupo alquilo, un grupo cicloalquilo, un grupo alcoxi, un grupo amino, un grupo fenilo, un grupo naftilo, un grupo antrilo, un grupo estirilo, un grupo piridilo, un grupo piridoindolilo, un grupo quinolilo y un grupo benzotiazolilo; o

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

(2) El compuesto de acuerdo con el apartado anterior (1), que está representado por la fórmula general (I):

15



en la que R^1 y R^2 son como se han definido en el apartado anterior (1); o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

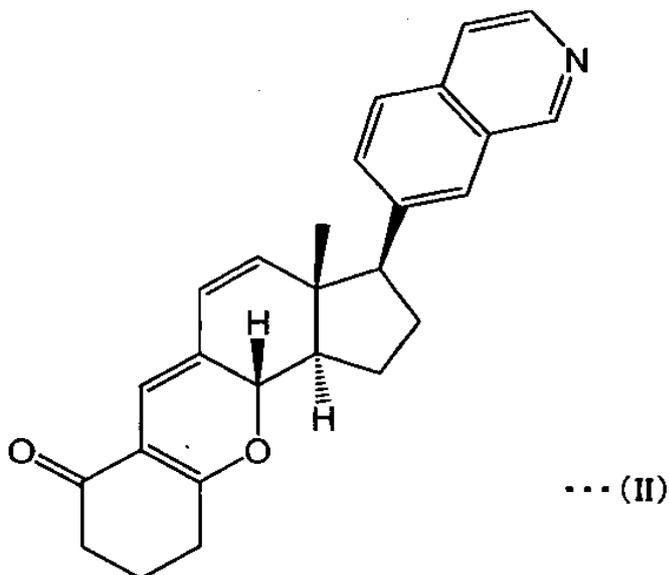
20

(3) El compuesto de acuerdo con el apartado anterior (1) o (2), en el que R^1 es un grupo piridilo, un grupo quinolilo o un grupo isoquinolilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

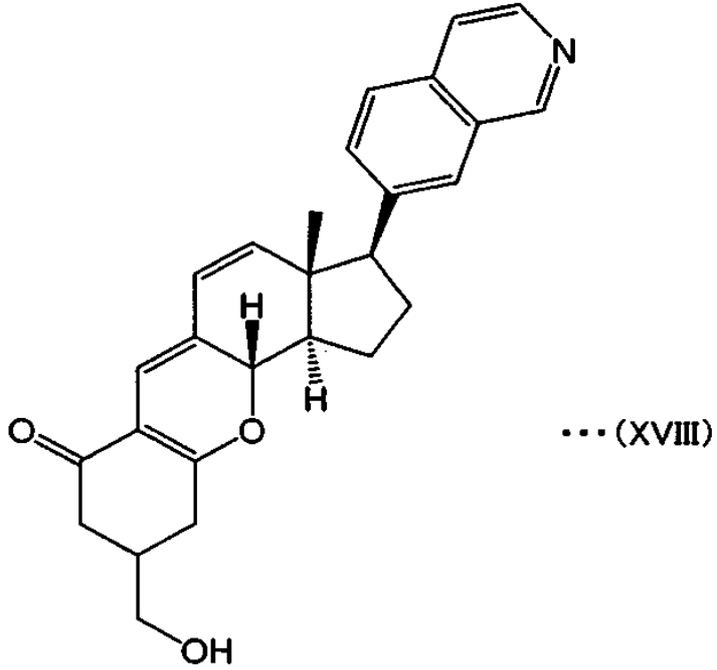
(4) El compuesto de acuerdo con el apartado anterior (3), que está representado por la

la Fórmula (II):

25

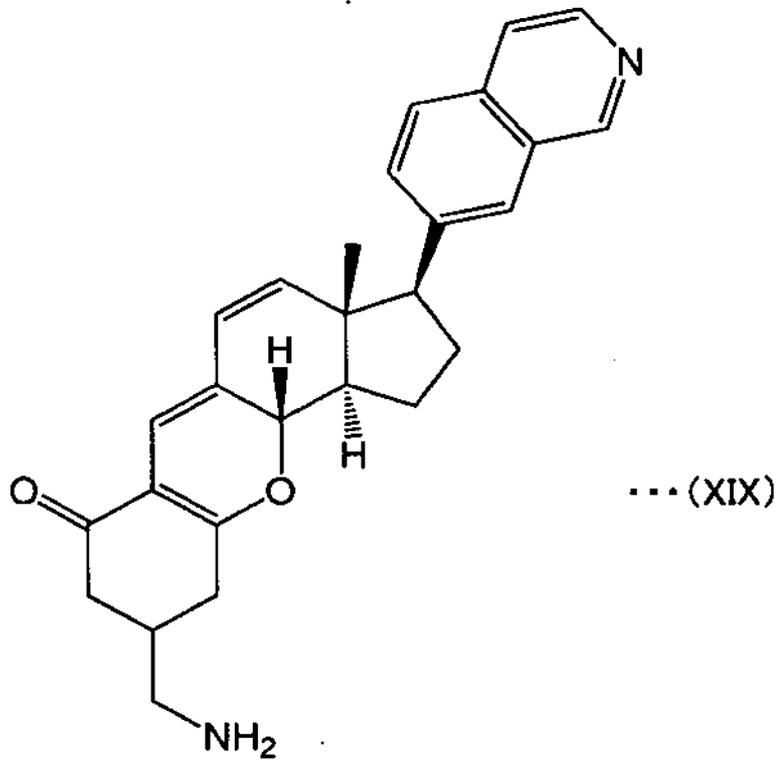


la Fórmula (XVIII):

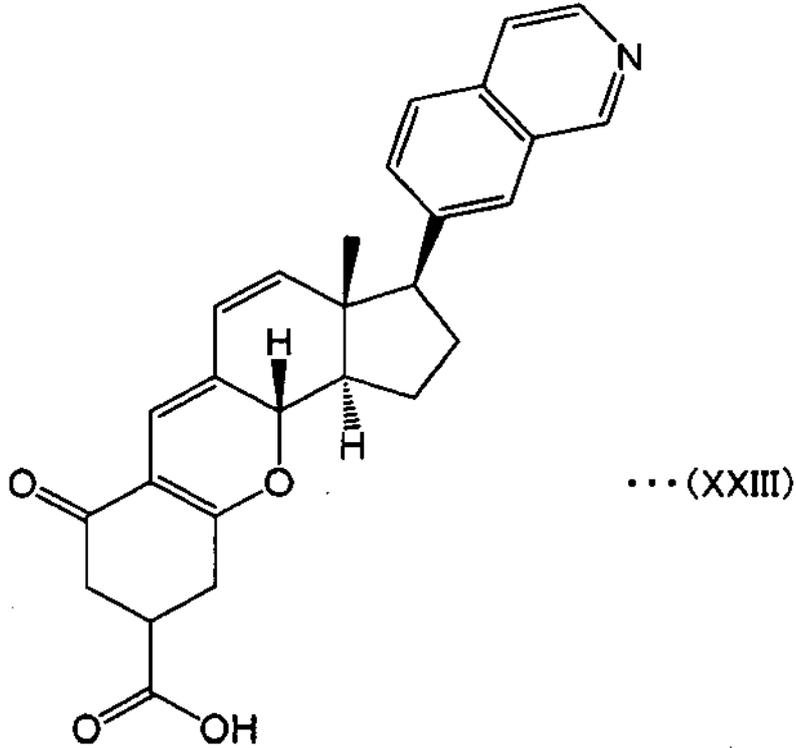


5

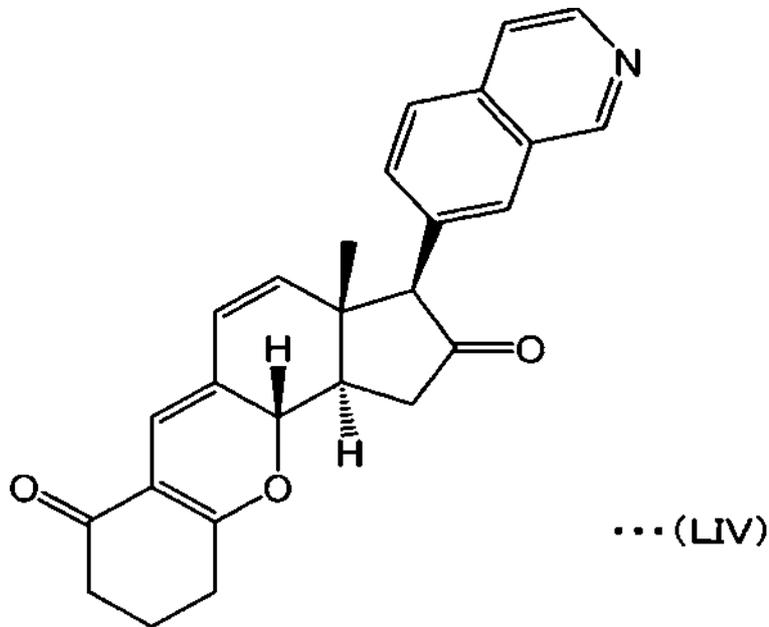
la Fórmula (XIX):



la Fórmula (XXIII):



5 la Fórmula (LIV):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 10 (5) Una composición farmacéutica, que comprende el compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los apartados anteriores (1) a (4) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- (6) Un inhibidor del crecimiento de células endoteliales vasculares, que comprende el compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los apartados anteriores (1) a (4) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.
- 15 (7) Un inhibidor de angiogénesis, que comprende el compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los apartados anteriores (1) a (4) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.

(8) Un medicamento para la prevención o el tratamiento de cáncer, que comprende el compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los apartados anteriores (1) a (4) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.

(9) El medicamento de acuerdo con el apartado anterior (8), que se puede usar en combinación con un fármaco quimioterapéutico, un fármaco inmunoterapéutico o un fármaco de terapia hormonal.

(10) Medicamento de acuerdo con el apartado anterior (8), que se puede usar en combinación con radioterapia.

(11) Uso del compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los apartados anteriores (1) a (4) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la producción de medicamentos para la prevención o el tratamiento de cáncer.

(12) El compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los apartados anteriores (1) a (4) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer.

Efectos ventajosos de la invención

El compuesto representado por la fórmula general (M) o (I) de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tiene una estructura química más sencilla que la de la cortistatina A, y por lo tanto se puede producir en masa mediante síntesis química. El compuesto representado por la fórmula general (M) o (I) de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo retiene las mismas actividades biológicas que las de la cortistatina A, en concreto, actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares y actividad antiangiogénica, y por lo tanto es útil como ingrediente activo de medicamentos para la prevención o el tratamiento de cáncer.

Descripción de las figuras

La Figura 1 muestra el esquema de síntesis del compuesto representado por la fórmula (II) (CA-1).

La Figura 2 muestra imágenes de los sitios de inyección de Matrigel en ratones representativos de todos los grupos diferentes en el ensayo para la actividad antiangiogénica *in vivo* después de administración intraperitoneal del compuesto representado por la fórmula (II) (CA-1).

La Figura 3 muestra un gráfico que representa la cantidad medida de hemoglobina acumulada en la zona inyectada por vía subcutánea con Matrigel en los ratones en el ensayo para la actividad angiogénica *in vivo* después de administración intraperitoneal del compuesto representado por la fórmula (II) (CA-1).

La Figura 4 muestra una imagen para la comparación del tamaño de los tumores aislados de los ratones de todos los grupos en el ensayo para la actividad antitumoral en un modelo de trasplante de células cancerígenas de ratón después de administración intraperitoneal del compuesto representado por la fórmula (II) (CA-1).

La Figura 5 muestra un gráfico que representa los resultados de la medida del peso del tumor en el ensayo para la actividad antitumoral en un modelo de trasplante de células cancerígenas de ratón después de administración intraperitoneal del compuesto representado por la fórmula (II) (CA-1).

La Figura 6 muestra los esquemas de síntesis de los compuestos representados por las fórmulas (XVIII), (XIX) y (XXIII) (CA-2, CA-3 y CA-4).

La Figura 7 muestra el esquema de síntesis del compuesto representado por la fórmula (LIV) (CA-5).

La Figura 8 muestra los resultados de la evaluación del compuesto representado por la fórmula (II) (CA-1) en el ensayo para la actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares.

La Figura 9 muestra los resultados de la evaluación del compuesto representado por la fórmula (XVIII) (CA-2) en el ensayo para la actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares.

La Figura 10 muestra los resultados de la evaluación del compuesto representado por la fórmula (XIX) (CA-3) en el ensayo para la actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares.

La Figura 11 muestra los resultados de la evaluación del compuesto representado por la fórmula (XXIII) (CA-4) en el ensayo para la actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares.

La Figura 12 muestra los resultados de la evaluación del compuesto representado por la fórmula (LIV) (CA-5) en el ensayo para la actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares.

La Figura 13 muestra imágenes de los sitios de inyección de Matrigel en ratones representativos de todos los grupos diferentes en el ensayo para la actividad antiangiogénica *in vivo* después de la administración oral del compuesto representado por la fórmula (II) (CA-1).

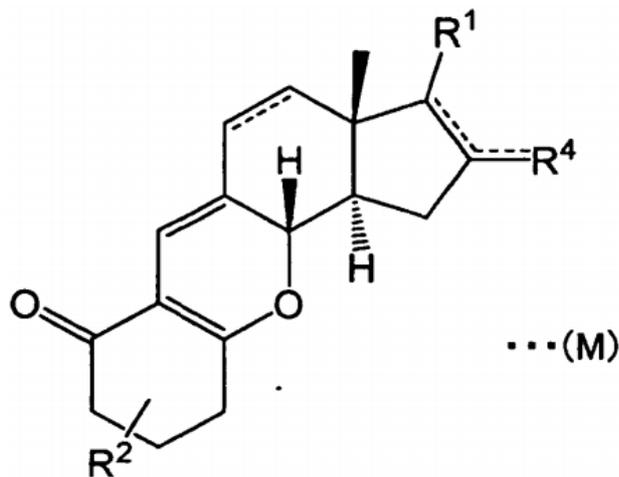
La Figura 14 muestra un gráfico que representa la cantidad medida de hemoglobina acumulada en las zonas inyectadas por vía subcutánea con Matrigel en ratones en el ensayo para la actividad antiangiogénica *in vivo* después de la administración oral del compuesto representado por la fórmula (II) (CA-1).

La Figura 15 muestra una imagen para la comparación del tamaño de los tumores aislados de los ratones de todos los grupos en el ensayo para la actividad antitumoral en un modelo de trasplante de células cancerígenas de ratón después de la administración oral del compuesto representado por la fórmula (II) (CA-1).

La Figura 16 muestra un gráfico que representa los resultados de la medida del peso del tumor en el ensayo para la actividad antitumoral en un modelo de trasplante de células cancerígenas de ratón después de administración oral del compuesto representado por la fórmula (II) (CA-1).

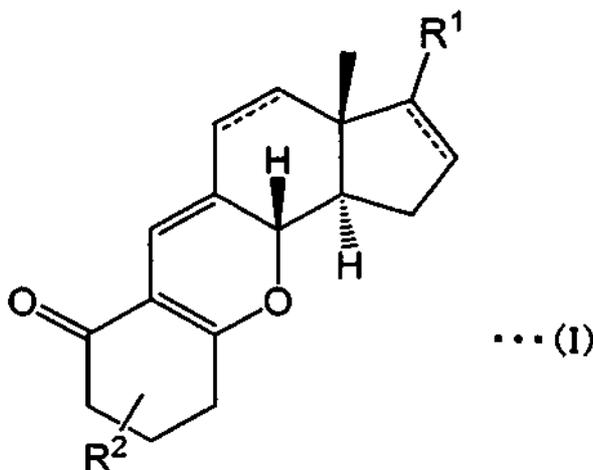
Descripción de realizaciones

La presente invención proporciona un compuesto representado por la fórmula general (M):



5 en la que R¹, R² y R⁴ son como se han definido anteriormente;
o
una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención también proporciona un compuesto representado por la fórmula general (I):



10 en la que R¹ y R² son como se han definido para la fórmula general (M); o
una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

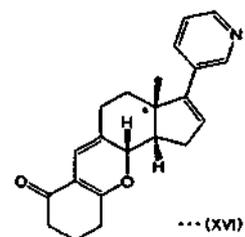
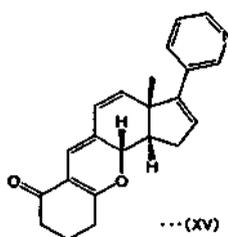
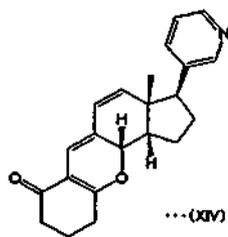
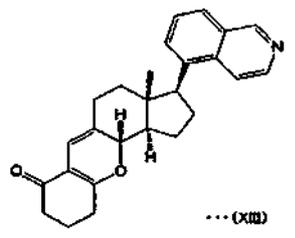
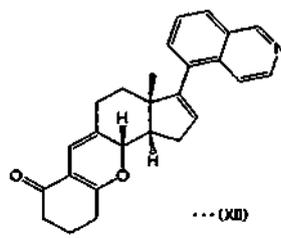
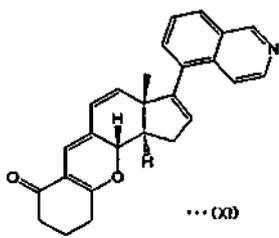
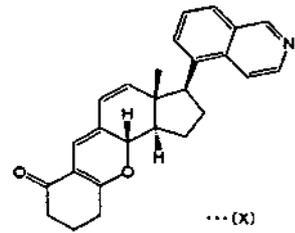
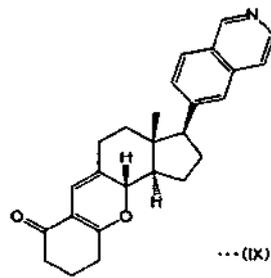
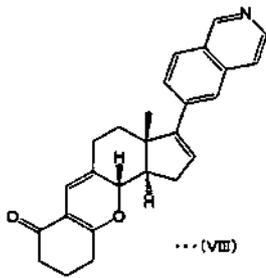
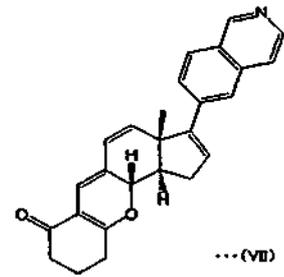
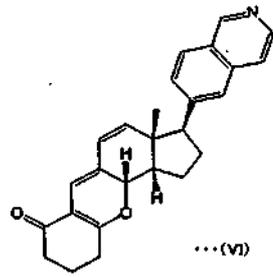
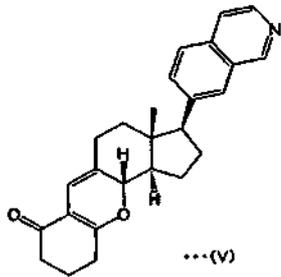
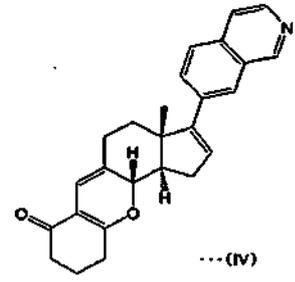
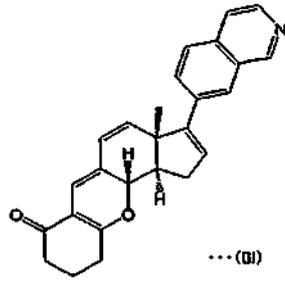
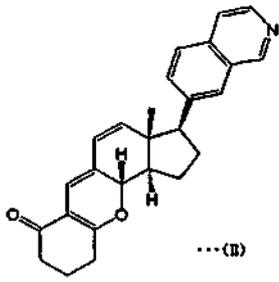
15 En cuanto a R¹, el "grupo heterocíclico aromático sustituido o sin sustituir" preferente es un grupo piridilo, un grupo quinolilo o un grupo isoquinolilo, y es más preferente un grupo 7-isoquinolilo.

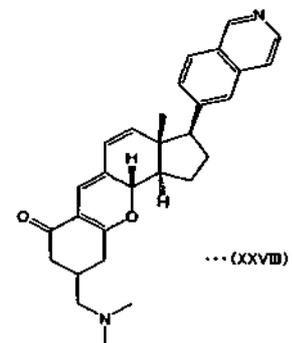
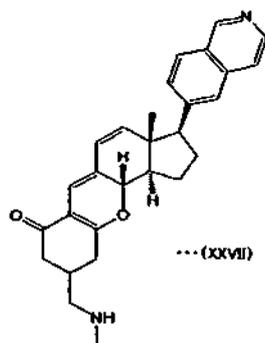
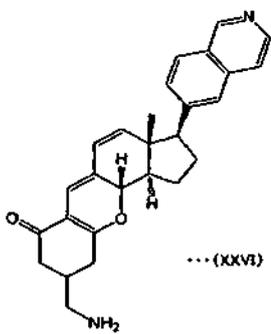
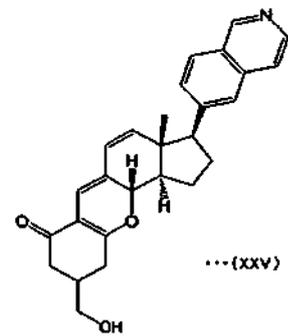
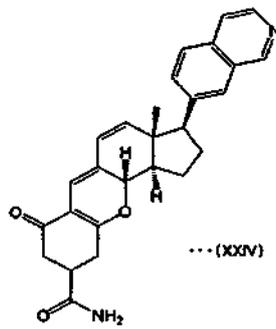
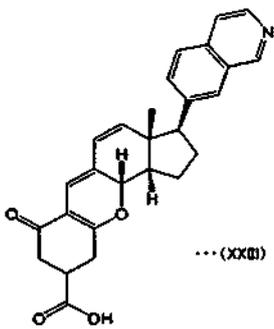
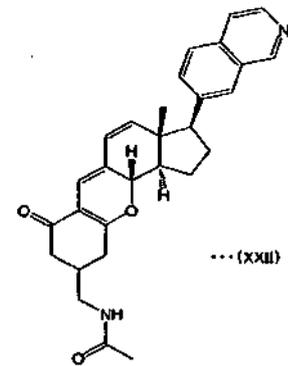
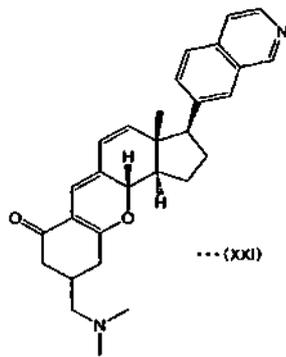
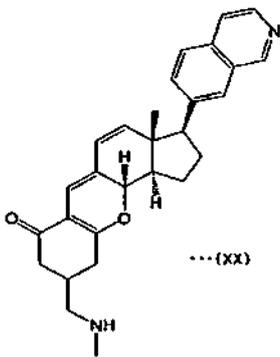
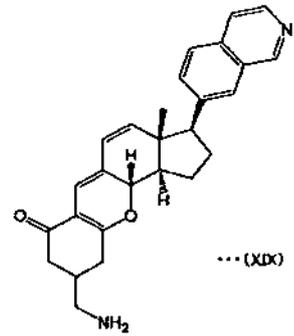
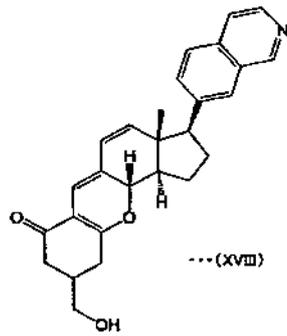
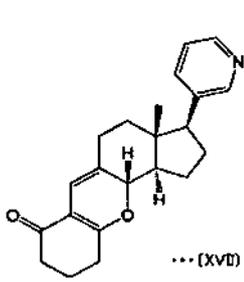
20 En cuanto a R², el "grupo alquilo sustituido o sin sustituir que tiene de 1 a 3 átomos de carbono" es, por ejemplo, un grupo metilo, etilo, n-propilo o isopropilo que tiene opcionalmente uno o más sustituyentes.

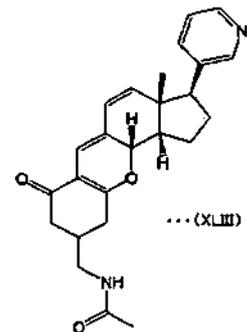
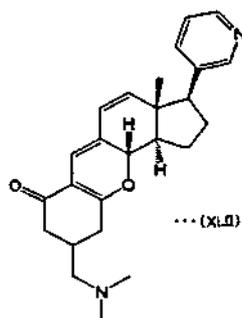
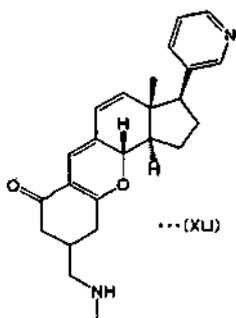
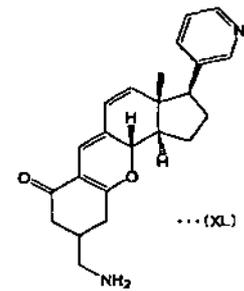
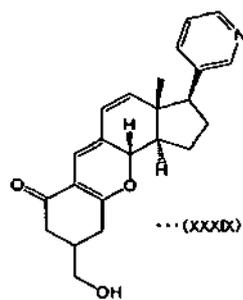
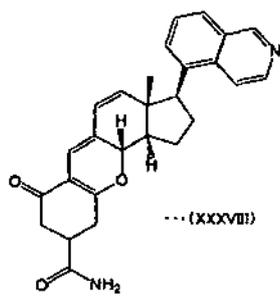
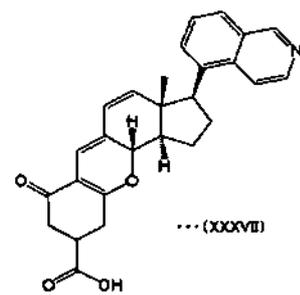
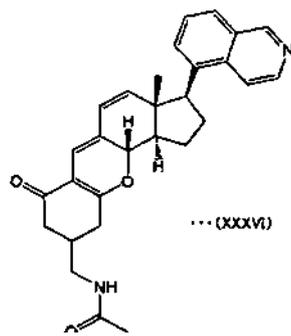
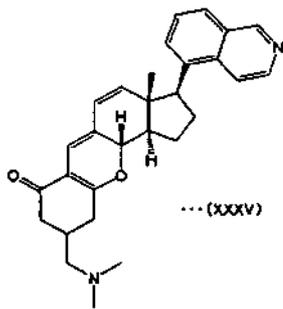
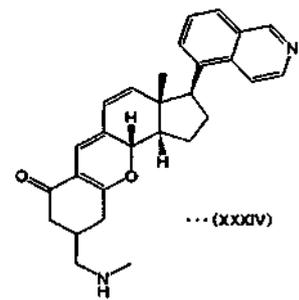
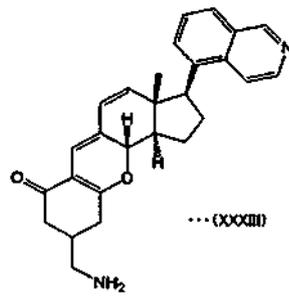
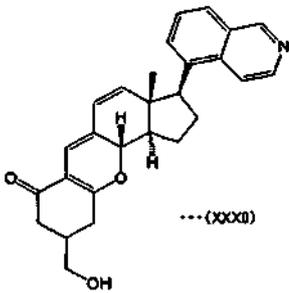
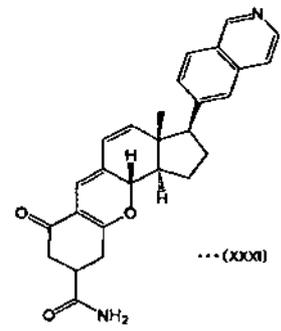
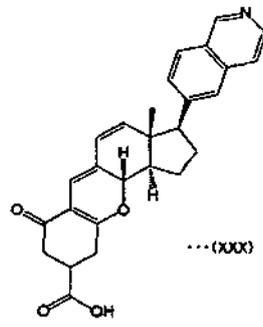
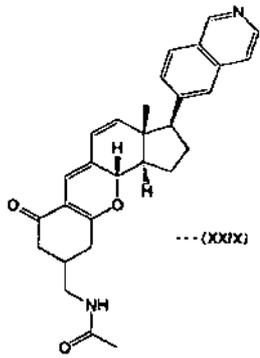
25 En cuanto a R³, algunos ejemplos del "grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono" incluyen un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo, un grupo isopropilo, un grupo n-butilo, un grupo isobutilo, un grupo sec-butilo y un grupo terc-butilo; y algunos ejemplos del "grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono" incluyen un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo propionilo y un grupo butirilo.

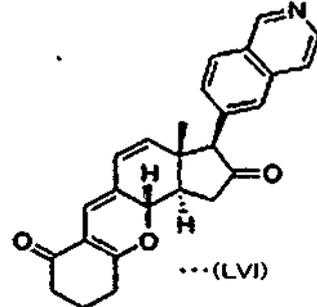
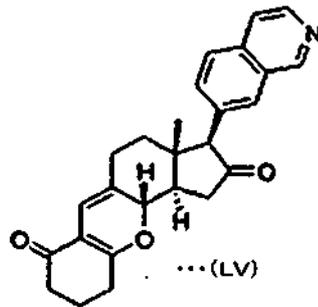
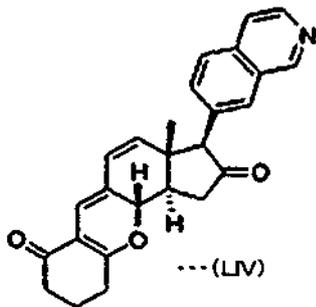
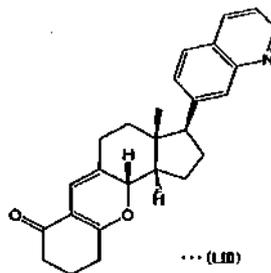
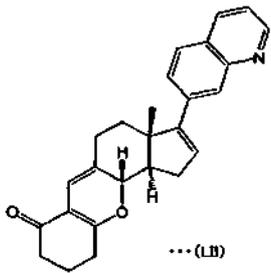
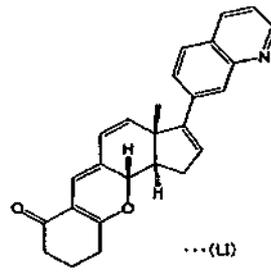
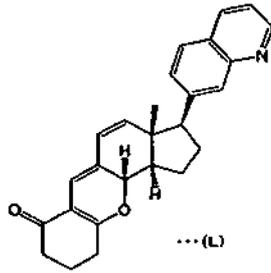
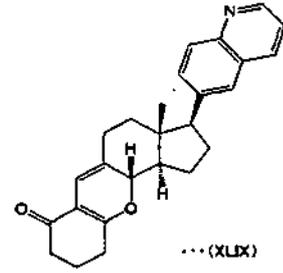
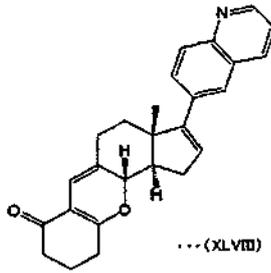
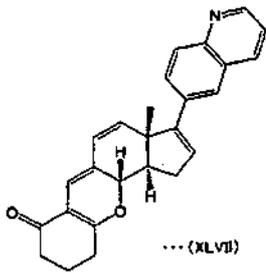
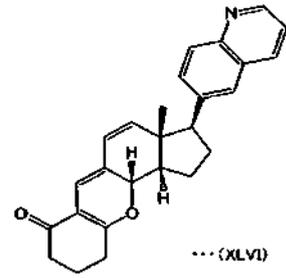
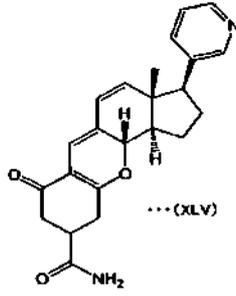
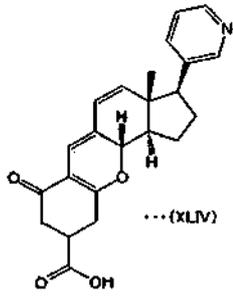
En cuanto a R⁵, algunos ejemplos del "grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono" incluyen un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo y un grupo isopropilo; y algunos ejemplos del "grupo acilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono" incluyen un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo propionilo y un grupo malonilo.

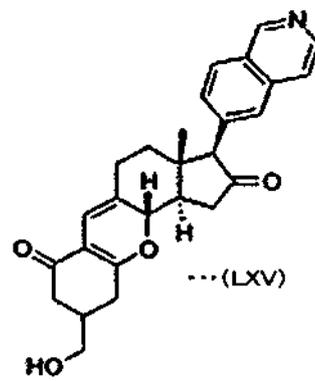
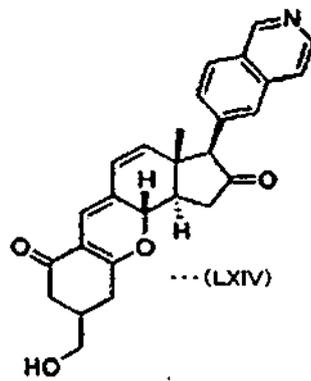
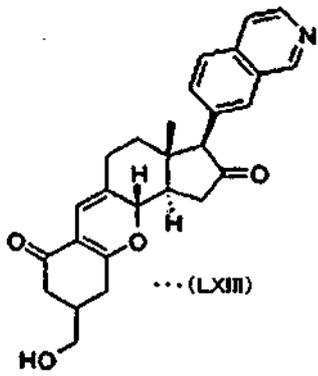
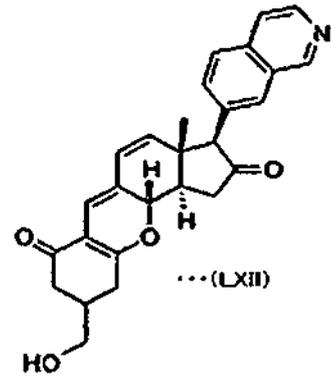
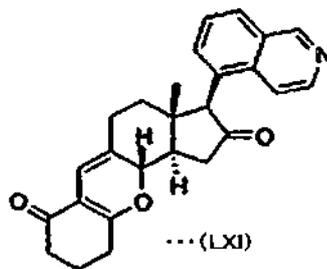
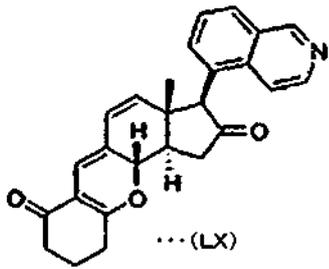
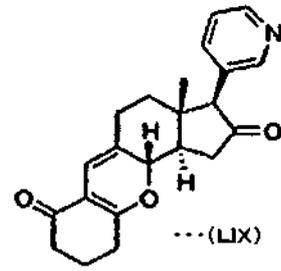
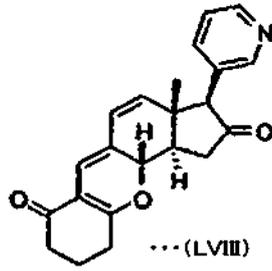
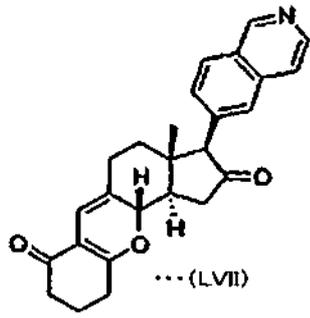
30 Algunos ejemplos del compuesto representado por la fórmula general (M) o (I) de la presente invención incluyen los siguientes compuestos (II) a (CCXIVV).

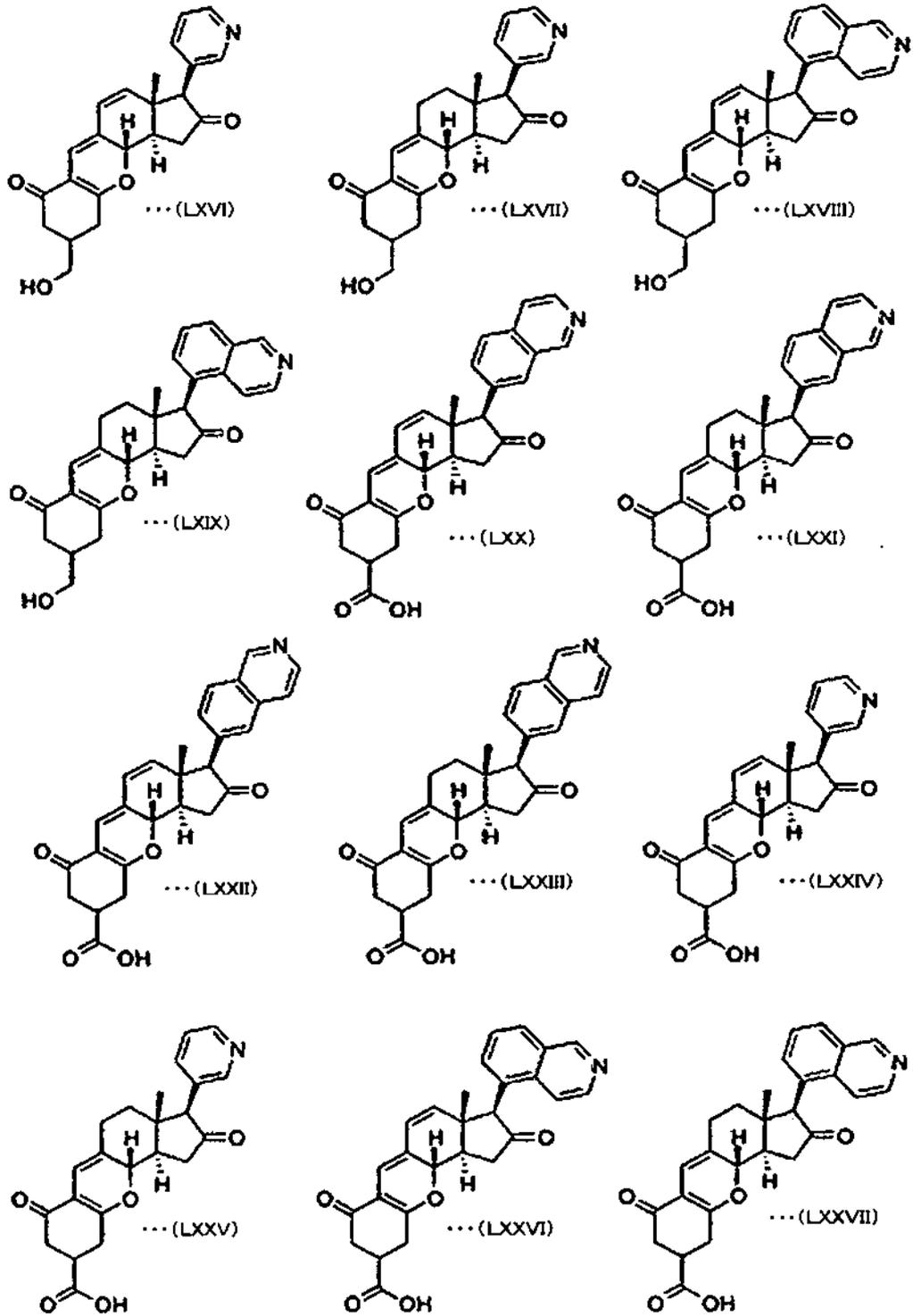


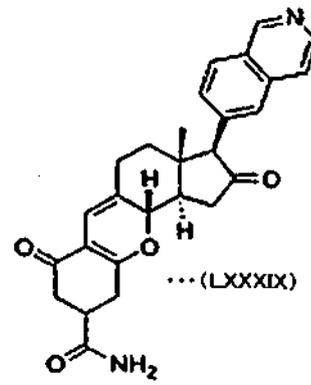
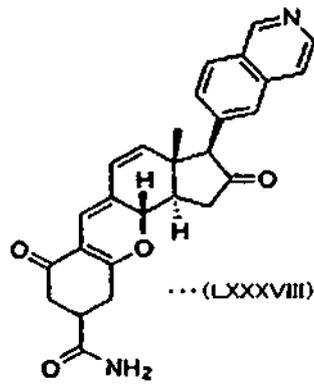
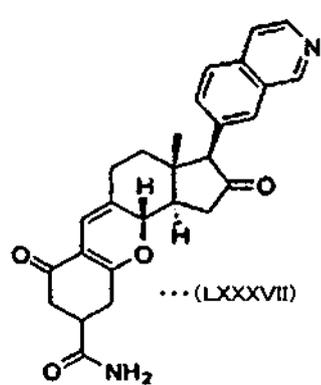
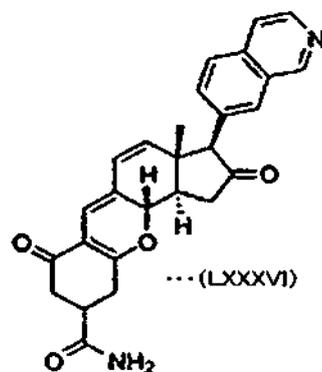
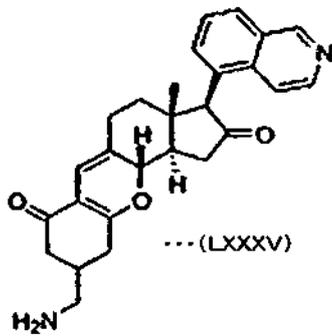
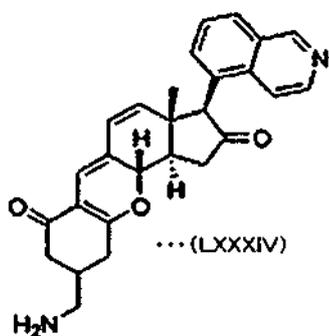
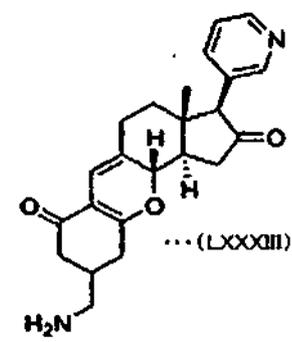
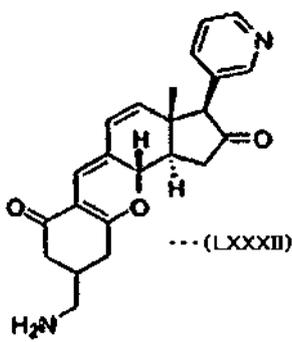
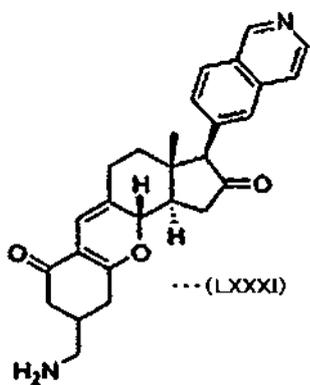
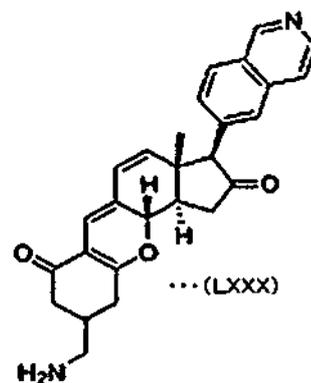
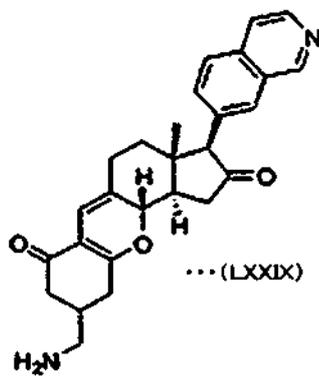
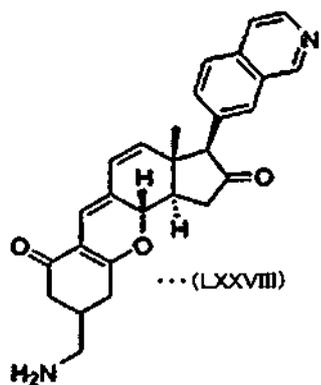


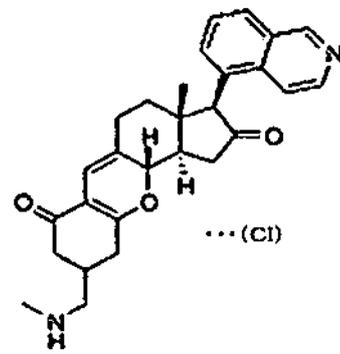
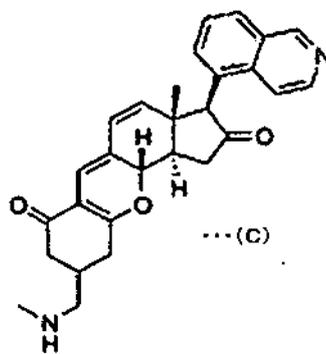
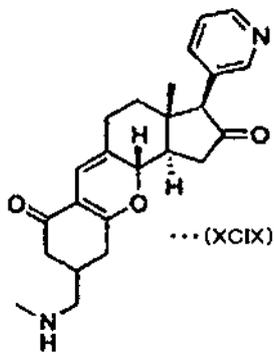
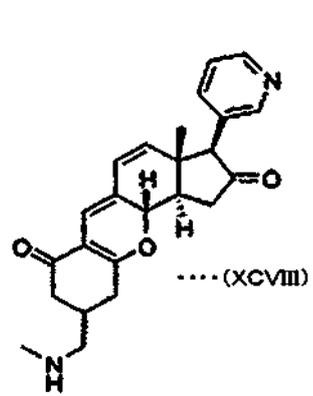
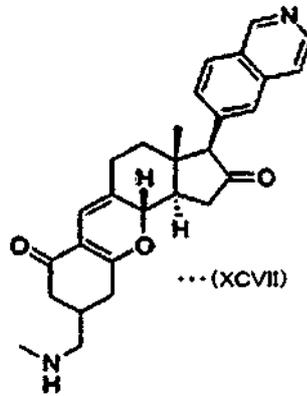
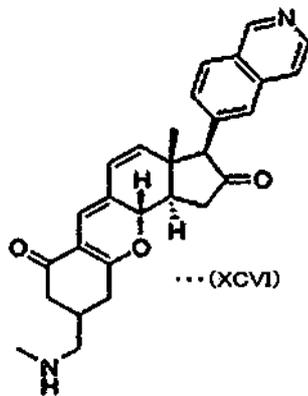
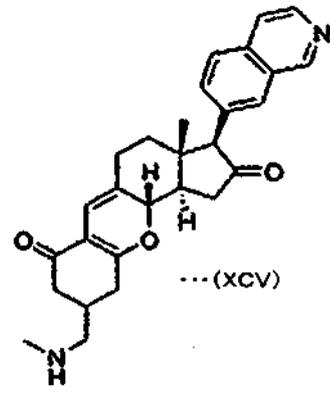
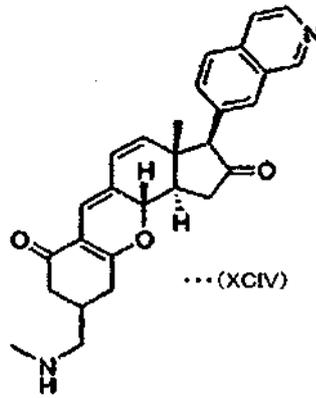
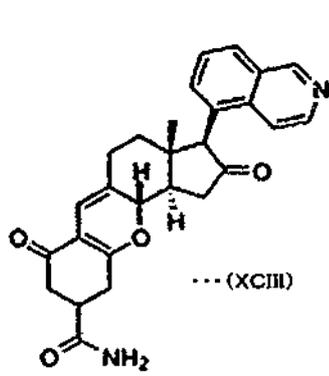
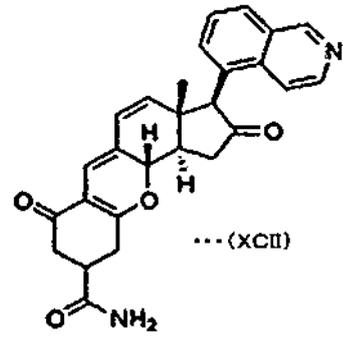
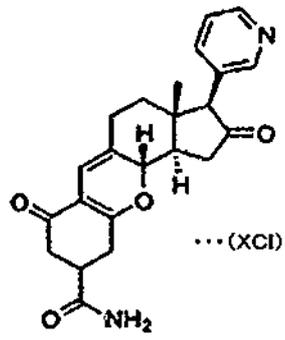
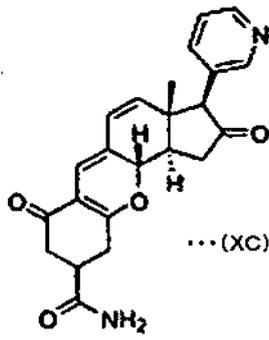


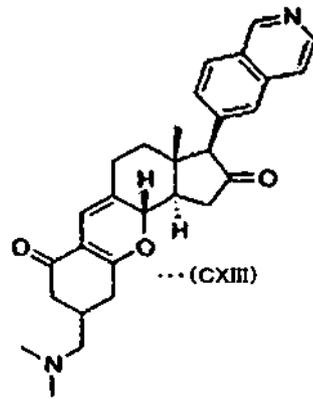
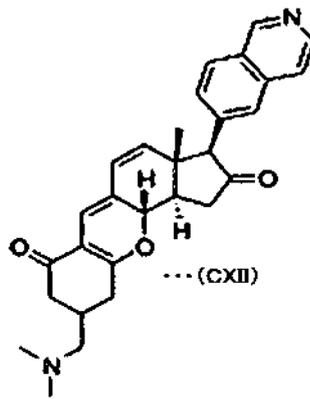
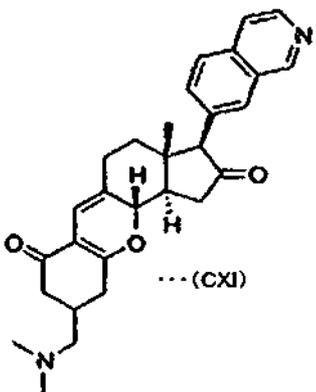
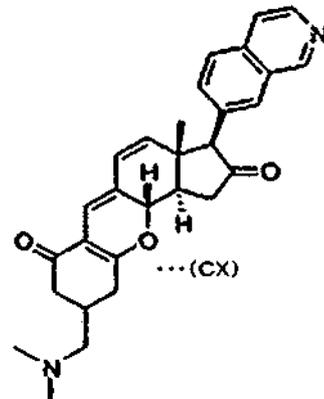
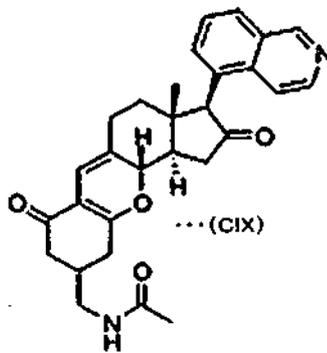
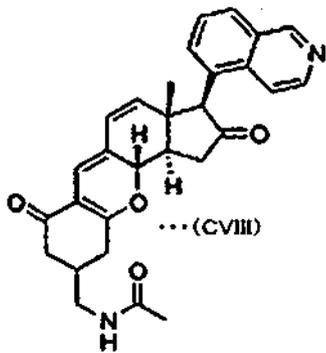
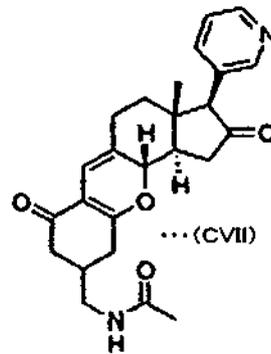
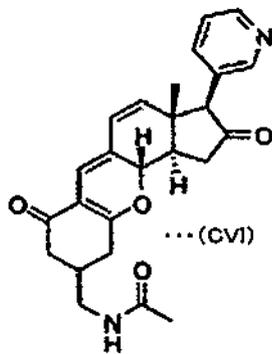
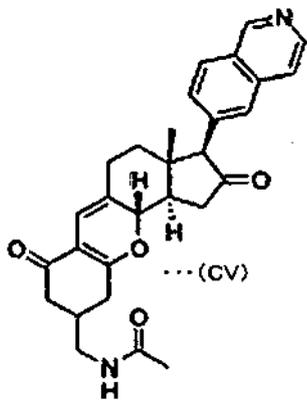
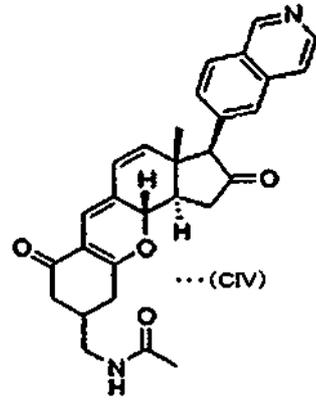
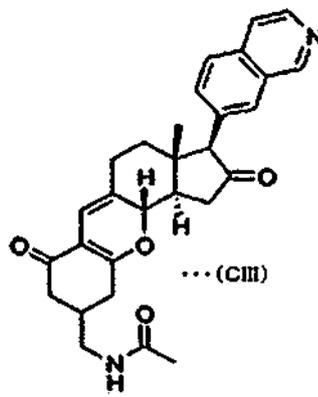
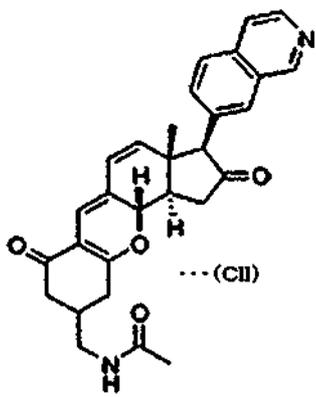


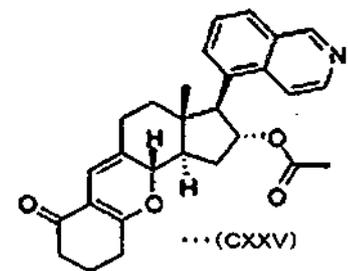
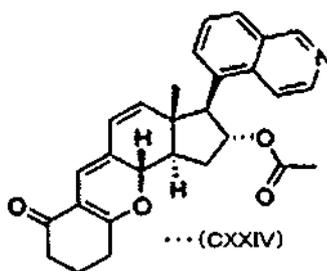
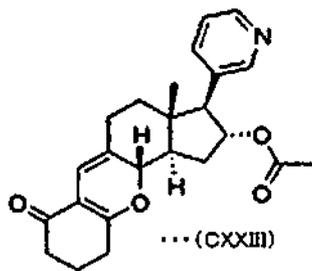
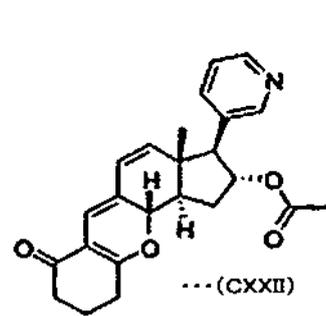
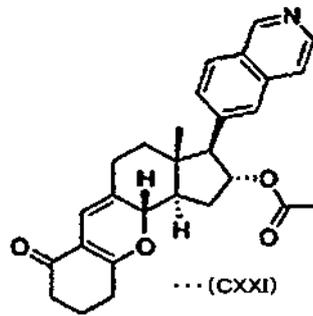
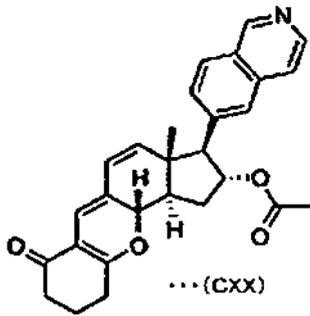
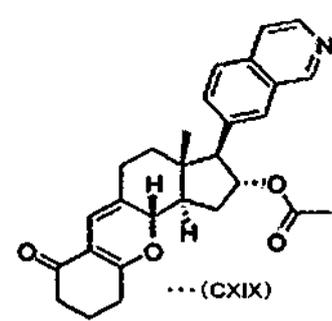
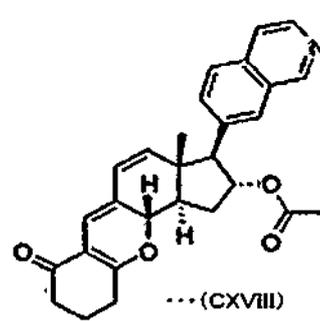
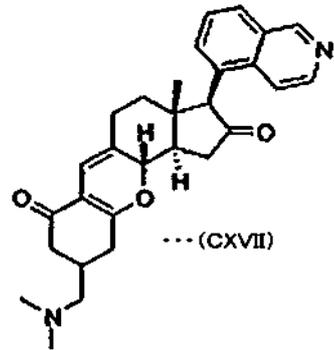
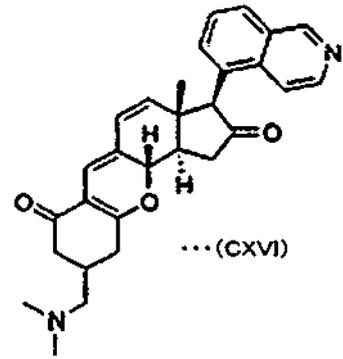
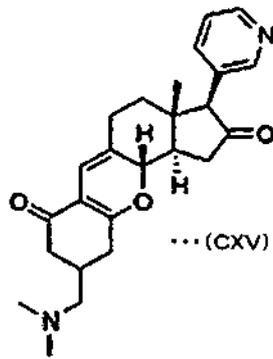
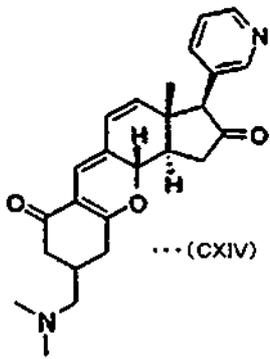


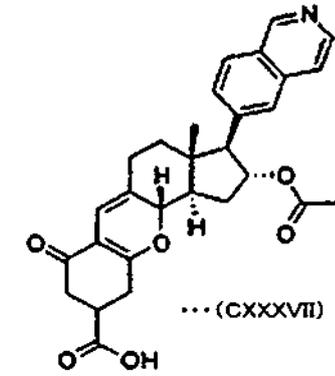
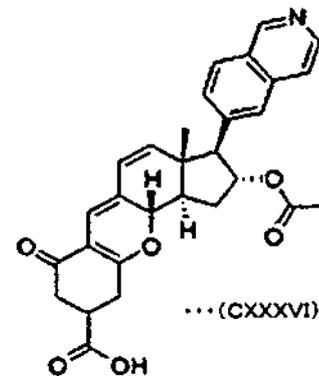
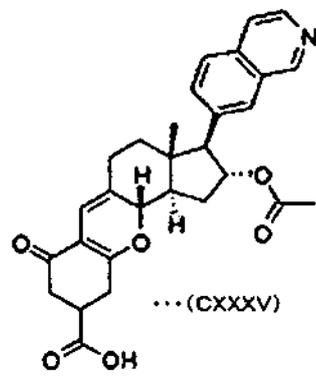
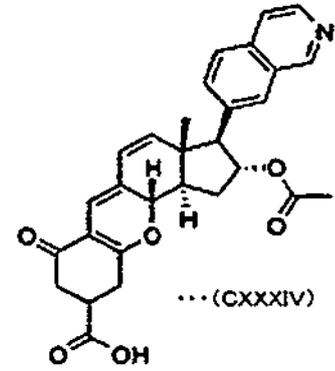
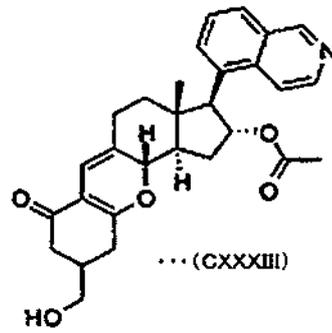
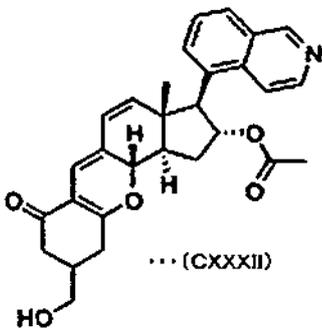
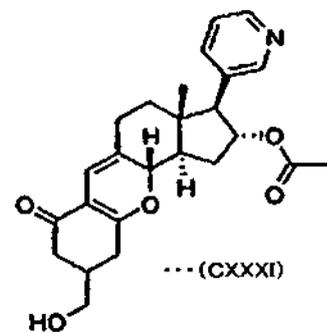
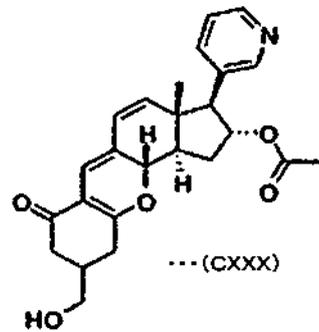
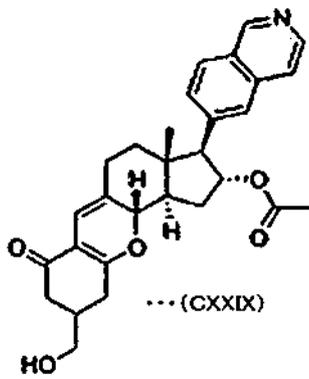
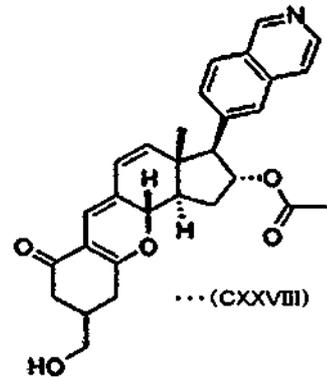
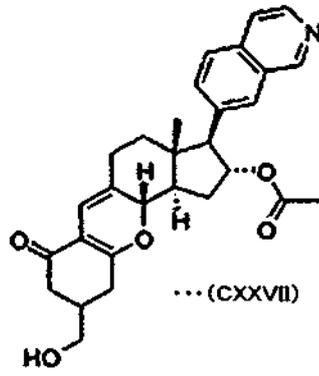
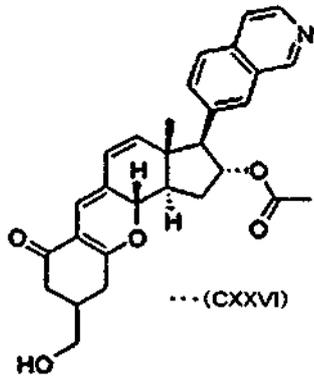


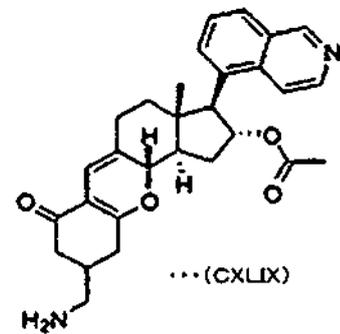
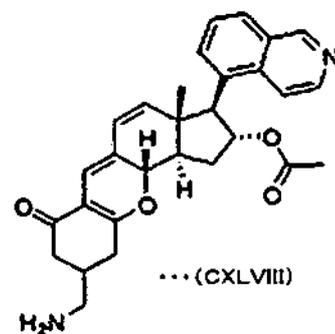
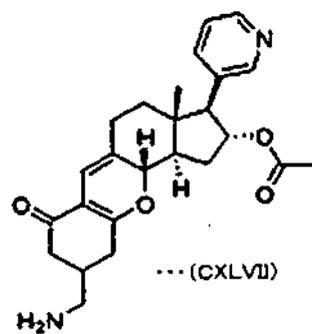
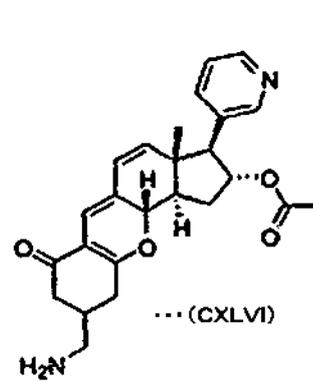
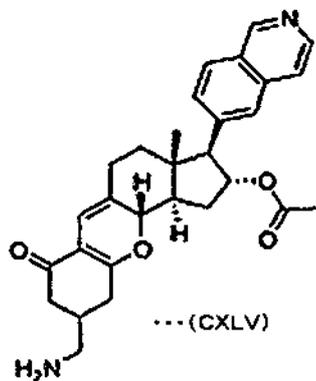
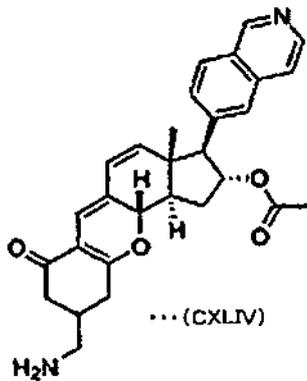
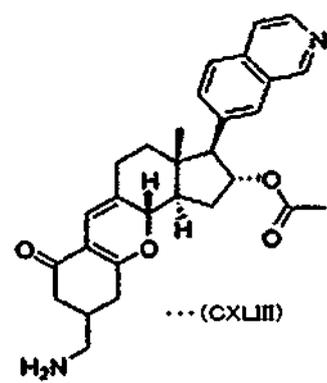
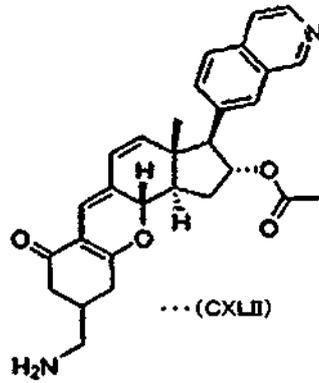
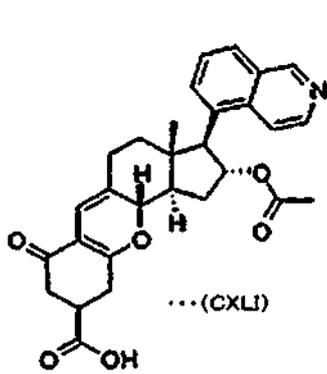
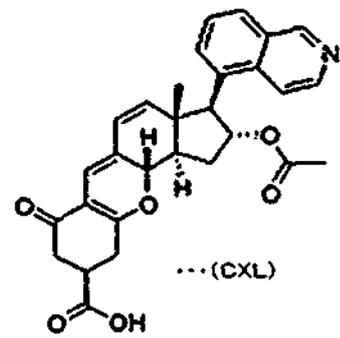
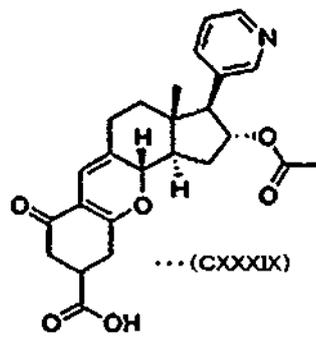
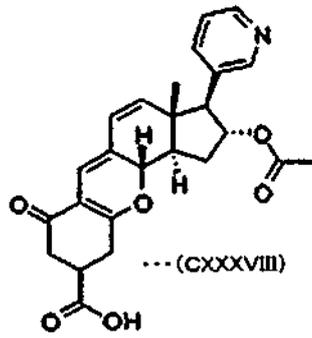


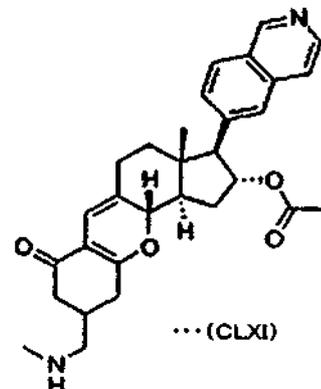
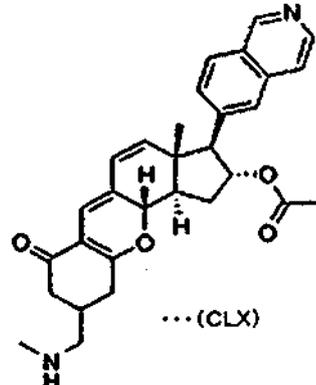
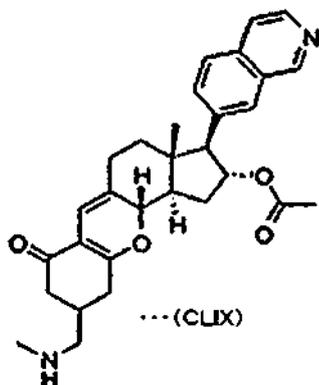
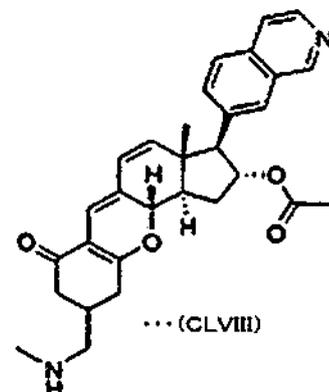
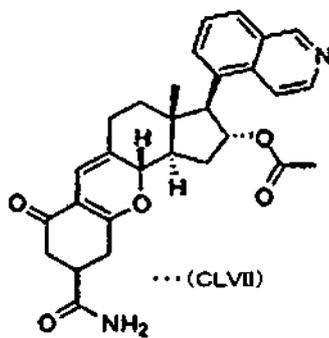
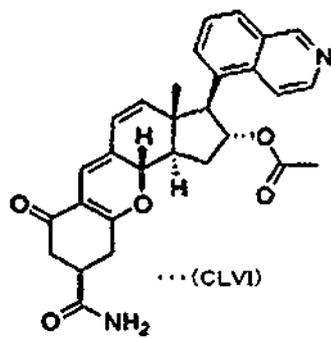
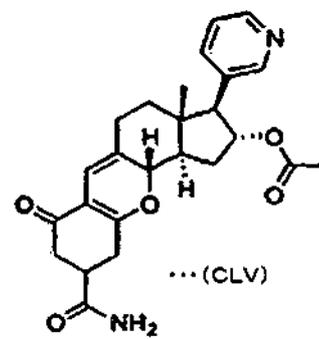
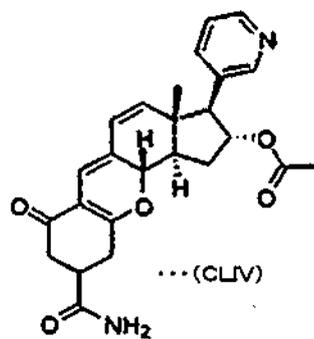
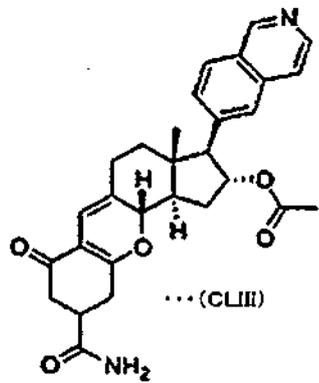
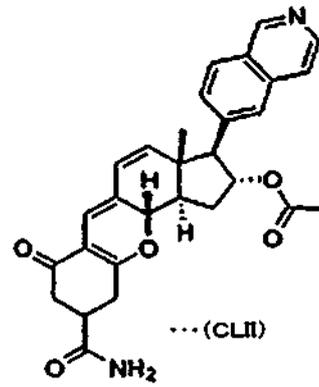
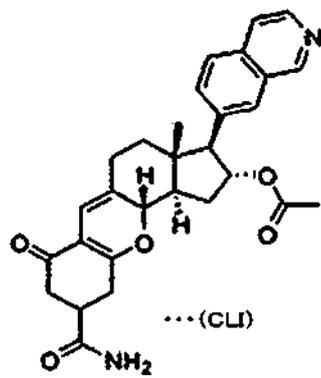
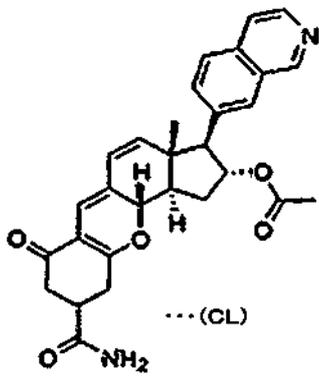


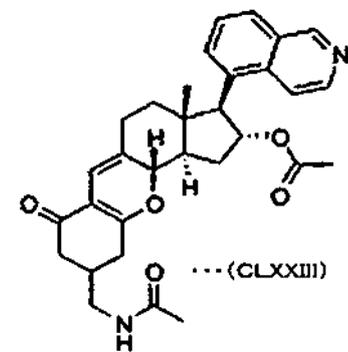
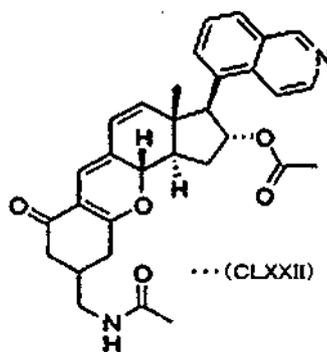
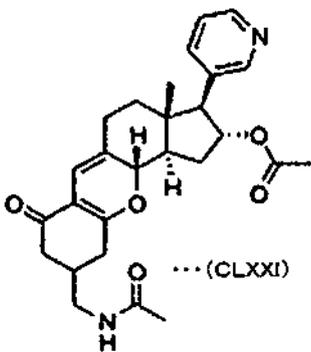
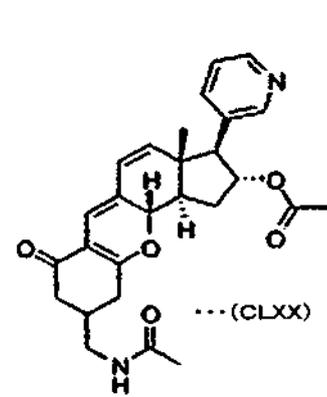
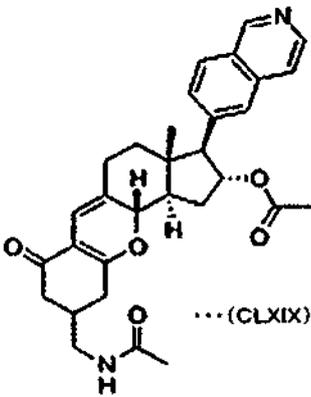
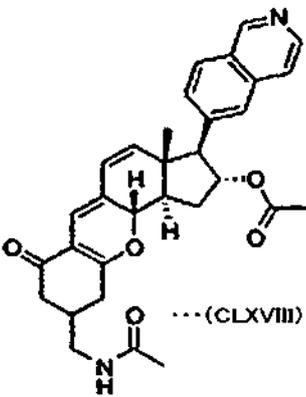
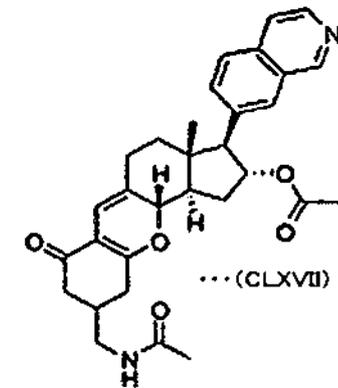
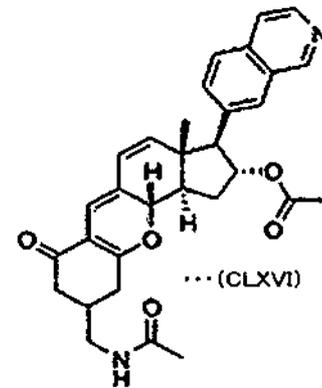
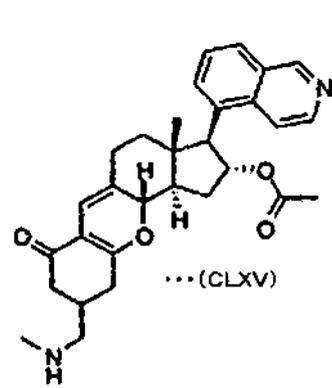
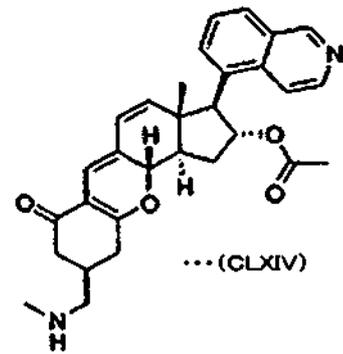
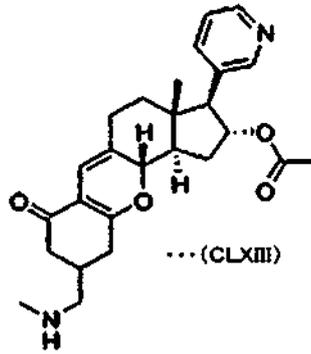
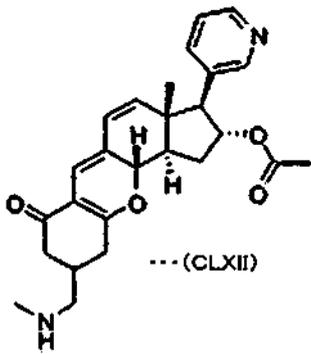


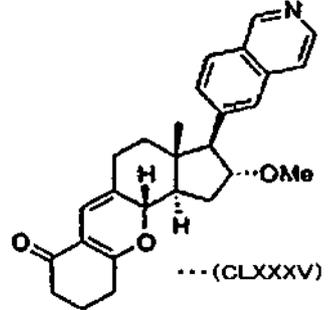
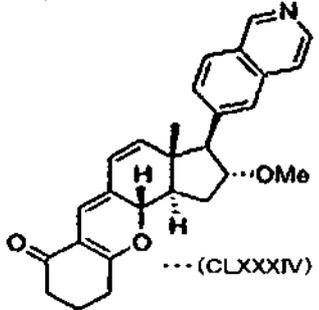
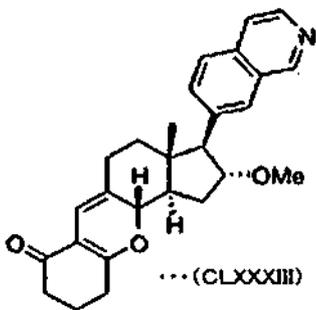
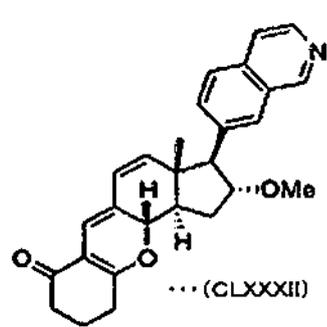
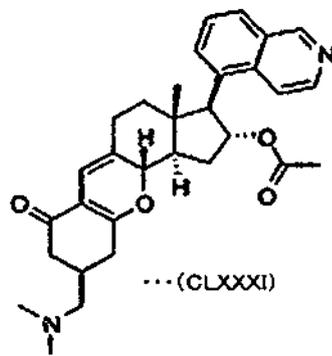
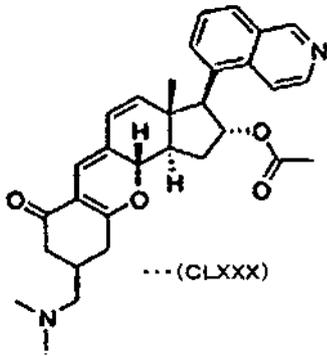
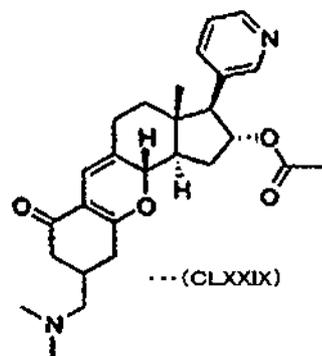
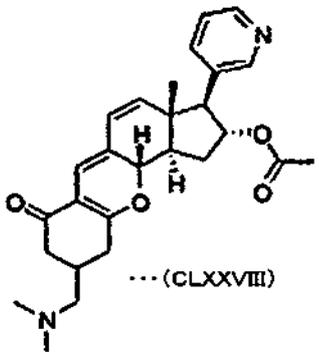
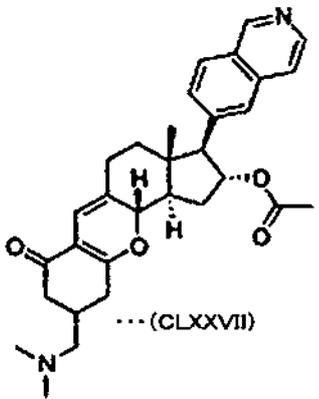
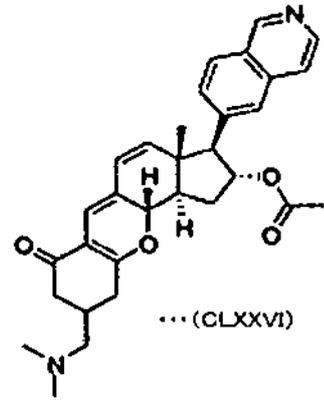
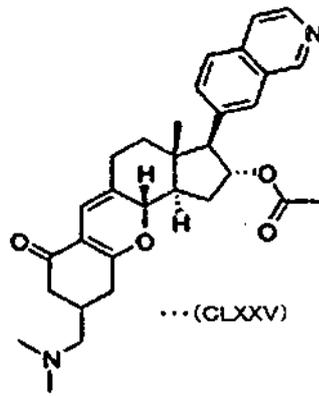
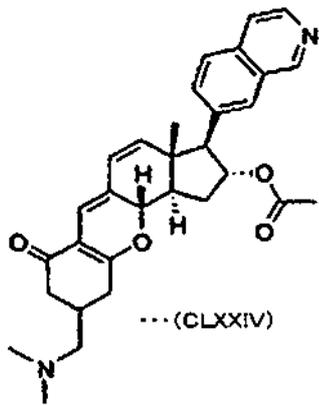


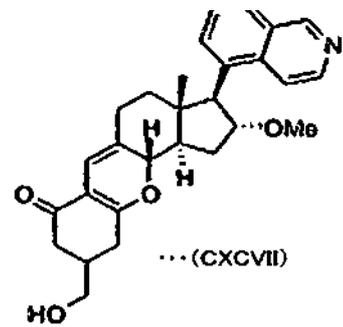
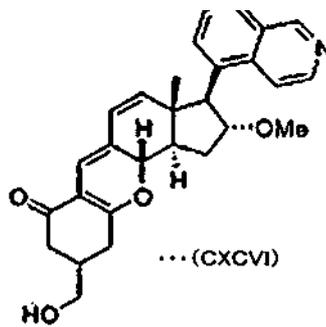
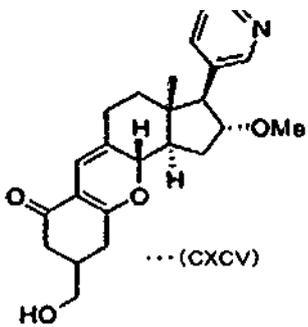
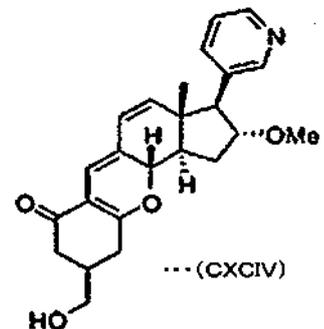
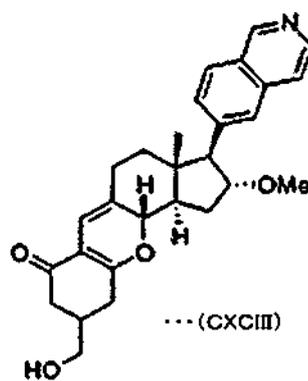
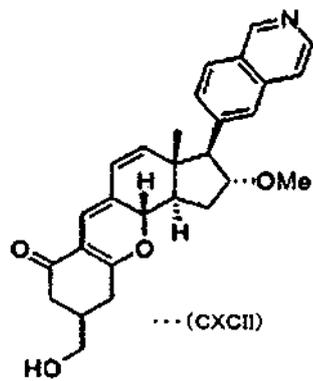
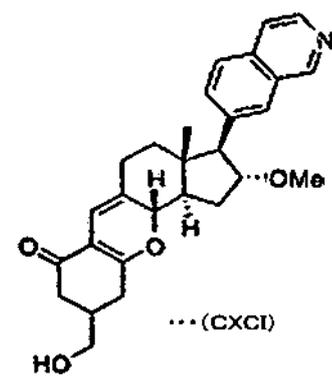
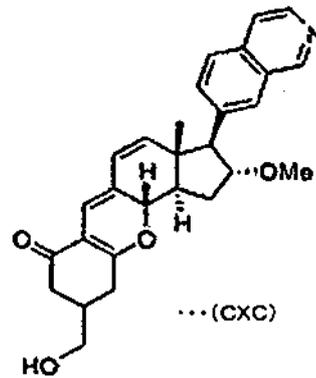
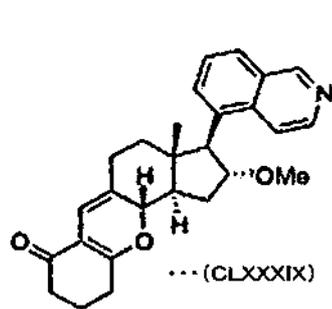
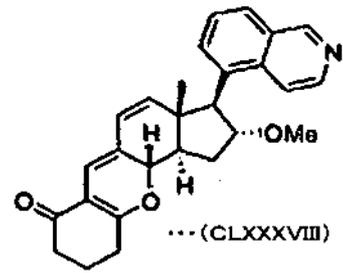
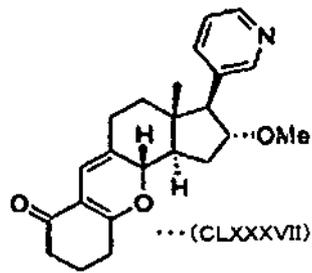
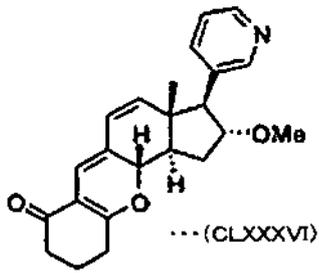


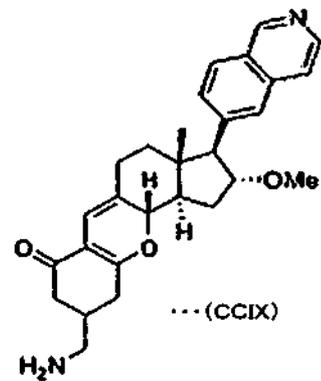
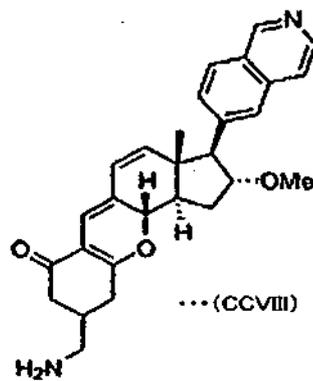
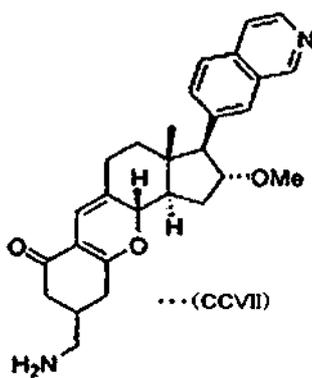
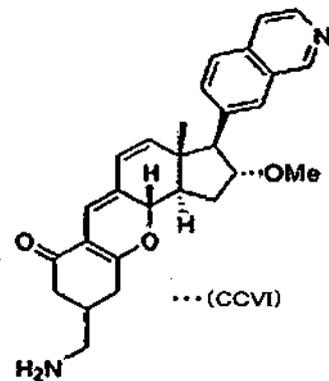
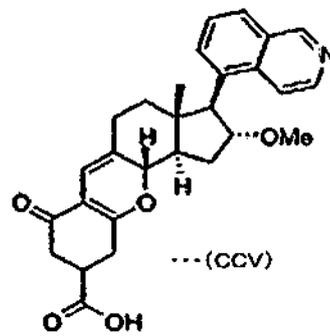
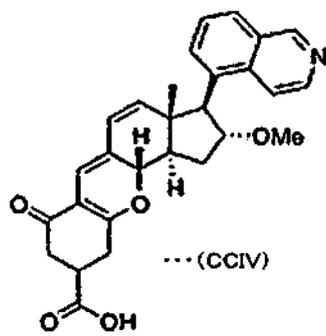
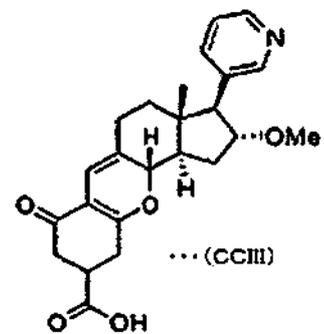
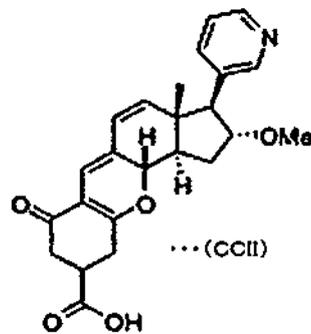
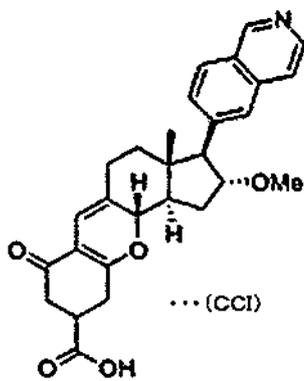
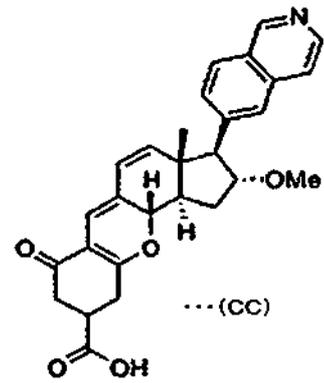
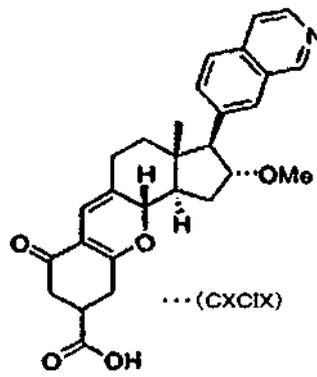
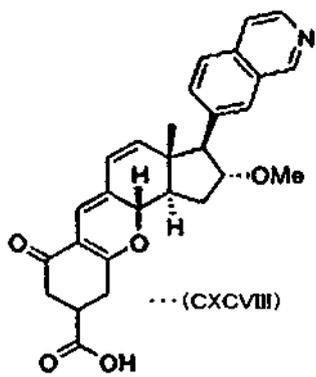


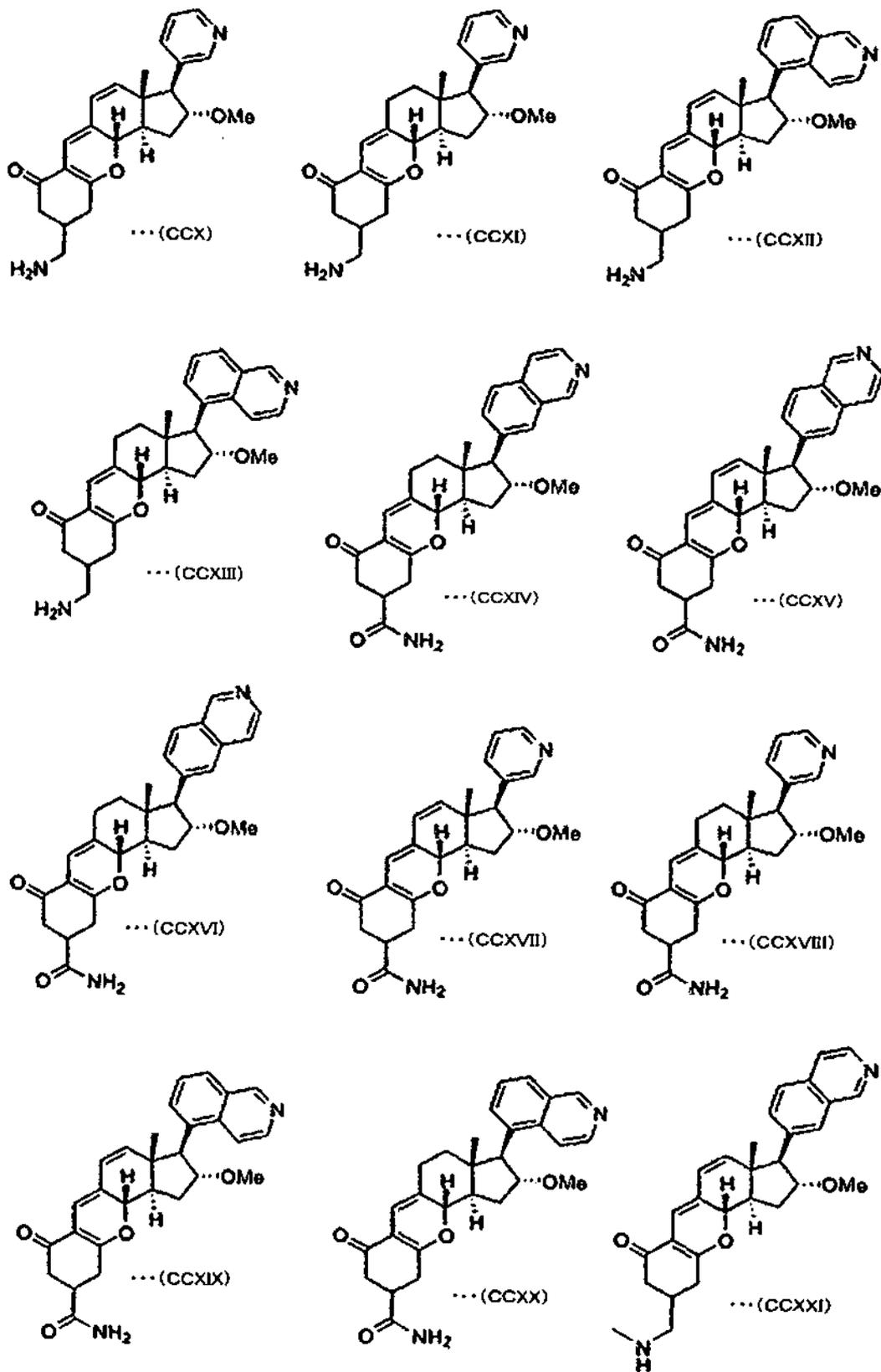


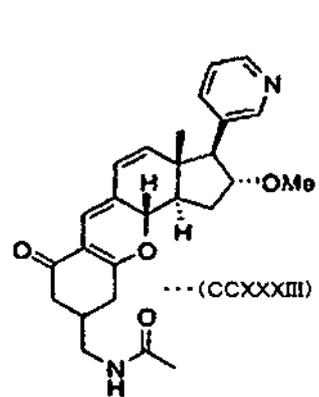
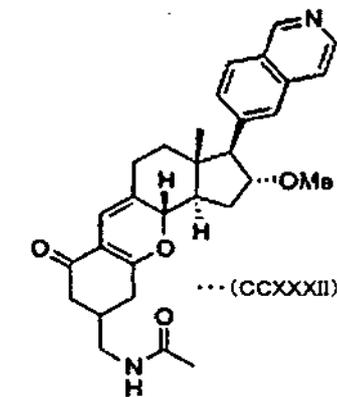
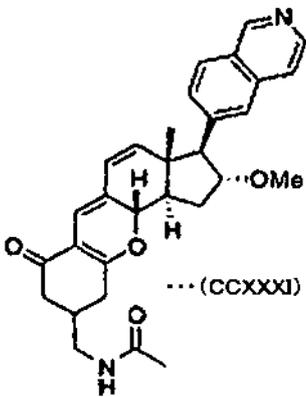
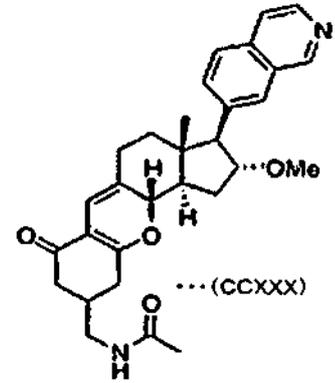
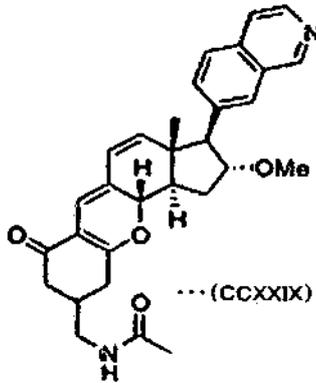
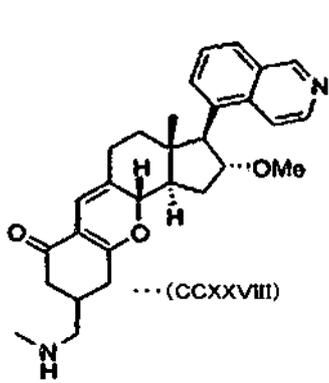
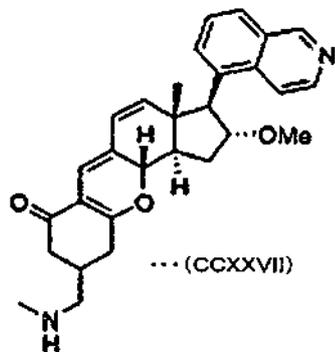
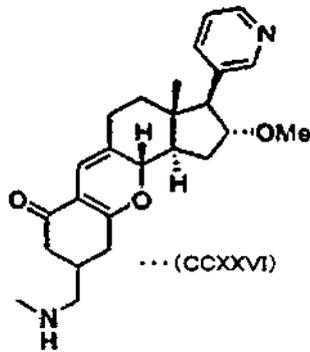
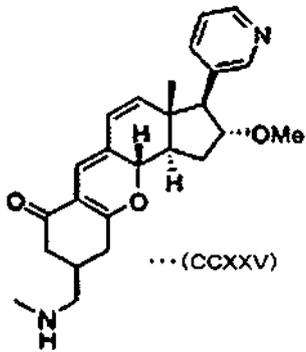
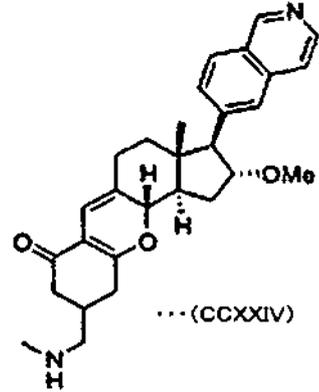
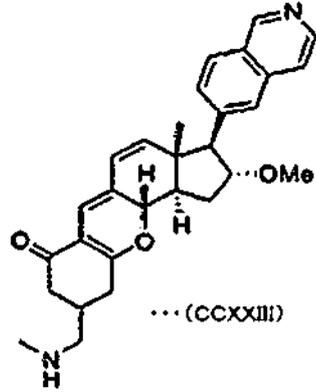
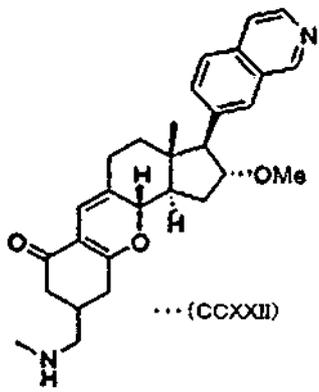


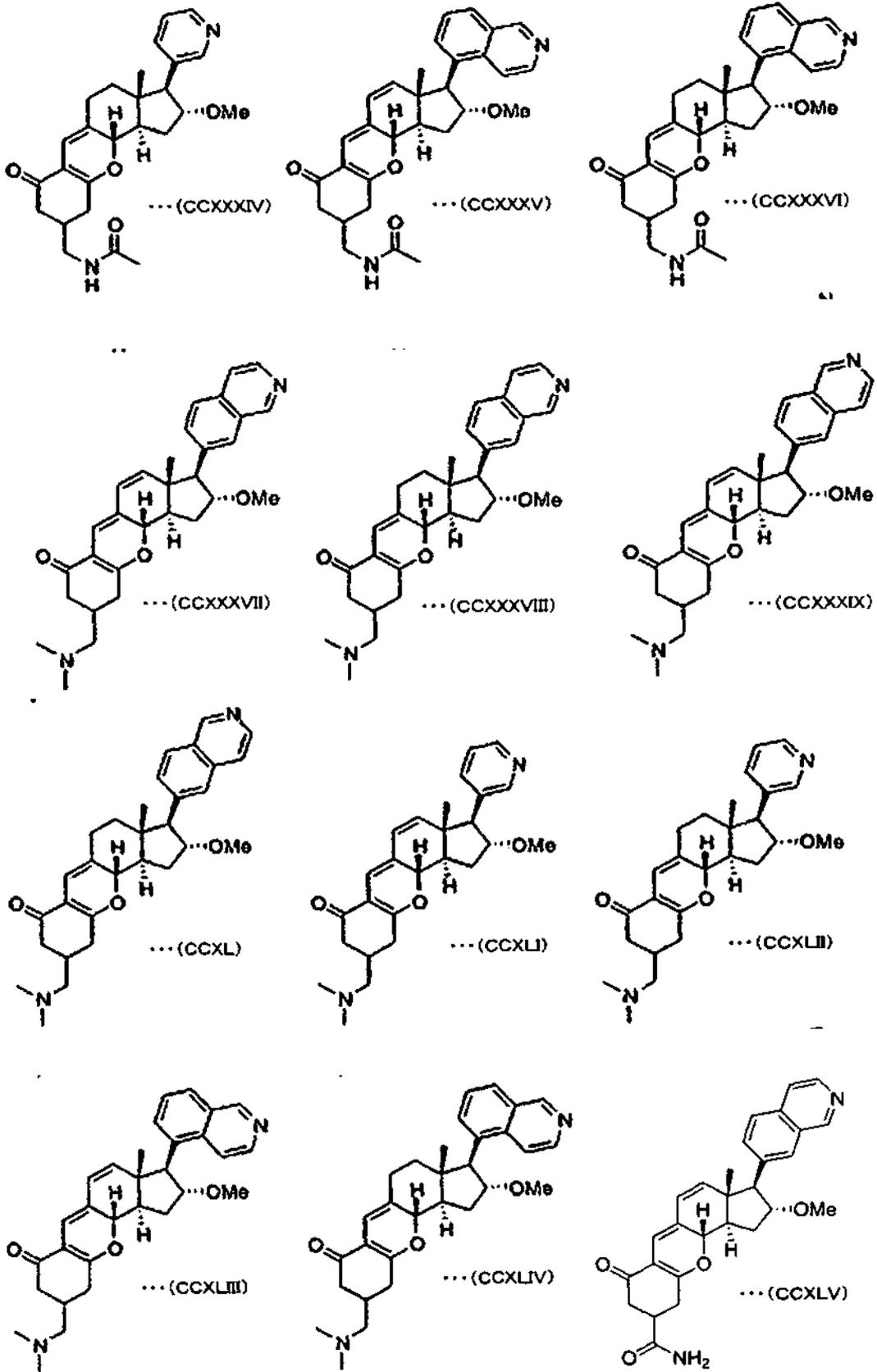




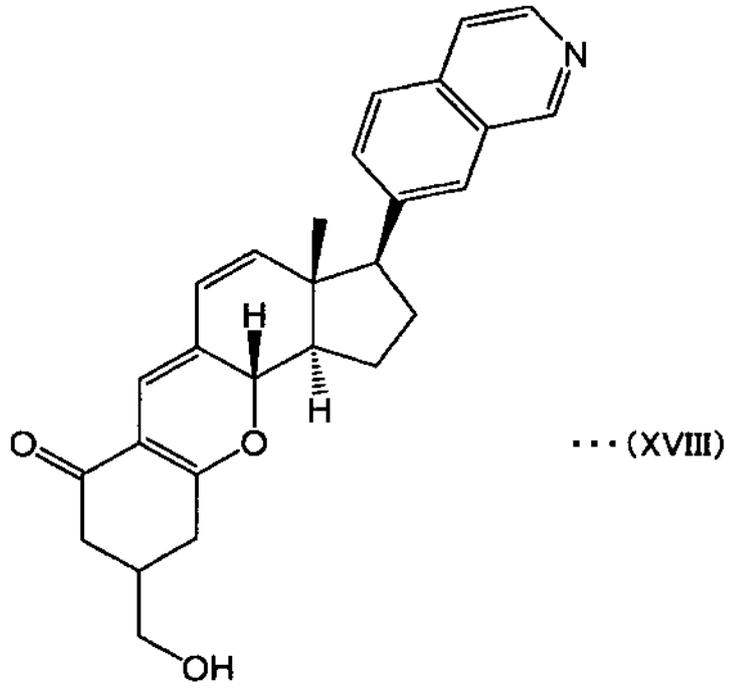
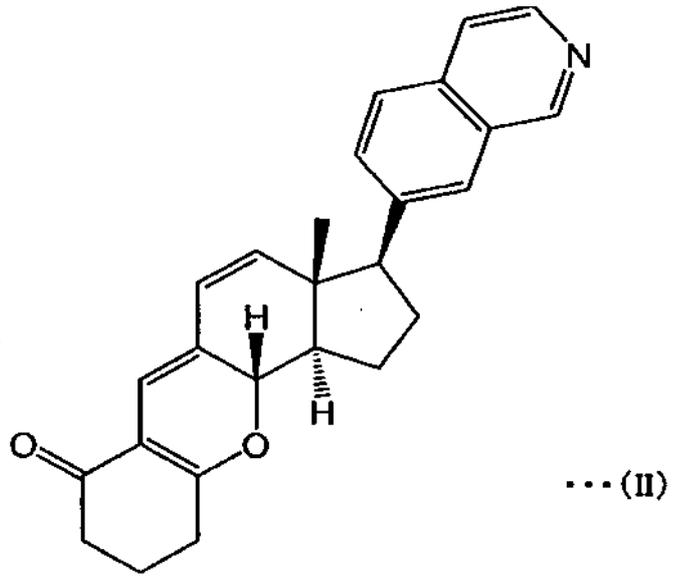


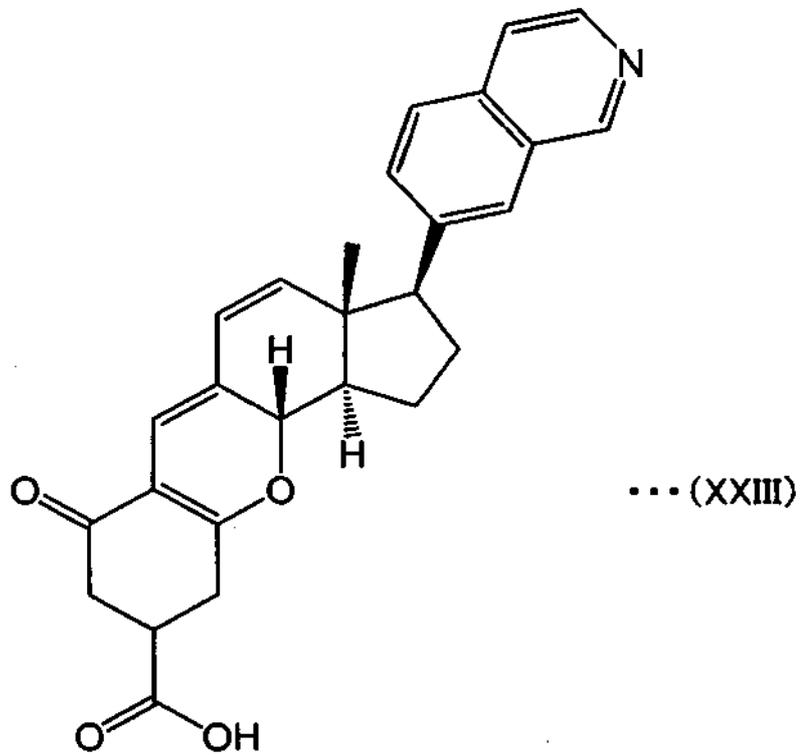
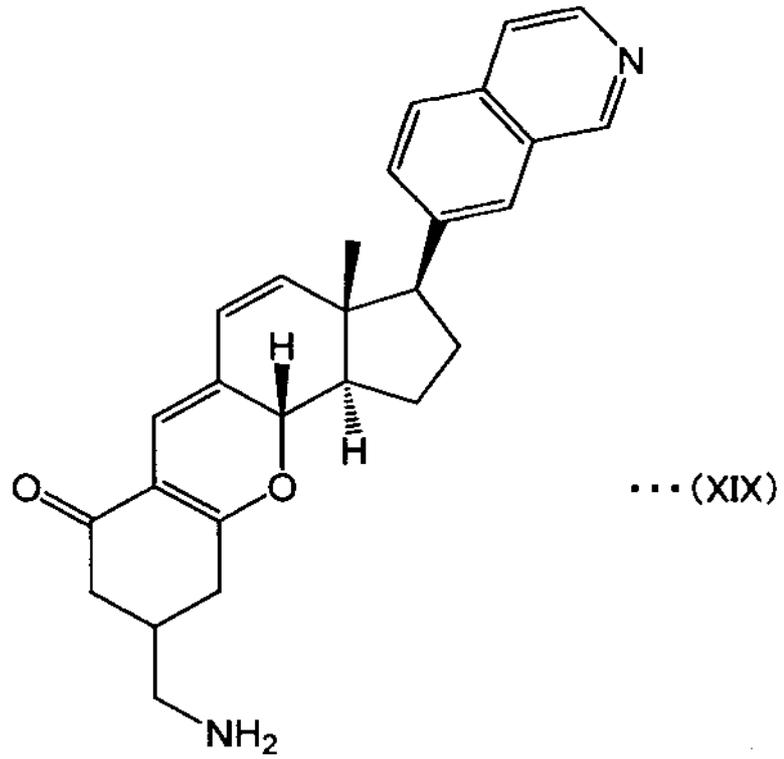


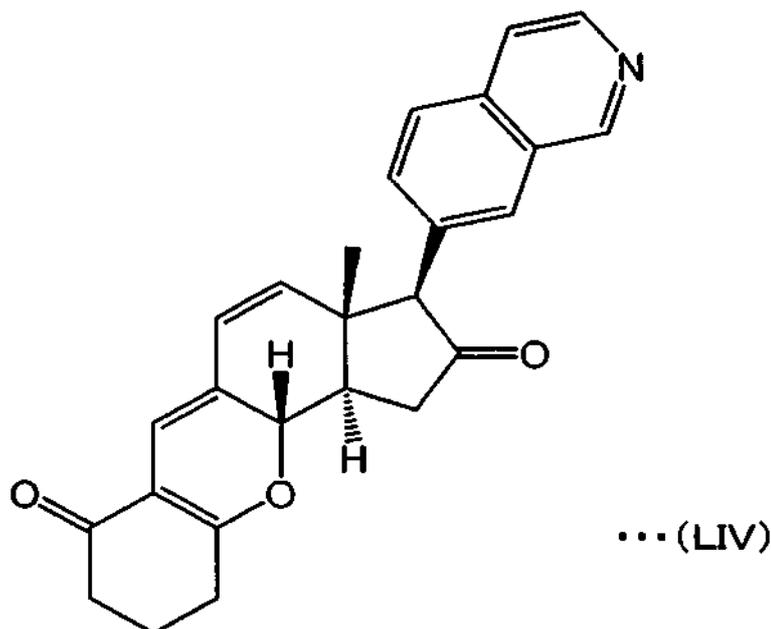




Es particularmente preferente como compuesto de la presente invención un compuesto representado por las siguientes fórmulas (II), (XVIII), (XIX), (XXIII) o (LIV).







El compuesto representado por la fórmula (II) se puede sintetizar químicamente a través de 12 etapas, y el rendimiento es de aproximadamente un 14 %. Los presentes inventores han confirmado que el compuesto representado por la fórmula (II) tiene una actividad antiproliferativa más de 100 veces más potente frente a células endoteliales vasculares que frente a la otras células cancerígenas; inhibe la migración y la tubulogénesis de células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC); tiene actividad antiangiogénica *in vivo*; y muestra actividad antitumoral en un modelo de trasplante de células cancerígenas de ratón. De acuerdo con el mismo método que para la síntesis del compuesto fórmula (II), los compuestos representados por las fórmulas (XVIII), (XIX), (XXIII) y (LIV) también se pueden sintetizar químicamente de forma fácil, y cada uno de los compuestos tiene actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares en un amplio intervalo de concentración como la cortistatina A.

Algunos ejemplos de la "sal farmacéuticamente aceptable" incluyen sales de metales alcalinos (por ejemplo, potasio, sodio, litio, etc.), sales de metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio, magnesio, etc.), sales de amonio (por ejemplo, una sal de tetrametilamonio, una sal de tetrabutilamonio, etc.), sales de aminas orgánicas (por ejemplo, trietilamina, metilamina, dimetilamina, ciclopentilamina, bencilamina, fenetilamina, piperidina, monoetanolamina, dietanolamina, tris(hidroximetil)metilamina, lisina, arginina, N-metil-D-glucamina, etc.), y sales de adición de ácido (por ejemplo, sales de ácidos inorgánicos, tales como clorhidratos, bromhidratos, yodhidratos, sulfatos, fosfatos y nitratos; y sales de ácidos orgánicos, tales como acetatos, trifluoroacetatos, lactatos, tartratos, oxalatos, fumaratos, maleatos, benzoatos, citratos, metanosulfonatos, etanosulfonatos, bencenosulfonatos, toluenosulfonatos, isetionatos, glucuronatos y gluconatos).

En lo sucesivo en el presente documento, el compuesto representado por la fórmula general (M) o (I) de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se denomina "el compuesto de la presente invención".

El compuesto de la presente invención se puede producir de acuerdo con cualquier método sin articular limitación, por ejemplo, el método de síntesis que se describe en el Ejemplo 1, 4 o 5.

El aislamiento y la purificación del compuesto de la presente invención se puede llevar a cabo mediante una técnica conocida, por ejemplo, reacción de transferencia de fase, concentración, extracción con disolvente, destilación fraccionada, cambio de pH, cristalización, recristalización, cromatografía o similar. En el caso en el que el compuesto de la presente invención se obtiene en forma libre, se puede convertir en una sal objetivo mediante una técnica conocida. Por el contrario, en el caso en el que el compuesto de la presente invención se obtiene en forma de una sal, se puede convertir en una forma libre o una sal objetivo mediante una técnica conocida.

En el caso en el que el compuesto de la presente invención tiene formas isoméricas tales como isómeros ópticos, estereoisómeros, regioisómeros, rotámeros y similares, cada una de las formas isoméricas y las mezclas de las mismas se incluyen en el compuesto de la presente invención. Por ejemplo, en el caso en el que compuesto de la presente invención puede existir como isómeros ópticos, cada isómero óptico resuelto del racemato también se incluye en el compuesto de la presente invención. Cada uno de estos isómeros se puede obtener individualmente mediante un método de síntesis o un método de separación conocido (concentración, extracción con disolvente, cromatografía en columna, recristalización, etc.).

El compuesto de la presente invención puede ser un hidrato o un solvato. El compuesto de la presente invención se puede marcar con un isótopo o similar.

5 El compuesto de la presente invención tiene actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares, y por lo tanto es útil como ingrediente activo de inhibidores de crecimiento de células endoteliales vasculares. El compuesto de la presente invención tiene actividad antiangiogénica, y por lo tanto es útil como ingrediente activo de inhibidores de la angiogénesis. Por lo tanto, el compuesto de la presente invención se puede usar preferentemente para la prevención o tratamiento de enfermedades asociadas al crecimiento de células endoteliales vasculares y/o angiogénesis. Algunos ejemplos de enfermedades asociadas al crecimiento de células endoteliales vasculares y/o angiogénesis incluyen cáncer (crecimiento y metástasis de cáncer sólido), degeneración macular, 10 retinopatía diabética, glaucoma neovascular, dermatosis inflamatoria, artritis reumatoide y osteoartritis.

El compuesto de la presente invención muestra actividad antitumoral en un modelo de trasplante de células cancerígenas de ratón, y por lo tanto es útil como ingrediente activo de medicamentos para la prevención o el 15 tratamiento de cáncer. El cáncer que el compuesto de la presente invención puede prevenir o tratar no se limita de forma particular, y algunos ejemplos el mismo incluyen cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer pancreático, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer del conducto biliar, cáncer de bazo, cáncer renal, cáncer de vejiga, cáncer uterino, cáncer de ovario, cáncer de testículo, cáncer de tiroides, cáncer de cerebro y tumor hematológico. Es preferente un cáncer sólido caracterizado por crecimiento tumoral acompañado de angiogénesis. 20

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la presente invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica de la presente invención se puede preparar por mezcla del compuesto de la presente invención como ingrediente activo, un vehículo 25 farmacéuticamente aceptable y, si fuera necesario, un aditivo, y formular en una forma de dosificación. Algunos ejemplos específicos de la forma de dosificación incluyen preparaciones orales tales como comprimidos, comprimidos revestidos, píldoras, polvos, gránulos, cápsulas, soluciones, suspensiones y emulsiones; y preparaciones parenterales tales como inyecciones, infusiones, supositorios, pomadas y parches. La proporción de mezcla del vehículo o el aditivo se determina de forma apropiada basándose en el intervalo de la proporción de mezcla adoptado convencionalmente 30 en el campo farmacéutico. El vehículo o el aditivo que se pueden mezclar no se limitan de forma particular, y algunos ejemplos de los mismos incluyen diversos vehículos tales como agua, solución salina fisiológica, otros disolventes acuosos, y bases acuosas o aceitosas; y diversos aditivos tales como excipientes, aglutinantes, ajustadores de pH, disgregantes, potenciadores de la absorción, lubricantes, colorantes, correctivos y fragancias.

35 Algunos ejemplos del aditivo que se puede mezclar en los comprimidos, cápsulas y similares incluyen aglutinantes tales como gelatina, almidón de maíz, tragacanto y goma arábiga; excipientes tales como celulosa cristalina; agentes de aumento de volumen tales como almidón de maíz, gelatina y ácido algínico; lubricantes tales como estearato de magnesio; edulcorantes tales como sacarosa, lactosa y sacarina; y aromas tales como menta, aceite de *Gaultheria adeno-thrix* y cereza. En el caso en el que la forma de dosificación unitaria es una cápsula, se puede mezclar además 40 un vehículo líquido tal como grasas y aceites además de los materiales mencionados anteriormente. Se puede preparar una composición estéril para inyección de acuerdo con la práctica de la formulación farmacéutica habitual, por ejemplo, por disolución o suspensión de una sustancia activa en un vehículo tal como agua para inyección y un aceite vegetal natural (tal como aceite de sésamo y aceite de coco). Como líquido acuoso para inyección se puede usar, por ejemplo, solución salina fisiológica, una solución isotónica que contiene glucosa y una sustancia auxiliar (por 45 ejemplo, D-sorbitol, D-manitol, cloruro sódico, etc.), o similar, opcionalmente junto con un solubilizante adecuado tal como alcoholes (por ejemplo, etanol), polialcoholes (por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol) y tensioactivos no iónicos (por ejemplo, polisorbato 80™, HCO-50). Como líquido aceitoso se puede usar, por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de haba de soja o similar, opcionalmente junto con un solubilizante tal como benzoato de bencilo y alcohol bencílico. Además, también se pueden mezclar un agente de tamponamiento (por ejemplo, un tampón fosfato, un 50 tampón acetato sódico), un agente calmante (por ejemplo, cloruro de benzalconio, clorhidrato de procaína, etc.), un estabilizante (por ejemplo, albúmina de suero humano, polietilenglicol, etc.), un conservante (por ejemplo, alcohol bencílico, fenol, etc.), un antioxidante, etc.

La preparación farmacéutica que se puede obtener de la forma anterior se puede administrar, por ejemplo, a seres 55 humanos y otros mamíferos (ratas, ratones, conejos, ovejas, cerdos, vacas, gatos, perros, monos, etc.). La dosis puede variar dependiendo del estado del animal, el tipo de cáncer, la afección, el método de administración y similares, pero en general, la dosis oral diaria para un ser humano que pesa aproximadamente 60 kg es, por ejemplo, aproximadamente de 0,1 a 1000 miligramos, preferentemente aproximadamente de 1,0 a 500 mg, y más preferentemente aproximadamente de 3,0 a 200 mg en términos del ingrediente activo. En cuanto a la dosis parenteral, la cantidad para una dosis puede variar dependiendo del estado del animal, el tipo de cáncer, la afección, el 60 método de administración y similares, pero por ejemplo, en el caso de inyecciones, es habitualmente ventajoso que el ingrediente activo se administre por vía intravenosa en una cantidad de, por ejemplo, aproximadamente de 0,01 a 100 mg, preferentemente aproximadamente de 0,01 a 50 mg, y más preferentemente aproximadamente de 0,01 a 20 mg por kg de peso corporal. La dosis diaria total puede ser una dosis individual o dividirse en varias porciones.

65

El medicamento de la presente invención para la prevención o el tratamiento de cáncer se puede usar en combinación con otros fármacos terapéuticos para el cáncer. Tal otro fármaco terapéutico para el cáncer no se limita de forma particular, pero es preferente un fármaco quimioterapéutico, un fármaco inmunoterapéutico o un fármaco para terapia hormonal, por ejemplo. De acuerdo con la presente invención, el medicamento para la prevención o el tratamiento de

5

El fármaco quimioterapéutico no se limita de forma particular y algunos ejemplos del mismo incluyen:

10 agentes alquilantes tales como mostaza nitrogenada, clorhidrato de N-óxido de mostaza nitrogenada, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, tiotepa, carbocouona, tosilato de improsulfán, busulfán, clorhidrato de nimustina, mitobronitol, melfalán, dacarbazina, ranimustina, fosfato de estramustina sódico, trietilenmelamina, carmustina, lomustina, estreptozocina, pipobromano, etoglucid, carboplatino, cisplatino, miboplatino, nedaplatino, oxaliplatino, altretamina, ambamustina, cloruro de dibrospidio, fotemustina, prednimustina, pumitepa, Ribomustina, temozolomida, treosulfán, trofosfamida, estimalámero de zinostatina, adozelesina, cistemustina y bizelesina;

15 antimetabolitos tales como mercaptopurina, ribósido de 6-mercaptopurina, tioinosina, metotrexato, pemetrexed, encitabina, citarabina, ocfosfato de citarabina, clorhidrato de ancitabina, 5-FU y sus derivados (por ejemplo, fluorouracilo, tegafur, UFT, doxifluridina, carmofur, galocitabina, emitefur, capecitabina, etc.), aminopterina, nelzarabina, leucovorina de calcio, Tabloid, butocina, folinato de calcio, levofolinato de calcio, cladribina, emitefur, fludarabina, gemcitabina, hidroxycarbamida, pentostatina, piritrexim, idoxuridina, mitoguazona, tiazofurina, ambamustina y bendamustina; antibióticos anticancerígenos tales como actinomicina D, actinomicina C, mitomicina C, cromomicina A3, clorhidrato de bleomicina, sulfato de bleomicina, sulfato de peplomicina, clorhidrato de daunorrubicina, clorhidrato de doxorubicina, clorhidrato de aclarrubicina, clorhidrato de pirarrubicina, clorhidrato de epirubicina, neocarzinostatina, mitramicina, sarkomicina, carzinofilina, mitotano, clorhidrato de zorrubicina, clorhidrato de mitoxantrona y clorhidrato de idarrubicina; y fármacos anticancerígenos derivados de

20 plantas tales como etopósido, fosfato de etopósido, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, sulfato de vindesina, tenipósido, paclitaxel, docetaxel y vinorelbina.

25

El fármaco inmunoterapéutico no se limita de forma particular y algunos ejemplos del mismo incluyen picibanil, Krestina, sizofirano, lentinano, ubenimex, interferones, interleuquinas, factor estimulante de la colonia de macrófagos, factor estimulante de la colonia de granulocitos, eritropoyetina, linfotoxinas, vacuna de BCG, *Corynebacterium parvum*, levamisol, polisacárido K, procodazol y anticuerpo anti-CTLA4.

30

El fármaco para terapia hormonal no se limita de forma particular y algunos ejemplos del mismo incluyen fosfestrol, dietilestilbestrol, clorotrianiseno, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, acetato de clormadinona, acetato de ciproterona, danazol, alilestrenol, gestrinona, mepartricina, raloxifeno, orneloxifeno, levormeloxifeno, antiestrógenos (por ejemplo, citrato de tamoxifeno, citrato de toremifeno, etc.), píldoras para el control de natalidad, mepitiostano, testololactona, aminoglutetimida, agonistas de LH-RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuprorelina, etc.), droloxifeno, epitioestanol, sulfonato de etinilestradiol, inhibidores de aromatasas (por ejemplo, clorhidrato de fadrozol, anastrozol, letrozol, exemestano, vorozol, formestano, etc.), antiandrógenos (por ejemplo, flutamida, bicalutamida, nilutamida, etc.), inhibidores de 5 α -reductasa (por ejemplo, finasterida, epristerida, etc.), corticosteroides (por ejemplo, dexametasona, prednisolona, betametasona, triamcinolona, etc.) e inhibidores de la síntesis de andrógenos (por ejemplo, abiraterona, etc.).

35

40

El uso combinado del medicamento para la prevención o el tratamiento de cáncer, con otro agente terapéutico para el cáncer o radioterapia, puede proporcionar los siguientes efectos, sin limitación:

45

- (1) se puede obtener un efecto sinérgico;
- (2) se puede reducir la dosis;
- (3) se puede seleccionar un período de tratamiento prolongado; y
- (4) se pueden esperar efectos terapéuticos persistentes.

50

En el caso en el que el medicamento para la prevención o el tratamiento de cáncer y el otro fármaco terapéutico para el cáncer se usen en combinación, se pueden administrar de forma simultánea a un sujeto, o se pueden administrar por separado a este en cierto intervalo. La dosis del fármaco en uso combinado se puede determinar basándose en su dosis clínica y se selecciona de forma apropiada dependiendo del sujeto, la edad y el peso corporal del sujeto, la afección, el tiempo de administración, la forma de dosificación, el método de administración, la combinación de fármacos, etc.

55

Ejemplos

60

En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se ilustrará con detalle mediante Ejemplos, pero no se limita a estos.

Ejemplo 1: síntesis del compuesto representado por la fórmula (II)

65

De acuerdo con el esquema que se muestra en la Figura 1, se sintetizó el compuesto representado por la fórmula (II)

(denominado en lo sucesivo en el presente documento "CA-1").

(1) Síntesis del compuesto 3 ((3aS,7aS)-7a-metilhexahidro-1H-indeno-1,5(6H)-diona)

5 En una atmósfera de argón, se añadió t-BuMgCl (1,0 M en THF, 6,02 ml, 6,02 mmol) a una solución en THF (28 ml) de Cul (882 mg, 4,63 mmol) a -50 °C, y la mezcla se agitó durante 20 minutos. A esto, se añadió HMPA (8,10 ml, 46,3 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a -50 °C durante 20 minutos. Después de que se añadiera una solución en THF del compuesto 2 (760 mg, 4,63 mmol) a través de una cánula a -78 °C, se añadieron lentamente DIBAL-H (1,0 M en n-hexano, 7,41 ml, 7,41 mmol) y una solución en THF (9,0 ml) de HMPA (4,05 ml, 23,2 mmol) gota a gota a través
10 de una cánula, y la mezcla se agitó a -78 °C durante 30 minutos. La temperatura de la mezcla de reacción se hizo aumentar lentamente hasta -40 °C, y la mezcla de reacción se agitó durante un período adicional de 3 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera a aumentar hasta 0 °C, se añadió una solución acuosa al 5 % de HCl y a continuación se llevó a cabo una extracción con AcOEt. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 2:1) y se obtuvo el compuesto 3 (592 mg, 77 %).
15 IR (KBr): 2959, 1738, 1711 cm⁻¹. [α]_D²¹ +150,0 (c 1,70, CHCl₃). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 2,55-2,50 (2H, m), 2,48-2,40 (3H, m), 2,22-2,14 (1H, m), 2,08-2,00 (1H, m), 1,96-1,90 (2H, m), 1,68 (1H, tt, J = 11,6, 8,5 Hz), 1,60 (1H, dd, J = 13,4, 9,2 Hz), 1,05 (3H, s).

(2) Síntesis del compuesto 4 ((3a'S,7a'S)-7a'-metilhexahidroespiro[[1,3]dioxolano-2,5'-inden]-1'(6'H)-ona)

A una solución en CH₃CN (32 ml) del compuesto 3 (535 mg, 3,22 mmol), se añadieron etilenglicol (5,4 ml, 96,6 mmol) y dihidrato de ácido oxálico (203 mg, 1,61 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió una solución saturada de NaHCO₃ y a continuación se llevó a cabo una extracción con AcOEt. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 2:1) y se obtuvo el compuesto 4 (624 mg, 92 %).
25 IR (KBr): 2953, 2887, 1732, 1068 cm⁻¹. [α]_D²¹ +91,3 (c 1,28, CHCl₃). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 3,92-3,86 (4H, m), 2,40 (1H, dd, J = 19,0, 9,2 Hz), 2,09 (1H, dt, J = 19,0, 11,0 Hz), 1,97-1,93 (1H, m), 1,83-1,80 (1H, m), 1,73-1,64 (5H, m),
30 1,57 (1H, tt, J = 12,5, 9,0 Hz), 1,44 (1H, td, J = 13,9, 5,7 Hz), 0,88 (3H, s). ESI MS: m/z 233 (M+Na)⁺. HR-ESI MS: m/z 233,1154, calc. para C₁₂H₁₈O₃Na. Encontrado: 233,1160.

(3) Síntesis del compuesto 5 (trifluorometanosulfonato de (3a'S,7a'S)-7a'-metil-3',3a',4',6',7',7a'-hexahidroespiro[[1,3]dioxolano-2,5'-inden]-1'-ilo)

35 A una solución en THF (14 ml) del compuesto 4 (300 mg, 1,43 mmol), se añadieron fenil-N-triflimida (1,02 g, 2,86 mmol) y KHMDS (0,5 M en tolueno, 4,3 ml, 2,15 mmol) a -78 °C, y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera a aumentar hasta 0 °C, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con Et₂O. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 4:1) y se obtuvo el compuesto 5 (420 mg, 85 %).
40 IR (KBr): 2955, 2885, 1421, 1213, 1141, 1055 cm⁻¹. [α]_D²⁰ +69,2 (c 1,41, CHCl₃). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 5,57 (1H, dd, J = 3,3, 1,6 Hz), 3,92 (4H, m), 2,23-2,15 (2H, m), 2,05-2,02 (1H, m), 1,77-1,60 (7H, m), 1,02 (3H, s). ESI MS: m/z 365 (M+Na)⁺. HR-ESI MS: m/z 365,0647, calc. para C₁₃H₁₇O₅F₃NaS. Encontrado: 365,0646.

(4) Síntesis del compuesto 6 (7-((3a'S,7a'S)-7a'-metil-3',3a',4',6',7',7a'-hexahidroespiro[[1,3]dioxolano-2,5'-inden]-1'-il)isoquinolina)

50 A una solución en DMF (5,0 ml) del compuesto 5 (200 mg, 0,584 mmol), se añadieron una solución (5,0 ml) de 7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoquinolina (162 mg, 0,642 mmol) en DMF, Pd(PPh₃)₄ (100 mg, 0,0876 mmol) y K₂CO₃ (239 mg, 1,75 mmol) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó a 50 °C durante 30 minutos. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con AcOEt. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. De esta forma, se obtuvo un producto en bruto que contenía el compuesto 6.
55

(5) Síntesis del compuesto 7 ((3aS,7aS)-3-(isoquinolin-7-il)-3a-metil-4,5,7,7a-tetrahydro-1H-inden-6(3aH)-ona)

60 A una solución en acetona/agua (6,2 ml + 0,62 ml) del producto en bruto que contenía el compuesto 6, se añadió monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (237 mg, 1,23 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió una solución saturada de NaHCO₃ y a continuación se llevó a cabo una extracción con AcOEt. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 1:2) y se obtuvo el compuesto 7 (80 mg, 50 % en 2 etapas).
65 IR (KBr): 2935, 1707, 850 cm⁻¹. [α]_D²⁰ +94,0 (c 2,54, CHCl₃). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,22 (1H, s), 8,49 (1H, d, J = 6,1 Hz), 7,92 (1H, s), 7,77 (1H, d, J = 9,8 Hz), 7,75 (1H, dd, J = 8,9, 1,5 Hz), 6,17 (1H, s), 2,62-2,50 (4H, m), 2,39-2,36 (4H, m), 2,28-2,21 (1H, m), 1,97-1,95 (1H, m), 1,32 (3H, s). ESI MS: m/z 278 (M+H)⁺. HR-ESI MS: m/z 278,1545, calc.

para C₁₉H₂₀NO. Encontrado: 278,1544.

(6) Síntesis del compuesto 8 ((1S,3aS,7aS)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metilhexahidro-1H-inden-5(6H)-ona)

5 A una solución en AcOEt (3,0 ml) del compuesto 7 (73 mg, 0,261 mmol), se añadió Pd/C (21,9 mg) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío. De esta forma, se obtuvo el compuesto 8 (71 mg, 98 %).
 IR (KBr): 2959, 1709, 852 cm⁻¹. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,22 (1H, s), 8,48 (1H, d, J = 6,1 Hz), 7,80 (1H, s), 7,75 (1H, d, J = 7,9 Hz), 7,62 (1H, d, J = 6,1 Hz), 7,57 (1H, d, J = 8,5 Hz), 2,99 (1H, t, J = 9,8 Hz), 2,46-2,44 (1H, m),
 10 2,37-2,30 (3H, m), 2,19-2,18 (1H, m), 2,12-2,10 (1H, m), 1,91-1,90 (1H, m), 1,78-1,75 (2H, m), 1,59-1,57 (1H, m), 0,75 (3H, s). ESI MS: m/z 280 (M+H)⁺. HR-ESI MS: m/z 280,1701, calc. para C₁₉H₂₂NO. Encontrado: 280,1714.

(7) Síntesis del compuesto 9 ((1R,3aS,7aR)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metil-2,3,3a,4-tetrahidro-1H-inden-5(7aH)-ona)

15 A una solución en CH₃CN (2,0 ml) del compuesto 8 (28 mg, 0,100 mmol), se añadieron HMDS (0,21 ml, 1,00 mmol), NaI (75,2 mg, 0,500 mmol) y TMSCl (0,062 ml, 0,500 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió una solución saturada de NH₄Cl y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. A una solución en DMSO (1,0 ml) del producto resultante, se añadió ácido 2-yodóxibenzoico (19,1 mg, 0,635 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 8
 20 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió una solución saturada de NaHCO₃ y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 1:2) y se obtuvo el compuesto 9 (19 mg, 71 % en 2 etapas).
 25 IR (KBr): 2962, 1672, 852 cm⁻¹. [α]_D¹⁹ -3,95 (c 1,07, CHCl₃). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,26 (1H, s), 8,52 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,85 (1H, s), 7,82 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,65-7,63 (2H, m), 7,07 (1H, d, J = 9,8 Hz), 5,90 (1H, d, J = 10,4 Hz), 3,24 (1H, t, J = 9,8 Hz), 2,62-2,58 (1H, m), 2,45-2,43 (2H, m), 2,33-2,28 (2H, m), 2,01-1,99 (1H, m), 1,74-1,72 (1H, m), 0,81 (3H, s). ESI MS: m/z 278 (M+H)⁺. HR-ESI MS: m/z 278,1545, calc. para C₁₉H₂₀NO. Encontrado: 278,1544.

(8) Síntesis del compuesto 10 (trifluorometanosulfonato de (1R,3aS,7aS)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metil-2,3,3a,7a-tetrahidro-1H-inden-5-ilo)

35 A una solución en THF (3,6 ml) del compuesto 9 (100 mg, 0,361 mmol), se añadieron fenil-N-triflimida (258 mg, 1,12 mmol) y KHMDS (0,5 M en tolueno, 2,25 ml, 1,12 mmol) a -78 °C, y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera aumentar hasta 0 °C, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con AcOEt. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 1:1) y se obtuvo el compuesto 10 (138 mg, 94 %).
 40 IR (KBr): 2964, 1419, 1211, 1141 cm⁻¹. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,22 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 6,1 Hz), 7,83 (1H, s), 7,80 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,64-7,62 (2H, m), 6,26 (1H, d, J = 9,8 Hz), 5,92 (1H, t, J = 2,5 Hz), 5,79 (1H, dd, J = 9,8, 2,2 Hz), 3,31 (1H, t, J = 10,1 Hz), 3,04-2,99 (1H, m), 2,37-2,34 (2H, m), 2,03-2,01 (1H, m), 1,88-1,86 (1H, m), 0,67 (3H, s). ESI MS: m/z 410 (M+H)⁺. HR-ESI MS: m/z 410,1038, calc. para C₂₀H₁₉NO₃F₃S. Encontrado: 410,1024.

(9) Síntesis del compuesto 11 ((1R,3aS,7aS)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metil-2,3,3a,7a-tetrahidro-1H-indeno-5-carboxilato de metilo)

50 A una solución en DMF (20 ml) del compuesto 10 (265 mg, 0,648 mmol), se añadieron Pd(PPh₃)₄ (75 mg, 0,0648 mmol), MeOH (8,3 ml) y Et₃N (1,45 ml, 9,72 mmol) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó en atmósfera de monóxido de carbono a 40 °C durante 3 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con AcOEt. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 1:1) y se obtuvo el compuesto 11 (200 mg, 98 %).
 55 IR (KBr): 2955, 1714, 1267 cm⁻¹. [α]_D¹⁹ -88,6 (c 1,51, CHCl₃). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,24 (1H, s), 8,50 (1H, d, J = 6,1 Hz), 7,84 (1H, s), 7,79 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,64 (2H, dd, J = 12,2, 3,7 Hz), 7,13 (1H, s), 6,34 (1H, d, J = 9,8 Hz), 6,17 (1H, d, J = 9,8 Hz), 3,77 (3H, s), 3,31 (1H, t, J = 9,8 Hz), 2,93-2,91 (1H, m), 2,39-2,33 (2H, m), 2,09-2,02 (1H, m), 1,89-1,88 (1H, m), 0,58 (3H, s). ESI MS: m/z 320 (M+H)⁺. HR-ESI MS: m/z 320,1651, calc. para C₂₁H₂₂NO₂. Encontrado: 320,1643.

(10) Síntesis del compuesto 12 ((1R,3aS,7aS)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metil-2,3,3a,7a-tetrahidro-1H-indeno-5-carbaldehído)

65 A una solución en CH₂Cl₂ (13 ml) del compuesto 11 (54,2 mg, 0,188 mmol), se añadió DIBAL-H (1,0 M en n-hexano, 0,56 ml, 0,56 mmol) a -78 °C, y la mezcla se agitó durante 15 minutos. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera a aumentar hasta 0 °C, se añadió una solución acuosa al 15 % de NaOH. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío. De esta forma, se obtuvo un producto en bruto (49 mg) que

contenía ((1R,3aS,7aS)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metil-2,3,3a,7a-tetrahydro-1H-inden-5-il)metanol. A una solución en CH₂Cl₂ (3,4 ml) del producto en bruto obtenido, se añadieron peryodinano de Dess-Martin (107 mg, 0,254 mmol) y NaHCO₃ (71 mg, 0,847 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió una solución saturada de NaHCO₃ y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 1:4) y se obtuvo el compuesto 12 (38 mg, 67 % en 2 etapas).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,44 (1H, s), 9,25 (1H, s), 8,50 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,85 (1H, s), 7,80 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,66-7,64 (2H, m), 6,95 (1H, s), 6,37 (1H, d, J = 9,8 Hz), 6,23 (1H, d, J = 9,8 Hz), 3,35 (1H, t, J = 9,8 Hz), 3,05 (1H, t, J = 10,0 Hz), 2,41-2,36 (2H, m), 2,08 (1H, s), 1,98-1,96 (1H, m), 0,58 (3H, s). ESI MS: m/z 290 (M+H)⁺.

(11) Síntesis del compuesto objetivo 1 (CA-1, (3R,3aR,11aS,11bR)-3-(isoquinolin-7-il)-3a-metil-1,2,3,3a,9,10,11a,11b-octahidrociclopenta[c]xanten-7(8H)-ona)

A una solución en AcOEt (4,0 ml) del compuesto 12 (12 mg, 0,0415 mmol), se añadieron 1,3-ciclohexanodiona (11 mg, 0,083 mmol) y etilendiamina (3,6 ml, 0,0498 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 1:4) y se obtuvo el compuesto 1 (15 mg, 97 %).

IR (KBr): 2959, 1653, 1582, 1375 cm⁻¹. [α]_D¹⁹ -101,7 (c 1,24, CHCl₃). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,26 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,85 (1H, s), 7,80 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,65 (2H, t, J = 6,4 Hz), 6,37 (1H, s), 6,05 (1H, d, J = 9,2 Hz), 5,90 (1H, d, J = 9,2 Hz), 4,86 (1H, d, J = 11,6 Hz), 3,23 (1H, t, J = 9,8 Hz), 2,57-2,28 (4H, m), 2,03-2,02 (2H, m), 1,84-1,81 (1H, m), 1,61-1,59 (1H, m), 1,20 (1H, m), 0,93-0,90 (2H, m), 0,68 (3H, s). ESI MS: m/z 384 (M+H)⁺.

Ejemplo 2: evaluación de la actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares (1)

Se usó como compuesto de ensayo CA-1, que está representado por la fórmula (II), y se usó un fármaco anticancerígeno existente, doxorubicina, como compuesto control. El compuesto de ensayo y el compuesto control se disolvieron por separado a concentraciones predeterminadas en EtOH. Las células usadas fueron células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) normales y células KB3-1 de carcinoma faríngeo humano.

Se sembraron HUVEC y KB3-1 en placas de múltiples pocillos de 96 pocillos distintas a 2 x 10³ células/100 µl/pocillo y se cultivaron en una atmósfera de un 5 % de CO₂ a 37 °C durante 24 horas. A continuación, se añadieron 1,0 µl de cada una de las soluciones en etanol que contenían el compuesto de ensayo o el compuesto control a diversas concentraciones, y las células se cultivaron en las mismas condiciones durante un período adicional de 72 horas. Después de 72 horas, se añadieron 10 µl del reactivo WST-8 (2-(2-metoxi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolio, sal monosódica). Después de una incubación de 3 horas, se determinó colorimétricamente la cantidad de formazano soluble en agua formado en células viables mediante la medida de la DO a 450 nm, y se calculó la proporción de inhibición del crecimiento por comparación de la cantidad de formazano entre los grupos de tratamiento con compuesto y el grupo sin tratamiento. Las actividades antiproliferativas del compuesto de ensayo y el compuesto control en cada tipo de células se expresó como la concentración del 50 % de inhibición del crecimiento (valor de CI₅₀). La selectividad frente al tipo de célula (valor del Índice Selectivo (I.S.)) se expresó como el valor que resulta de la división del valor de CI₅₀ frente a KB3-1 entre el valor de CI₅₀ frente a HUVEC.

Los resultados se muestran en la Tabla 1. El valor de CI₅₀ del compuesto de ensayo CA-1 fue de 0,1 µM frente a HUVEC y de 10,5 µM frente a KB3-1. El valor de I.S. fue de 105. Por otra parte, el valor de CI₅₀ del compuesto control de doxorubicina fue de 0,13 µM frente a HUVEC y de 0,36 µM frente a KB3-1, y el valor de I.S. fue tan bajo como 2,7. Por lo tanto, la doxorubicina tiene muy poca selectividad en el tipo de célula. Esto resultados demostraron que el compuesto de ensayo CA-1 inhibe selectivamente el crecimiento de células endoteliales vasculares, una pieza clave en la angiogénesis.

Tabla 1

	CA-1		doxorubicina	
	CI ₅₀	I.S.	CI ₅₀	I.S.
HUVEC	0,1		0,13	
KB3-1	10,5	105	0,36	2,7

Ejemplo 3: evaluación de la actividad antiangiogénica *in vivo* después de administración intraperitoneal

Se suspendió el compuesto de ensayo CA-1 a concentraciones predeterminadas en CMC al 1 %. Para los grupos de control, se administró el vehículo (CMC al 1 %).

A 500 µl de Matrigel (nombre comercial, fabricado por BD), se añadieron 200 ng/ml de un factor proangiogénico bFGF (factor básico de crecimiento de fibroblastos) y 100 U/ml de heparina, y la mezcla se inyectó por vía subcutánea en los costados de ratones ddY hembra (6 semanas de edad) con una aguja de inyección de 23G. Después de la inyección de Matrigel, se administraron por vía intraperitoneal el compuesto de ensayo CA-1 o el vehículo (CMC al 1 %) en un programa de una vez cada dos días, 5 veces en total. Además de esto, se inyectó Matrigel sin bFGF a un grupo de ratones y a continuación se administró el vehículo a este (grupo de control negativo). El efecto antiangiogénico se evaluó como sigue a continuación: el día después de la administración final del compuesto de ensayo, se recogió y se pesó el Matrigel implantado, y a continuación se comparó la cantidad de hemoglobina acumulada en el Matrigel entre los grupos de administración de compuesto de ensayo y los grupos de control. Se llevó a cabo un análisis de significación usando un ensayo de Dunnett con un nivel de significación de un 5 %.

Los resultados se muestran en las Figuras 2 y 3. La Figura 2 muestra imágenes de los sitios de inyección de Matrigel en ratones representativos de todos los grupos diferentes, y la Figura 3 muestra un gráfico que representa la cantidad medida de hemoglobina acumulada en el Matrigel. Como es evidente a partir de las Figuras 2 y 3, CA-1 administrado a no menos de 10 mg/kg redujo significativamente la cantidad de hemoglobina acumulada en el Matrigel a casi el mismo nivel que la del grupo inyectado con Matrigel no complementado con el factor proangiogénico bFGF. Estos resultados demuestran que el compuesto de ensayo CA-1 tiene efecto antiangiogénico *in vivo*.

20 Ejemplo 3: evaluación de la actividad antitumoral en un modelo de trasplante de células cancerígenas de ratón después de administración intraperitoneal

Se suspendió el compuesto de ensayo CA-1 a concentraciones predeterminadas en CMC al 1 %. Se administró el vehículo (CMC al 1 %) para el grupo de control.

25 Se suspendieron células S180 de sarcoma de ratón a 1×10^7 células/ml en un medio de cultivo RPMI exento de suero y la suspensión se mantuvo en hielo. A continuación, la suspensión de células S180 se inoculó por vía subcutánea a 1×10^6 células/100 µl/ratón en los costados de ratones ddY hembra (5 semanas de edad) con una aguja de inyección de 23G. Los ratones se mantuvieron durante una semana para el injerto de las células S180. Posteriormente, se administró por vía intraperitoneal el compuesto de ensayo (5 mg/kg, 10 mg/kg y 25 mg/kg) o el vehículo (CMC al 1 %) en un programa de una vez cada dos días, 7 veces en total. La actividad antitumoral se evaluó como sigue a continuación: un día después de la administración final, los tumores se aislaron y se pesaron, y a continuación se comparó el peso del tumor entre los grupos de administración del compuesto de ensayo y el grupo de control.

35 Los resultados se muestran en las Figuras 4 y 5. La Figura 4 muestra una imagen para la comparación del tamaño de los tumores aislados de los ratones de todos los grupos, y la Figura 5 muestra un gráfico que representa los resultados de la medida del peso del tumor. Como es evidente a partir de las Figuras 4 y 5, los pesos del tumor en los grupos de administración de CA-1 a 5 mg/kg, 10 mg/kg y 25 mg/kg se redujeron en un 34 %, 23 % y 17 % con respecto a los del grupo de control, respectivamente. Por lo tanto, CA-1 mostró tener una acusada actividad antitumoral. No se observó en ninguno de los grupos pérdida de peso o diarrea, o anomalías visuales en los órganos de los ratones.

40 Ejemplo 4: síntesis de los compuestos representados por las fórmulas (XVIII), (XIX) y (XXIII)

45 De acuerdo con los esquemas que se muestran en la Figura 6, se sintetizaron el compuesto representado por la fórmula (XVIII) (denominado en lo sucesivo en el presente documento "CA-2"), el compuesto representado por la fórmula (XIX) (denominado en lo sucesivo en el presente documento "CA-3"), y el compuesto representado por la fórmula (XXIII) (denominado en lo sucesivo en el presente documento "CA-4").

(1) Síntesis del compuesto 14 (terc-butil((3,5-dimetoxiciclohexa-2,5-dien-1-il)metoxi)difenilsilano)

50 A una solución en DMF (1,0 ml) del compuesto 13 (17 mg, 0,098 mmol), se añadieron imidazol (33 mg, 0,48 mmol) y TBDPSCI (80 µl, 0,31 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos. A esto, se añadió una solución acuosa saturada de NH₄Cl y a continuación se llevó a cabo una extracción con CHCl₃. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 10:1) y se obtuvo el compuesto 14 (37,5 mg, 93 %).

55 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,71-7,69 (4H, m), 7,44-7,37 (6H, m), 4,73 (2H, d, J = 3,0 Hz), 3,56 (6H, s), 3,55 (2H, d, J = 7,5 Hz), 3,26-3,19 (1H, m), 2,84-2,74 (2H, m), 1,09 (9H, s).

(2) Síntesis del compuesto 15 (5-(((terc-butildifenilsilil)oxi)metil)ciclohexano-1,3-diona)

60 A una solución en THF (2,8 ml) del compuesto 14 (227 mg, 0,56 mmol), se añadió HCl 1 M (0,55 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con acetona y tolueno, y a continuación se concentró al vacío. De esta forma, se obtuvo el compuesto 15 (198 mg, 94 %).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,71-7,69 (4H, m), 7,44-7,37 (6H, m), 3,65-3,30 (3H, m), 2,75-2,30 (4H, m).

65

(3) Síntesis del compuesto 16 ((3R,3aR,11aS,11bR)-9-(((terc-butildifenilsilil)oxi)metil)-3-(isoquinolin-7-il)-3a-metil-1,3,3a,8,9,10,11a,11b-octahidrociclopenta[c]xanten-7(2H)-ona)

5 A una solución en AcOEt/CH₂Cl₂ (1:3, 8,0 ml) del compuesto 12 (véase el Ejemplo 1 y la Figura 1, 56 mg, 0,19 mmol), se añadieron el compuesto 15 (134 mg, 0,35 mmol) y etilendiamina (16 µl, 0,23 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 1:1) y se obtuvo el compuesto 16 (57 mg, 45 %) en forma de una mezcla diastereomérica (1:1).
 10 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,25 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,85 (1H, s), 7,80 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,67-7,62 (5H, m), 7,47-7,35 (7H, m), 6,37 (1/2H, s a), 6,34 (1/2H, s a), 6,05 (1H, dd, J = 10,0, 1,0 Hz), 5,90 (1H, d, J = 10,0 Hz), 4,89 (1/2H, dd, J = 12,0, 2,0 Hz), 4,87 (1/2H, dd, J = 12,0, 2,0 Hz), 3,67-3,57 (2H, m), 3,23 (1H, t, J = 10,0 Hz), 2,60-2,20 (9H, m), 1,87-1,78 (1H, m), 1,08 (9/2H, s), 1,07 (9/2H, s), 0,69 (3H, s).

(4) Síntesis del compuesto 17 (CA-2, (3R,3aR,11aS,11bR)-9-(hidroximetil)-3-(isoquinolin-7-il)-3a-metil-1,3,3a,8,9,10,11a,11b-octahidrociclopenta[c]xanten-7(2H)-ona)

20 A una solución en THF (0,7 ml) del compuesto 16 (42 mg, 0,066 mmol), se añadieron TBAF (1,0 M en THF, 0,13 ml, 0,13 mmol) y CH₃COOH (4 µl) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. A esto, se añadieron una solución salina saturada y una solución acuosa saturada de NaHCO₃ y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (AcOEt y AcOEt/MeOH = 10:1) y se obtuvo el
 25 compuesto 17 (24,3 mg, 88 %) en forma de una mezcla diastereomérica (1:1).
 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,25 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,85 (1H, s), 7,80 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,66-7,63 (2H, m), 6,36 (1/2H, s a), 6,35 (1/2H, s a), 6,05 (1/2H, d, J = 9,0 Hz), 6,04 (1/2H, d, J = 9,0 Hz), 5,91 (1/2H, d, J = 9,0 Hz), 5,90 (1/2H, d, J = 9,0 Hz), 4,89 (1/2H, dd, J = 12,0, 2,0 Hz), 4,85 (1/2H, dd, J = 12,0, 2,0 Hz), 3,67-3,57 (3H, m), 3,23 (1H, t, J = 10,0 Hz), 2,60-2,20 (9H, m), 1,87-1,78 (1H, m), 0,68 (3H, s).

(5) Síntesis del compuesto 18 (CA-3, (3R,3aR,11aS,11bR)-9-(aminometil)-3-(isoquinolin-7-il)-3a-metil-1,3,3a,8,9,10,11a,11b-octahidrociclopenta[c]xanten-7(2H)-ona)

35 A una solución en CH₂Cl₂ (0,2 ml) del compuesto 17 (4,2 mg, 0,01 mmol), se añadieron MsCl (4 µl, 0,05 mmol) y Et₃N (8 µl, 0,10 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. A esto, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. A una solución en DMF (0,2 ml) del residuo, se añadió NaN₃ (6,4 mg, 0,10 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. A esto, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. A una solución en
 40 THF/agua (0,4 ml + 0,1 ml) del residuo, se añadió PPh₃ (8,0 mg, 0,07 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. A esto, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (AcOEt y CH₂Cl₂/MeOH = 10:1) y se obtuvo el compuesto 18 (2,3 mg, 42 %) en forma de una mezcla diastereomérica (1:1).
 45 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,25 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,84 (1H, s), 7,80 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,66-7,63 (2H, m), 6,33 (1H, s a), 6,03 (1H, d, J = 9,5 Hz), 5,91 (1H, d, J = 9,0 Hz), 4,85 (1H, d, J = 13,0 Hz), 3,65 (2H, s a), 3,23-3,16 (3H, m), 2,60-2,20 (9H, m), 1,87-1,78 (1H, m), 0,67 (3H, s).

(6) Síntesis del compuesto 19 (CA-4, ácido (3R,3aR,11aS,11bR)-3-(isoquinolin-7-il)-3a-metil-7-oxo-1,2,3,3a,7,8,9,10,11a,11b-decahidrociclopenta[c]xanteno-9-carboxílico)

50 A una solución en CH₂Cl₂ (0,3 ml) del compuesto 17 (4,5 mg, 0,011 mmol), se añadieron peryodinano de Dess-Martin (6,9 mg, 0,016 mmol) y NaHCO₃ (3,7 mg, 0,044 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió una solución saturada de Na₂S₂O₃ y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. A una solución en t-BuOH (0,2 ml) del residuo, se añadieron NaClO₂ (3,0 mg, 0,033 mmol), 2-metil-2-buteno (70 µl) y una solución acuosa de NaH₂PO₄ (20 %, 0,2 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se
 60 secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (AcOEt y CH₂Cl₂/MeOH = 5:1) y se obtuvo el compuesto 19 (1,1 mg, 25 % en 2 etapas) en forma de una mezcla diastereomérica (1:1).
 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,28 (1H, s a), 8,50 (1H, d, J = 6,0 Hz), 7,87 (1H, s), 7,81 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,67-7,63 (2H, m), 6,35 (1H, s a), 6,03 (1H, d, J = 9,5 Hz), 5,91 (1H, d, J = 9,0 Hz), 4,88 (1H, d, J = 11,0 Hz), 3,23-3,16 (2H, m), 2,60-2,20 (8H, m), 1,87-1,78 (1H, m), 0,67 (3H, s).

Ejemplo 5: síntesis del compuesto representado por la fórmula (LIV)

De acuerdo con el esquema que se muestra en la Figura 7, se sintetizó el compuesto representado por la fórmula (LIV) (denominado en lo sucesivo en el presente documento "CA-5").

5 **(1) Síntesis del compuesto 20**
((1'S,2'R,3a'S,7a'S)-1'-(isoquinolin-7-il)-7a'-metiloctahidroespiro[[1,3]dioxolano-2,5'-inden]-2'-ol)

10 Se añadió $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ (1,0 M en THF, 3,3 ml, 3,3 mmol) a una solución en THF (13,6 ml) del compuesto 6 (véase el Ejemplo 1 y la Figura 1, 350 mg, 1,09 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadieron una solución acuosa 2 N de NaOH (17 ml) y una solución acuosa al 30 % de H_2O_2 (17 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se disolvió en MeOH (10 ml) y se añadió Na_2CO_3 (800 mg) a esto. Después de que la mezcla se calentara a reflujo durante 7 horas, la materia insoluble se retiró por filtración y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 30:3:1$ (fase inferior)) y se obtuvo el compuesto 20 (258 mg, 70 %).

15 RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 9,17 (1H, s), 8,46 (1H, d, J = 6,5 Hz), 7,79 (1H, s), 7,76 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,61 (1H, d, J = 6,5 Hz), 7,56 (1H, dd, J = 8,5, 1,5 Hz), 5,01 (1H, td, J = 9,0, 1,5 Hz), 4,00-3,95 (4H, m), 2,90 (1H, d, J = 7,5 Hz), 2,46-2,38 (1H, m), 2,02 (1H, td, J = 13,0, 8,5 Hz), 1,80-1,43 (7H, m), 0,63 (3H, s).

20 **(2) Síntesis del compuesto 21 ((1S,2R,3aS,7aS)-2-hidroxi-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metilhexahidro-1H-inden-5(6H)-ona)**

25 A una solución en acetona/agua (10 ml + 2 ml) del compuesto 20 (209 mg, 0,62 mmol), se añadió monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (293 mg, 1,54 mmol), y la mezcla se agitó a 70 °C durante 5 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió una solución saturada de NaHCO_3 y a continuación se llevó a cabo una extracción con CHCl_3 . La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 30:3:1$ (fase inferior)) y se obtuvo el compuesto 21 (174 mg, 96 %).

30 RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 9,24 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,85 (1H, s), 7,82 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,65 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,59 (1H, dd, J = 8,5, 1,5 Hz), 5,10 (1H, td, J = 9,0, 1,5 Hz), 3,64 (1H, s), 2,97 (1H, d, J = 8,0 Hz), 2,53-2,26 (5H, m), 2,15-2,08 (1H, m), 1,91 (1H, ddd, J = 14,5, 8,0, 2,0 Hz), 1,85 (1H, td, J = 12,0, 5,5 Hz), 1,75 (1H, ddd, J = 12,0, 6,5, 1,5 Hz), 0,83 (3H, s).

35 **(3) Síntesis del compuesto 22**
((1S,2R,3aS,7aS)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metil-2-((trietilsilil)oxi)hexahidro-1H-inden-5(6H)-ona)

40 A una solución en CH_2Cl_2 (7,3 ml) del compuesto 21 (214 mg, 0,73 mmol), se añadieron TESOTf (180 μl , 0,80 mmol) y 2,6-lutidina (110 μl , 0,95 mmol) a -78 °C, y la mezcla se agitó a -78 °C durante 20 minutos. A esto, se añadió una solución saturada de NH_4Cl y a continuación se llevó a cabo una extracción con CHCl_3 . La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 100:3:1$ (fase inferior)) y se obtuvo el compuesto 22 (207 mg, 70 %).

45 RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 9,25 (1H, s), 8,52 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,81-7,78 (2H, m), 7,65 (1H, d, J = 6,0 Hz), 7,58 (1H, dd, J = 8,5, 1,5 Hz), 4,95 (1H, td, J = 9,0, 2,0 Hz), 2,98 (1H, d, J = 7,5 Hz), 2,51-2,24 (5H, m), 2,04 (1H, td, J = 12,5, 8,5 Hz), 1,87-1,78 (2H, m), 1,69 (1H, ddd, J = 13,0, 7,5, 2,0 Hz), 0,83 (3H, s), 0,74 (9H, t, J = 8,0 Hz), 0,46-0,31 (6H, m).

50 **(4) Síntesis del compuesto 23**
((1R,2R,3aS,7aR)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metil-2-((trietilsilil)oxi)-2,3,3a,4-tetrahidro-1H-inden-5(7aH)-ona)

55 A una solución en CH_3CN (7,5 ml) del compuesto 22 (154 mg, 0,38 mmol), se añadieron HMDS (0,8 ml, 3,82 mmol), NaI (280 mg, 1,87 mmol) y TMSCl (0,24 ml, 1,89 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió una solución saturada de NH_4Cl y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. A una solución en DMSO (7,5 ml) del producto resultante, se añadió ácido 2-yodóxibenzoico (210 mg, 0,75 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 9 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadieron una solución saturada de NaHCO_3 y una solución saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/ $\text{AcOEt} = 1:1$) y se obtuvo el compuesto 23 (72 mg, 47 %).

60 RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 9,25 (1H, s), 8,52 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,84-7,80 (2H, m), 7,66 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,61 (1H, dd, J = 8,5, 1,5 Hz), 6,96 (1H, d, J = 14,5 Hz), 5,86 (1H, d, J = 14,5 Hz), 4,88 (1H, t, J = 7,0 Hz), 3,16 (1H, d, J = 7,0 Hz), 2,87-2,78 (1H, m), 2,63 (1H, dd, J = 17,5, 4,0 Hz), 2,41 (1H, dd, J = 17,5, 15,0 Hz), 2,16 (1H, td, J = 13,5, 8,5 Hz), 1,90 (1H, dd, J = 13,5, 7,5 Hz), 0,86 (3H, s), 0,73 (9H, t, J = 8,0 Hz), 0,46-0,31 (6H, m).

65

(5) Síntesis del compuesto 24 (trifluorometanosulfonato de (1R,2R,3aS,7aS)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metil-2-((trietilsilil)oxi)-2,3,3a,7a-tetrahidro-1H-inden-5-ilo)

A una solución en THF (4,2 ml) del compuesto 23 (85,5 mg, 0,21 mmol), se añadieron fenil-N-triflimida (300 mg, 0,84 mmol) y KHMDS (0,5 M en tolueno, 1,7 ml, 0,85 mmol) a -78 °C, y la mezcla se agitó durante 150 minutos. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera a aumentar hasta 0 °C, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con AcOEt. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 3:1) y se obtuvo el compuesto 24 (72 mg, 64 %).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,25 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 6,0 Hz), 7,84 (1H, s), 7,83 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,69 (1H, d, J = 6,5 Hz), 7,62 (1H, d, J = 8,5 Hz), 6,16 (1H, d, J = 10,0 Hz), 5,90 (1H, s), 5,77 (1H, dd, J = 10,0, 2,0 Hz), 4,92 (1H, t, J = 7,0 Hz), 3,41-3,36 (1H, m), 3,24 (1H, d, J = 6,5 Hz), 2,30 (1H, td, J = 13,0, 8,5 Hz), 1,94 (1H, dd, J = 13,0, 8,0 Hz), 0,73 (3H, s), 0,73 (9H, t, J = 8,0 Hz), 0,46-0,31 (6H, m).

(6) Síntesis del compuesto 25 ((1R,2R,3aS,7aS)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metil-2-((trietilsilil)oxi)-2,3,3a,7a-tetrahidro-1H-indeno-5-carboxilato de metilo)

A una solución en DMF (0,5 ml) del compuesto 24 (8,3 mg, 0,015 mmol), se añadieron Pd(PPh₃)₄ (2 mg, 0,002 mmol), MeOH (0,2 ml) y Et₃N (0,015 ml, 0,11 mmol) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó en atmósfera de monóxido de carbono a 40 °C durante 1 hora. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con AcOEt. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 2:1) y se obtuvo el compuesto 25 (6,7 mg, 97 %).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,25 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 6,0 Hz), 7,85 (1H, s), 7,81 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,67 (1H, d, J = 6,5 Hz), 7,63 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,10 (1H, d, J = 2,5 Hz), 6,32 (1H, d, J = 10,0 Hz), 6,05 (1H, d, J = 10,0 Hz), 4,93 (1H, t, J = 7,0 Hz), 3,77 (3H, s), 3,29 (1H, ddd, J = 12,0, 8,5, 2,5 Hz), 3,25 (1H, d, J = 6,5 Hz), 2,32 (1H, td, J = 13,0, 8,5 Hz), 1,95 (1H, dd, J = 13,0, 8,5 Hz), 0,73 (9H, t, J = 8,0 Hz), 0,62 (3H, s), 0,46-0,31 (6H, m).

(7) Síntesis del compuesto 26 (((1R,2R,3aS,7aS)-1-(isoquinolin-7-il)-7a-metil-2-((trietilsilil)oxi)-2,3,3a,7a-tetrahidro-1H-inden-5-il)metanol)

A una solución en CH₂Cl₂ (2,5 ml) del compuesto 25 (46 mg, 0,10 mmol), se añadió DIBAL-H (1,0 M en n-hexano, 0,3 ml, 0,3 mmol) a -78 °C, y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera a aumentar hasta 0 °C, esta se diluyó con CH₂Cl₂ (5 ml), y se añadió una solución acuosa de tartrato sódico potásico (7 ml). La mezcla se agitó durante 6 horas y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 1:1) y se obtuvo el compuesto 26 (22,5 mg, 52 %).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,24 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 6,0 Hz), 7,85 (1H, s), 7,81 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,65 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,63 (1H, dd, J = 8,5, 2,0 Hz), 6,03 (1H, d, J = 9,0 Hz), 5,90 (1H, s a), 5,89 (1H, dd, J = 9,0, 1,5 Hz), 4,93 (1H, t, J = 7,0 Hz), 4,16 (1H, d, J = 12,5 Hz), 4,11 (1H, d, J = 12,5 Hz), 3,24 (1H, d, J = 7,5 Hz), 3,24-3,19 (1H, m), 2,23 (1H, td, J = 13,5, 8,5 Hz), 1,88 (1H, dd, J = 12,0, 8,5 Hz), 0,73 (9H, t, J = 8,0 Hz), 0,63 (3H, s), 0,46-0,31 (6H, m).

(8) Síntesis del compuesto 28 ((2R,3R,3aS,11aS,11bR)-3-(isoquinolin-7-il)-3a-metil-2-((trietilsilil)oxi)-1,3,3a,8,9,10,11a,11b-octahidrociclopenta[c]xanten-7(2H)-ona)

A una solución en CH₂Cl₂ (1,3 ml) del compuesto 26 (22,5 mg, 0,054 mmol), se añadieron peryodinano de Dess-Martin (34,1 mg, 0,08 mmol) y NaHCO₃ (22,6 mg, 0,27 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió una solución saturada de NH₄Cl y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. De esta forma, se obtuvo una mezcla (27,5 mg) que contenía el compuesto 27.

A una solución en AcOEt (2,7 ml) del producto obtenido, se añadieron 1,3-ciclohexanodiona (12 mg, 0,11 mmol) y etilendiamina (4,3 µl, 0,064 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadió agua y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (n-hexano/AcOEt = 1:1) y se obtuvo el compuesto 28 (16,5 mg, 60 % en 2 etapas).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,26 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 6,0 Hz), 7,83 (1H, s), 7,81 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,66 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,61 (1H, dd, J = 8,5, 1,5 Hz), 6,36 (1H, s a), 6,01 (1H, d, J = 9,0 Hz), 5,78 (1H, d, J = 9,0 Hz), 4,95 (1H, t, J = 7,0 Hz), 4,81 (1H, dd, J = 11,5, 2,5 Hz), 3,17 (1H, d, J = 6,5 Hz), 2,84 (1H, td, J = 13,5, 7,5 Hz), 2,57 (1H, ddd, J = 18,0, 9,0, 5,0 Hz), 2,50 (1H, dt, J = 18,0, 5,0 Hz), 2,44-2,40 (2H, m), 2,25 (1H, td, J = 13,5, 8,5 Hz), 2,12-1,95 (3H, m), 0,75 (3H, s), 0,73 (9H, t, J = 8,0 Hz), 0,46-0,31 (6H, m).

**(9) Síntesis del compuesto 30 (CA-5,
 (3R,3aS,11aS,11bR)-3-(isoquinolin-7-il)-3a-metil-1,3,3a,9,10,11b-hexahidrociclopenta[c]xanteno-2,7(8H,
 11aH)-diona)**

5 A una solución en MeOH (0,7 ml) del compuesto 26 (4,7 mg, 0,009 mmol), se añadió una solución al 5 % de HCl (0,18 ml, 0,25 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Después de la adición de NaHCO₃ (64 mg), la mezcla de reacción se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se disolvió en CHCl₃ y la materia insoluble se retiró por filtración a través de un tapón de algodón. El filtrado se concentró al vacío y se obtuvo una mezcla (5,4 mg) que contenía el compuesto 29.

10 A una solución en CH₂Cl₂ (0,3 ml) del producto obtenido, se añadió peryodinato de Dess-Martin (11,6 mg, 0,03 mmol) a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción se hiciera disminuir hasta 0 °C, se añadieron una solución saturada de NH₄Cl y una solución saturada de Na₂S₂O₃ y a continuación se llevó a cabo una extracción con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (CHCl₃/MeOH/H₂O = 100:3:1 (fase inferior)) y se obtuvo el compuesto 30 (3,3 mg, 91 % en 2 etapas).

15 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 9,26 (1H, s), 8,55 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,84 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,77 (1H, s), 7,67 (1H, d, J = 5,5 Hz), 7,46 (1H, d, J = 8,5 Hz), 6,47 (1H, s a), 6,16 (1H, d, J = 9,0 Hz), 5,97 (1H, d, J = 9,0 Hz), 4,99 (1H, d, J = 9,0 Hz), 3,71 (1H, s), 2,90-2,81 (2H, m), 2,61 (1H, ddd, J = 18,0, 9,5, 5,5 Hz), 2,56-2,44 (4H, m), 2,12-1,95 (2H, m), 0,80 (3H, s).

20

Ejemplo 6: evaluación de la actividad antiproliferativa selectiva frente a células endoteliales vasculares (2)

25 Se evaluaron CA-1, CA-2, CA-3, CA-4 y CA-5 para la actividad antiproliferativa frente a células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) normales y células KB3-1 de carcinoma faríngeo humano. Los cinco compuestos se disolvieron por separado a concentraciones predeterminadas en EtOH. Se sembraron HUVEC y KB3-1 en placas de múltiples pocillos de 96 pocillos distintas a 2×10^3 células/100 µl/pocillo y se cultivaron en una atmósfera de un 5 % de CO₂ a 37 °C durante 24 horas. A continuación, se añadieron 1,0 µl de cada una de las soluciones en etanol que contenían el compuesto de ensayo o el compuesto control a diversas concentraciones, y las células se cultivaron en las mismas condiciones durante un período adicional de 72 horas. Después de 72 horas, se añadieron 10 µl del reactivo WST-8 (2-(2-metoxi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolio, sal monosódica). Después de una incubación de 3 horas, se determinó colorimétricamente la cantidad de formazano soluble en agua formado en células viables mediante la medida de la DO a 450 nm, y se calculó la proporción de inhibición del crecimiento por comparación de la cantidad de formazano entre los grupos de tratamiento con compuesto y el grupo sin tratamiento.

30

35 Los resultados de CA-1 se muestran en la Figura 8, los resultados de CA-2 se muestran en la Figura 9, los resultados de CA-3 se muestran en la Figura 10, los resultados de CA-4 se muestran en la Figura 11, y los resultados de CA-5 se muestran en la Figura 12. Como es evidente a partir de las Figuras 8 a 12, cada uno de estos compuestos inhibe selectivamente el crecimiento de células endoteliales vasculares.

40

Ejemplo 7: evaluación de la actividad antiangiogénica *in vivo* después de administración oral

45 El ensayo se llevó a cabo de la misma forma que en el Ejemplo 3, excepto por que se llevó a cabo administración oral en lugar de administración intraperitoneal y que se incluye además un grupo de administración de 50 mg/kg.

50 Los resultados se muestran en las Figuras 13 y 14. La Figura 13 muestra las imágenes de los sitios de inyección de Matrigel en ratones representativos de todos los grupos diferentes excepto el grupo de administración de 25 mg/kg, y la Figura 14 muestra un gráfico que representa la cantidad medida de hemoglobina acumulada en el Matrigel. Como es evidente a partir de las Figuras 13 y 14, CA-1 administrado a no menos de 10 mg/kg redujo significativamente la cantidad de hemoglobina acumulada en el Matrigel, y en el grupo de administración de 50 mg/kg, la cantidad de hemoglobina se redujo a casi el mismo nivel que el del grupo inyectado con Matrigel sin complementar con el factor proangiogénico bFGF. Estos resultados demuestran que el compuesto de ensayo CA-1 administrado por vía oral también exhibe efecto antiangiogénico *in vivo*.

55 Ejemplo 8: evaluación de la actividad antitumoral en un modelo de trasplante de células cancerígenas de ratón después de administración oral

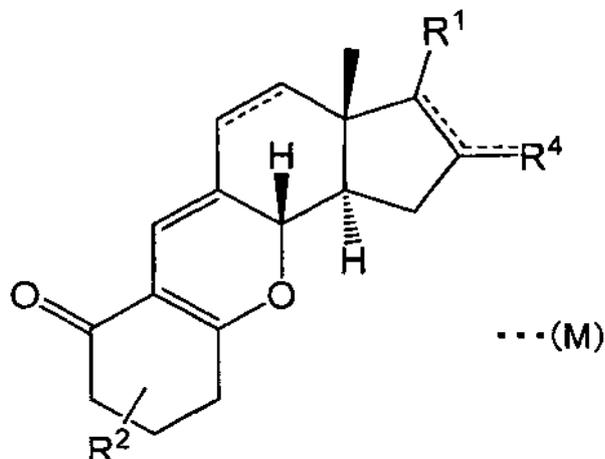
60 El ensayo se llevó a cabo de la misma forma que en el Ejemplo 3, excepto por que se llevó a cabo administración oral en lugar de administración intraperitoneal y que se incluyó un grupo de administración de 50 mg/kg en lugar del grupo de administración de 5 mg/kg.

65 Los resultados se muestran en las Figuras 15 y 16. La Figura 15 muestra una imagen para la comparación del tamaño de los tumores aislados de los ratones de todos los grupos, y la Figura 16 muestra un gráfico que representa los resultados de la medida del peso del tumor. Como es evidente a partir de las Figuras 15 y 16, los pesos del tumor de los grupos de administración de CA-1 de 10 mg/kg, 25 mg/kg y 50 mg/kg se redujeron en un 67 %, 50 % y 25 % con respecto a los del grupo de control, respectivamente. Por lo tanto, CA-1 mostró tener una acusada actividad

antitumoral. No se observó en ningún grupo pérdida de peso o diarrea, o anomalías visuales en los órganos del ratón.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula general (M):



5

en la que

10 R¹ representa un grupo heterocíclico aromático sustituido o sin sustituir seleccionado entre el grupo que consiste en un grupo piridilo, un grupo furilo, un grupo tienilo, un grupo indolilo, un grupo quinolilo, un grupo isoquinolilo, un grupo benzofuranilo, un grupo benzotienilo, un grupo imidazolilo, un grupo bencimidazolilo, un grupo tiazolilo, un grupo oxazolilo, un grupo pirazolilo, un grupo pirimidilo, un grupo pirazinilo, un grupo isoxazolilo, un grupo isoindolilo y un grupo pirrolilo,

15 R² representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo sustituido o sin sustituir que tiene de 1 a 3 átomos de carbono, OR³, N(R³)₂, C(=O)OR³ o C(=O)N(R³)₂,

R³ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

R⁴ representa un átomo de hidrógeno, un átomo de oxígeno u OR⁵,

20 R⁵ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono, y

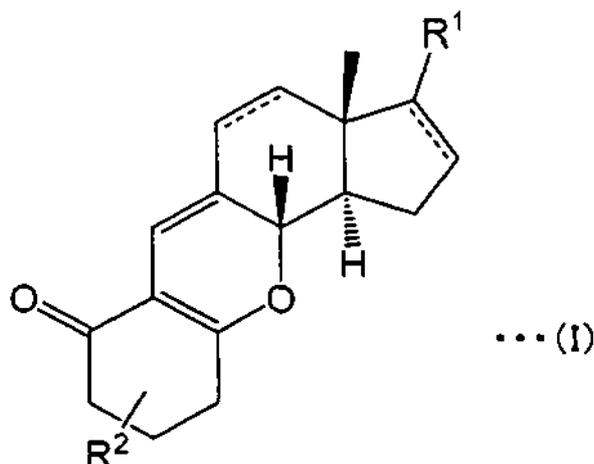
un sustituyente del grupo heterocíclico aromático sustituido o del grupo alquilo sustituido se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en un átomo de flúor, un átomo de cloro, un grupo ciano, un grupo hidroxilo, un grupo nitro, un grupo alquilo, un grupo cicloalquilo, un grupo alcoxi, un grupo amino, un grupo fenilo, un grupo naftilo, un grupo antrilo, un grupo estirilo, un grupo piridilo, un grupo piridoindolilo, un grupo quinolilo y un grupo benzotiazolilo; o

25

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que está representado por la fórmula general (I):

30



en la que R¹ y R² son como se definen en la reivindicación 1; o

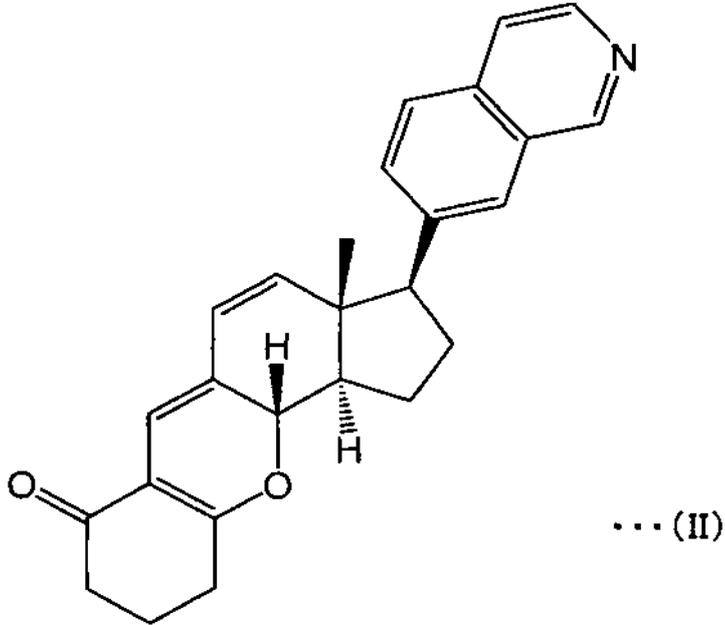
una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que R¹ es un grupo piridilo, un grupo quinolilo o un grupo isoquinolilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5

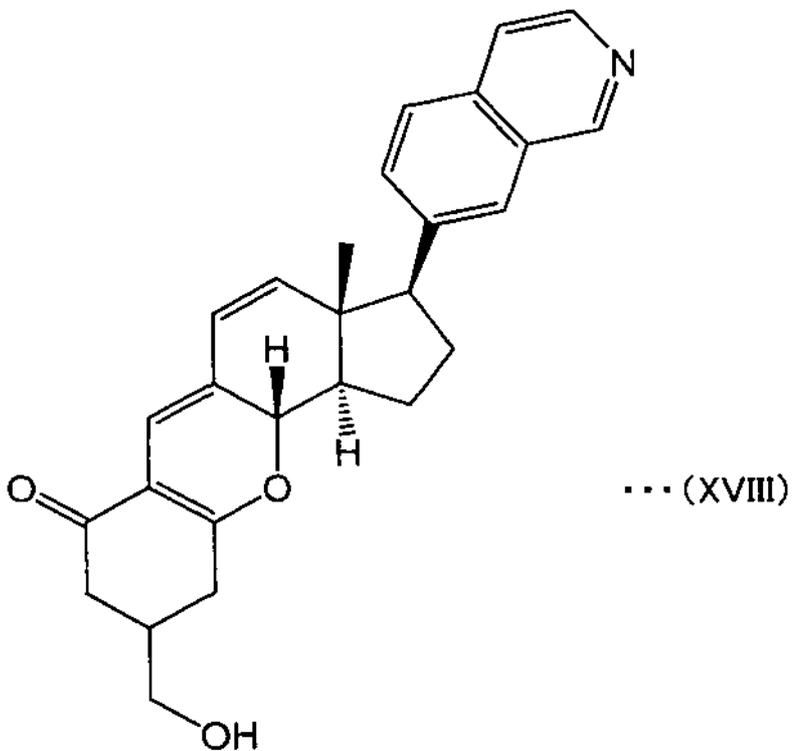
4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, que está representado por

la Fórmula (II):

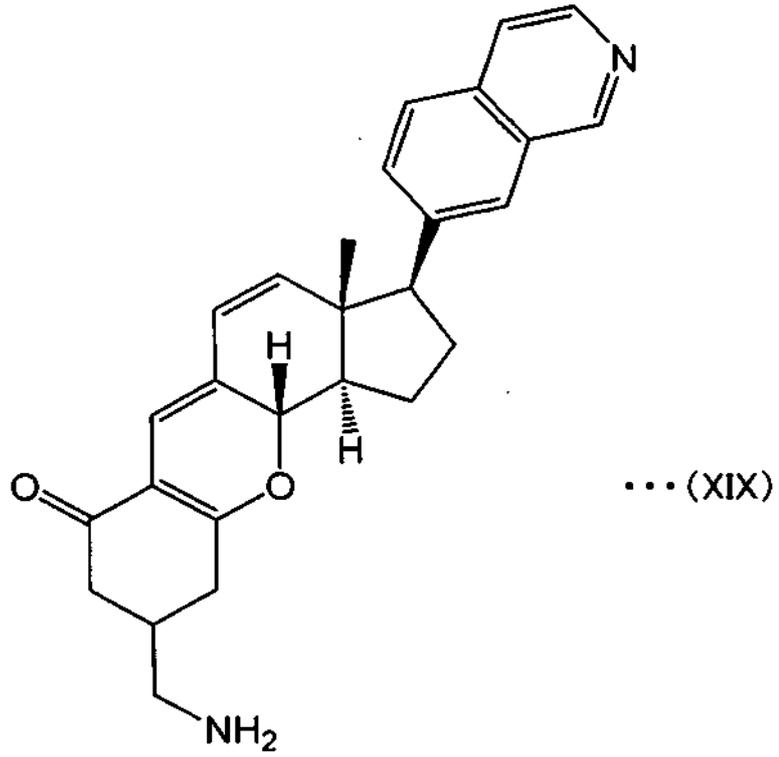


10

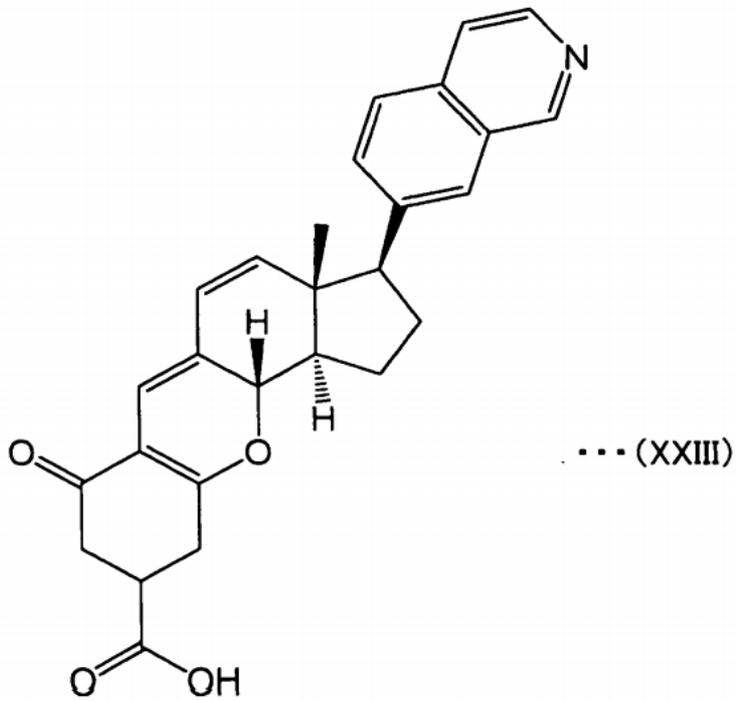
la Fórmula (XVIII):



la Fórmula (XIX):

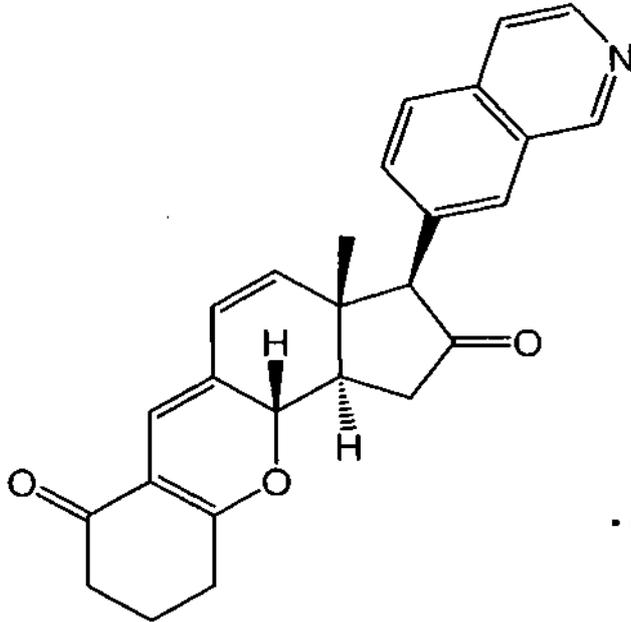


la Fórmula (XXIII):



5 o

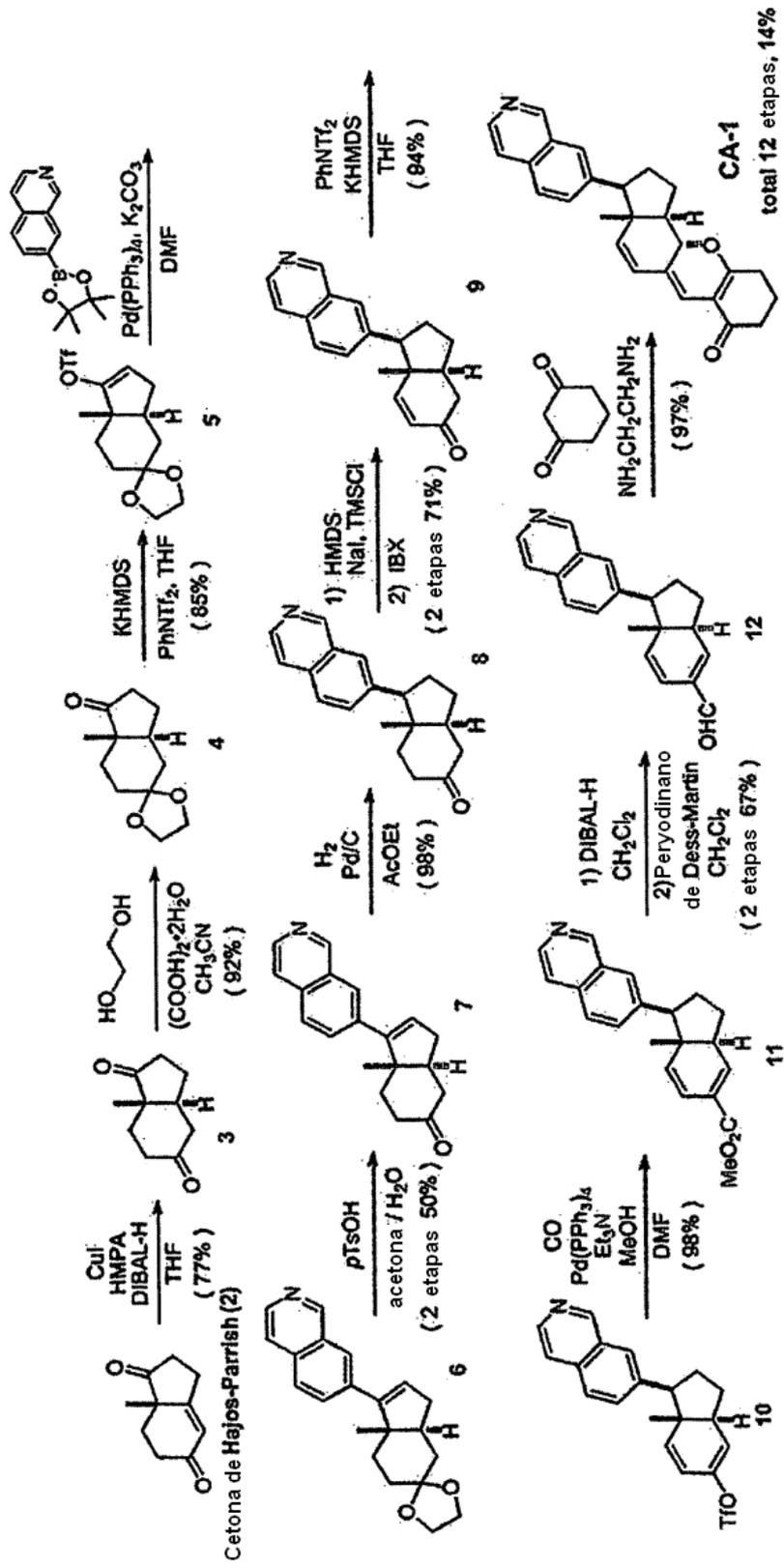
la Fórmula (LIV):



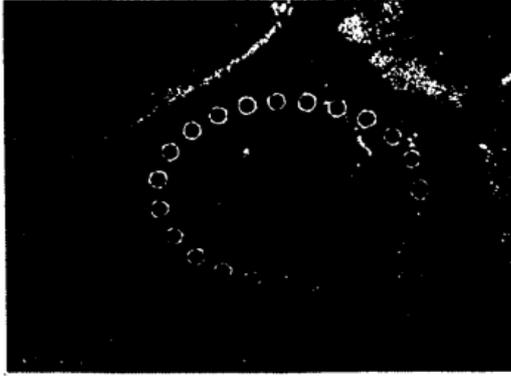
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 5. Una composición farmacéutica, que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
6. Un inhibidor del crecimiento de células endoteliales vasculares, que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.
- 10 7. Un inhibidor de angiogénesis, que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.
8. Un medicamento para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer, que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.
- 15 9. El medicamento para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, que es utilizable en combinación con un fármaco quimioterapéutico, un fármaco inmunoterapéutico o un fármaco para terapia hormonal.
- 20 10. El medicamento para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, que es utilizable en combinación con radioterapia.
11. El uso del compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la producción de medicamentos para la prevención o el tratamiento de cáncer.
- 25 12. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la prevención o el tratamiento de cáncer.

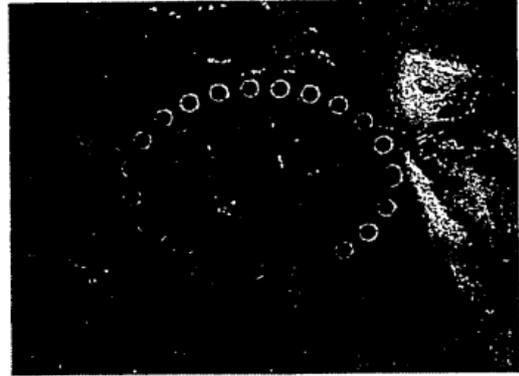
[Fig. 1]



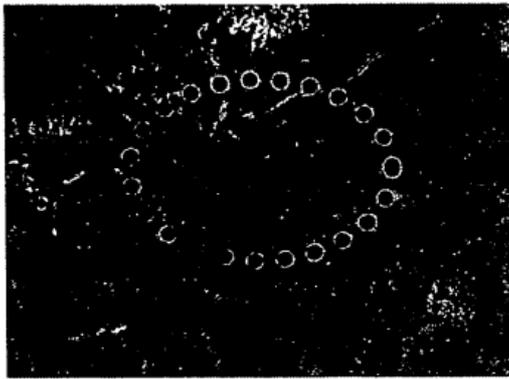
[Fig. 2]



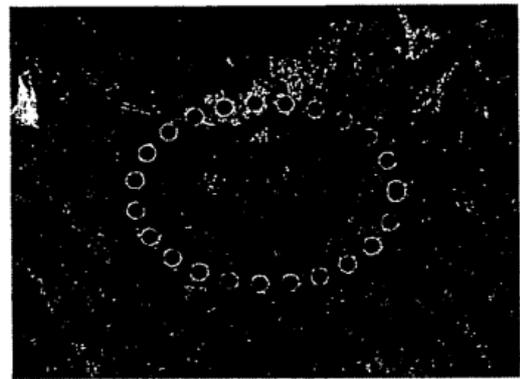
Control
negativo
(bFGF-)



Control
positivo
(bFGF+)

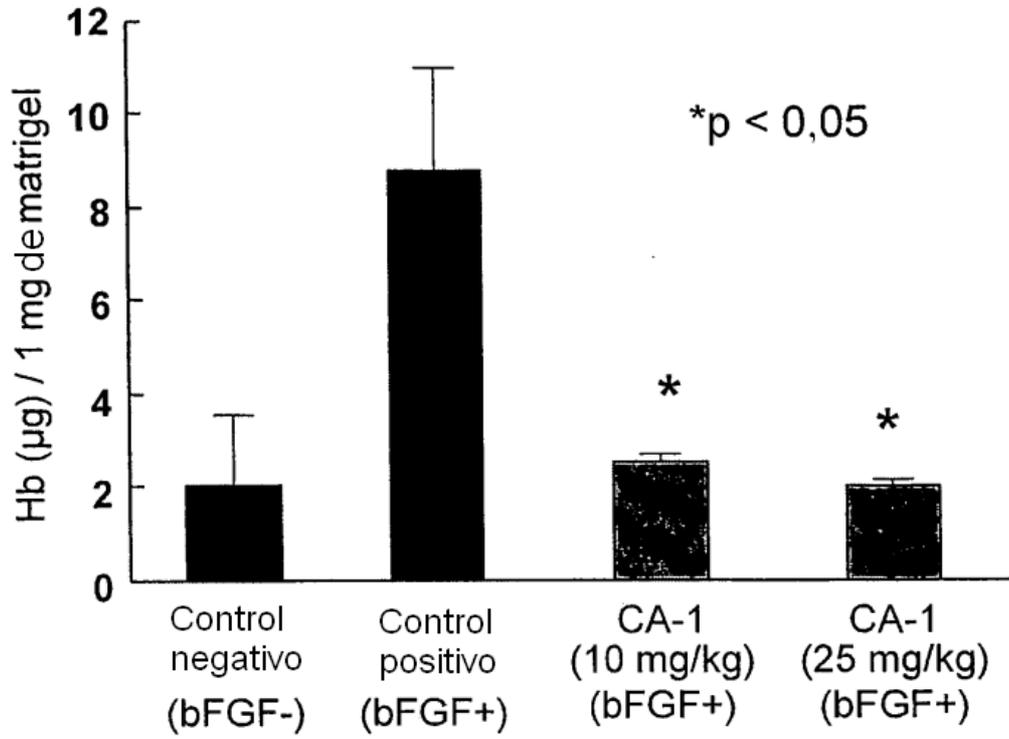


CA-1
(10 mg/kg)
(bFGF+)



CA-1
(25 mg/kg)
(bFGF+)

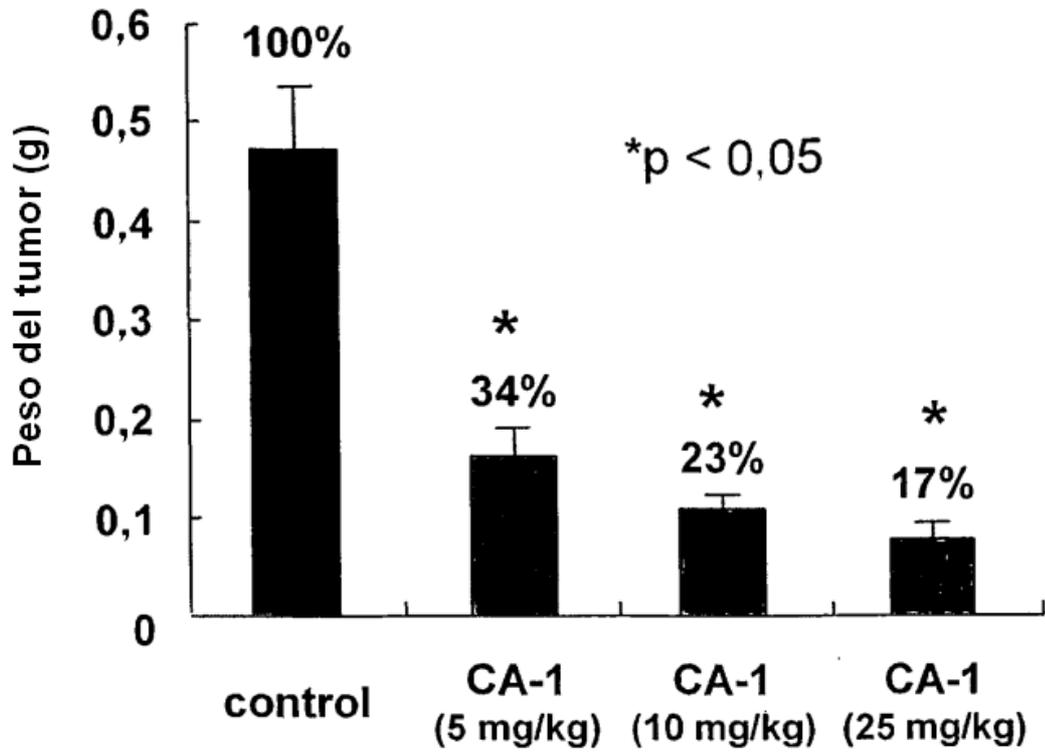
【Fig. 3】



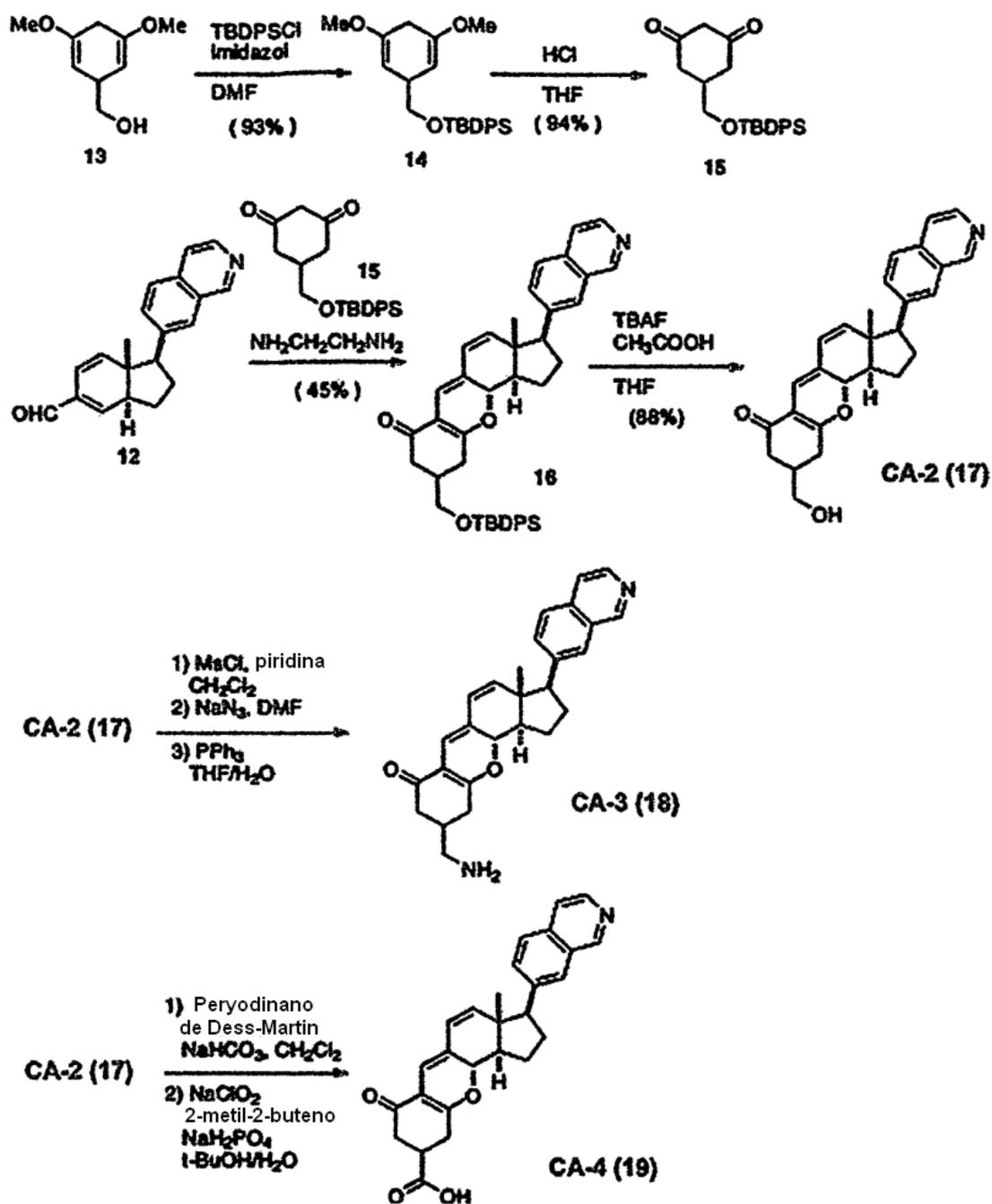
【Fig. 4】



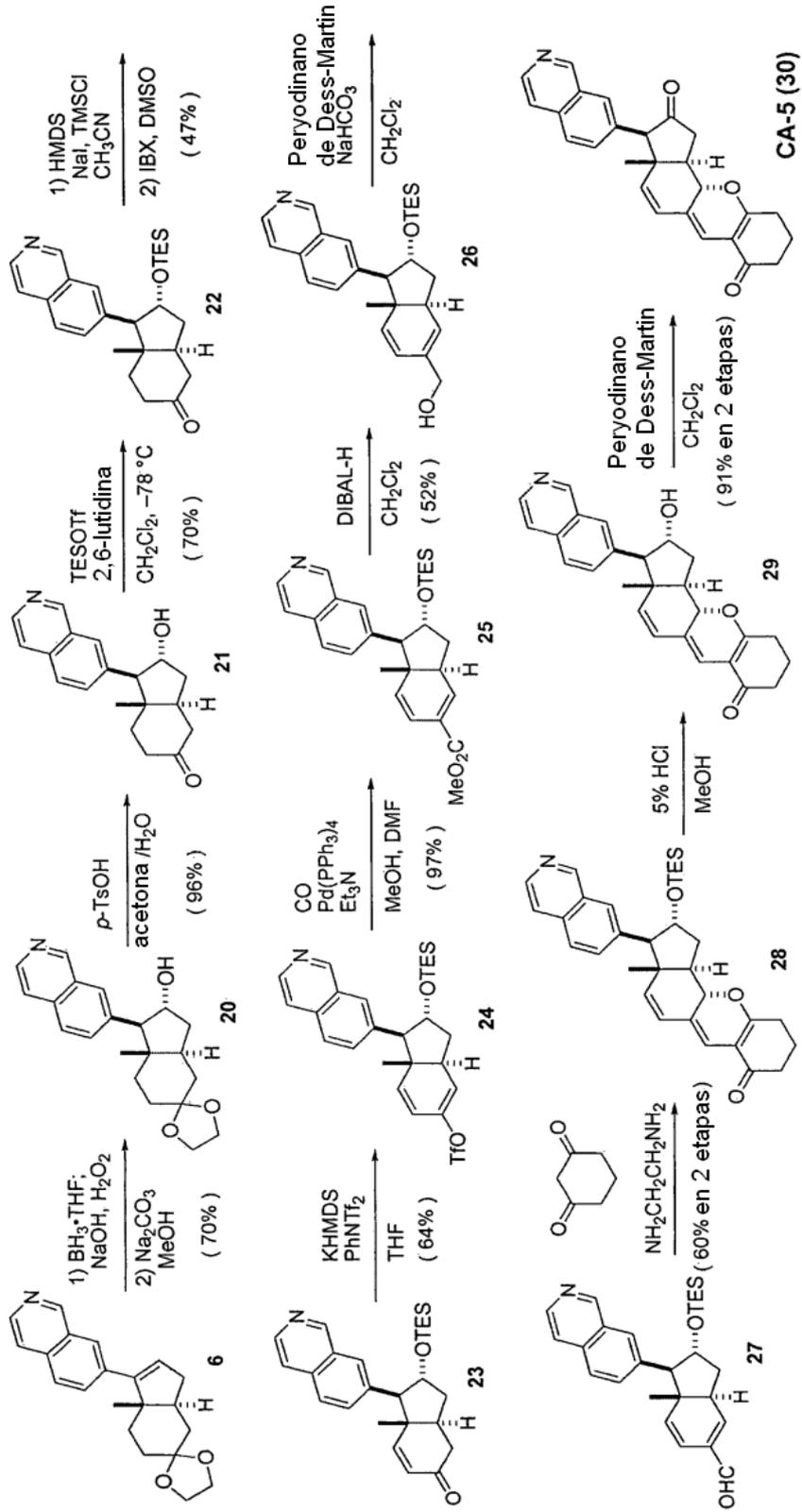
[Fig. 5]



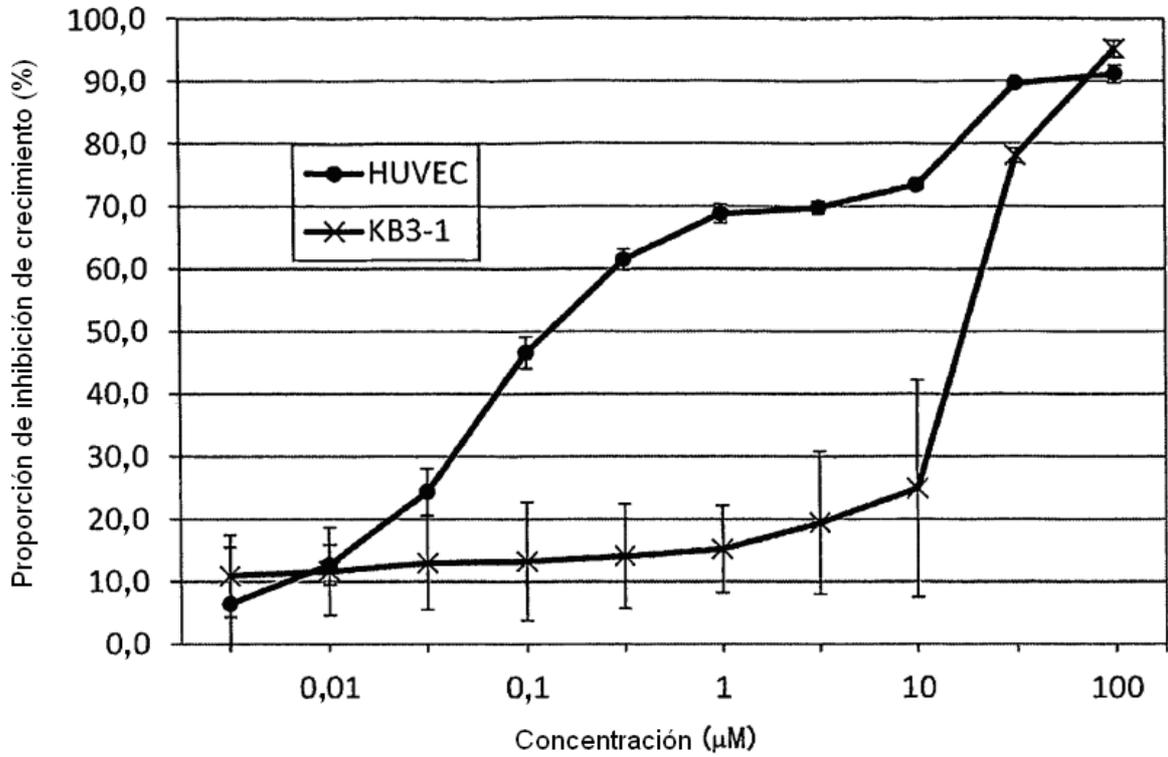
[Fig. 6]



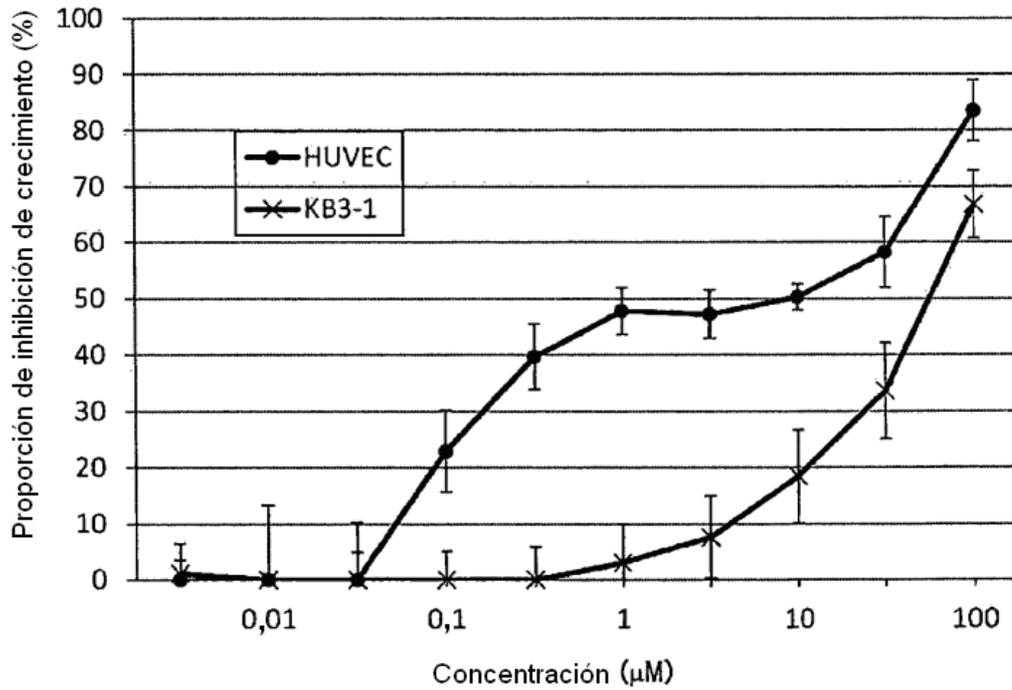
[Fig. 7]



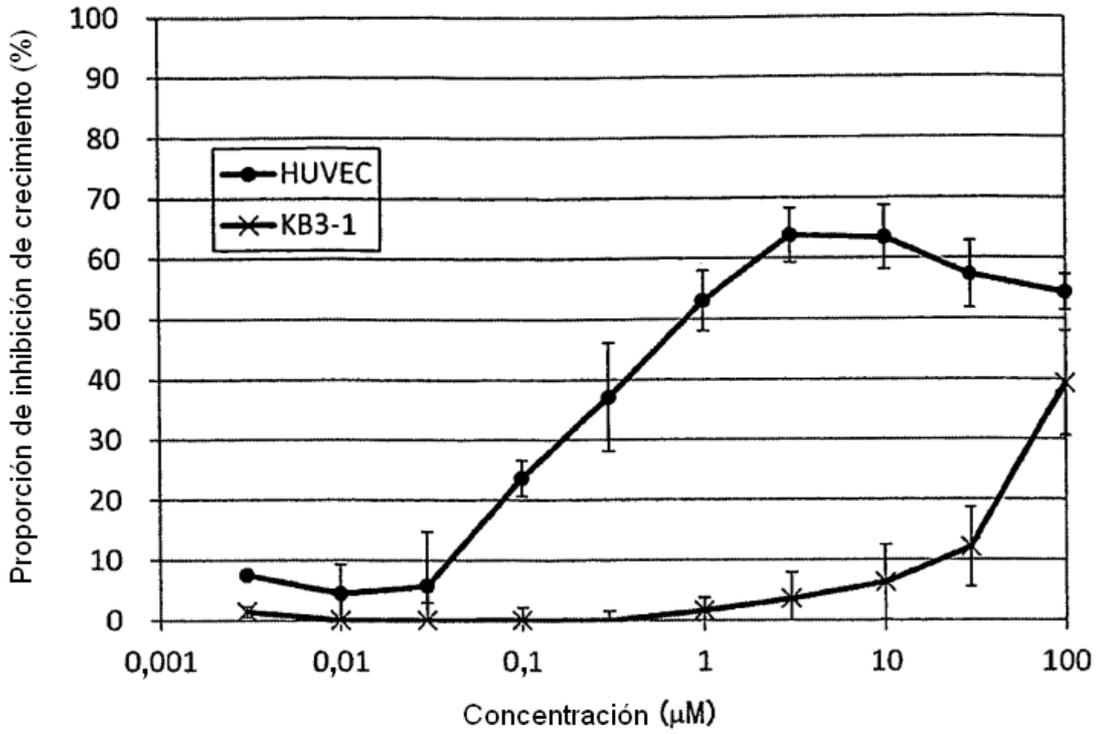
【Fig. 8】



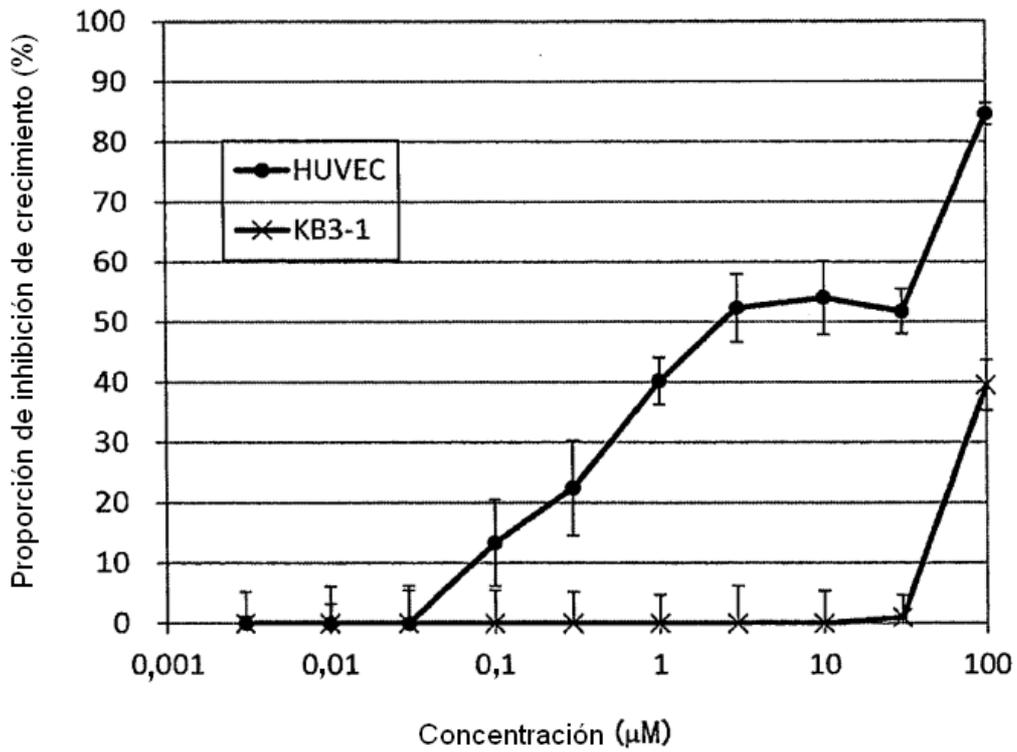
【Fig. 9】



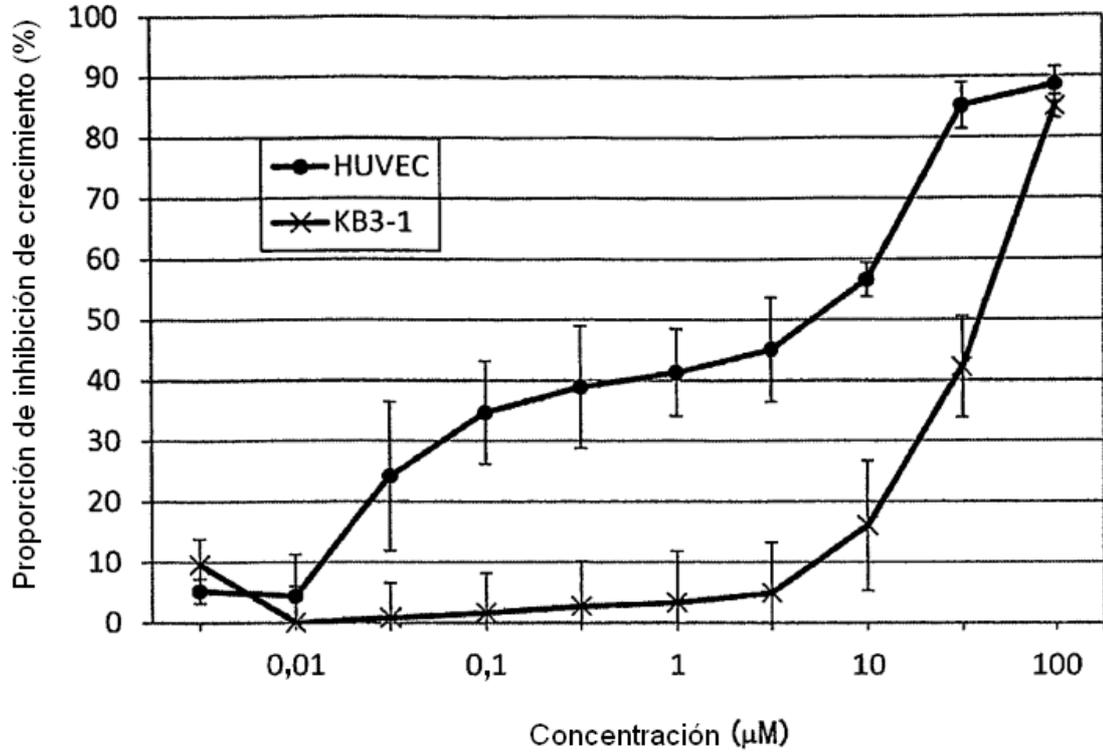
【Fig. 10】



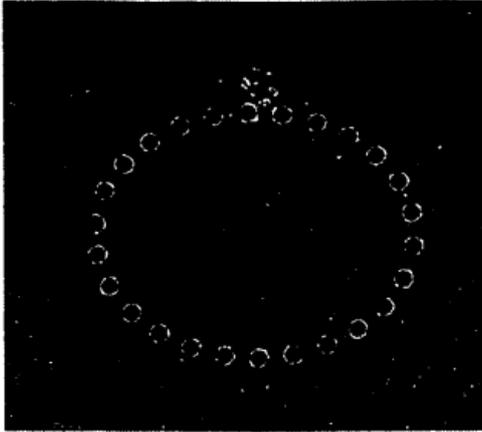
【Fig. 11】



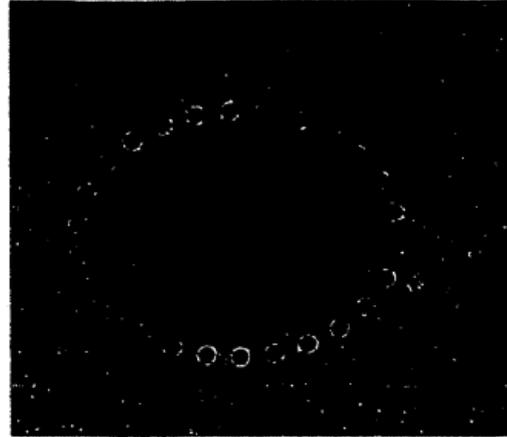
【Fig. 12】



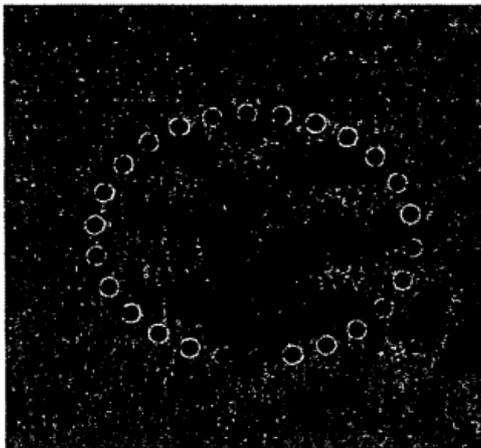
【Fig. 13】



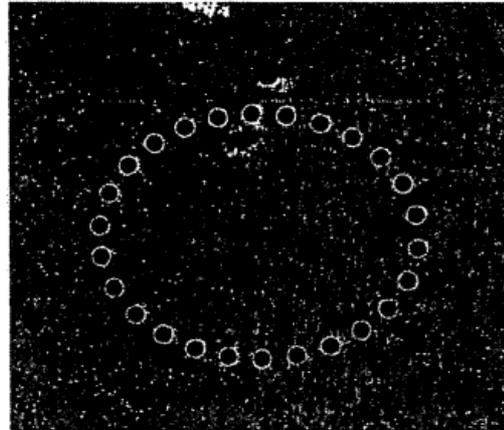
Control negativo
bFGF (—)



Control positivo
bFGF (+)

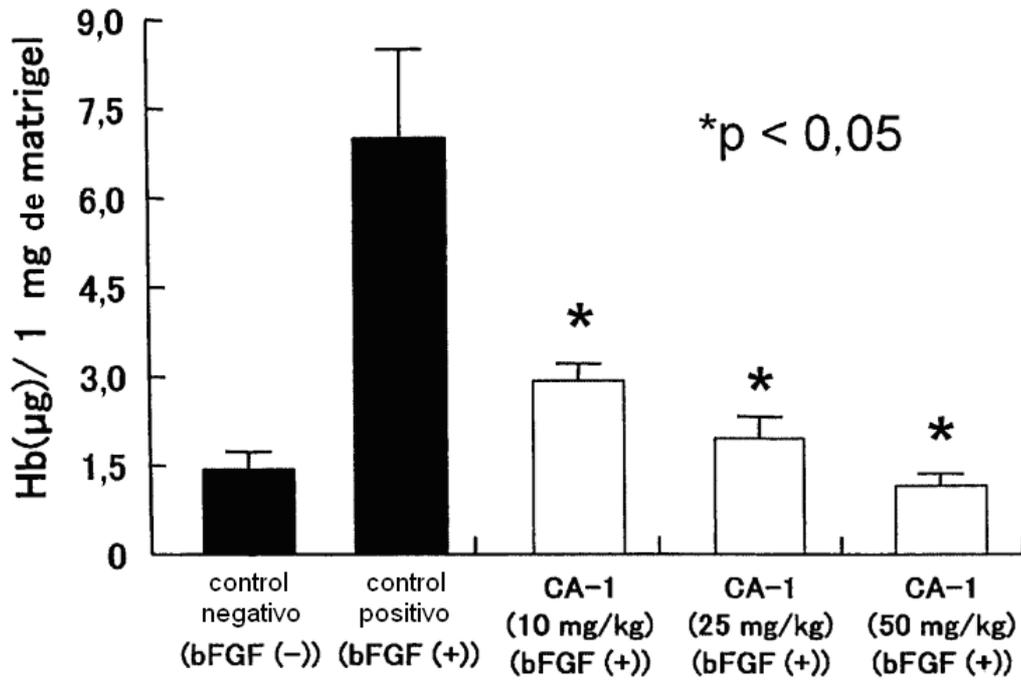


bFGF (+)
+ CA-1 (10 mg/kg)

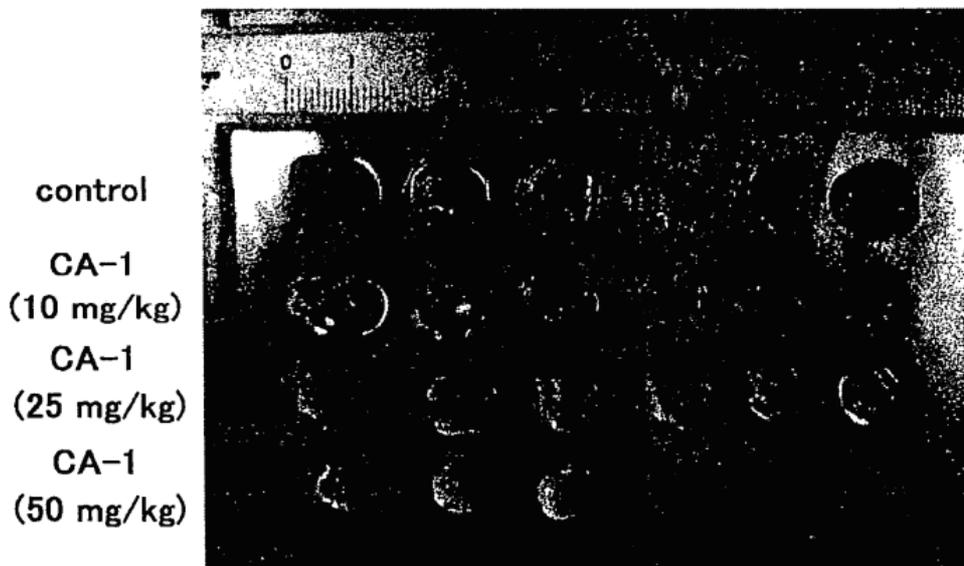


bFGF (+)
+ CA-1 (50 mg/kg)

[Fig. 14]



[Fig. 15]



【Fig. 16】

