

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 594 980**

51 Int. Cl.:

A61K 31/045 (2006.01)
C07D 223/32 (2006.01)
C07C 67/08 (2006.01)
C07C 37/50 (2006.01)
C07C 249/08 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.08.2011** **PCT/US2011/048650**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.02.2012** **WO12024682**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.08.2011** **E 11818895 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.07.2016** **EP 2605767**

54 Título: **Moduladores de SHIP1 y métodos relacionados**

30 Prioridad:

20.08.2010 US 375698 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.12.2016

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA
(100.0%)
University-Industry Liaison Office, 103-6190
Agronomy Road
Vancouver, BC V6T 1Z3, CA**

72 Inventor/es:

**WANG, XIAOXIA;
MEIMETIS, LABROS, GEORGE;
NODWELL, MATTHEW, BRUCE y
ANDERSEN, RAYMOND**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 594 980 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

Moduladores de SHIP1 y métodos relacionados

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio bajo 35 U.S.C. § 119(e) de la Solicitud de patente provisional de Estados Unidos N° 61/375.698, presentada el 20 de agosto de 2010.

Antecedentes

Campo técnico

La presente invención se refiere en general a moduladores de SHIP1, así como a composiciones y métodos relacionados con los mismos.

Descripción de la técnica relacionada

En respuesta a señales extracelulares, la fosfoinosítido 3-cinasa (PI3K) se activa y fosforila el fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PI-4,5-P₂) dentro de la membrana plasmática para generar fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP₃). El PIP₃ inicia entonces una cascada de rutas de señalización corriente abajo interactuando con proteínas que contienen el dominio de homología a pleckstrina (PH), tal como la proteína cinasa B (PKB, conocida también como Akt), que regulan la activación, función, proliferación y/o supervivencia celular, dependiendo del tipo de célula y estímulo (Deane et al., Annu Rev Immunol 22, 563-598, 2004). Los niveles celulares de PIP₃ normalmente están estrechamente regulados por la PI3K, las 5'-inositol-fosfatasa SHIP1 (inositol fosfatasa que contiene el dominio SH2) y SHIP2, y por la 3' inositol fosfatasa PTEN. Las SHIP1 y SHIP2 desfosforilan el PIP₃ hasta fosfatidilinositol-3,4-bifosfato (PI-3,4-P₂), mientras que PTEN desfosforila el PIP₃ hasta PI-4,5-P₂ (Sly et al., Exp Hematol 31, 1170-1181, 2003; Vivanco et al., Nat Rev Cancer 2, 489-501, 2002). De estas, la SHIP1 es única en que su expresión está restringida principalmente a las células inmunitarias y hematopoyéticas (Sly et al., Exp Hematol 31, 1170-1181, 2003; Damen et al., Proc Natl Acad Sci USA. 93, 1689-1693, 1996).

El papel de SHIP1 en la homeostasia de las células inmunitarias se muestra tanto por el síndrome mieloproliferativo observado en ratones SHIP1^{-/-}, como por la hipersensibilidad de los ratones y las células SHIP1^{-/-} a la estimulación inmunitaria (Helgason et al., Genes Dev 12, 1610-1620, 1998; Sly et al., Immunity 21, 227-239, 2004). Se ha demostrado que la SHIP1 media en la señalización a partir del receptor inhibidor FcγRIIB (Coggeshall et al., Mol Immunol 39, 521-529, 2002), y es importante en la terminación de la transducción de señales a partir de la activación de sistemas de receptores de células inmunitarias/hematopoyéticas (Kalesnikoff et al., Rev Physiol Biochem Pharmacol 149, 87-103, 2003). Se ha observado también una disminución de la actividad o expresión de SHIP1 en enfermedades inflamatorias humanas (Vonakis et al., J Allergy Clin Immunol 108, 822-831, 2001) y en neoplasias malignas hematopoyéticas (Liang et al., Proteomics 6, 4554-4564, 2006; Fukuda et al., Proc Natl Acad Sci USA. 102, 15213-15218, 2005; Luo et al., Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi 12, 420-426, 2004; Vanderwinden et al., Cell Signal 18, 661-669, 2006).

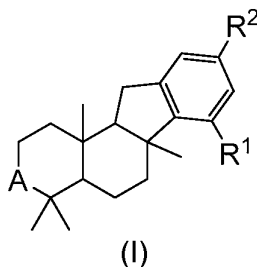
Debido a que la desregulación de la activación de la ruta PI3K contribuye a trastornos inflamatorios/inmunitarios y al cáncer, se han empleado intensos esfuerzos en el desarrollo de inhibidores de la propia PI3K, así como de las proteínas cinasas aguas abajo (Workman et al., Nat Biotechnol 24, 794-796, 2006; Simon, Cell 125, 647-649, 2006; Hennessy et al., Nat Rev Drug Discov 4, 988-1004, 2005; Knight et al., Cell 125, 733-747, 2006). Los precedentes del descubrimiento y la eficacia biológica de los inhibidores de la cinasa están bien establecidos, y el desarrollo de una serie de agentes terapéuticos para tratar trastornos inmunitarios y hematopoyéticos, debido a su expresión hematopoyética restringida, podría limitar los efectos de un agonista específico de SHIP1 en las células diana.

Hasta la fecha, se ha descrito una serie de moduladores de SHIP1 de molécula pequeña, que incluyen compuestos de sesquiterpeno tales como pelorol, que es un producto natural aislado de la esponja marina tropical *Dactylospongia elegans* (Kwak et al., J Nat Prod 63, 1153-1156, 2000; Goclik et al., J Nat Prod 63, 1150-1152, 2000). Otros moduladores de SHIP1 descritos incluyen los compuestos indicados en Ong et al. Blood 110, 1942-1949, 2007; Kennah et al. Experimental Hematology 37, 1274-1283, 2009; Yang et al. Org. Lett. 7, 1073-1076, 2005; WO2003/033517, WO2004/035601, WO2007/147251 y WO2007/147252.

Aunque se han hecho importantes esfuerzos en este campo, sigue existiendo la necesidad de moduladores de SHIP1 de molécula pequeña eficaces, que tengan mejor solubilidad en agua. También existe la necesidad de composiciones farmacéuticas que contengan tales compuestos y de métodos para preparar tales compuestos, así como de métodos relacionados con el uso de los mismos para el tratamiento de trastornos o afecciones que se podrían beneficiar de la modulación de SHIP1. La presente invención satisface estas necesidades y proporciona otras ventajas relacionadas.

Breve sumario

En resumen, esta invención se dirige en general a compuestos que tienen la siguiente estructura (I):



incluyendo estereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde R^1 , R^2 y A son como se definen más adelante.

Los compuestos de la estructura (I) tienen actividad como moduladores de SHIP1 y utilidad en una amplia gama de aplicaciones terapéuticas, y se pueden usar para tratar cualquiera de una variedad de trastornos o afecciones que se podrían beneficiar de la modulación de SHIP1. Por ejemplo, dichos trastornos o afecciones incluyen (pero no se limitan a) enfermedades autoinmunes, tales como fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad inflamatoria del intestino (incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa), artritis reumatoide, enfermedad de Still, síndrome de Sjogren, lupus eritematoso sistémico, y esclerosis sistémica; enfermedades inflamatorias tales como rinitis alérgica, enfermedad de Alzheimer, asma, enfermedades inflamatorias oculares (incluyendo conjuntivitis alérgica, ojo seco, y uveítis), enfermedad pulmonar obstructiva crónica, eczema, inflamación post operatoria, esclerosis múltiple, psoriasis, espondiloartropatías seronegativas (incluyendo espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, y síndrome de Reiter), y vasculitis (incluyendo granulomatosis de Wegener, poliarteritis nudosa, vasculitis leucocitoclástica, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis crioglobulinémica y arteritis de células gigantes); y enfermedades neoplásicas u otros trastornos proliferativos celulares tales como leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia basófila, linfoma cutáneo de células T, síndrome de Sezary, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, síndromes hipereosinofílicos, mastocitosis y trombocitemia.

Además de tener actividad como moduladores de SHIP1, los compuestos de la estructura (I) también muestran mejor solubilidad en agua en comparación con otros moduladores conocidos de SHIP1. Por consiguiente, en una realización de esta invención, se proporcionan moduladores de SHIP1 que tienen mejor solubilidad en agua en comparación con otros moduladores descritos de SHIP1.

Los métodos de esta invención incluyen la síntesis enantioselectiva de compuestos de la estructura (I). En consecuencia, en otra realización se describe un método para la preparación de compuestos de la estructura (I) que utilizan catalizadores enantioselectivos.

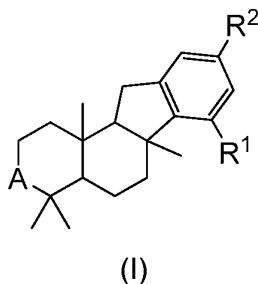
Los métodos de esta invención incluyen administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la estructura (I), típicamente en la forma de una composición farmacéutica, a un animal que lo necesite, incluyendo un mamífero (tal como un ser humano). Por consiguiente, en otra realización, se describen composiciones farmacéuticas que contienen uno o más compuestos de la estructura (I) en combinación con un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Estos y otros aspectos de la invención serán evidentes con referencia a la siguiente descripción detallada. Con este fin, se indican varias referencias en la presente memoria que describen en más detalle cierta información, procedimientos, compuestos y/o composiciones antecedentes.

Descripción detallada

Como se ha mencionado antes, esta invención se dirige en general a moduladores de SHIP1 de molécula pequeña, así como a las correspondientes composiciones y métodos de uso. Como se usa en la presente memoria, un modulador de SHIP1 puede servir como agonista o como antagonista de SHIP1.

En una realización, se describen compuestos que tienen la siguiente estructura (I):



o una de sus sales o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, en donde

5 R^1 y R^2 son cada uno, independientemente, hidrógeno, hidroxilo, alquilo o alcoxi, con la condición de que al menos uno de R^1 y R^2 es hidroxilo o alcoxi;

A es $-\text{CHR}^3-$, $-\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{NR}^6-$, $-\text{NR}^6\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)-$, $-\text{C}(=\text{O})-$ o $-\text{C}(=\text{N}-\text{OR}^6)-$;

R^3 es $-\text{OR}^6$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}^6$ o $-\text{NR}^6\text{R}^7$;

R^4 y R^5 son cada uno hidrógeno o ambos R^4 y R^5 pueden considerarse juntos para formar un resto oxo; y

10 R^6 y R^7 son, en cada aparición, independientemente, hidrógeno, alquilo, arilo opcionalmente sustituido o aralquilo opcionalmente sustituido.

Como se usan en la presente memoria, los siguientes términos tienen los significados que se indican a continuación.

15 "Alquilo" significa un hidrocarburo alifático de cadena lineal o ramificada, no cíclico o cíclico, insaturado o saturado, que contiene de 1 a 10 átomos de carbono. Los alquilos de cadena lineal saturados representativos, incluyen metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilo, y similares; mientras que los alquilos de cadena ramificada saturados incluyen isopropilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, isopentilo, y similares. Los alquilos cíclicos saturados representativos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, y similares; mientras que los alquilos cíclicos insaturados incluyen ciclopentenilo y ciclohexenilo, y similares. Los alquilos cíclicos se denominan también aquí "homociclos" o "anillos homocíclicos." Los alquilos insaturados contienen al menos un doble o triple enlace entre átomos de carbono adyacentes (se denominan "alquenilo" o "alquinilo", respectivamente). Los alquenilos de 20 cadena lineal y ramificada representativos incluyen etilenilo, propilenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutilenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2-metil-2-butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo, y similares; mientras que los alquinilos de cadena lineal y ramificada representativos, incluyen acetilenilo, propinilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-metil-1-butenilo, y similares.

"Arilo" significa un alquilo cíclico aromático, tal como fenilo y naftilo.

25 "Aralquilo" significa un alquilo que tiene al menos un átomo de hidrógeno del alquilo reemplazado con un resto arilo, tal como $-\text{CH}_2$ -fenilo, y similares.

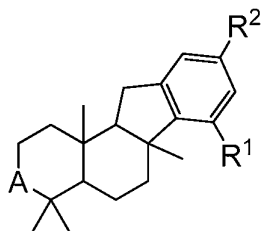
30 Un arilo o aralquilo "opcionalmente sustituido" significa un arilo o aralquilo, resto tal como se ha definido antes, en el que 1 a 4 átomos de hidrógeno del resto arilo o aralquilo están reemplazados con un sustituyente. En el caso de un sustituyente oxo ($=\text{O}$) están reemplazados dos átomos de hidrógeno. Cuando está sustituido, los "sustituyentes" en el contexto de esta invención incluyen oxo, halógeno, hidroxilo, alcoxi, y alquilo.

"Alcoxi" significa un resto alquilo unido por medio de un puente de oxígeno (esto es, $-\text{O}$ -alquilo), tal como metoxi, etoxi, y similares.

"Hidroxilo" significa $-\text{OH}$.

"Halógeno" significa fluoro, cloro, bromo y yodo.

Como se ha indicado antes, una realización de la presente invención es un compuesto de la estructura (I):



(I)

o una de sus sales o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, en donde

5 R^1 y R^2 son cada uno, independientemente, hidrógeno, hidroxilo, alquilo o alcoxi, con la condición de que al menos uno de R^1 y R^2 es hidroxilo o alcoxi;

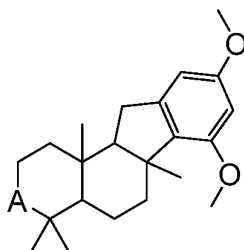
A es $-\text{CHR}^3-$, $-\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{NR}^6-$, $-\text{NR}^6\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)-$, $-\text{C}(=\text{O})-$ o $-\text{C}(=\text{N}-\text{OR}^6)-$;

R^3 es $-\text{OR}^6$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}^6$ o $-\text{NR}^6\text{R}^7$;

R^4 y R^5 son cada uno hidrógeno o ambos R^4 y R^5 pueden considerarse juntos para formar un resto oxo; y

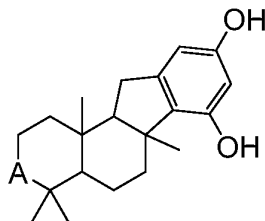
10 R^6 y R^7 son, en cada aparición, independientemente, hidrógeno, alquilo, arilo opcionalmente sustituido o aralquilo opcionalmente sustituido.

En otra realización, R^1 y R^2 son cada uno metoxi y el compuesto tiene la siguiente estructura (II):



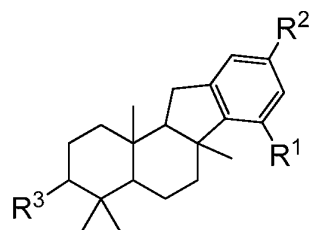
(II)

En otra realización, R^1 y R^2 son cada uno hidroxilo y el compuesto tiene la siguiente estructura (III):



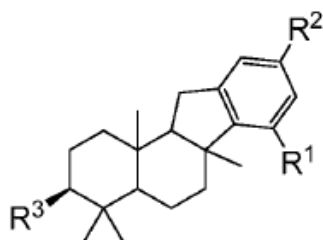
(III)

En aún otras realizaciones, A es $-\text{CHR}^3-$, y el compuesto tiene la siguiente estructura (IV):

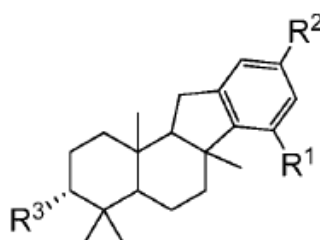


(IV)

En otras realizaciones de la estructura (IV), el compuesto tiene una de las siguientes estructuras (IV-1) o (IV-2):



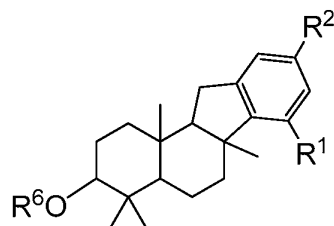
(IV-1)



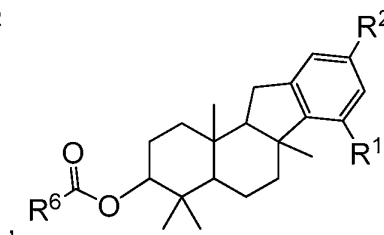
(IV-2)

o

5 En otras realizaciones, el compuesto tiene una de las siguientes estructuras (IV-3), (IV-4) o (IV-5):

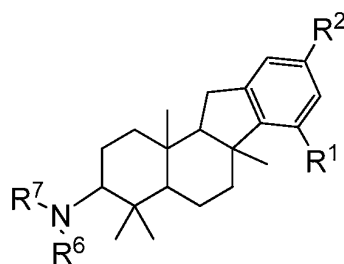


(IV-3)



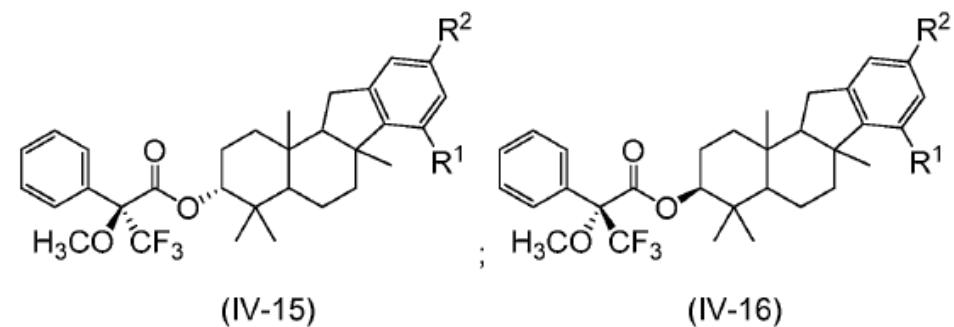
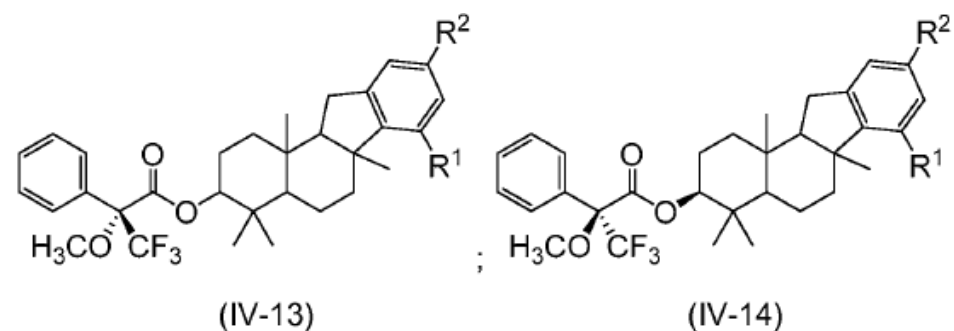
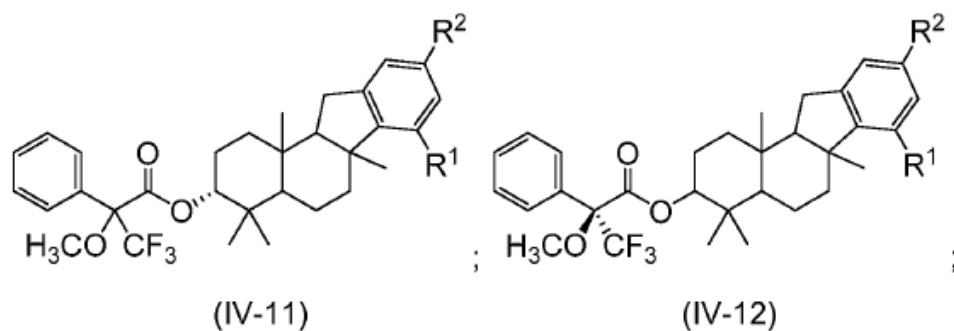
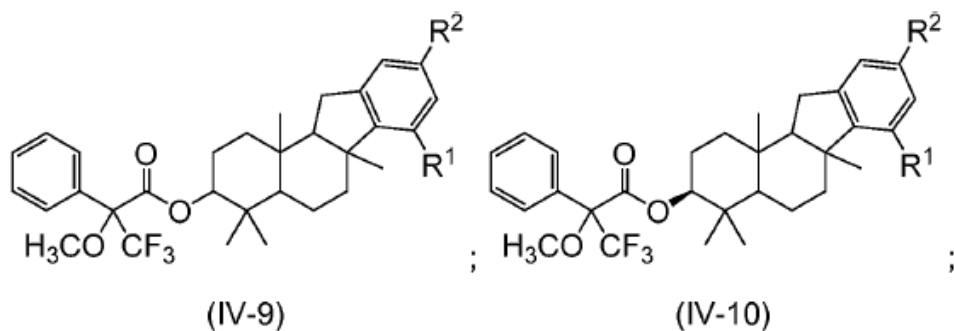
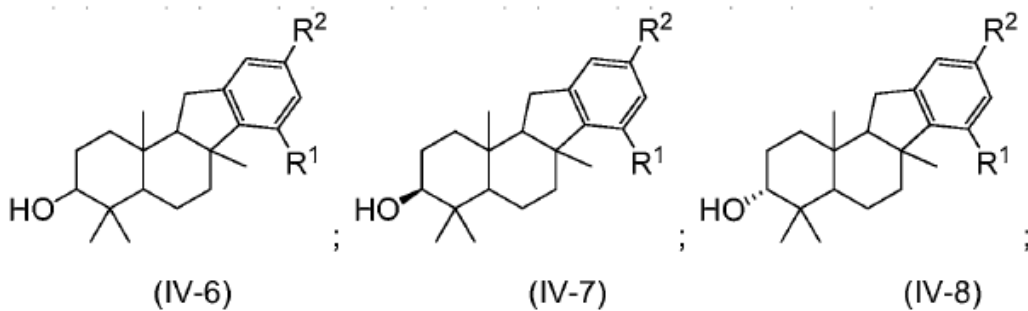
(IV-4)

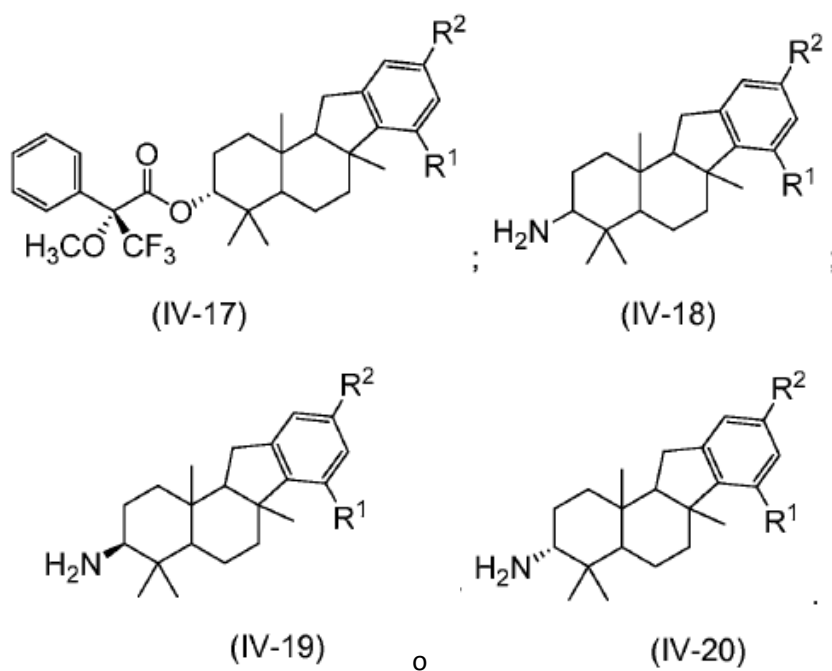
o



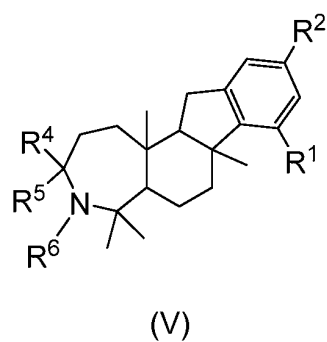
(IV-5)

En aún otras realizaciones de la estructura (IV), el compuesto tiene una de las siguientes estructuras (IV-6), (IV-7), (IV-8), (IV-9), (IV-10), (IV-11), (IV-12), (IV-13), (IV-14), (IV-15), (IV-16), (IV-17), (IV-18), (IV-19) o (IV-20):



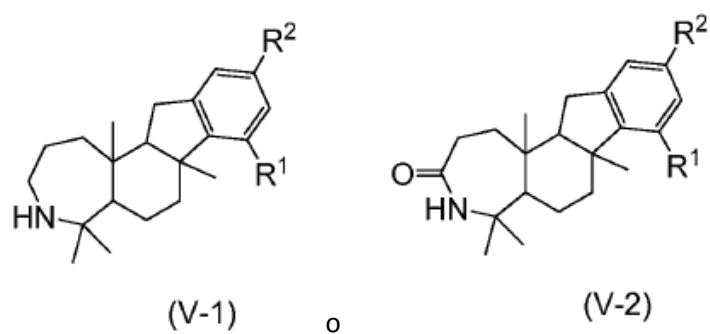


En otras realizaciones, A es $-C(R^4)(R^5)NR^6-$, y el compuesto tiene la siguiente estructura (V):

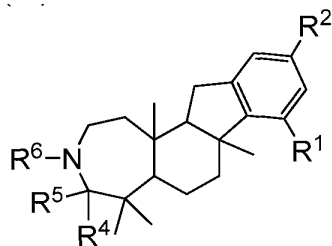


5

En otras realizaciones de la estructura (V), el compuesto tiene una de las siguientes estructuras (V-1) o (V-2):

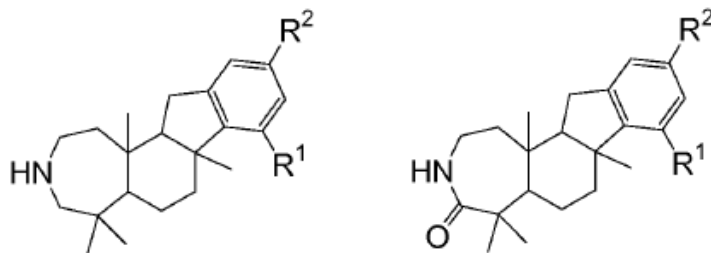


En otras realizaciones, A es $-NR^6C(R^4)(R^5)-$, y el compuesto tiene la siguiente estructura (VI):



(VI)

En otras realizaciones de la estructura (VI), el compuesto tiene una de las siguientes estructuras (VI-1) o (VI-2):

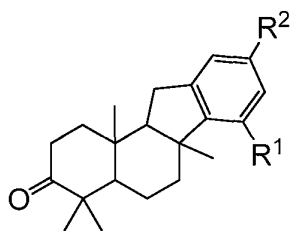


(VI-1)

o

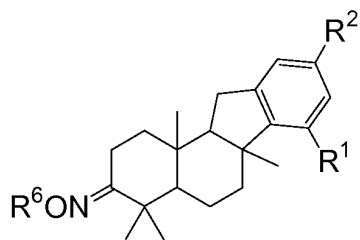
(VI-2)

5 En aún otras realizaciones, A es $-C(=O)-$, y el compuesto tiene la siguiente estructura (VII):



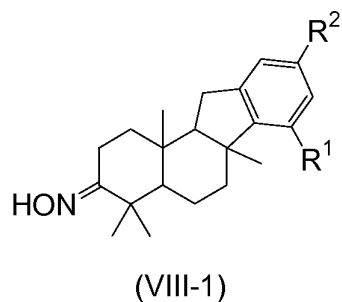
(VII)

En otras realizaciones, A es $-C(=N-OR^6)-$, y el compuesto tiene la siguiente estructura (VIII):

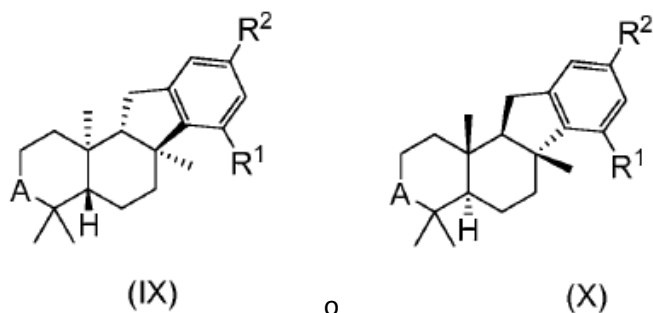


(VIII)

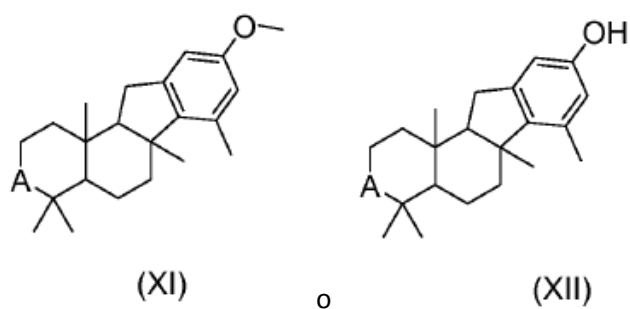
En otras realizaciones de la estructura (VIII), el compuesto tiene la siguiente estructura (VIII-1):



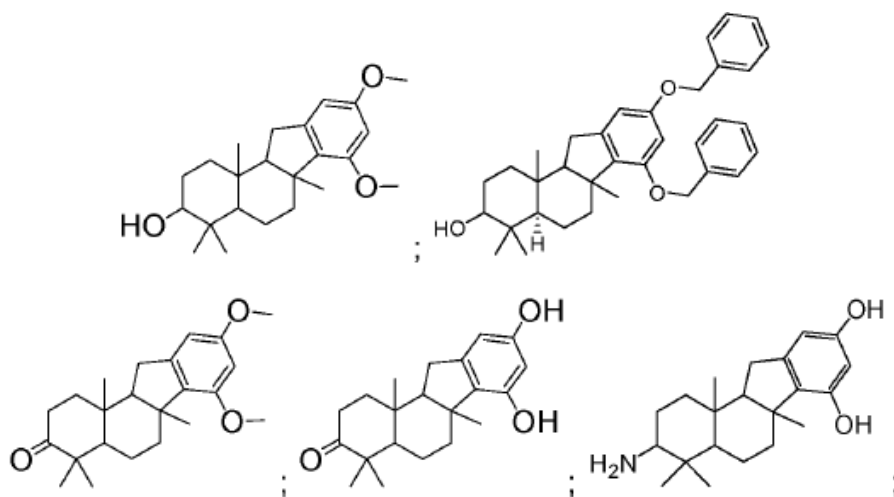
En otras realizaciones, el compuesto tiene una de las siguientes estructuras (IX) o (X):

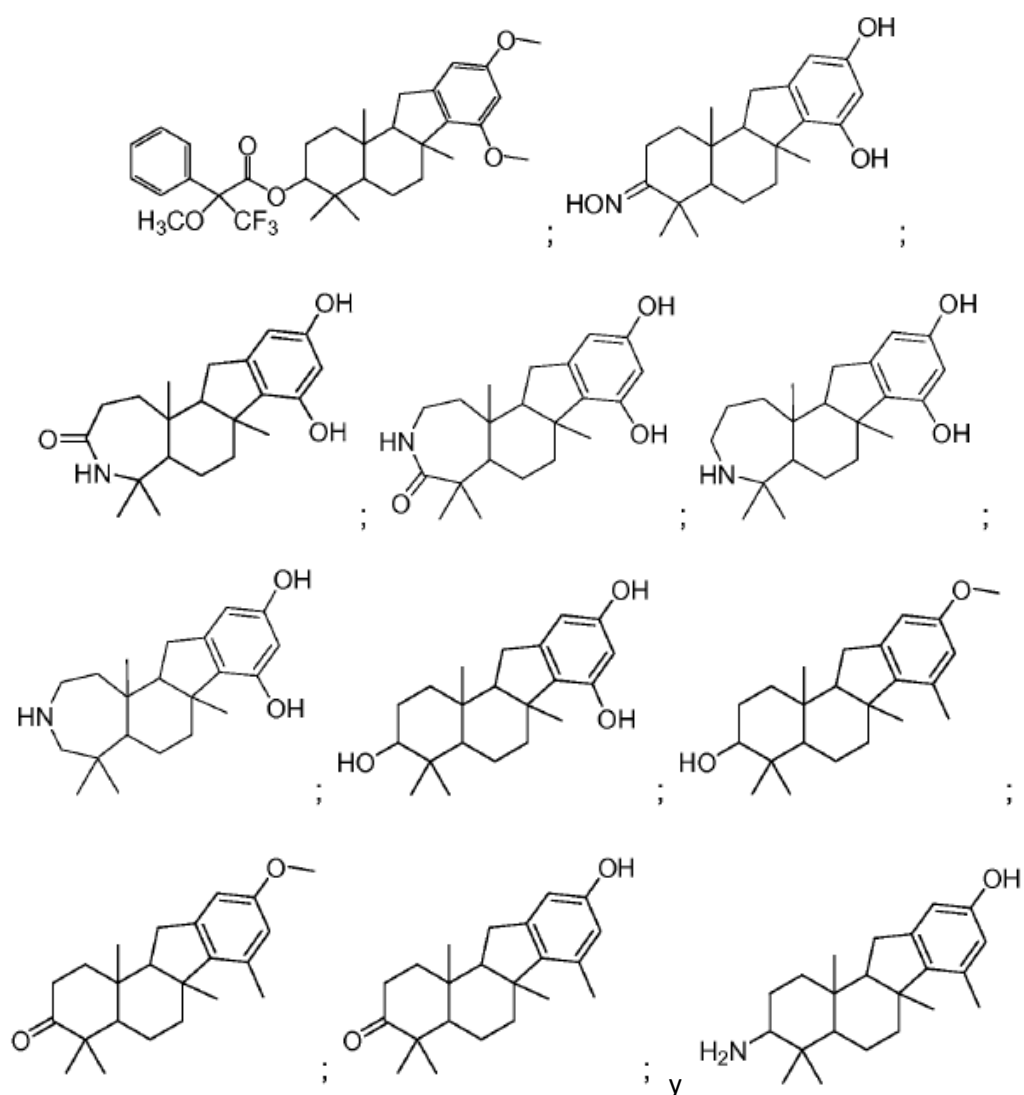


- 5 En otras realizaciones, R^1 es metilo y R^2 es metoxi o R^2 es hidroxilo y el compuesto tiene una de las siguientes estructuras (XI) o (XII):



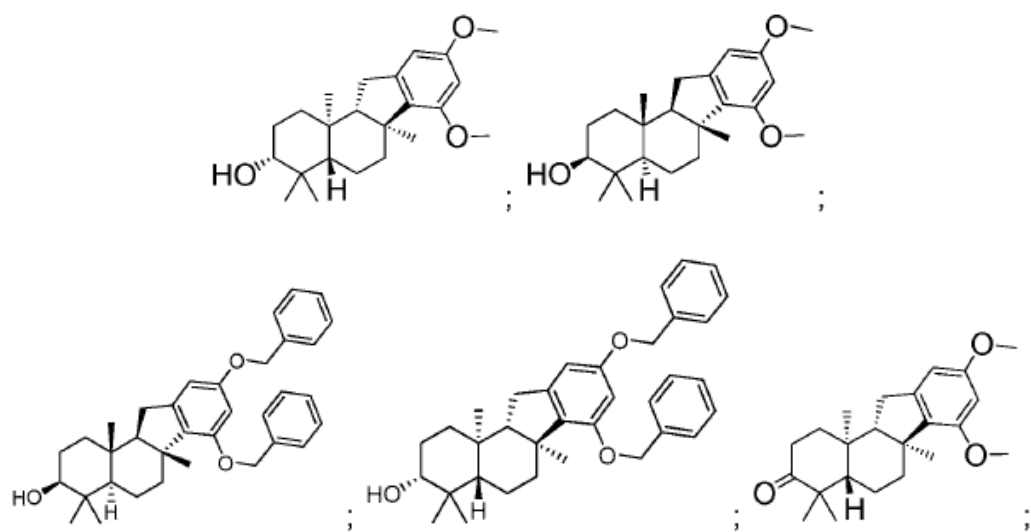
En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto, siendo seleccionado el compuesto del grupo que consiste en:

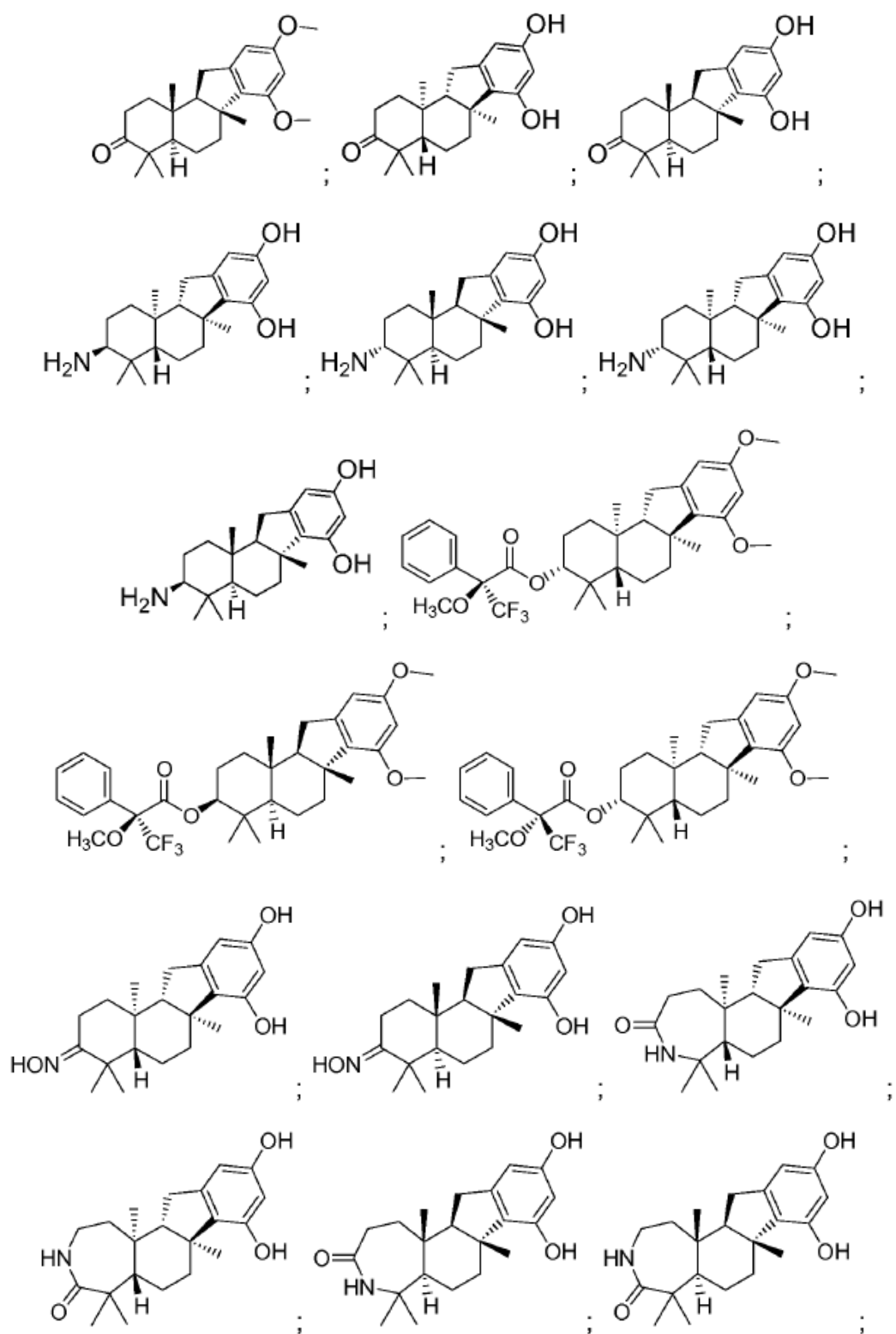


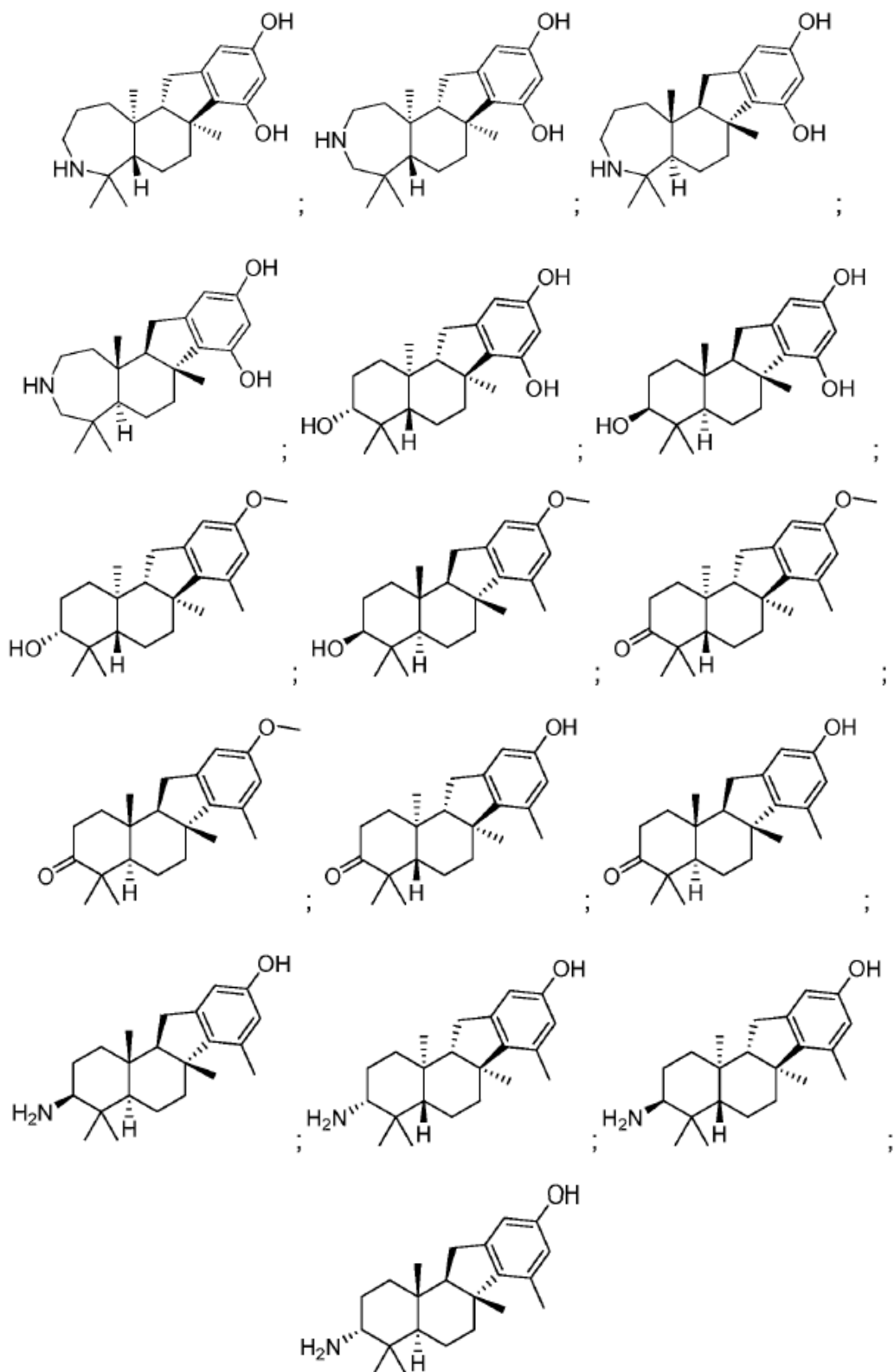


5 o una de sus sales o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

En otras realizaciones, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:







5

o una de sus sales o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

En otra realización, la presente invención proporciona una composición que comprende cualquiera de los compuestos mencionados antes en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Otra realización de la presente invención proporciona la composición reivindicada para uso en un método para modular SHIP1, y el método comprende administrar una cantidad eficaz de una composición que comprende cualquiera de los compuestos mencionados antes, a un animal que lo necesite.

5 En otra realización, la presente invención proporciona un método para tratar una enfermedad, un trastorno o una afección que comprende administrar una cantidad eficaz de una composición que comprende cualquiera de los compuestos anteriores a un animal que lo necesite, en donde la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad, trastorno o afección autoinmune, una enfermedad, trastorno o afección inflamatoria, o una enfermedad, trastorno o afección neoplásica o proliferativa celular.

10 Por ejemplo, en algunas realizaciones, la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad trastorno o afección autoinmune, seleccionada entre fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis reumatoide, enfermedad de Still, síndrome de Sjogren, lupus eritematoso sistémico y esclerosis sistémica.

15 En algunas realizaciones adicionales, la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad inflamatoria intestinal seleccionada entre la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. Mientras que, en otras realizaciones adicionales, la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad, trastorno o afección inflamatoria, seleccionada entre rinitis alérgica, enfermedad de Alzheimer, asma, una enfermedad inflamatoria ocular, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, eczema, inflamación post operatoria, esclerosis múltiple, psoriasis, una espondiloartropatía seronegativa y vasculitis.

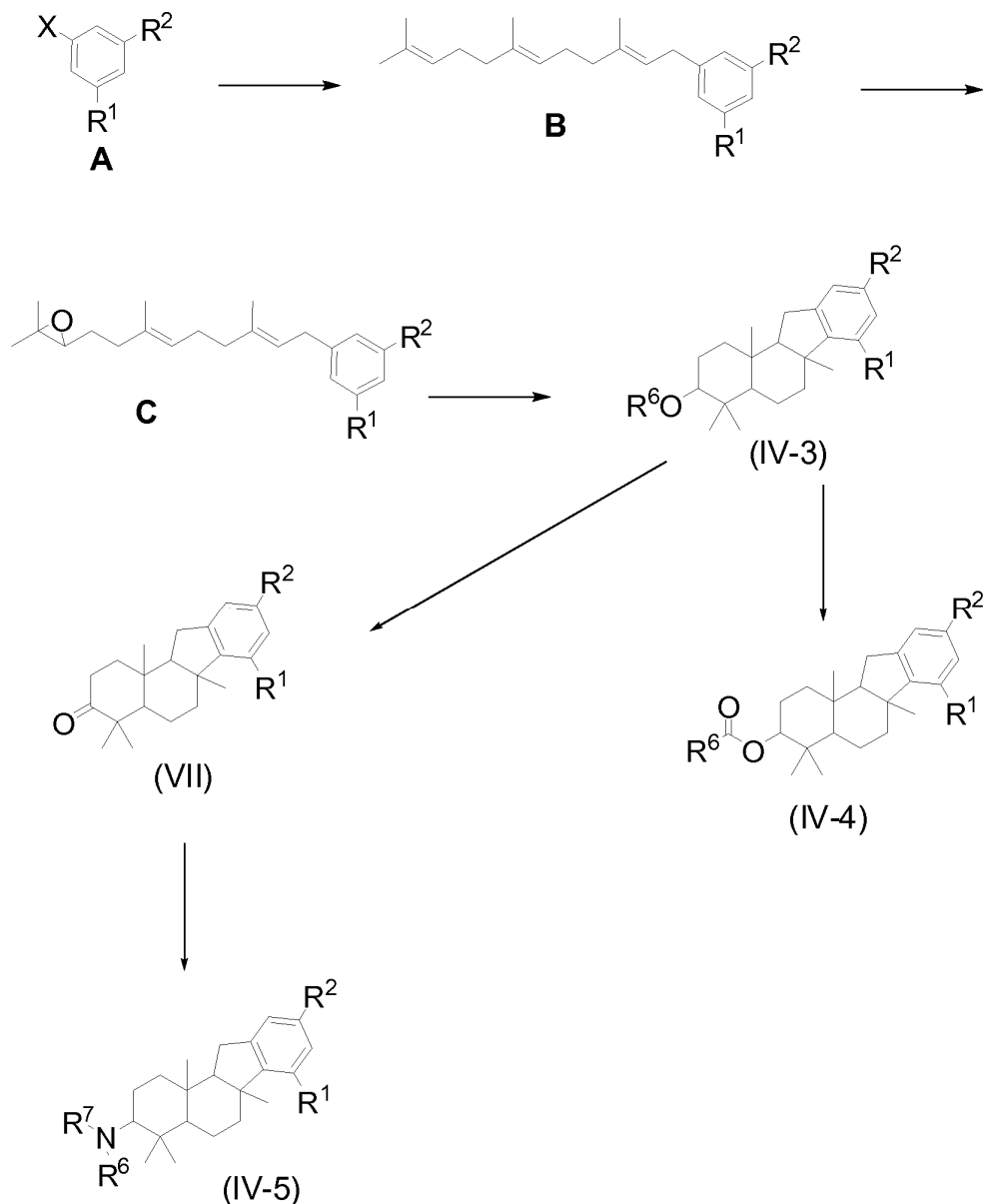
20 En otras realizaciones adicionales a modo de ejemplo, la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad inflamatoria ocular seleccionada de conjuntivitis alérgica, ojo seco, y uveítis. En aún otras realizaciones adicionales, la enfermedad, el trastorno o la afección es una espondiloartropatía seronegativa seleccionada de espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, y síndrome de Reiter, y en otras realizaciones adicionales, la enfermedad, el trastorno o la afección es vasculitis seleccionada de granulomatosis de Wegener, poliarteritis nudosa, vasculitis leucocitoclástica, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis crioglobulinémica, y arteritis de células gigantes.

25 En algunas otras realizaciones, la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad, trastorno o afección neoplásica o proliferativa celular, seleccionada entre leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia basófila, linfoma cutáneo de células T, síndrome de Sezary, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, síndromes hipereosinofílicos, mastocitosis y trombocitemia

30 Los compuestos de la presente invención se pueden preparar por técnicas conocidas de síntesis orgánica, incluyendo los métodos descritos con más detalle en los Ejemplos. En general, los compuestos de la estructura (I) se pueden preparar por los siguientes esquemas generales (Esquemas A a D), en donde todos los sustituyentes son como se han definido antes a menos que se indique otra cosa. Aunque, en general, no se detalla en los siguientes esquemas, los expertos en la técnica entenderán que las estrategias de grupos protectores apropiados pueden ser útiles en la preparación de los compuestos de la estructura (I). Por ejemplo, se pueden utilizar grupos metoxi y/o bencilo para proteger los grupos hidroxilo. Los grupos metoxi se pueden eliminar por tratamiento con tribromuro de boro en diclorometano, y los grupos bencilo se pueden eliminar en condiciones de hidrogenación catalítica. Esta, y otras metodologías de grupos protectores, son bien conocidas por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Protective Groups in Organic Synthesis, Green, TW et al., Wiley-Interscience, New York City, 1999).

35

Esquema A

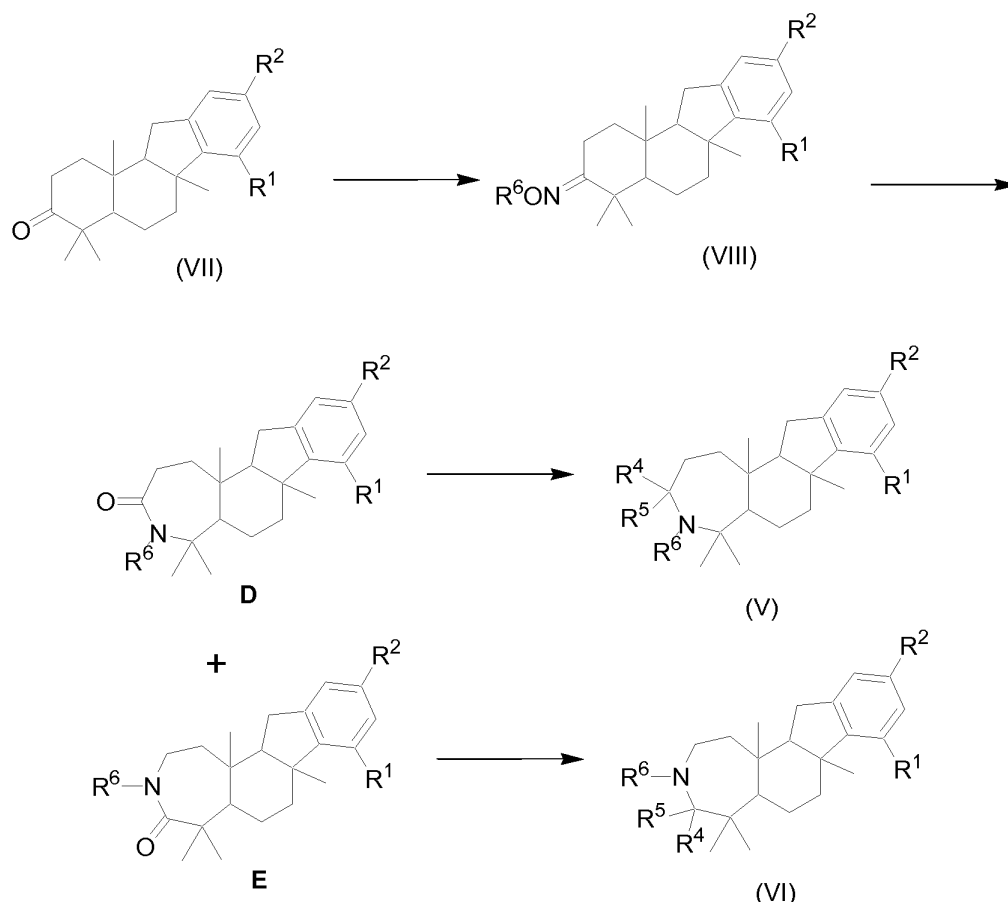


Los compuestos ejemplares de la estructura (IV) (esto es, donde A es $-\text{CHR}^3-$) y de la estructura (VII) (esto es, donde A es $-\text{C}(=\text{O})-$) se pueden preparar según el Esquema A. Por ejemplo, el compuesto A, donde X es halógeno, se puede comprar o preparar según métodos conocidos en la técnica y se puede utilizar para preparar un cuprato de arilo apropiado, por ejemplo, por tratamiento de A con n-butil litio seguido por Li_2CuCl_4 . El cuprato de arilo se puede acoplar después con un bromuro de alilo apropiado, por ejemplo, bromuro de *trans,trans*-famesilo, para producir el compuesto de alilo aromático B. La epoxidación del compuesto B utilizando métodos apropiados, por ejemplo, las condiciones adaptadas del procedimiento publicado (método C) de J. Am. Chem. Soc, 1997, 779 (46), 11224-11235, produce el epóxido C. Para servir de ejemplo, el epóxido C se representa en el Esquema A sin estereoquímica, sin embargo, el epóxido C puede ser una mezcla racémica, enantioméricamente pura o enantioméricamente enriquecida, dependiendo del método de preparación. Por ejemplo, en una realización de la presente invención, se proporciona un método para la epoxidación del compuesto B en condiciones enantioselectivas para obtener compuestos enantioméricamente puros o enantioméricamente enriquecidos, de la estructura C. Tales métodos comprenden el uso de un catalizador enantioselectivo. Por ejemplo, en algunas realizaciones el catalizador enantioselectivo comprende (3aR,4'S,7aR)-2,2,2',2'-tetrametildihidroespiro[[1,3]dioxolo[4,5-c]piran-6,4'-[1,3]dioxolan]-7(7aH)-ona o (3aS,4'R,7aS)-2,2,2',2'-tetrametildihidroespiro[[1,3]dioxolo[4,5-c]piran-6,4'-[1,3]dioxolan]-7(7aH)-ona como se describe en más detalle en los Ejemplos.

La apertura del epóxido y la subsiguiente ciclación de C en condiciones apropiadas, por ejemplo, por tratamiento con bromuro de indio, da como resultado los compuestos de la estructura (IV-3), donde R⁶ es H, y diversas impurezas tricíclicas.

- Después de la separación de las diversas impurezas tricíclicas, los compuestos de la estructura (IV-3) se pueden oxidar en condiciones apropiadas, por ejemplo, con un exceso de peryodinano de Dess-Martin (DMP) en diclorometano (DCM) para dar los compuestos de la estructura (VII). Los compuestos de la estructura (VII) se pueden someter entonces a aminación reductora utilizando métodos apropiados, por ejemplo, tratamiento con cianoborohidruro de sodio seguido por tratamiento con acetato de amonio, para dar lugar a compuestos de la estructura (IV-5). En general, los compuestos de la estructura (IV-5) se pueden preparar como una mezcla de estereoisómeros (en el carbono de conexión de $-NR^6R^7$ al anillo). Tales mezclas se pueden separar utilizando métodos conocidos por los expertos en la técnica. Alternativamente, se pueden emplear métodos de preparación estereoespecíficos.
- 10 Alternativamente, los compuestos de la estructura (IV-4) se pueden preparar por tratamiento de los compuestos de la estructura (IV-3), en donde R^6 es H, con un reactivo de acilación apropiado, por ejemplo, un cloruro, anhídrido de ácido apropiadamente sustituido, u otro compuesto de carbonilo activado.

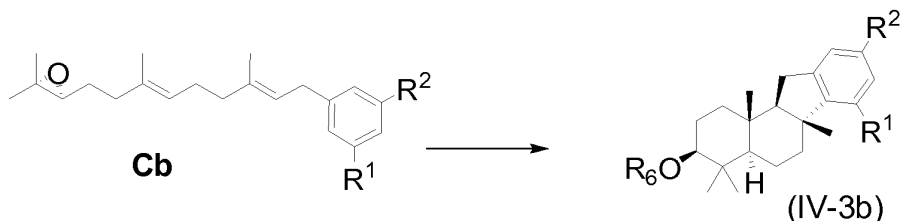
Esquema B



- 15 Otros compuestos ejemplares de la estructura (I), en donde A es $-C(R^4)(R^5)NR^6-$, $-NR^6C(R^4)(R^5)-$, o $-C(=N-OR^6)-$, se pueden preparar según el Esquema B. Por ejemplo, los compuestos de la estructura (VII), que se pueden sintetizar como se describe en el Esquema A, se pueden tratar con hidroxilamina, o con un derivado alquilado o arilado de la misma, para dar los compuestos de la estructura (VIII). Los compuestos de la estructura (VIII) se pueden someter a una expansión del anillo, en condiciones apropiadas, por ejemplo, con anhídrido trifluoroacético, para producir los regioisómeros D y E (esto es, compuestos de la estructura (I), en donde A es $-C(R^4)(R^5)NR^6-$ o $-NR^6C(R^4)(R^5)-$, respectivamente, y en donde R^4 y R^5 se toman juntos para formar un resto oxo). Los compuestos D o E se pueden reducir en condiciones apropiadas, por ejemplo, por tratamiento con hidruro de litio y aluminio en THF, para proporcionar compuestos de la estructura (V) o (VI) en donde R^4 y R^5 son hidrógeno.
- 20

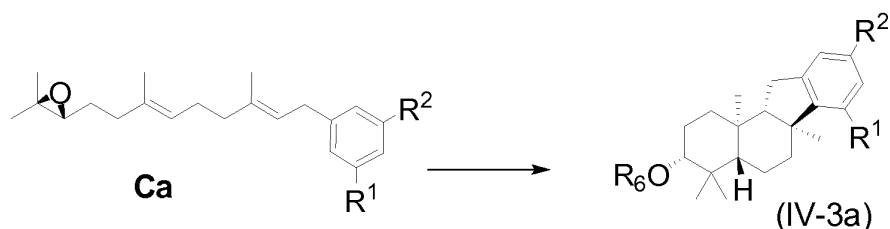
- Aunque se representan sin estereoquímica, los expertos en la técnica reconocerán que los compuestos representados en los Esquemas A y B se pueden preparar también en una forma ópticamente pura utilizando los métodos descritos en la descripción de los Esquemas A y B en combinación con los métodos para la preparación del núcleo tetracíclico descritos en los Esquemas C y D que siguen.
- 25

Esquema C



Con referencia al Esquema C, los compuestos ejemplares de la estructura (I) se pueden preparar utilizando métodos enantioselectivos para preparar el epóxido Cb enantioméricamente puro. Por ejemplo, se puede sintetizar el epóxido Cb quiral por el método descrito en el Esquema A utilizando un catalizador quiral apropiado. La ciclación de Cb en las condiciones apropiadas, por ejemplo, por tratamiento con bromuro de indio, da lugar a los compuestos de la estructura (IV-3b) y diversas impurezas tricíclicas. Después de separar las impurezas de la mezcla, los compuestos (IV-3b) se pueden emplear como material de partida para preparar otros compuestos de la estructura (I) utilizando los métodos descritos en los Esquemas A y B.

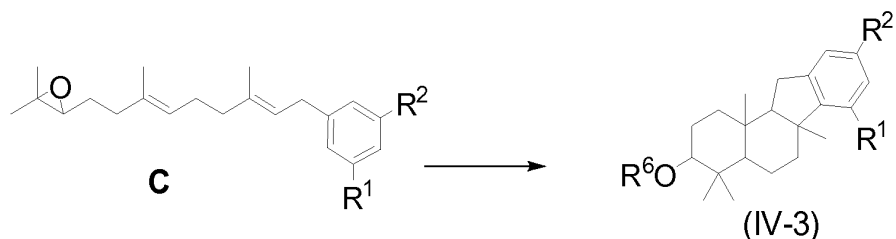
Esquema D



Con referencia al Esquema D, los compuestos ejemplares de la estructura (I) se pueden preparar de manera enantioselectiva cuando se utilizan métodos para la fabricación de un epóxido Ca enantioméricamente puro. Por ejemplo, el epóxido Ca quiral se puede sintetizar por el método descrito en el Esquema A utilizando un catalizador quiral apropiado. La ciclación de Ca en las condiciones apropiadas, por ejemplo, por tratamiento con bromuro de indio, da como resultado los compuestos de la estructura (IV-3a) y diversas impurezas tricíclicas. Después de separar las impurezas de la mezcla, los compuestos de la estructura (IV-3a) se pueden utilizar como material de partida para preparar otros compuestos de la estructura (I) utilizando los métodos descritos en referencia a los Esquemas A y B.

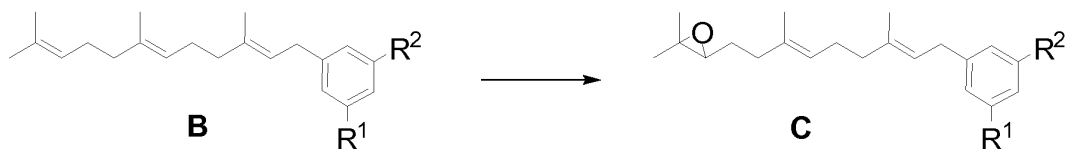
En ciertas realizaciones de los métodos anteriores (esto es, esquemas A-D), uno o ambos de R^1 y R^2 pueden ser alcoxi. En estas realizaciones, el tratamiento con un reactivo de desprotección apropiado, por ejemplo, tribromuro de boro en diclorometano, da lugar a compuestos de la estructura (I) en donde uno o ambos de R^1 y R^2 son hidroxilo.

En otra realización, la presente invención proporciona un método para la preparación enantioselectiva de cualquiera de los compuestos anteriores (esto es, compuestos de la estructura (I)). El método comprende la etapa de ciclar un epóxido de la estructura C para obtener un compuesto de la estructura (IV-3):

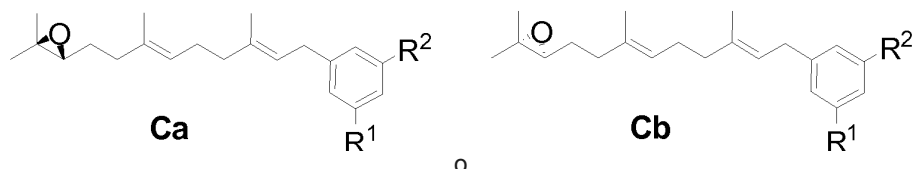


En algunas realizaciones adicionales, la ciclación del epóxido de la estructura C comprende hacer reaccionar el epóxido de la estructura C con bromuro de indio.

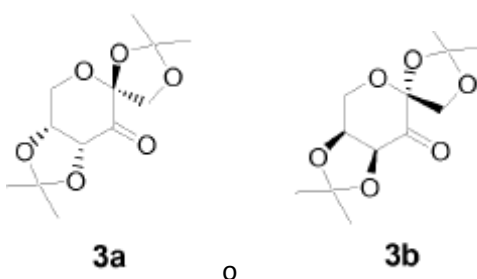
En otras realizaciones, el epóxido de la estructura C ha sido preparado por oxidación de un compuesto de la estructura B en presencia de un catalizador quiral según el siguiente esquema:



En algunas otras realizaciones, el epóxido de la estructura C tiene una de las siguientes estructuras Ca o Cb:

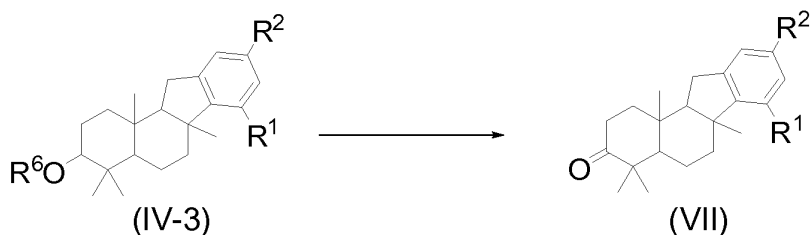


En algunas otras realizaciones, el catalizador quiral tiene una de las siguientes estructuras 3a o 3b:



En algunas otras realizaciones, la oxidación del compuesto de la estructura B comprende tratar el compuesto de la estructura B con un reactivo de oxidación. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el reactivo de oxidación comprende una sal peroxomonosulfato.

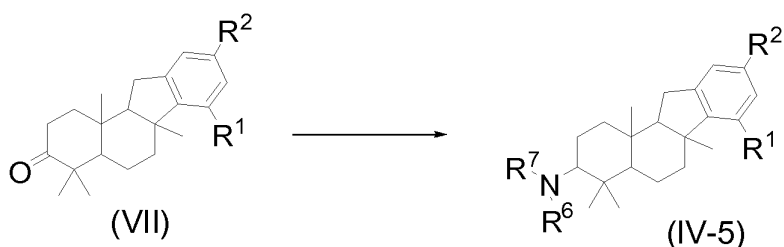
En algunas otras realizaciones, el método comprende además convertir el compuesto de la estructura (IV-3) en un compuesto de la estructura (VII):



en donde el compuesto de la estructura (IV-3) ha sido preparado según un método descrito en esta memoria.

En algunas otras realizaciones, convertir el compuesto de la estructura (IV-3) en un compuesto de la estructura (VII) comprende hacer reaccionar al compuesto de la estructura (IV-3) con un reactivo oxidante. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el reactivo oxidante es peryodinano de Dess-Martin.

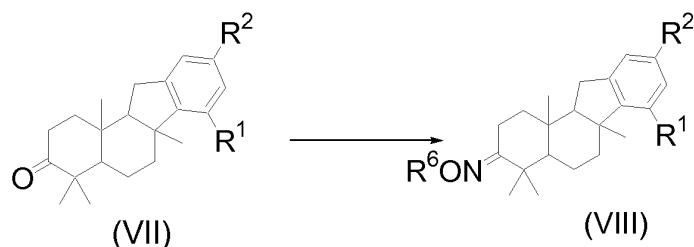
En otras realizaciones, el método comprende además convertir el compuesto de la estructura (VII) en un compuesto de la estructura (IV-5):



en donde el compuesto de la estructura (VII) ha sido preparado según un método descrito en esta memoria.

En aún otras realizaciones, convertir el compuesto de la estructura (VII) en un compuesto de la estructura (IV-5) comprende la aminación reductora del compuesto de la estructura (VII). Por ejemplo, en algunas realizaciones, la aminación reductora comprende tratar el compuesto de la estructura (VII) con NaBH_3CN y NH_4OAc .

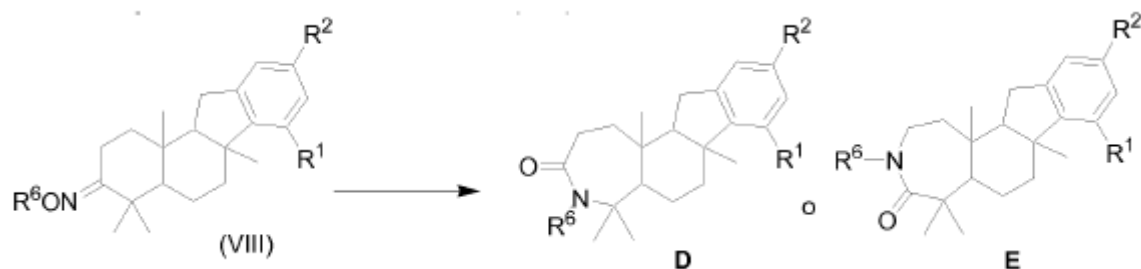
En algunas otras realizaciones, el método comprende además convertir el compuesto de la estructura VII en un compuesto de la estructura (VIII):



en donde el compuesto de la estructura (VII) ha sido preparado según un método descrito en esta memoria.

En algunas realizaciones, convertir el compuesto de la estructura (VII) en un compuesto de la estructura (VIII) comprende hacer reaccionar el compuesto de la estructura (VII) con hidroxilamina o un derivado alquilado de la misma.

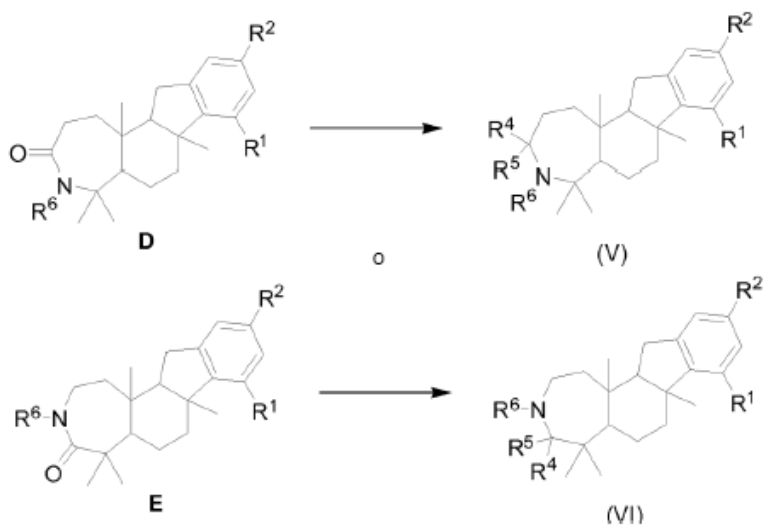
En aún otras realizaciones, el método comprende además convertir el compuesto de la estructura (VIII) en un compuesto de la estructura D o E:



en donde el compuesto de la estructura (VIII) ha sido preparado según un método descrito en esta memoria.

En algunas otras realizaciones, convertir el compuesto de la estructura (VIII) en un compuesto de la estructura D o E comprende tratar el compuesto de la estructura (VIII) con un reactivo activador de alcohol. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el reactivo activador de alcohol es anhídrido trifluoroacético.

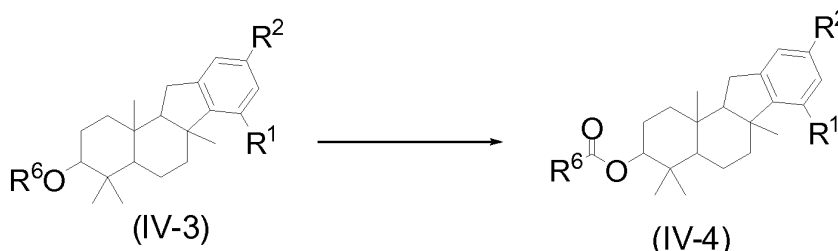
En aún otras realizaciones, el método comprende además convertir el compuesto de estructura D o E en un compuesto de la estructura (V) o (VI), respectivamente:



en donde el compuesto de estructura D o E ha sido preparado según un método descrito en esta memoria.

En otras realizaciones, convertir el compuesto de estructura D o E en un compuesto de la estructura (V) o (VI), respectivamente, comprende tratar el compuesto de la estructura D o E con un agente reductor. Por ejemplo, en algunas formas de realización el agente reductor es LiAlH.

En otras realizaciones, el método comprende además convertir el compuesto de la estructura (IV-3) en un compuesto de la estructura (IV-4):



en donde el compuesto de la estructura (IV-3) ha sido preparado según un método descrito en esta memoria.

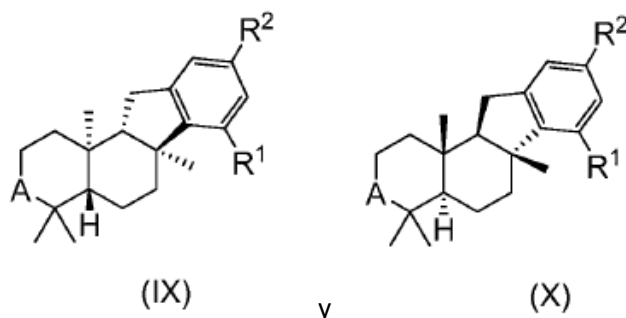
En realizaciones adicionales, convertir el compuesto de la estructura (IV-3) en un compuesto de la estructura (IV-4) comprende hacer reaccionar el compuesto de la estructura (IV-3) con un reactivo de acilación, alquilación o arilación. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el reactivo de acilación comprende cloruro de 3,3,3-trifluoro-2-metoxi-2-fenilpropanoilo (MTPA-Cl) o un estereoisómero del mismo.

Los compuestos de la presente invención, generalmente se pueden utilizar como el ácido libre o la base libre. Alternativamente, los compuestos de esta invención se pueden utilizar en forma de sales de adición de ácido o de base. Las sales de adición de ácido de los compuestos con amino libre de la presente invención, se pueden preparar por métodos bien conocidos en la técnica, y se pueden formar a partir de ácidos orgánicos e inorgánicos. Los ácidos orgánicos adecuados incluyen los ácidos maleico, fumárico, benzoico, ascórbico, succínico, metanosulfónico, acético, trifluoroacético, oxálico, propiónico, tartárico, salicílico, cítrico, glucónico, láctico, mandélico, cinámico, aspártico, esteárico, palmítico, glicólico, glutámico, y bencenosulfónico. Los ácidos inorgánicos adecuados incluyen los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico, y nítrico. Las sales de adición de base incluyen aquellas sales que se forman con el anión carboxilato, e incluyen sales formadas con cationes orgánicos e inorgánicos tales como las elegidas entre los metales alcalinos y alcalinotérreos (por ejemplo, litio, sodio, potasio, magnesio, bario y calcio), así como el ion amonio y los derivados sustituidos del mismo (por ejemplo, dibencilamonio, bencilamonio, 2-hidroxietilamonio, y similares). Por lo tanto, el término "sal farmacéuticamente aceptable" de la estructura (I) pretende incluir cualquiera y todas las formas de sal aceptables.

Profármacos son todos los portadores unidos covalentemente que liberan un compuesto de la estructura (I) *in vivo* cuando dicho profármaco se administra a un paciente. Los profármacos se preparan generalmente modificando grupos funcionales de tal manera que la modificación se escinda, por manipulación rutinaria o *in vivo*, produciendo el compuesto original. Los profármacos incluyen, por ejemplo, los compuestos de esta invención en los que grupos hidroxilo, amino o sulfhidrilo están unidos a cualquier grupo que, cuando se administra a un paciente, se escinde para formar los grupos hidroxilo, amino o sulfhidrilo. Por lo tanto, los ejemplos representativos de profármacos incluyen (pero no se limitan a) derivados de acetato, formiato y benzoato de los grupos funcionales alcohol y amino de los compuestos de la estructura (I). Además, en el caso de un ácido carboxílico (-COOH), se pueden emplear ésteres, tales como ésteres metílicos, ésteres etílicos, y similares.

Con respecto a los estereoisómeros, los compuestos de la estructura (I) pueden tener centros quirales y pueden presentarse como racematos, mezclas enantioméricamente enriquecidas, enantiómeros individuales, mezcla de diastereoisómeros o diastereoisómeros individuales. Todas estas formas isoméricas están incluidas dentro de la presente invención, incluyendo las mezclas de las mismas. Los compuestos de la estructura (I) pueden poseer también quiralidad axial que puede dar lugar a atropisómeros. Además, algunas de las formas cristalinas de los compuestos de la estructura (I) pueden existir como polimorfos, que están incluidos en la presente invención. Además, algunos de los compuestos de la estructura (I) también pueden formar solvatos con agua u otros disolventes orgánicos. Dichos solvatos están igualmente incluidos dentro del alcance de esta invención.

Los isómeros representativos de los compuestos de la estructura (I) incluyen, pero no se limitan a, las siguientes estructuras (IX) y (X):



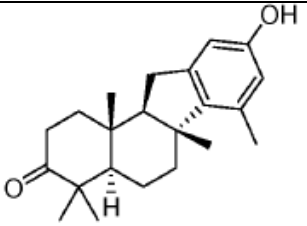
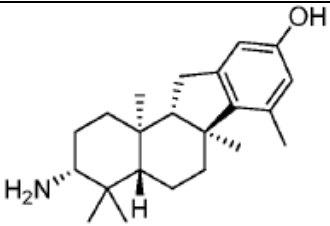
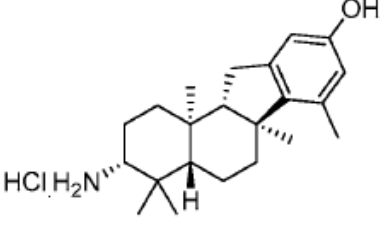
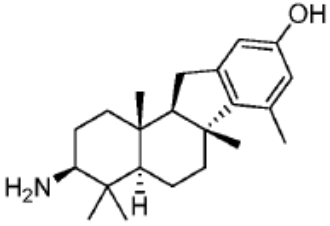
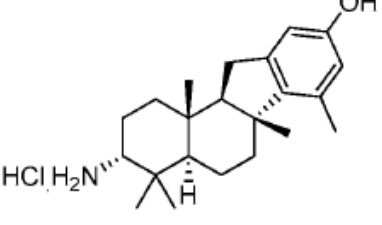
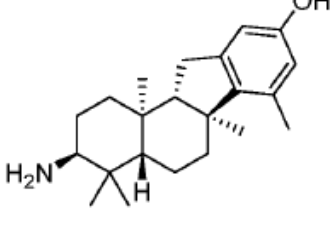
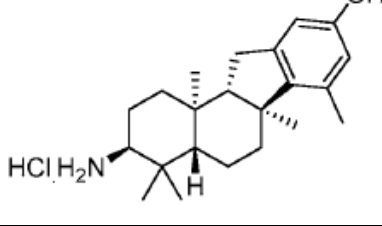
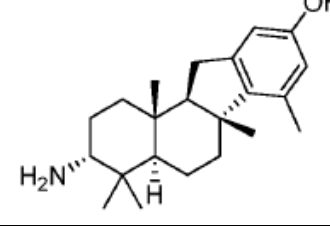
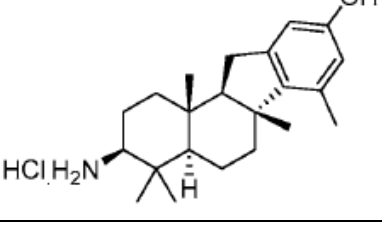
5 Los compuestos representativos de esta invención, que se pueden preparar según los esquemas anteriores, incluyen (pero no se limitan a) los compuestos listados en la Tabla 1 que sigue.

Tabla 1

Compuestos representativos			
Comp. nº	Estructura	Comp. nº	Estructura
5a		5b	
6a		6b	
7a		7b	
8a		8a.HCl	
8b		8b.HCl	

Compuestos representativos			
Comp. n°	Estructura	Comp. n°	Estructura
9a		9a.HCl	
9b		9b.HCl	
10a		10b	
10c		11a	
11b		12a	
12b		13a	
13b		14a	

Compuestos representativos			
Comp. n°	Estructura	Comp. n°	Estructura
14a. HCl		14b	
14b. HCl		15a	
15a. HCl		15b	
15b. HCl		16a	
16b		17a	
17b		18a	
18b		19a	

Compuestos representativos			
Comp. n°	Estructura	Comp. n°	Estructura
19b		20a	
20a. HCl		20b	
20b. HCl		21a	
21a. HCl		21b	
21b. HCl		NA	

La eficacia de un compuesto como modulador de SHIP1 se puede determinar por cualquiera de las técnicas conocidas, incluyendo el ensayo descrito en el Ejemplo 29. Como moduladores de SHIP1, los compuestos de esta invención tienen utilidad en un amplio campo de aplicaciones terapéuticas, y se pueden utilizar para tratar una variedad de afecciones en hombres y mujeres, así como en los mamíferos en general. Por ejemplo, tales afecciones incluyen enfermedades autoinmunes tales como fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad de Still, síndrome de Sjogren, lupus eritematoso sistémico y esclerosis sistémica; enfermedades inflamatorias tales como rinitis alérgica, enfermedad de Alzheimer, asma, enfermedades inflamatorias oculares (incluyendo conjuntivitis alérgica, ojo seco, y uveítis), enfermedad pulmonar obstructiva crónica, eczema, enfermedad inflamatoria del intestino (incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), inflamación post operatoria, esclerosis múltiple, psoriasis, espondiloartropatías seronegativas (incluyendo espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, y síndrome de Reiter) artritis reumatoide y vasculitis (incluyendo granulomatosis de Wegener, poliarteritis nudosa, vasculitis leucocitoclástica, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis crioglobulinémica y arteritis de células gigantes); y enfermedades neoplásicas u otros trastornos proliferativos celulares tales como leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia basófila, linfoma cutáneo de células T, síndrome de Sezary, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, síndromes hipereosinofílicos, mastocitosis y trombocitemia.

Para su administración, los compuestos de la presente invención se pueden formular como composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas comprenden uno o más compuestos de esta invención en combinación con un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. El compuesto está presente en la composición en una cantidad que es eficaz para tratar un trastorno particular, esto es, en una cantidad suficiente para alcanzar una actividad de modulación de SHIP1, y preferiblemente con toxicidad aceptable para el paciente. Típicamente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden incluir un compuesto en una cantidad de 0,1 mg a 500 mg, 0,1 mg a 250 mg, 0,5 a 150 mg, 1 mg a 75 mg, 5 mg a 50 mg o 5 a 25 mg por dosis dependiendo de la vía de administración. Típicamente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden incluir un compuesto en una cantidad de 1 mg a 60 mg por dosis. Las concentraciones y dosificaciones apropiadas pueden ser determinadas fácilmente por los expertos en la técnica.

Los vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables son familiares para los expertos en la técnica. Para las composiciones formuladas como soluciones líquidas, los vehículos y/o diluyentes aceptables incluyen solución salina y agua estéril, y pueden incluir opcionalmente antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y otros aditivos comunes. Las composiciones se pueden formular también como píldoras, cápsulas, gránulos, o comprimidos que contienen, además de un compuesto de esta invención, diluyentes, agentes dispersantes y agentes tensioactivos, aglutinantes y lubricantes. Los expertos en esta técnica pueden formular además los compuestos de una manera apropiada, y de acuerdo con las prácticas aceptadas, tales como las descritas en Remington Pharmaceutical Sciences, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA 1990.

En otra realización, la presente invención proporciona la composición reivindicada para uso en un método para la modulación de SHIP1 en general y, más específicamente, para el tratamiento de las afecciones indicadas anteriormente. Tales métodos incluyen la administración de un compuesto de la presente invención a un animal de sangre caliente en una cantidad suficiente para tratar la afección. En este contexto, "tratar" incluye la administración profiláctica. Tales métodos incluyen la administración sistémica de un compuesto de esta invención, preferiblemente en forma de una composición farmacéutica como se ha expuesto anteriormente. Como se usa en la presente memoria, la administración sistémica incluye métodos orales y parenterales de administración. Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas adecuadas incluyen polvos, gránulos, píldoras, comprimidos y cápsulas, así como líquidos, jarabes, suspensiones, y emulsiones. Estas composiciones pueden incluir también aromatizantes, conservantes, agentes de suspensión, agentes espesantes y emulsionantes, y otros aditivos farmacéuticamente aceptables. Para la administración parenteral, los compuestos de la presente invención se pueden preparar en soluciones acuosas para inyección que pueden contener tampones, antioxidantes, bacteriostáticos y otros aditivos empleados comúnmente en tales soluciones.

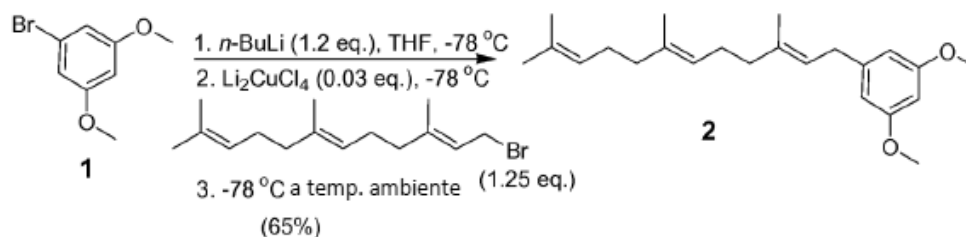
En otra realización, la presente invención proporciona moduladores de SHIP1 que tienen mejor solubilidad en agua en comparación con los moduladores de SHIP1 conocidos. La mejor solubilidad en agua proporciona muchas ventajas, incluyendo facilidad de formulación y administración, así como una mayor biodisponibilidad. Aun sin querer limitarse a la teoría, los presentes inventores creen que la mejor solubilidad en agua de los compuestos descritos puede ser el resultado de grupos polares solubilizantes contenidos en A de la estructura (I). Por lo tanto, en una realización, la presente descripción proporciona compuestos de la estructura (I) que tienen una solubilidad en agua que es 2 veces, 5 veces, 10 veces, 50 veces, 100 veces, 500 veces, 1000 veces o más veces mejor, en comparación con otros moduladores de SHIP1 conocidos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el compuesto de la estructura (I) tiene una solubilidad en agua superior a 10 µg/mL, superior a 50 µg/mL, superior a 100 µg/mL, superior a 250 µg/mL, superior a 500 µg/mL, superior a 1000 µg/mL, superior a 1500 µg/mL, superior a 2000 µg/mL o superior a 5000 µg/mL en agua.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines de ilustración, no de limitación. En resumen, los siguientes ejemplos describen la síntesis de compuestos representativos de esta invención, así como la forma en que se pueden ensayar.

Ejemplo 1

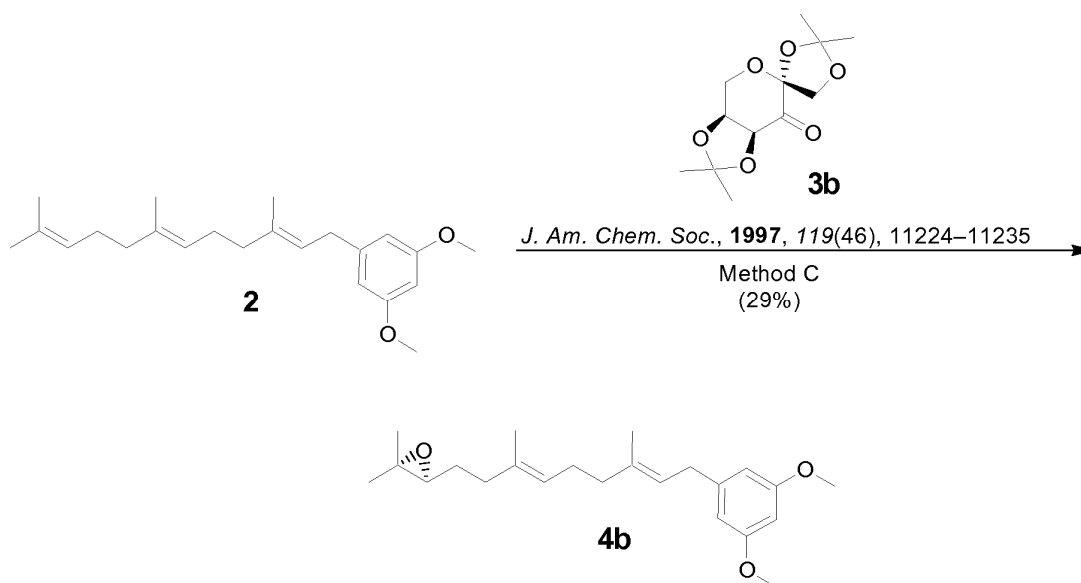
Síntesis de 1,3-dimetoxi-5-[(2E, 6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il]benceno (2)



Se disolvió el bromuro de arilo 1 (10,0 g, 4,6 mmol, de Sigma-Aldrich) en 23 mL de THF y se llevó a -78°C . Se añadieron a esta solución, gota a gota, 3,45 mL de $n\text{-BuLi}$ 1,6 M en hexano (5,5 mmol) y se dejó la reacción en agitación durante 15 minutos. Se añadieron a esta solución 1,38 mL de Li_2CuCl_4 0,1 M en THF (0,03x) y se dejó la solución en agitación durante 10 minutos a -78°C . Finalmente se añadió gota a gota, bromuro de *trans,trans*-farnesilo (*trans,trans*-1-bromo-3,7,11-trimetil-2,6,10-dodecatrieno, CAS N° 28290-41-7, 1,64 g, 5,75 mmol) disuelto en 20 mL de THF y se dejó que se calentara la reacción con agitación desde -78°C a temperatura ambiente durante la noche. Se sofocó después la reacción con NH_4Cl acuoso saturado (50 mL), y se extrajo la fase acuosa 3 veces con cloruro de metileno (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se secaron con MgSO_4 y se concentraron. La mezcla cruda se purificó después por cromatografía rápida (hexano:acetato de etilo, 30:1) para dar el compuesto 2 como un aceite claro (1,02 g, 2,99 mmol, 65 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 6,36 (d, $J = 2,3$ Hz, 2H), 6,30 (t, $J = 2,7$ Hz, 1 H), 5,34 (t, $J = 7,3$ Hz, 1 H), 5,15-5,08 (m, 2H), 3,78 (s, 6H), 3,31 (d, 2H), 2,16-1,96 (m, 8H), 1,71 (s, 3H), 1,69 (s, 3H), 1,60 (s, 6H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ 160,8 (2C), 144,2, 136,5, 135,1, 131,2, 124,4, 124,1, 122,6, 106,4 (2C), 97,6, 55,2 (2C), 39,7 (2C), 34,4, 26,7, 26,6, 25,7, 17,6, 16,2, 16,0. ESIMS $[\text{M}]^+$ calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{O}_2$ 343,2637, encontrado 343,2628.

Ejemplo 2

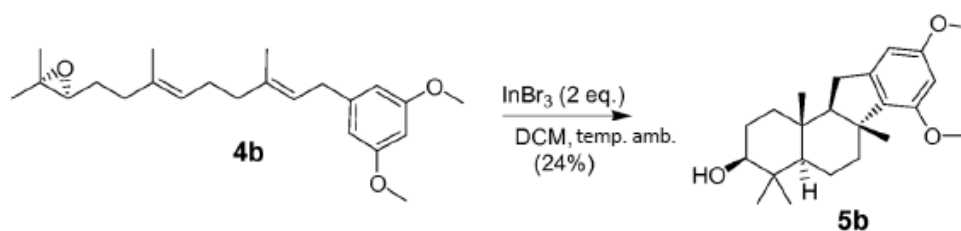
Síntesis de (3R)-3-[(3E,7E)-9-(3,5-dimetoxi-fenil)-3,7-dimetil-nona-3,7-dienil]-2,2-dimetil-oxirano (4b)



El método para preparar el compuesto 4b fue adaptado de Wang, Z.-X., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, 119(46), 11224-11235. Method C. Se oxidó el polieno 2 (1,00 g, 2,90 mmol) hasta 4b (113 mg, 0,315 mmol, 11 %), utilizando 3b (para la síntesis de 3b véase Zhao, M.-X. and Shi, Y., *J. Org. Chem.*, 2006, 71(14), 5377-9). El rendimiento de 4b fue de 29 % basado en el material de partida recuperado 2 (623 mg, 1,82 mmol). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 6,34 (d, $J = 2,2$ Hz, 2H), 6,29 (t, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 5,33 (t, $J = 6,1$ Hz, 1 H), 5,18 (t, $J = 5,7$ Hz, 1 H), 3,76 (s, 6H), 3,29 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,68 (t, $J = 6,2$ Hz, 1 H), 2,11-2,14 (m, 4H), 2,04-2,08 (m, 4H), 1,71 (s, 3H), 1,62 (s, 3H), 1,29 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 160,6 (2C), 143,9 (2C), 136,1, 134,0, 124,6, 122,7, 106,3, 97,4, 63,9, 58,0, 55,0 (2C), 39,5, 36,1, 34,3, 27,3, 26,4, 24,7, 18,6, 16,0, 15,9. ESIMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_3\text{Na}$ 381,2406, encontrado 381,2415.

Ejemplo 3

Síntesis de (3S,4aR,6aR,11aR,11bR,-)-7,9-dimetoxi-4,4,6a,11b-tetrametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo [a]fluoren-3-ol (5b)



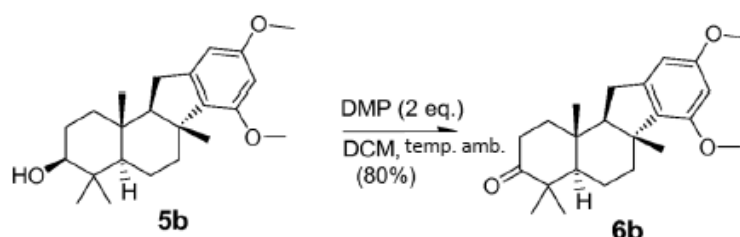
Al epóxido 4b (3,53 g, 9,86 mmol) disuelto en 105 mL de cloruro de metileno, se añadió bromuro de indio (InBr_3) (6,99 g, 19,7 mmol), y se dejó la reacción en agitación durante 1 hora. Se sofocó después la mezcla de reacción con

NaHCO₃ acuoso saturado (50 mL), y la capa acuosa se extrajo 3 veces con cloruro de metileno (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se reunieron, se secaron con MgSO₄ y se concentraron. La mezcla de reacción cruda se purificó por cromatografía rápida (hexano:acetato de etilo, 3:1) para dar una mezcla del tetraciclo 5b y varias impurezas tricíclicas.

- 5 La mezcla de producto se cristalizó utilizando disolvente hirviendo (hexano:acetato de etilo 15:1) para dar el producto 5b (860 mg, 2,39 mmol, 24 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,40 (d, J = 1,8 Hz, 1 H), 6,26 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 3,77 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,22 (m, 1 H), 2,62 (m, 1 H), 2,50 (dd, J = 14, 6,2 Hz, 1 H), 2,45 (dd, J = 9,5, 3,2 Hz, 1 H), 1,74-1,55 (m, 7H), 1,18-1,11 (m, 1 H), 1,08 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,91 (m, 1 H), 0,84 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 159,3, 155,8, 144,8, 133,4, 101,9, 96,8, 79,1, 64,4, 56,1, 55,4, 55,0, 46,0, 38,8, 38,5, 38,2, 36,6, 29,5, 27,9, 27,1, 20,3, 19,2, 16,2, 15,1. ESIMS [M+Na]⁺ calculado para C₂₃H₃₄O₃Na 381,2406, encontrado 381,2415. [α]_D²⁴ = +18,86°.

Ejemplo 4

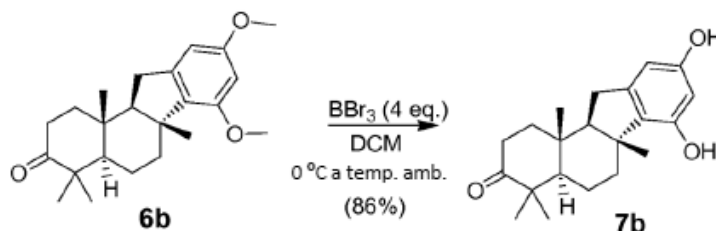
Síntesis de (4aR,6aR,11aR,11bR,)-7,9-dimetoxi-4,4,6a,11b-tetrametil-1,2,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidrobenzo[a]fluoren-3-ona (6b)



- 15 Al alcohol 5b (600 mg, 1,67 mmol) disuelto en 85 mL de cloruro de metileno, se añadió peryodinano de Dess-Martin (DMP, 1,41 g, 3,34 mmol), y se dejó la mezcla en agitación a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Una vez completada la reacción, se añadió NaHCO₃ acuoso saturado (50 mL) y la fase acuosa se extrajo 3 veces con cloruro de metileno (3 x 50 mL). Después se reunieron los extractos orgánicos, se secaron con MgSO₄ y se concentraron.
- 20 La mezcla cruda se purificó utilizando cromatografía rápida (hexano:acetato de etilo 7:1) para dar el producto 6b (476 mg, 1,34 mmol, 80 % de rendimiento) como un sólido blanco cristalino. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,41 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 2,71-2,65 (m, 1H), 2,64-2,56 (m, 2H), 2,54-2,41 (m, 2H), 1,87-1,81 (m, 1H), 1,78-1,73 (m, 2H), 1,71-1,48 (m, 4H), 1,13 (s, 3H), 1,11 (s, 6H), 1,09 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 217,2, 159,5, 155,8, 144,4, 132,9, 101,9, 96,8, 63,4, 55,4, 55,3, 54,9, 47,5, 45,8, 38,8, 37,4, 36,2, 33,9, 29,5, 26,5, 20,7, 20,5, 19,8, 15,5. ESIMS [M+Na]⁺ calculado para C₂₃H₃₂O₃Na 379,2249, encontrado 379,2243. [α]_D²⁴ = +26,78°.

Ejemplo 5

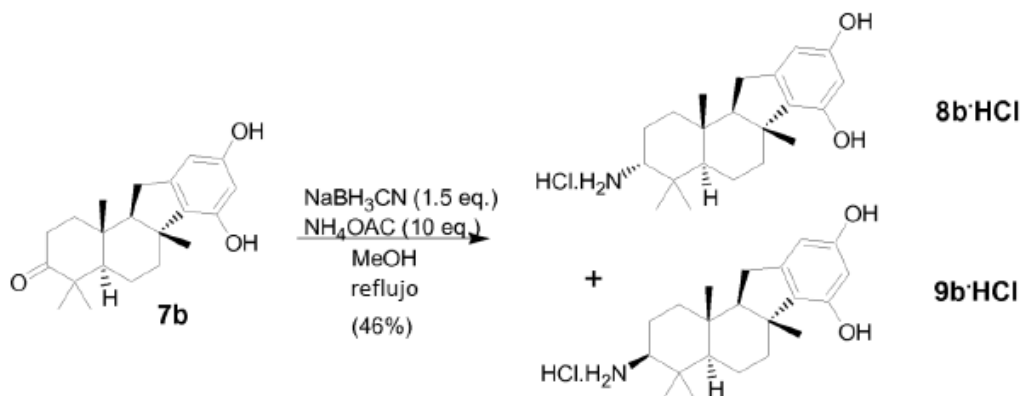
Síntesis de (4aR,6aR,11aR,11bR,)-7,9-dihidroxi-4,4,6a,11b-tetrametil-1,2,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidrobenzo[a]fluoren-3-ona (7b)



- 30 A la cetona 6b (240 mg, 0,67 mmol) disuelta en 20 mL de cloruro de metileno en agitación a 0 °C, se añadieron 2,7 mL de BBr₃ (1,0 M en cloruro de metileno, 2,69 mmol). Después de agitar durante una hora a 0 °C, el producto 6b todavía estaba presente, y se dejó que la reacción alcanzara la temperatura ambiente durante las dos horas siguientes. Se sofocó entonces la reacción con metanol, y se añadió agua a la mezcla. Se extrajo entonces la fase acuosa 3 veces con cloruro de metileno (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos reunidos se secaron con MgSO₄ y se concentraron.
- 35 La mezcla cruda se purificó por cromatografía rápida para dar el producto 7b (190 mg, 0,578 mmol, 86 %) como un sólido blanco cristalino. ¹H RMN (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ 7,76 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 6,24 (t, J = 0,96 Hz, 1H), 6,13 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 2,66-2,61 (m, 1H), 2,59-2,52 (m, 2H), 2,49-2,46 (m, 1H), 2,44-2,37 (m, 1H), 1,86-1,82 (m, 1H), 1,81-1,77 (m, 1H), 1,76-1,71 (m, 1H), 1,67-1,55 (m, 4H), 1,15 (s, 3H), 1,13 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 1,09 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, (CD₃)₂CO) δ 216,9, 158,5, 154,8, 146,7, 131,9, 105,8, 102,8, 65,4, 57,2, 48,9, 47,3, 40,5, 39,6, 38,0, 35,4, 30,9, 27,9, 22,2, 22,1, 21,3, 16,9. ESIMS [M+Na]⁺ calculado para C₂₁H₂₈O₃Na 351,1936, encontrado 351,1929. [α]_D²⁴ = +24,07°.
- 40

Ejemplo 6

Síntesis de hidrocloreto de (3R,4aR,6aR,11aR,11bR,-)-3-amino-4,4,6a,11b-tetrametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoreno-7,9-diol (8b.HCl) e hidrocloreto de (3S,4aR,6aR,11aR,11bR,-)-3-amino-4,4,6a,11b-tetrametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoreno-7,9-diol (9b.HCl)



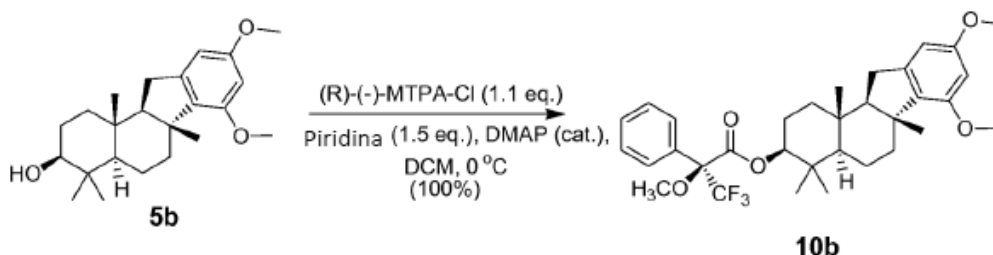
A una suspensión de la cetona 7b (250 mg, 0,761 mmol) en 50 mL de MeOH, se añadieron NaBH₃CN (71,7 mg, 1,14 mmol) y NH₄OAc (587 mg, 7,61 mmol). Después, se calentó la reacción suavemente a reflujo durante la noche. Tras la desaparición del material de partida, se enfrió la reacción y después se concentró a sequedad. El material crudo se sometió a reparto entre agua (200 mL) y cloruro de metileno y se acidificó a pH 5 con HCl 6 M. Se extrajo entonces la fase acuosa 5 veces con cloruro de metileno (5 x 50 mL). Se congeló la fase acuosa resultante y se liofilizó durante la noche para dar un sólido blanco amorfo. Se añadieron a este sólido 10 mL de agua y se sometió la mezcla a ultrasonidos para dar una mezcla heterogénea que se cargó sobre una columna Sep-Pak® de fase inversa de 10 g (que se lavó con 100 mL de MeOH seguido por 100 mL de H₂O). Una vez cargada, se lavó la columna con agua (100 mL), H₂O:MeOH 60:40 (100 mL, 3 x), y MeOH. Las fracciones de interés fueron la primera fracción de H₂O:MeOH 60:40 que contenía 78,2 mg del producto 8b puro, y la segunda y tercera fracción que contenían 50,7 mg de una mezcla de 8b y 9b 2:1 como la sal HCl y la base libre, que se acidificó y posteriormente se volvió a purificar utilizando el mismo método. Cuando estuvo completamente purificada el resultado fue 8b.HCl (112 mg, 0,306 mmol, 40 %), y 9b.HCl (16,9 mg, 0,0461 mmol, 6 %), con una relación diastereoisomérica entre 8b.HCl y 9b.HCl de 20:3, respectivamente.

Compuesto 8b.HCl: ¹H RMN (600 MHz, CD₃OD) δ 6,16 (s, 1H), 6,02 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 2,93 (dd, J = 12, 4,3 Hz, 1H), 2,57 (t, J = 13 Hz, 1H), 2,51 (dt, J = 12, 2,9 Hz, 1H), 2,42 (dd, J = 14, 6,0 Hz, 1H), 1,85 (qd, J = 13, 3,4 Hz, 1H), 1,79-1,73 (m, 2H), 1,71-1,67 (m, 3H), 1,63 (td, J = 12, 3,5 Hz, 1H), 1,27 (td, J = 13, 3,4 Hz, 1H), 1,11 (dd, J = 11, 2,3 Hz, 1H), 1,09 (s, 3H), 1,08 (s, 6H), 0,94 (s, 3H); ¹³C RMN (150 MHz, CD₃OD) δ 157,5, 154,2, 145,9, 131,7, 104,7, 101,9, 65,6, 61,7, 57,6, 46,8, 39,6, 39,2, 37,8, 37,7, 30,1, 28,2, 24,3, 20,8, 20,2, 16,4, 15,9. ESIMS [M+H]⁺ calculado para C₂₁H₃₂NO₂ 330,2433, encontrado 330,2441. [α]_D²⁴ = +6,98°.

Compuesto 9b.HCl: ¹H RMN (600 MHz, CD₃OD) δ 6,16 (s, 1H), 6,02 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 3,09 (m, 1H), 2,58 (t, J = 13 Hz, 1H), 2,51 (m, 1H), 2,44 (dd, J = 14, 6,0 Hz, 1H), 2,29 (tt, J = 14, 3,3 Hz, 1H), 1,83 (dd, J = 12, 6,1 Hz, 1H), 1,71-1,69 (m, 1H), 1,68-1,66 (m, 1H), 1,64-1,59 (m, 1H), 1,49 (dt, J = 11, 2,1 Hz, 1H), 1,39 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 1,34-1,27 (m, 2H), 1,11 (s, 3H), 1,09 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 1,01 (s, 3H); ¹³C RMN (150 MHz, CD₃OD) δ 157,5, 154,2, 146,0, 131,8, 104,7, 101,9, 65,1, 59,5, 51,4, 47,1, 39,6, 37,9, 36,6, 34,1, 30,1, 28,4, 22,9, 22,7, 20,9, 20,2, 16,5. ESIMS [M+H]⁺ calculado para C₂₁H₃₂NO₂ 330,2433, encontrado 330,2440. [α]_D²⁴ = -8,27°.

Ejemplo 7

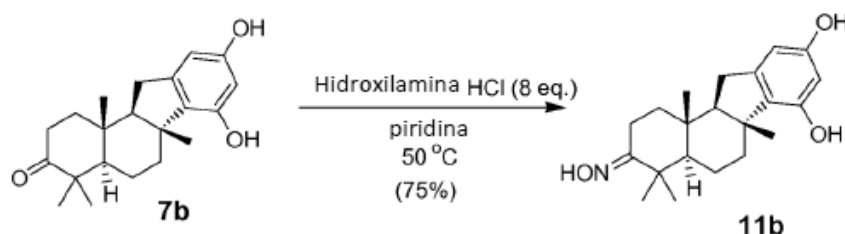
Síntesis de (2S)-3,3,3-trifluoro-2-metoxi-2-fenilpropanoato de (3S,4aR,6aR,11aR,11bR,-)-7,9-dimetoxi-4,4,6a,11b-tetrametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoren-3-ilo (10b)



Se disolvió el alcohol 5b (219 mg, 0,610 mmol) en 4 mL de cloruro de metileno (DCM). Se añadieron a esta mezcla piridina (0,074 mL, 0,92 mmol) y dimetilaminopiridina (DMAP) (7,4 mg, 0,061 mmol), y se llevó la mezcla a 0 °C. Se añadió a esta mezcla (R)-(-)-MTPA-Cl (170 mg, 0,671 mmol), y se dejó calentar la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Se sofocó la reacción con NH₄Cl acuoso saturado (50 mL), y la capa acuosa se extrajo 3 veces con cloruro de metileno (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se reunieron y se secaron con MgSO₄ y se concentraron. El espectro ¹H RMN (400 MHz) de la mezcla cruda demostró la ausencia de diastereoisómeros, lo que significa que el alcohol 5b era enantioméricamente puro después de la cristalización. La mezcla de producto se purificó entonces utilizando cromatografía rápida (hexano:acetato de etilo 12:1), para obtener el producto 10b cuantitativamente ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,54 (m, 2H), 7,41 (m, 3H), 6,40 (d, J = 1,8 Hz, 1 H), 6,26 (d, J = 1,9 Hz, 1 H), 4,72 (dd, J = 12, 4,9 Hz, 1 H), 3,77 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,54 (s, 3H), 2,62 (m, 1 H), 2,51 (dd, J = 14, 6,2 Hz, 1 H), 2,46 (dd, J = 8,4, 2,9 Hz, 1 H), 1,85-1,76 (m, 1 H), 1,74-1,67 (m, 3H), 1,65-1,57 (m, 3H), 1,23 (td, J = 13, 4,2 Hz, 1 H), 1,07 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 1,04 (m, 1 H), 0,92 (s, 3H), 0,87 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 166,3, 159,5, 155,8, 144,7, 133,2, 132,3, 129,5, 128,3 (2C), 127,6 (2C), 124,9, 122,0, 101,9, 96,9, 84,5, 64,2, 56,2, 55,4, 55,3, 55,1, 46,1, 38,1, 38,0, 37,9, 36,5, 29,5, 28,1, 23,0, 20,3, 19,0, 16,2, 16,1. ESIMS [M+Na]⁺ calculado para C₃₃H₄₁O₅F₃Na 597,2804, encontrado 597,2814. [α]_D²⁴ = -31,76°.

Ejemplo 8

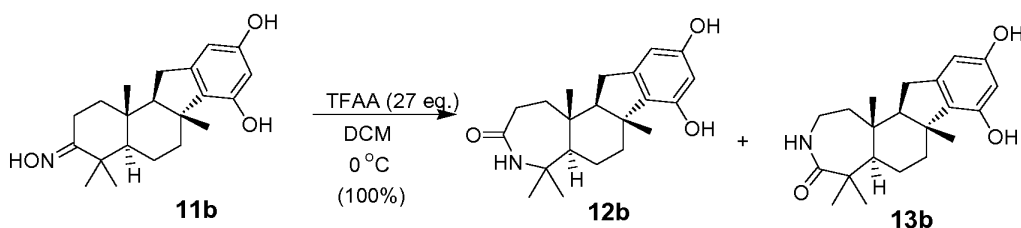
Síntesis de (4aR,6aR,11aR,11bR,-)-3-(hidroxiimino)-4,4,6a,11b-tetrametil-1H,2H,3H,4H,4aH,5H,6H,6aH,11H,11aH,11bH-ciclohexa[a]fluoreno-7,9-diol (11b)



Al producto 7b (20 mg, 0,060 mmol) disuelto en 1 mL de piridina, se añadió hidrocloreto de hidroxilamina (33,8 mg, 0,487 mmol), y se calentó la mezcla suavemente a 50 °C. Después de 3,5 horas, se enfrió la mezcla de reacción y se añadió solución acuosa saturada de cloruro amónico (50 mL). Después, se extrajo la fase acuosa 3 veces con cloruro de metileno (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se reunieron y se secaron con MgSO₄ y se concentraron. Un tratamiento ácido con HCl 1 M para eliminar la piridina dio lugar a la degradación del producto, por lo tanto, se insufló nitrógeno sobre la mezcla cruda hasta que se observó la desaparición de la piridina por TLC. La mezcla cruda se purificó por cromatografía rápida (hexano:acetato de etilo 1:1), para dar el producto 11b como un sólido blanco (15,5 mg, 0,045 mmol, 75 %) ¹H RMN (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ 6,22 (s, 1 H), 6,12 (s, 1 H), 3,06 (ddd, J = 16, 3,2, 2,7 Hz, 1 H), 2,59 (t, J = 14 Hz, 1 H), 2,53 (dt, J = 12, 3,2 Hz, 1 H), 2,44 (dd, J = 14, 6,1 Hz, 1 H), 2,29 (ddd, J = 19, 6,4, 5,8 Hz, 1 H), 1,75-1,72 (m, 1 H), 1,71-1,69 (m, 2H), 1,68-1,66 (m, 1 H), 1,65-1,61 (m, 1 H), 1,29-1,23 (m, 2H), 1,15 (s, 3H), 1,14 (s, 3H), 1,11 (s, 3H), 1,08 (s, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, (CD₃)₂CO) δ 171,9, 165,8, 158,5, 154,8, 146,8, 132,1, 105,8, 102,8, 65,9, 61,5, 58,3, 47,4, 41,7, 40,0, 38,4, 29,2, 24,3, 21,7, 18,1, 16,8, 15,5. ESIMS [M+H]⁺ calculado para C₂₁H₃₀O₃N 344,2226, encontrado 344,2230. [α]_D²⁴ = -14,94°.

Ejemplo 9

Síntesis de (5aR,7aR,12aR,12bR,-)-8,10-dihidroxi-5,5,7a,12b-tetrametil-1H,2H,3H,4H,5H,5aH,6H,7H,7aH,12H,12aH,12bH-fluoreno[2,1-c]azepin-3-ona (12b) y (5aR,7aR,12aR,12bR,-)-8,10-dihidroxi-5,5,7a,12b-tetrametil-1H,2H,3H,4H,5H,5aH,6H,7H,7aH,12H,12aH,12bH-fluoreno[1,2-d]azepin-4-ona (13b)



Al producto 11b (10 mg, 0,029 mmol) disuelto en 1 mL de cloruro de metileno a 0 °C, se añadió anhídrido trifluoroacético (TFAA, 0,11 mL, 0,78 mmol), y se dejó la mezcla en agitación durante 1 hora. Se sofocó la reacción con agua (0,1 mL) y se concentró bajo una corriente de nitrógeno. La mezcla cruda se purificó por cromatografía rápida (cloruro de metileno:metanol 12:1) para dar los compuestos 12b y 13b.

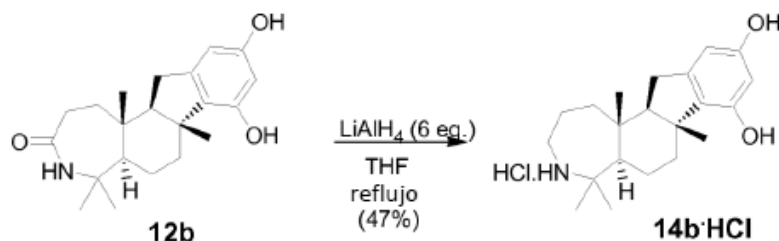
Compuesto 12b: (10,0 mg, 0,029 mmol, 96 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,17 (d, J = 1,7 Hz, 1 H), 6,02 (d, J = 1,9 Hz, 1 H), 3,45 (s, 1 H), 2,65-2,56 (m, 2H), 2,51 -2,43 (m, 3H), 1,83-1,70 (m, 4H), 1,69-1,61 (M, 2H), 1,59-1,52 (m, 1 H), 1,33 (s, 3H), 1,32 (s, 3H), 1,22 (s, 3H), 1,11 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ

179,3, 157,5, 154,3, 145,8, 131,6, 104,6, 101,9, 65,5, 57,8, 56,9, 46,6, 41,2, 39,3, 39,0, 33,7, 32,6, 30,6, 26,4, 24,3, 20,3, 17,5. ESIMS $[M+Na]^+$ calculado para $C_{21}H_{29}NO_3Na$ 366,2045, encontrado 366,2035. $[\alpha]^{24}_D = +122,1^\circ$.

5 Compuesto 13b: un regioisómero menor formado en la producción de 12b (menos de 5 % de producto formado). 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 6,16 (d, $J = 1,6$ Hz, 1 H), 6,02 (d, $J = 1,9$ Hz, 1 H), 3,02 (dq, $J = 9,4, 6,0, 2,7$ Hz, 1 H), 2,58 (t, $J = 13$ Hz, 1 H), 2,50 (dt, $J = 12, 2,9$ Hz, 1 H), 2,42 (dd, $J = 14, 6,0$ Hz, 1 H), 2,33 (qd, $J = 12, 5,4$ Hz, 1 H), 1,75-1,57 (m, 4H), 1,34-1,19 (m, 3H), 1,16 (s, 3H), 1,13 (s, 3H), 1,09 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 167,0, 157,4, 154,2, 146,2, 131,9, 104,7, 101,9, 65,5, 57,8, 46,9, 41,2, 39,5, 39,4, 37,8, 30,2, 28,3, 23,3, 21,2, 20,5, 17,7, 16,1. ESIMS $[M+H]^+$ calculado para $C_{21}H_{30}NO_3$ 344,2226, encontrado 344,2224. $[\alpha]^{24}_D = -5,1^\circ$.

Ejemplo 10

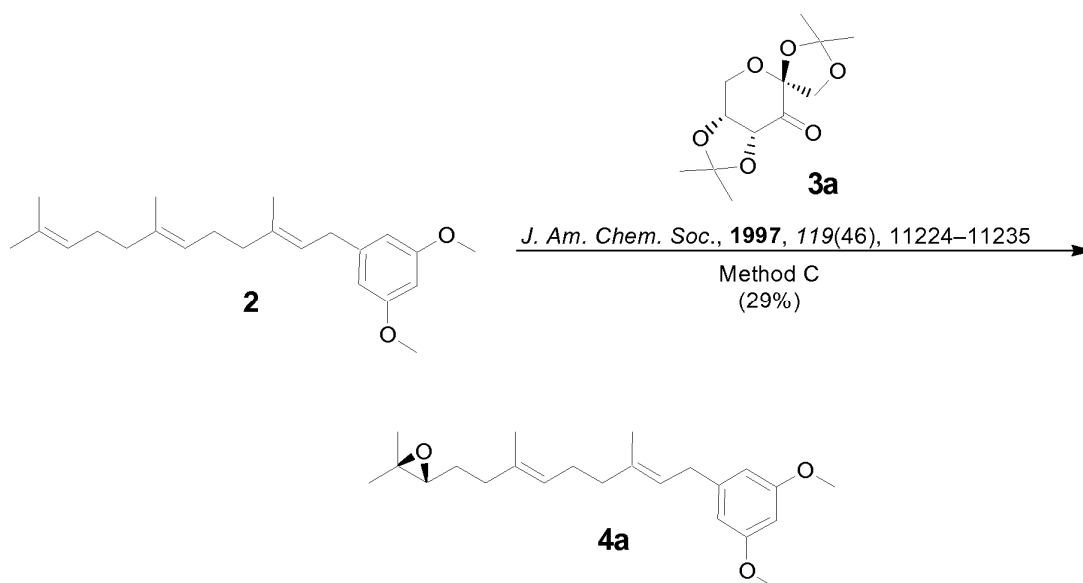
10 Síntesis de hidroclicuro de (5aR,7aR,12aR,12BR)-5,5,7A,12b-tetrametil-1H,2H,3H,4H,5H,5aH,6H,7H,7aH,12H,12aH,12bH-fluoreno[2,1-c]azepino-8,10-diol (14b.HCl)



15 Al compuesto 12b (8,0 mg, 0,023 mmol) disuelto en 4 mL de THF, se añadió $LiAlH_4$ (0,072 mL, 2 M en THF, 0,14 mmol), y se dejó la reacción a reflujo durante la noche. Al terminar, se sofocó la reacción con 0,1 mL de metanol, y se añadieron 0,1 mL de HCl 6 M. Se concentró entonces la mezcla, se liofilizó y después se purificó usando una columna Sep-Pak® de fase inversa de 2 g (que se lavó con 10 mL de MeOH seguido por 10 mL de H_2O). Una vez cargada, se lavó la columna con agua (20 mL), H_2O :MeOH 60:40 (50 mL) y MeOH (50 mL). La fracción de H_2O :MeOH después de concentración y liofilización contenía el compuesto 14b.HCl (4 mg, 0,01 mmol, 47 %) como un sólido blanco. 1H RMN (600 MHz, CD_3OD) δ 6,16 (s, 1 H), 6,03 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 3,23-3,15 (m, 2H), 2,62 (t, $J = 14$ Hz, 1 H), 2,57 (dd, $J = 8,2, 6,2$ Hz, 1 H), 2,52 (dt, $J = 13, 2,9$ Hz, 1 H), 2,00-1,96 (m, 1 H), 1,94-1,87 (m, 3H), 1,75-1,72 (m, 2H), 1,70-1,66 (m, 1 H), 1,64-1,58 (m, 1 H), 1,48 (s, 3H), 1,42 (s, 3H), 1,39 (m, 1 H), 1,22 (s, 3H), 1,13 (s, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 157,7, 154,3, 145,2, 131,2, 104,4, 101,9, 64,6, 63,6, 54,7, 46,2, 43,9, 42,6, 42,2, 38,3, 31,2, 27,9, 24,9, 24,3, 24,0, 19,5, 14,9. ESIMS $[M]^+$ calculado para $C_{21}H_{31}NO_2$ 329,23548, encontrado 329,23569. $[\alpha]^{24}_D = +20,50^\circ$.

25 Ejemplo 11

Síntesis de (3S)-3-[(3E,7E)-9-(3,5-dimetoxi-fenil)-3,7-dimetil-nona-3,7-dienil]-2,2-dimetil-oxirano (4a)

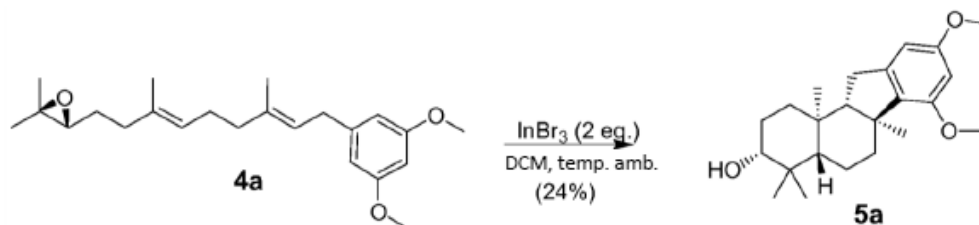


30 El compuesto 4a se preparó por el método del Ejemplo 2 utilizando 3a como catalizador. Siguiendo los procedimientos del Ejemplo 2, el polieno 2 (1,0 g, 2,9 mmol) se convirtió en el epóxido 4a (113,0 mg, 0,315 mmol). El rendimiento de 4a fue el 29 % basado en el material de partida recuperado 2 (623 mg, 1,82 mmol). 1H RMN y ^{13}C

NMR fueron idénticos a los de 4b del Ejemplo 2. ESIMS $[M+Na]^+$ calculado para $C_{23}H_{34}O_3Na$ 381,2406, encontrado 381,2415.

Ejemplo 12

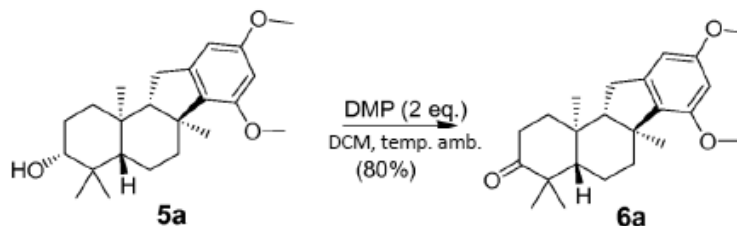
5 Síntesis de (3R,4aS,6aS,11aS,11bS)-7,9-dimetoxi-4,4,6a,11b-tetrametil-2,3,4,4A,5,6,6A,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoren-3-ol (5a)



Utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 3, el compuesto 4a (3,53 g, 9,86 mmol) se convirtió en el compuesto 5a (860 mg, 2,39 mmol) con 24 % de rendimiento. 1H RMN y ^{13}C NMR fueron idénticos a los de 5b (del Ejemplo 3). ESIMS $[M+Na]^+$ calculado para $C_{23}H_{34}O_3Na$ 381,2406, encontrado 381,2410. $[\alpha]^{24}_D = -16,5^\circ$.

10 Ejemplo 13

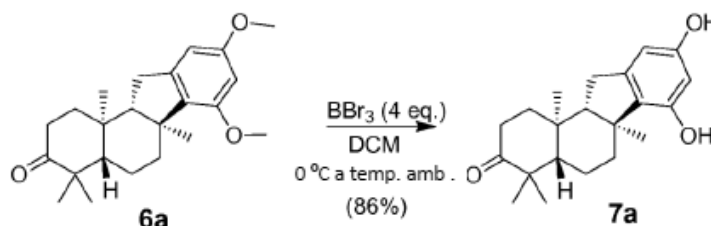
Síntesis de (4aS,6aS,11aS,11bS)-7,9-dimetoxi-4,4,6a,11b-tetrametil-1,2,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-benzo[a]fluoren-3-ona (6a)



15 Utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 4, el compuesto 5a (600 mg, 1,67 mmol) se convirtió en el compuesto 6a (476 mg, 1,34 mmol, 80 %). El compuesto 6a se obtuvo como un sólido blanco cristalino. 1H RMN y ^{13}C NMR fueron idénticos a los de 6b del Ejemplo 4. ESIMS $[M+H]^+$ calculado para $C_{23}H_{33}O_3$ 357,2430, encontrado 357,2426. $[\alpha]^{24}_D = -27,83^\circ$.

Ejemplo 14

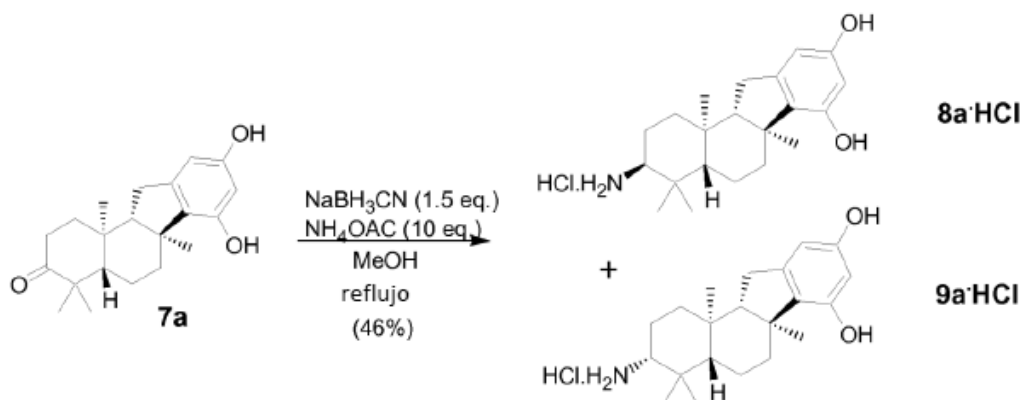
20 Síntesis de (4aS,6aS,11aS,11bS)-7,9-dihidroxi-4,4,6a,11b-tetrametil-1,2,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-benzo[a]fluoren-3-ona (7a)



Se obtuvo el compuesto 7a (190 mg, 0,578 mmol, 86 %) como un sólido blanco cristalino por reacción de 6a (240 mg, 0,67 mmol) en las condiciones descritas en el Ejemplo 5. 1H RMN y ^{13}C NMR fueron idénticos a los de 7b del Ejemplo 5. ESIMS $[M+Na]^+$ calculado para $C_{21}H_{28}O_3Na$ 351,1936, encontrado 351,1938. $[\alpha]^{24}_D = +22,0^\circ$.

25 Ejemplo 15

Síntesis de hidrocloreto de (3S,4aS,6aS,11aS,11bS)-3-amino-4,4,6a,11b-tetrametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoreno-7,9-diol (8a.HCl) e hidrocloreto de (3R,4aS,6aS,11aS,11bS)-3-amino-4,4,6a,11b-tetrametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoreno-7,9-diol (9a.HCl)



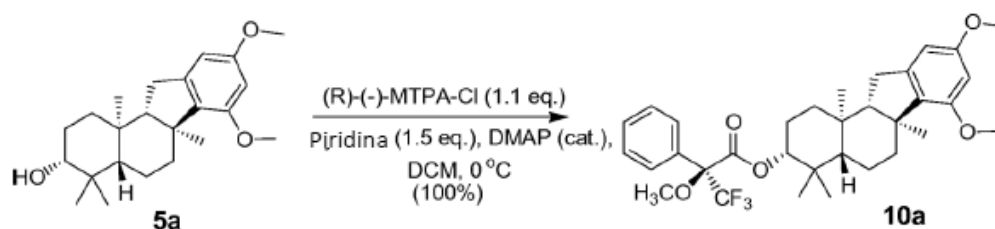
Los compuestos 8a.HCl (112 mg, 0,306 mmol, 40 %) y 9a.HCl (16,9 mg, 0,0461 mmol, 6 %), con una relación diastereoisomérica entre 8a.HCl y 9a.HCl de 20:3, respectivamente, se prepararon a partir de 7a (250 mg, 0,761 mmol) utilizando el método del Ejemplo 6.

- 5 Compuesto 8a.HCl: ^1H RMN y ^{13}C NMR fueron idénticos a los de 8b.HCl del Ejemplo 6. ESIMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{NO}_2$ 330,2433, encontrado 330,2440. $[\alpha]_D^{24} = -5,7^\circ$.

Compuesto 9a.HCl: ^1H RMN y ^{13}C NMR fueron idénticos a los de 9b.HCl del Ejemplo 6. ESIMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{NO}_2$ 330,2433, encontrado 330,2433. $[\alpha]_D^{24} = +5,0^\circ$.

Ejemplo 16

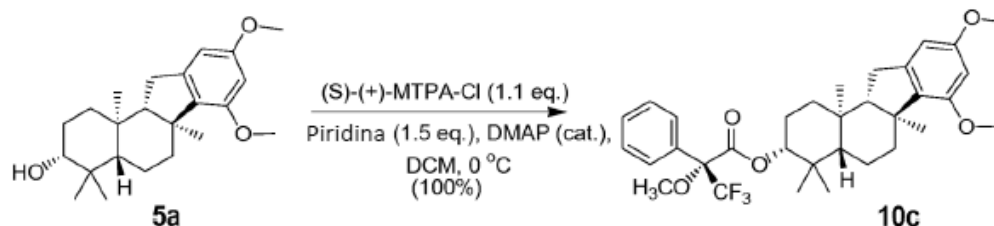
- 10 Síntesis del éster (2S)-3,3,3-trifluoro-2-metoxi-2-fenilpropanoato de (3R,4aS,6aS,11aS,11AS)-7,9-dimetoxi-4,4,6a,11b-tetrametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoren-3-ilo (10a)



- 15 El compuesto 5a (219 mg, 0,610 mmol) se convirtió cuantitativamente en 10a utilizando el método del Ejemplo 7. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,57 (m, 2H), 7,41 (t, 3H), 6,41 (s, 1 H), 6,26 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 4,75 (dd, $J = 10, 6,0$ Hz, 1 H), 3,77 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 2,64 (t, $J = 14$ Hz, 1 H), 2,52 (dd, $J = 14, 6,1$ Hz, 1 H), 2,46 (m, 1 H), 1,91-1,79 (m, 2H), 1,75-1,70 (m, 2H), 1,66-1,62 (m, 4H), 1,25 (td, $J = 13, 5,0$ Hz, 1 H), 1,08 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,83 (s, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ 166,1, 159,5, 155,8, 144,7, 133,2, 132,7, 129,5, 128,3, 127,3, 124,9, 122,1, 101,9, 96,9, 84,3, 64,2, 56,2, 55,4 (2C), 55,1, 46,1, 38,1, 38,0, 37,9, 36,5, 29,5, 27,7, 23,4, 20,3, 19,0, 16,2, 15,9. ESIMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{O}_5\text{F}_3\text{Na}$ 597,2804, encontrado 597,2814. $[\alpha]_D^{24} = -22,87^\circ$.

- 20 Ejemplo 17

Síntesis del éster (2R)-3,3,3-trifluoro-2-metoxi-2-fenilpropanoato de (3R,4aS,6aS,11aS,11AS)-7,9-dimetoxi-4,4,6a,11b-tetrametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoren-3-ilo (10c)

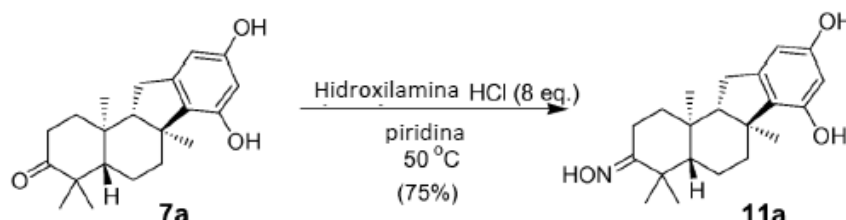


- 25 El compuesto 5a (219 mg, 0,610 mmol) se convirtió cuantitativamente en el compuesto 10c por el método del Ejemplo 7, excepto que se utilizó (S)-(+)-MTPA-Cl. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,55 (m, 2H), 7,42 (t, $J = 3,0$ Hz, 3H), 6,41 (s, 1H), 6,27 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 4,73 (dd, $J = 12, 4,8$ Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,54 (s, 3H), 2,63 (t, $J = 14$ Hz, 1H), 2,52 (dd, $J = 14,4, 8,3$ Hz, 1H), 2,48 (m, 1H), 1,85-1,77 (m, 2H), 1,75-1,68 (m, 3H), 1,66-1,57 (m,

3H), 1,24 (dt, $J = 13, 3,8$ Hz, 1H), 1,08 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,88 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166,4, 159,5, 155,8, 144,7, 133,1, 132,4, 129,5, 128,3, 127,6, 124,9, 122,0, 101,9, 96,9, 84,5, 64,2, 56,2, 55,4, 55,3, 55,1, 46,0, 38,1, 38,0, 37,9, 36,5, 29,5, 28,1, 23,0, 20,3, 19,1, 16,2, 16,1. ESIMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{O}_5\text{F}_3\text{Na}$ 597,2804, encontrado 597,2793. $[\alpha]^{24}_{\text{D}} = +32,29^\circ$.

5 Ejemplo 18

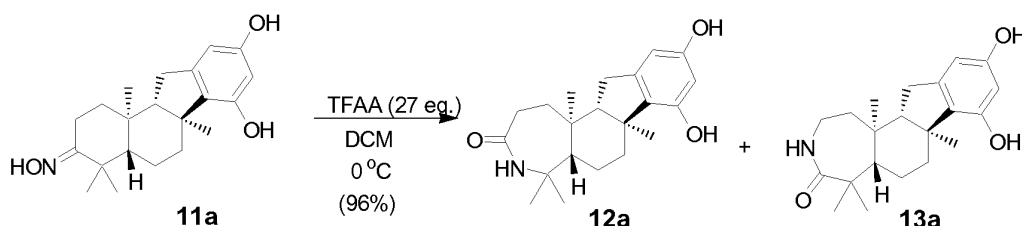
Síntesis de (4aS,6aS,11aS,11bS)-3-(hidroxiimino)-4,4,6a,11b-tetrametil-1H,2H,3H,4H,4aH,5H,6H,6aH,11H,11aH,11bH-ciclohexa[a]fluoreno-7,9-diol (11a)



10 El compuesto 7a (20 mg, 0,060 mmol) se convirtió en el compuesto 11a por el método del Ejemplo 8. El compuesto 11a se obtuvo como un sólido blanco (15 mg, 0,045 mmol, 75 %). ^1H RMN y ^{13}C NMR fueron idénticos a los de 11b del Ejemplo 8. ESIMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{N}$ 344,2226, encontrado 344,2233. $[\alpha]^{24}_{\text{D}} = +13,18^\circ$.

Ejemplo 19

15 Síntesis de (5aS,7aS,12aS,12bS)-8,10-dihidroxi-5,5,7a,12b-tetrametil-1H,2H,3H,4H,5H,5aH,6H,7H,7aH,12H,12aH,12bH-fluoreno[2,1-c]azepin-3-ona (12a) y (5aS,7aS,12aS,12bS)-8,10-dihidroxi-5,5,7a,12b-tetrametil-1H,2H,3H,4H,5H,5aH,6H,7H,7aH,12H,12aH,12bH-fluoreno [1,2-d]azepin-4-ona (13a)



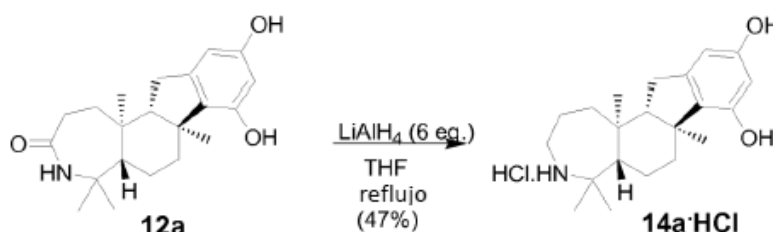
El compuesto 12a y el regioisómero menor 13a se obtuvieron por reacción de 11a (10 mg, 0,029 mmol) utilizando el método del Ejemplo 9 obteniéndose 12a y 13a (10 mg, 0,029 mmol, 96 %) como un sólido blanco.

20 Compuesto 12a: ^1H RMN y ^{13}C NMR fueron idénticos a los de 12b del Ejemplo 9. ESIMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_3\text{Na}$ 366,2045, encontrado 366,2047. $[\alpha]^{24}_{\text{D}} = -4,76^\circ$.

Compuesto 13a: ^1H RMN y ^{13}C NMR fueron idénticos a los de 13b del Ejemplo 9. ESIMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{NO}_3$ 344,2226, encontrado 344,2219. $[\alpha]^{24}_{\text{D}} = +8,7^\circ$.

Ejemplo 20

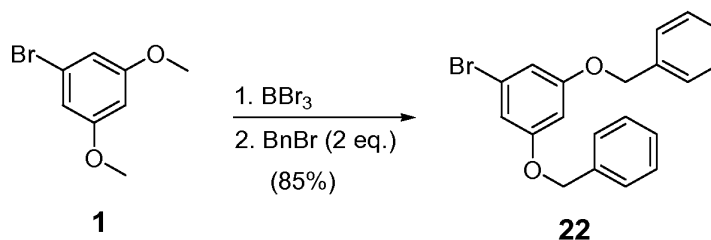
25 Síntesis de hidrocloreto de (5aR,7aR,12aR,12bR)-5,5,7a,12b-tetrametil-1H,2H,3H,4H,5H,5aH,6H,7H,7aH,12H,12aH,12bH-fluoreno[2,1-c]azepin-8,10-diol (14a.HCL)



El compuesto 12a (8,0 mg, 0,023 mmol) se convirtió en el compuesto 14a.HCl por el método del Ejemplo 10 para proporcionar un sólido blanco (4 mg, 0,01 mmol, 47 %). ^1H RMN y ^{13}C NMR fueron idénticos a los de 14b.HCl del Ejemplo 10. ESIMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{NO}_2$ 330,2433, encontrado 330,2432 $[\alpha]^{24}_{\text{D}} = -17,5^\circ$.

Ejemplo 21

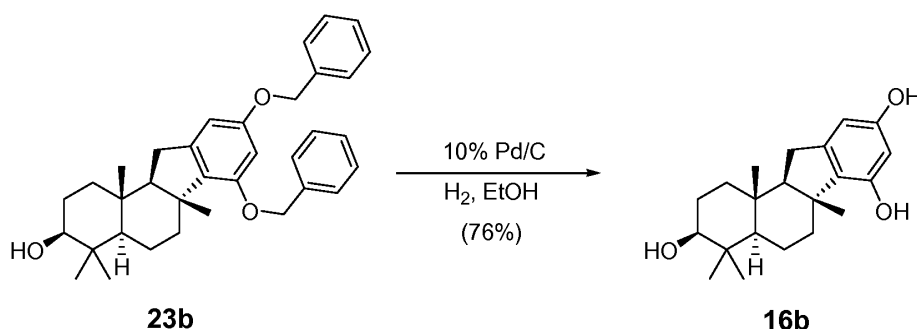
Síntesis de 1,3-bis-benciloxi-5-bromobenceno (22)



- 5 Se disolvió 1,3-dimetoxi-5-bromobenceno (14,5 g, 66,7 mmol) en 40 mL de CH_2Cl_2 y se enfrió a 0 °C. Se añadió BBr_3 (100 mL, 1,0 M en CH_2Cl_2 , 100 mmol) y se agitó la solución durante 12 h a temperatura ambiente. Se sofocó cuidadosamente la reacción con MeOH y después se concentró a sequedad. El jarabe resultante se volvió a disolver en EtOAc y se lavó con H_2O (3 x 25 mL). Después, se secó la fase orgánica sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a sequedad. Se disolvió después el residuo en DMF (50 mL) y se añadió K_2CO_3 (20,2 g, 146,7 mmol), seguido por bromuro de bencilo (BnBr, 17,4 mL, 146,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 3 h tras lo cual el análisis
- 10 por TLC (EtOAc al 60 %/hexano) indicó que la reacción era completa. Se diluyó entonces la mezcla de reacción en EtOAc y se lavó con agua (3 x 50 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró para dar el producto crudo. El producto se recrystalizó en isopropanol para dar 1,3-bis-benciloxi-5-bromobenceno 22 (21 g, 57 mmol, 85 % de rendimiento) como un polvo blanco. ^1H RMN (CD_2Cl_2) δ 7,3-7,5 (m, 10H), 6,71 (s, 2H), 6,60 (s, 1 H), 5,05 (s, 4H); ^{13}C NMR (CD_2Cl_2) δ 161,2, 137,2, 128,9, 128,4, 127,8, 123,1, 111,0, 101,5, 70,0.

15 Ejemplo 22

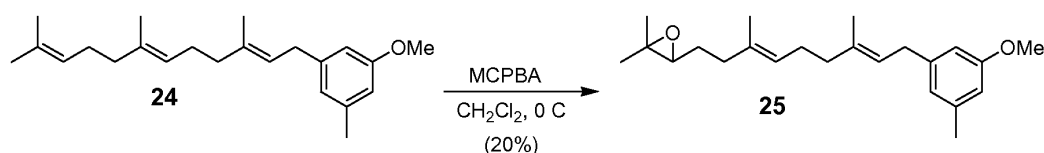
Síntesis de (3S,4aR,6aR,11aR,11bR,-)-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-4,4,6a,11b-tetrametil-1H-benzo[a]fluoreno-3,7,9-triol (16b)



A una solución de 3-metoxi-5-bromotolueno (0,50 g, 2,49 mmol) en THF seco (8 mL), se añadió n-BuLi (1,71 mL, 2,74 mmol, 1,6 M en hexano) gota a gota a -78 °C. Después, se agitó la mezcla de reacción durante 15 min, se añadió Li₂CuCl₄ (0,1 mL, 0,1 mmol, 0,1 M en THF), y se agitó la mezcla durante otros 10 min a la misma temperatura. Después, se añadió una solución de bromuro de (E,E)-farnesilo (0,70 mL, 2,58 mmol) en THF (3 mL) durante 0,5 horas y se continuó agitando durante 2 horas a -78 °C. Una vez que se hubo completado la reacción, se calentó la mezcla a temperatura ambiente y se añadió NH₄Cl acuoso saturado (20 mL), seguido por NH₄OH al 10 % (40 mL) y Et₂O (3 x 50 mL). La capa orgánica reunida se lavó con agua, salmuera, y se secó con Na₂SO₄. El producto crudo se purificó por cromatografía rápida en gel de sílice (hexano/EtOAc 60:1, 30:1, 20:1 y 10:1) para dar el compuesto 24 (658,1 mg, 78 %) como un aceite incoloro.

Ejemplo 24

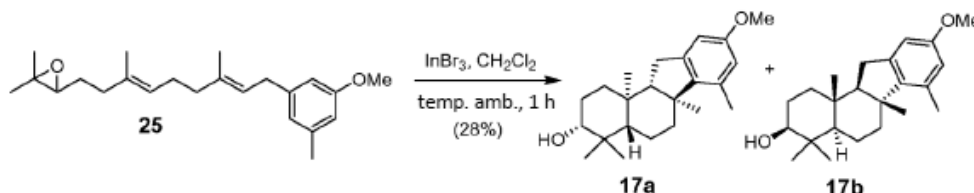
Síntesis de 3-((3E,7E)-9-(3-metoxi-5-metilfenil)-3,7-dimetilnona-3,7-dienil)-2,2-dimetiloxirano (25)



Se añadió a una solución del producto 24 (488,2 mg, 1,5 mmol) en 12 mL de CH₂Cl₂ seco a 0 °C, una solución de MCPBA (403,4 mg, 1,80 mmol en 4 mL de CH₂Cl₂), se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 1 hora y después se sofocó con NaHCO₃ acuoso saturado (50 mL). Se añadió entonces Et₂O (3 x 50 mL), y la capa orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, agua, y salmuera, y se secó con MgSO₄ y se concentró para dar un producto crudo. El producto crudo se pasó a través de una columna de gel de sílice (hexano/EtOAc 80:1, 40:1, 20:1) para dar el epóxido 25 puro (104 mg; rendimiento 20 %) como un aceite incoloro.

Ejemplo 25

Síntesis de (3R,4aS,6aS,11aS,11bS)-9-metoxi-4,4,6a,7,11b-pentametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoren-3-ol (17a) y (3S,4aR,6aR,11aR,11bR,-)-9-metoxi-4,4,6a,7,11b-pentametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoren-3-ol (17b)



A una solución del producto 25 (104 mg, 0,31 mmol) en 4 mL de CH₂Cl₂ seco, se añadió InBr₃ (218,0 mg, 0,62 mmol). Se agitó la mezcla de reacción durante 1 hora a temperatura ambiente, y se sofocó con 4 mL de agua. La capa de CH₂Cl₂ se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado seguido por salmuera y se secó con MgSO₄. Una vez que se concentró la solución de CH₂Cl₂ y se secó a alto vacío, se purificó el producto crudo a través de una columna de gel de sílice (hexano/EtOAc 40:1, 30:1, 20:1, 15:1, 5:1) para dar una mezcla racémica de 17a y 17b (29,0 mg; rendimiento 28 %) como un aceite incoloro.

Ejemplo 26

Síntesis de (4aS,6aS,11aS,11bS)-9-metoxi-4,4,6a,7,11b-pentametil-4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-octahidro-1H-benzo[a]fluoren-3(2H)-ona (18a) y (4aR,6aR,11aR,11bR,-)-9-metoxi-4,4,6a,7,11b-pentametil-4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-octahidro-1H-benzo[a]fluoren-3(2H)-ona (18b)

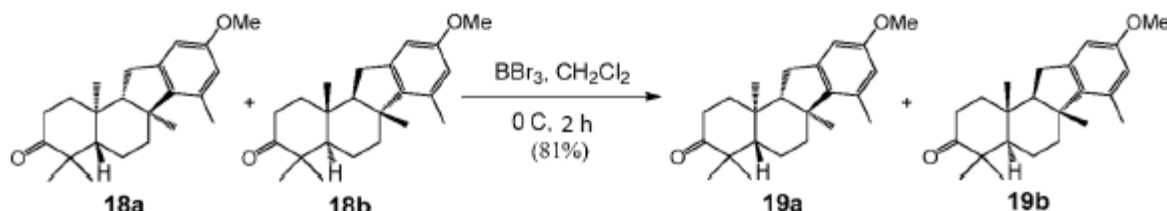


A una solución de una mezcla racémica de 17a y 17b (28,0 mg, 0,082 mmol) en 1 mL de CH₂Cl₂ seco, se añadió peryodinano de Dess-Martin (70 mg, 0,164 mmol, en 1 mL de CH₂Cl₂ seco). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, se diluyó con 2 mL de Et₂O, y después se sofocó con Na₂S₂O₃ acuoso saturado (3 mL). La capa orgánica se lavó con H₂O y salmuera, se concentró y se secó para dar un producto crudo, que se

pasó a través de una columna de gel de sílice (hexano/EtOAc 30:1, 20:1, 10:1) para dar una mezcla racémica de 18a y 18b (15,5 mg: rendimiento 56 %) como un sólido blanco.

Ejemplo 27

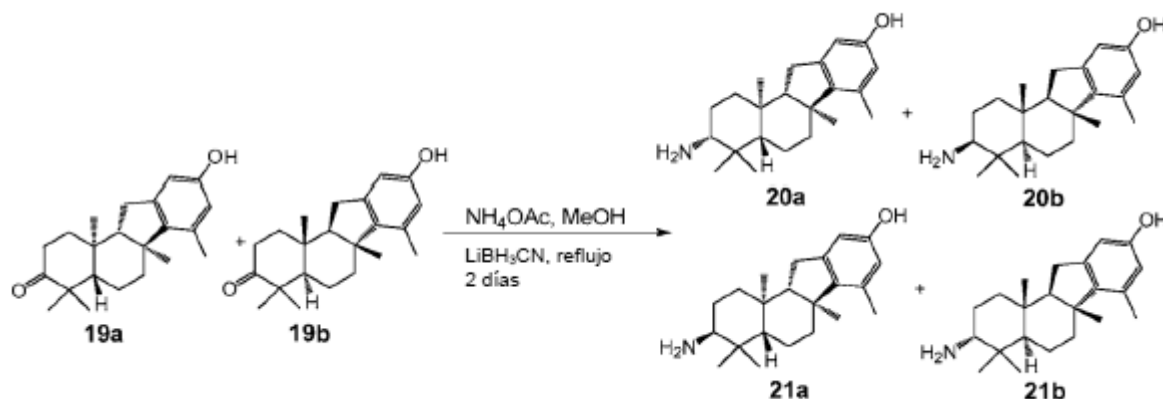
- 5 Síntesis de (4aS,6aS,11aS,11bS)-9-hidroxi-4,4,6a,7,11b-pentametil-4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-octahidro-1H-benzo[a]fluoren-3(2H)-ona (19a) y (4aR,6aR,11aR,11bR)-9-hidroxi-4,4,6a,7,11b-pentametil-4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-octahidro-1H-benzo[a]fluoren-3(2H)-ona (19b)



- 10 A una solución de una mezcla racémica de 18a y 18b (14,5 mg, 0,043 mmol) en 0,5 mL de CH_2Cl_2 seco, se añadió BBr_3 (0,43 mL, 0,43 mmol, 1,0 M en CH_2Cl_2). Se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 2,5 h, se sofocó con 1 mL de agua con hielo, y después se diluyó con 1 mL de CH_2Cl_2 . La capa orgánica se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado, H_2O , y salmuera, y después se concentró y se secó. El producto crudo se purificó en una columna Sep-Pak® de gel de sílice (2 g) (hexano/EtOAc 30:1, 20:1, 10:1) para dar una mezcla racémica de 19a y 19b (11,2 mg: rendimiento 81 %) como un sólido blanco.

Ejemplo 28

- 15 Síntesis de (3R,4aS,6aS,11aS,11bS)-3-amino-4a,6a,7,11b-pentametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoren-9-ol (20a), (3S,4aR,6aR,11aR,11bR)-3-amino-4a,6a,7,11b-pentametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoren-9-ol (20b), (3S,4aS,6aS,11aS,11bS)-3-amino-4a,6a,7,11b-pentametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoren-9-ol (21a) y (3R,4aR,6aR,11aR,11bR)-3-amino-4a,6a,7,11b-pentametil-2,3,4,4a,5,6,6a,11,11a,11b-decahidro-1H-benzo[a]fluoren-9-ol (21b)



- 20 A una solución del producto 19 (4,5 mg, 0,014 mmol) en 0,9 mL de MeOH seco, se añadieron NH_4OAc (11,6 mg, 0,15 mmol) y LiBH_3CN (0,94 mg, 0,015 mmol). Se agitó la mezcla a 65-70 °C durante 2 días. Después de enfriar a temperatura ambiente y eliminar el MeOH, se disolvió la mezcla en 1 mL de H_2O ácida (pH <2, con HCl concentrado) y se sometió a reparto con EtOAc (3 x 1 mL). Se hizo alcalinizar entonces la capa acuosa a pH > 10 con KOH y se extrajo con EtOAc (3 x 1 mL). Se concentró después la capa orgánica y se secó para dar una mezcla de los estereoisómeros 20a, 20b, 21a y 21b.

Ejemplo 29

Actividad de los compuestos representativos sobre HIS-HSHIP1 (SHIP1 humana marcada con His)

- 30 Los compuestos de ensayo se disuelven en etanol al 95 % para formar soluciones stock. Antes del cribado, las soluciones stock se diluyen con tampón de ensayo de fosfatasa (Tris-HCL 20 mM, MgCl_2 10 mM pH 7,5, Tween 20 al 0,02 %) para formar soluciones de trabajo que contienen etanol al 10 %. El ensayo se lleva a cabo en placas de microtitulación de 96 pocillos utilizando un procedimiento modificado del publicado por Ong et al., Blood 110, 1942-1949, 2007 y Yang et al., Org Lett 7, 1073-1076, 2005, cuyas referencias se incorporan en esta memoria como referencia en su totalidad.

Cada reacción contiene 5 µL de enzima His-hSHIP1 (15-20 ng), 10 µL del sustrato, tetrakisfosfato de 1,3,4,5-inositol (IP4; final 50 µM), 5 µL del tampón de ensayo de la fosfatasa, y 5 µL del compuesto de ensayo a diferentes concentraciones en etanol al 10 % (final 0-300 µM). Los blancos de control se preparan también reemplazando la enzima His-hSHIP1, el IP4, o los compuestos de ensayo con tampón de ensayo de la fosfatasa. Después de añadir los componentes de reacción a una placa de microtitulación de 96 pocillos en hielo, se mezcla la reacción agitando brevemente la placa vigorosamente. La reacción se incuba entonces a 37 °C durante 15 minutos con agitación suave seguida por la adición de 100 µL de reactivo de verde biomol (BIOMOL, PA, USA) para terminar la reacción. El fosfato libre liberado del IP4 por la His- hSHIP1 se une al reactivo de verde biomol, que cambia el color a verde. Después de incubar la mezcla durante 20 min a temperatura ambiente para el desarrollo de color, se lee la absorbancia con el lector de placas de 96 pocillos SpectraMax Plus (Molecular Devices, Sunnyvale, California, USA.) a una longitud de onda de 650 nm.

Según el ensayo anterior, se encontró que los compuestos representativos listados en la Tabla 2 que sigue, activan la enzima His-hSHIP1 a concentraciones ≤ 300 µM. La activación en porcentaje (%) en la Tabla 2 se expresa como el porcentaje de aumento con respecto a la base. La puntuación se expresa como sigue: + (<25 %); ++ (≥ 25 % pero <50 %); +++ (≥ 50 %).

Tabla 2

Activación de la enzima His-hSHIP1	
Compuesto N°	Puntuación
5a/5b*	++
9a.HCl/9b.HCl*	++
9b	+
8a.HCl/8b.HCl*	++
8a.HCl	+
7a/b*	+++
16a/16b*	++
17a/17b*	++
19a/19b*	++
*Compuestos ensayados como mezcla racémica	

Ejemplo 30

Actividad de los compuestos representativos sobre la fosforilación de AKT en los linfocitos

Se ha demostrado que la fosforilación de AKT es modulada por la SHIP1 (Helgason et al., J Exp Med 191, 781-794, 2000). Las células Jurkat (PTEN-/SHIP1-) o Molt-4 (PTEN-/SHIP1+) se dejan pasar hambre en RPMI libre de suero durante toda la noche. En un tubo cónico de 15 mL, se tratan 2-3 millones de células privadas de suero (1 millón de células por mL) con diferentes concentraciones de compuesto de ensayo (concentración final 0,1, 1, o 10 µM en DMSO al 0,1 %) durante 30 min a 37 °C seguido por estimulación con 100 ng/mL de IGF-1 durante 1 hora a 37 °C. Después de la estimulación, se lavaron las células una vez con DPBS enfriado con hielo y se lisaron con tampón de lisis (Tris-HCl 20 mM, pH 7,5, NaCl 140 mM, NP-40 al 1 %, cóctel inhibidor de las proteasas Complete Mini, NaF 10 mM, VO₄Na₃ 1 mM, β-glicerofosfato 1 mM) en hielo durante 30 min con agitación vorticial cada 10 min. Se centrifugan después las muestras a 13.000 rpm durante 20 min, y se recogen los sobrenadantes como muestras del lisado celular total. La concentración de proteínas se determina utilizando el ensayo de ácido bicinónico, y aproximadamente 15 µg de proteínas totales de cada muestra se cargan y se separan sobre un gel de Tris-glicina al 4-12 %. Después de SDS-PAGE, las proteínas se transfieren desde el gel a una membrana de nitrocelulosa. La membrana se bloquea en BSA al 5 % en PBS que contiene Tween-20 al 0,1 % (PBS-T) durante 1 hora a temperatura ambiente antes de sondear con anticuerpos primarios durante la noche a 4 °C. Se utilizan los siguientes anticuerpos: anti-SHIP1 de ratón (dilución 1:500; Santa Cruz, CA, USA.), anti-fosfo-Akt (Ser473) de conejo (dilución 1:1000; Cell Signaling Technologies, MA, USA.), anti-Akt de conejo (1:1000; Cell Signaling Technologies, MA, USA.), y anti-actina de conejo (1:2000; Cell Signaling Technologies, MA, USA). La membrana se incuba entonces con anticuerpos secundarios anti-conejo o anti-ratón de cabra (1:3000) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las proteínas diana sobre la membrana se detectan con una solución ECL y se exponen sobre una película.

Según el ensayo anterior, se encontró que el compuesto representativo indicado en la Tabla 3 que sigue, inhibe la fosforilación de Akt a ≤ 10 µM en los linfocitos Molt-4 (SHIP1+), pero no en los linfocitos Jurkat (SHIP1-). La puntuación en la Tabla 4 se expresa como sigue: + (inhibe la fosforilación de Akt a concentración 10 µM); - (ningún efecto sobre la fosforilación de Akt a concentración 10 µM).

Tabla 3

Inhibición de la fosforilación de Akt		
Compuesto N°	Molt-4 (SHIP+)	Jurkat (SHIP1-)
9a.HCl/9b.HCl*	+	-
*Compuesto ensayado como mezcla racémica		

Ejemplo 31

Actividad de los compuestos representativos sobre la anafilaxia cutánea pasiva en ratones

- 5 La actividad de los compuestos representativos sobre la anafilaxia cutánea pasiva en ratones se evaluó según los procedimientos descritos por Ovary, J Immunol 81, 355-357, 1958 y Halpern et al., Br J Pharmacol Chemother 20, 389-398, 1963.

10 Para inducir una anafilaxia cutánea pasiva, los ratones se someten a la inoculación intradérmica en su oreja derecha de 25 ng en 20 µL de anti-DNP-IgE. La oreja izquierda queda sin tratar y sirve como control negativo. Veinticuatro horas después de la inoculación, se administra a todos los ratones el compuesto de ensayo por sonda oral (PO). Sesenta minutos después de la administración oral, los ratones reciben una inyección en la vena caudal de azul de Evans al 2 % (filtrado por 0,2 µm, en 200 µL de solución salina) seguido por una segunda inyección IV en la cola de 100 µg de DNP-HSA (en 200 µL). Sesenta minutos después de la inyección de DNP-HSA, se sacrifican los ratones utilizando inhalación de CO₂. Posteriormente, se realizan biopsias de las orejas tomando sacabocados de cuatro milímetros de ambas orejas, que se someten después a extracción de azul de Evans utilizando incubación con formamida en placas de 96 pocillos. Se transfieren ochenta µL de los eluyentes a placas de 96 pocillos de fondo plano y se lee la absorbancia utilizando un espectrofotómetro SpectraMax M5 (Molecular Devices, Sunnyvale, California, USA) a 620 nm. Las lecturas de fondo de todas las muestras se toman a 740 nm y se restan de las lecturas de 620 nm. Los datos se registran como OD.

- 15 Según el ensayo anterior, se encontró que el compuesto representativo indicado en la Tabla 4 que sigue, inhibe la anafilaxia cutánea pasiva inducida por alérgenos a dosis inferiores a 20 mg/kg. La puntuación en la Tabla 4 se expresa como sigue: + (1-30 % de inhibición); ++ (31-50 % de inhibición); +++ (> 50 % de inhibición).

Tabla 4

Inhibición de la anafilaxia cutánea pasiva inducida por alérgenos	
Compuesto N°	% de inhibición
9a.HCl/9b.HCl*	+++
*Compuesto ensayado como mezcla racémica	

Ejemplo 32

Solubilidad en agua de compuestos ejemplares

Las muestras se pesan con precisión por duplicado (~ 3 mg cada una) en viales de vidrio de 4 mL. Se añade la cantidad apropiada de agua desionizada para obtener una concentración final de 6 mg/mL. Se coloca en el vial una barra de agitación y se agitan las dos mezclas durante 24 horas, tras lo cual se filtran las muestras utilizando una membrana de filtro de vidrio. El filtrado resultante se centrifuga en un tubo cónico de vidrio durante 10 minutos a 10.000 rpm para sedimentar cualquier precipitado que pueda haber pasado a través de la membrana de vidrio. Se toma muestra del sobrenadante para análisis por HPLC. La concentración del compuesto de ensayo se determina por HPLC utilizando una curva estándar de seis puntos del compuesto preparado en metanol. Los datos se resumen en la Tabla 5.

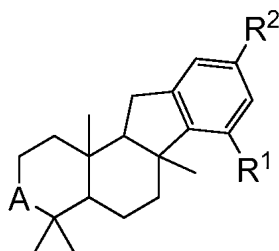
Tabla 5

Solubilidad en agua de los compuestos ejemplares	
Compuesto	Concentración soluble (µg/mL)
8a.HCl	0397
16b	133

De lo anterior se apreciará que, aunque las realizaciones específicas de la invención se han descrito en la presente memoria con fines de ilustración, la invención no está limitada más que por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la siguiente estructura (I):



(I)

o una de sus sales o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, en donde

5 R^1 y R^2 son cada uno, independientemente, hidrógeno, hidroxilo, alquilo o alcoxi, con la condición de que al menos uno de R^1 y R^2 es hidroxilo o alcoxi;

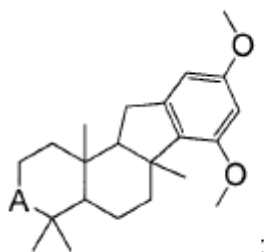
A es $-\text{CHR}^3-$, $-\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)\text{NR}^6-$, $-\text{NR}^6\text{C}(\text{R}^4)(\text{R}^5)-$, $-\text{C}(=\text{O})-$ o $-\text{C}(=\text{N}-\text{OR}^6)-$;

R^3 es $-\text{OR}^6$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}^6$ o $-\text{NR}^6\text{R}^7$;

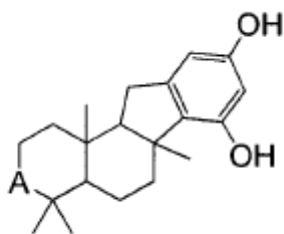
R^4 y R^5 son cada uno hidrógeno o ambos R^4 y R^5 pueden considerarse juntos para formar un resto oxo; y

10 R^6 y R^7 son, en cada aparición, independientemente, hidrógeno, alquilo, arilo opcionalmente sustituido o aralquilo opcionalmente sustituido.

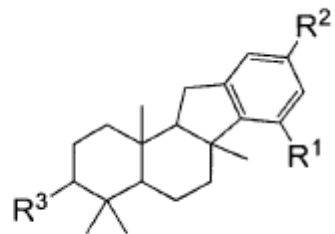
2. El compuesto según la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene una de las siguientes estructuras (II), (III), (IV), (V), (VI), (VII), (VIII), (IX), (X), (XI) o (XII):



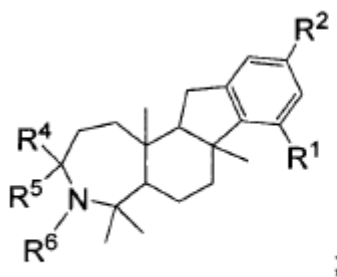
(II)



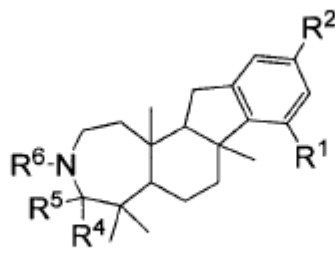
(III)



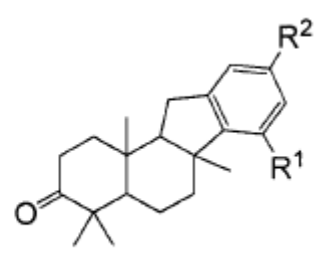
(IV)



(V)

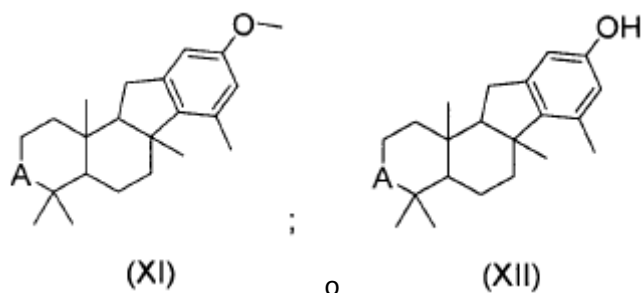
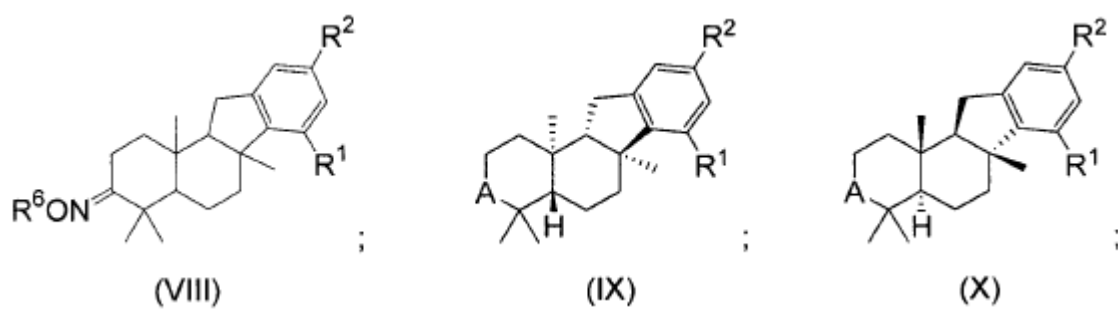


(VI)

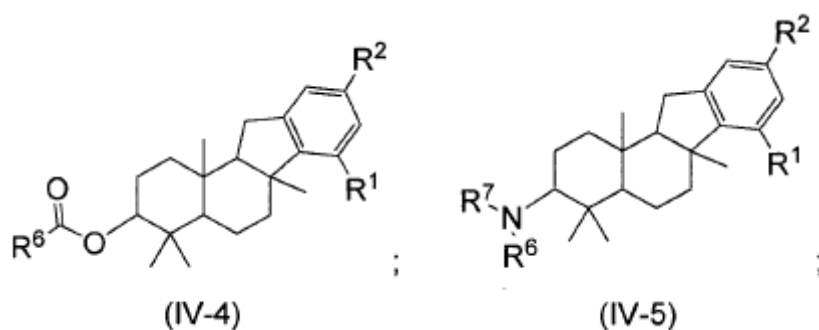
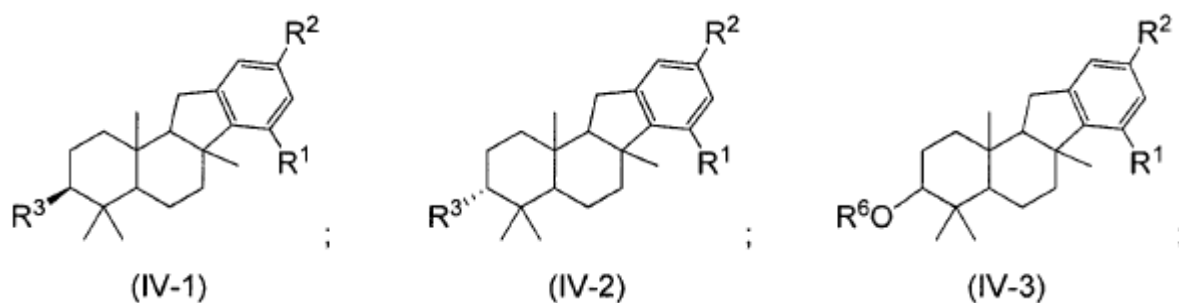


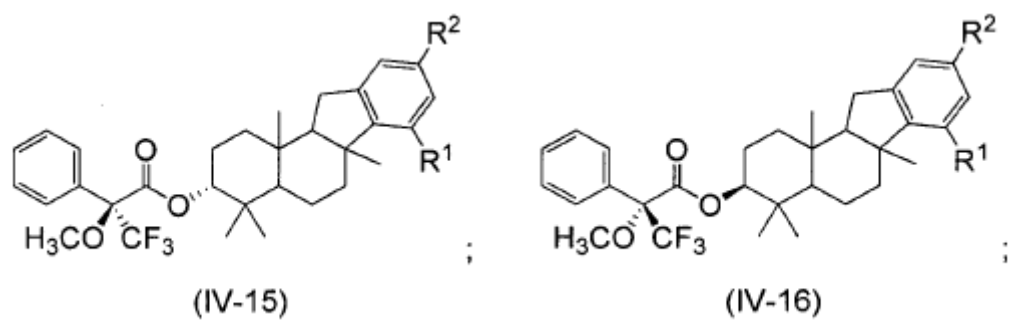
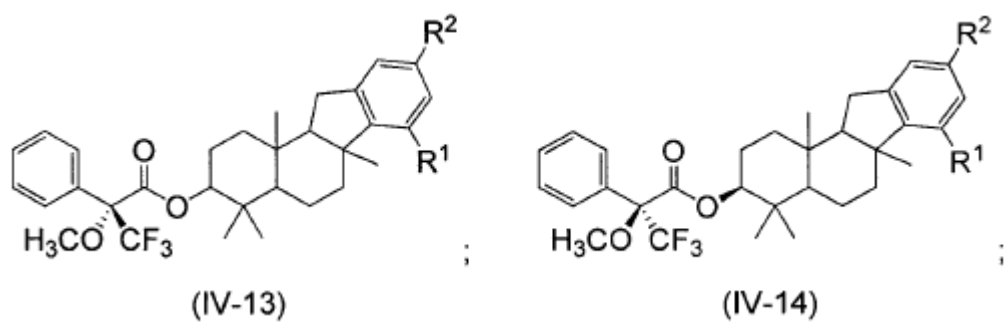
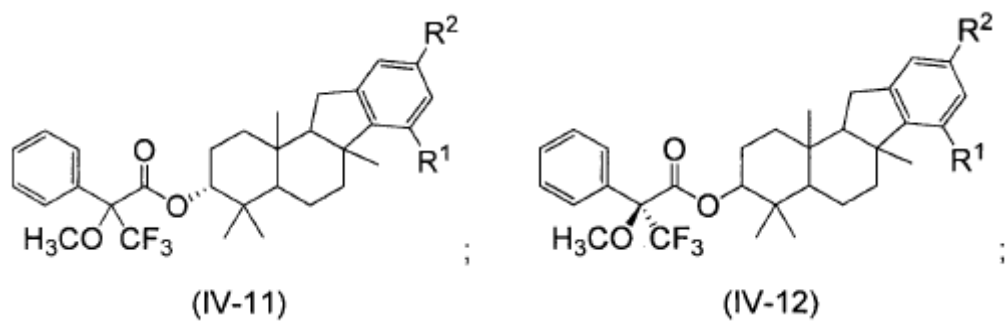
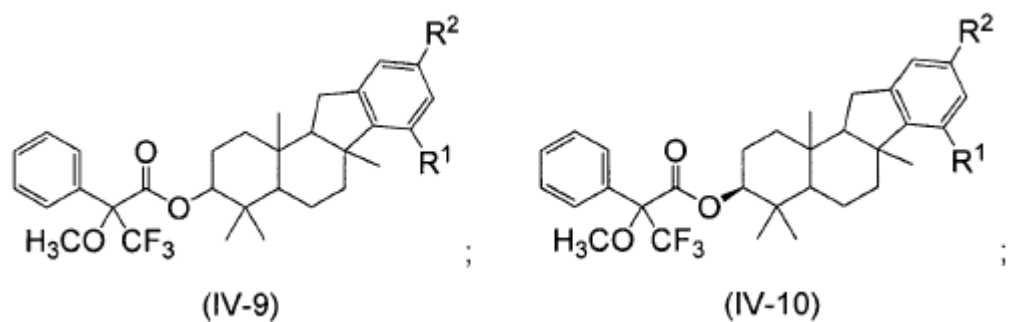
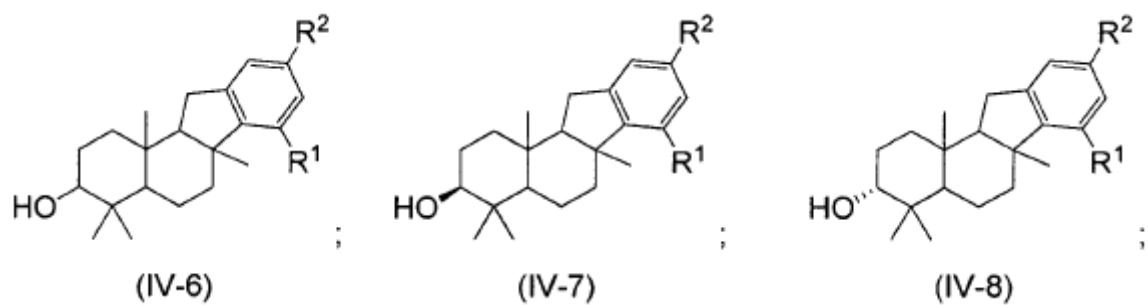
(VII)

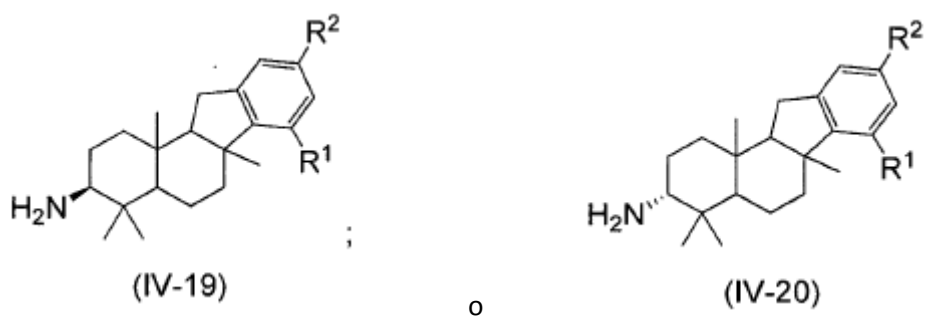
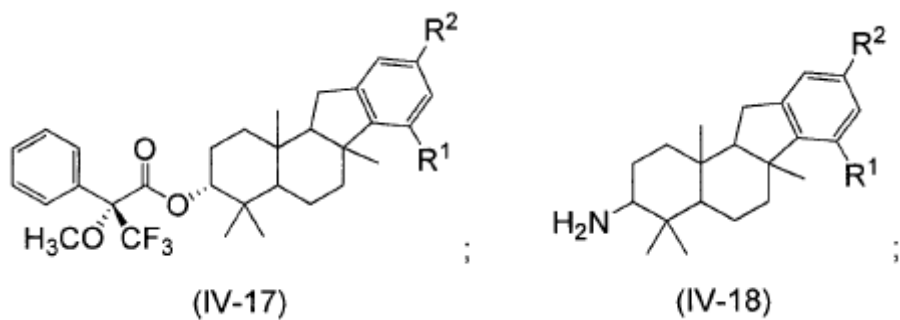
15



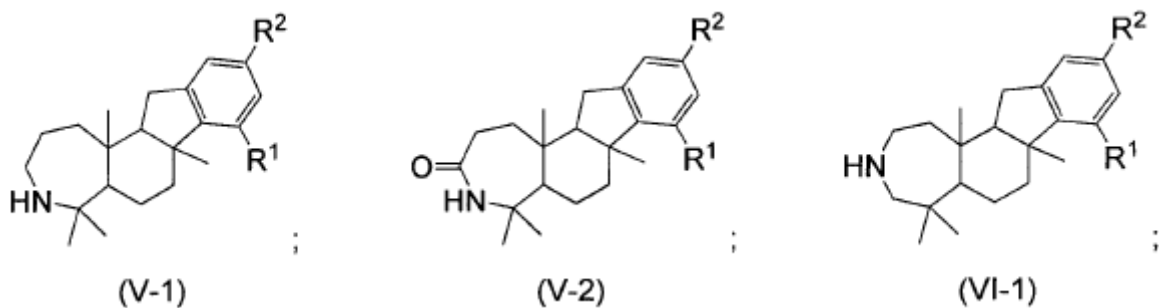
3. El compuesto según la reivindicación 2, en donde el compuesto tiene una de las siguientes estructuras (IV-1), (IV-2), (IV-3), (IV-4), (IV-5), (IV-6), (IV-7), (IV-8), (IV-9), (IV-10), (IV-11), (IV-12), (IV-13), (IV-14), (IV-15), (IV-16), (IV-17), (IV-18), (IV-19) o (IV-20):



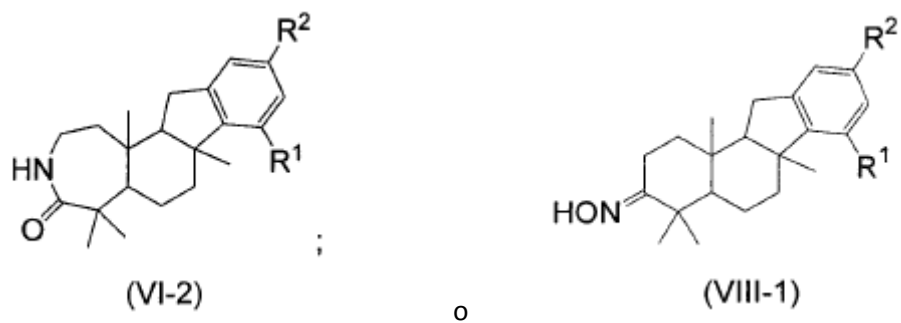




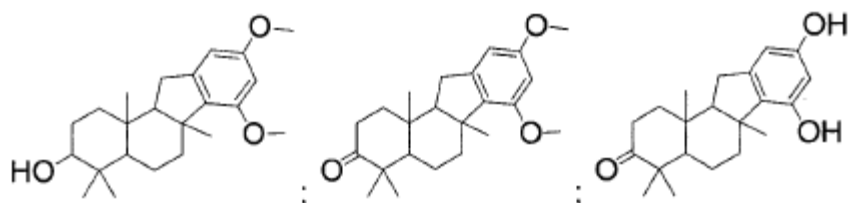
4. El compuesto según la reivindicación 2, en donde el compuesto tiene una de las siguientes estructuras (V-1), (V-2), (VI-1), (VI-2) o (VIII-1):

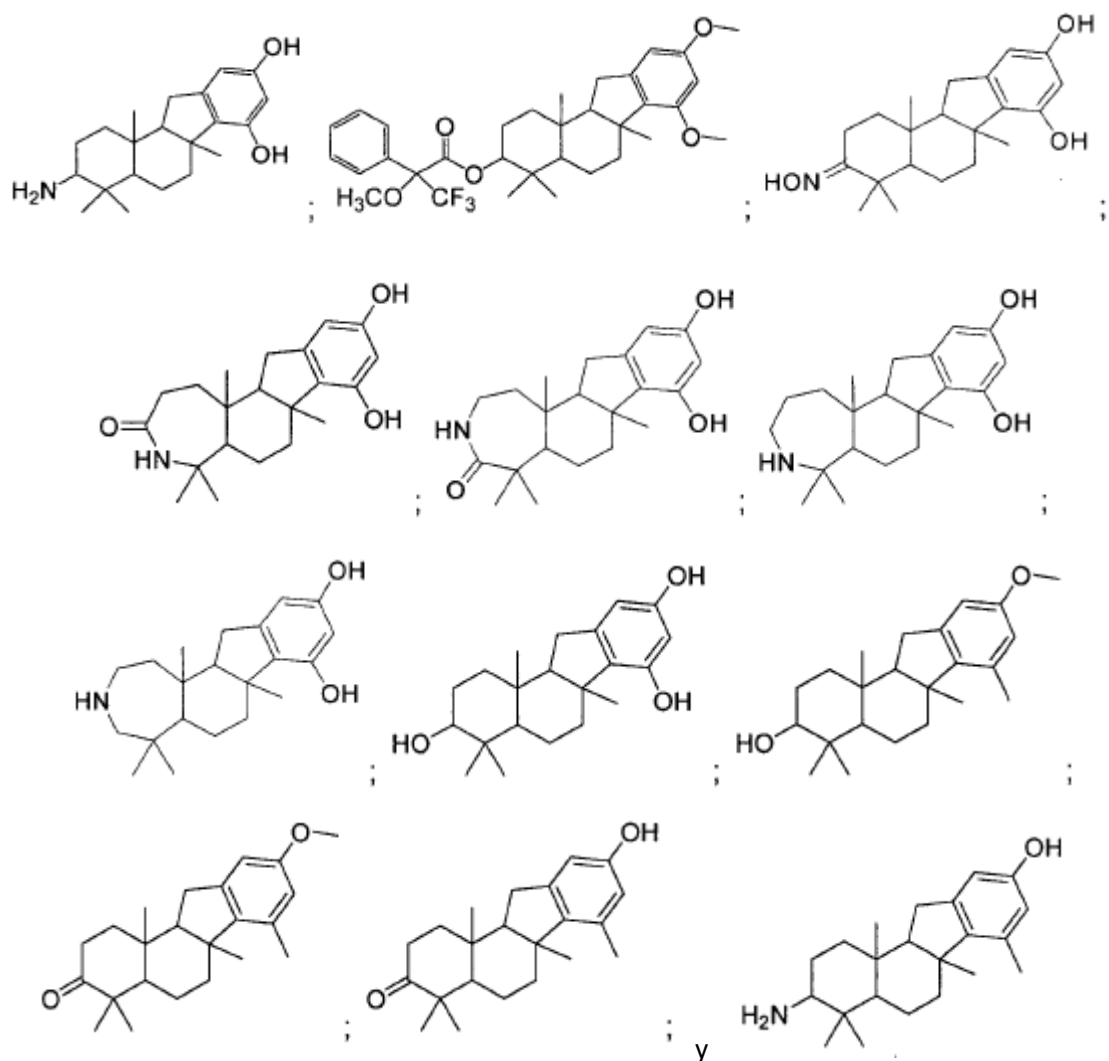


5



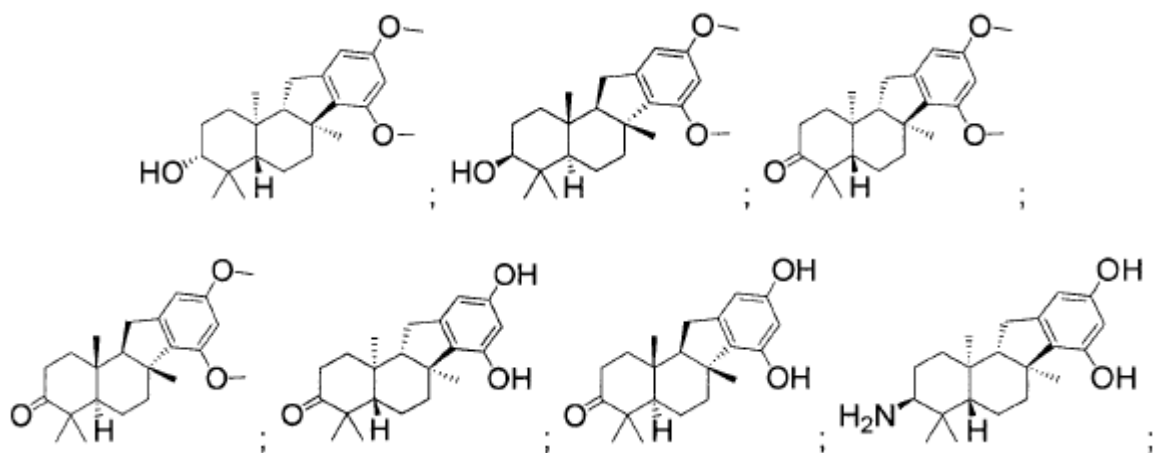
5. Un compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

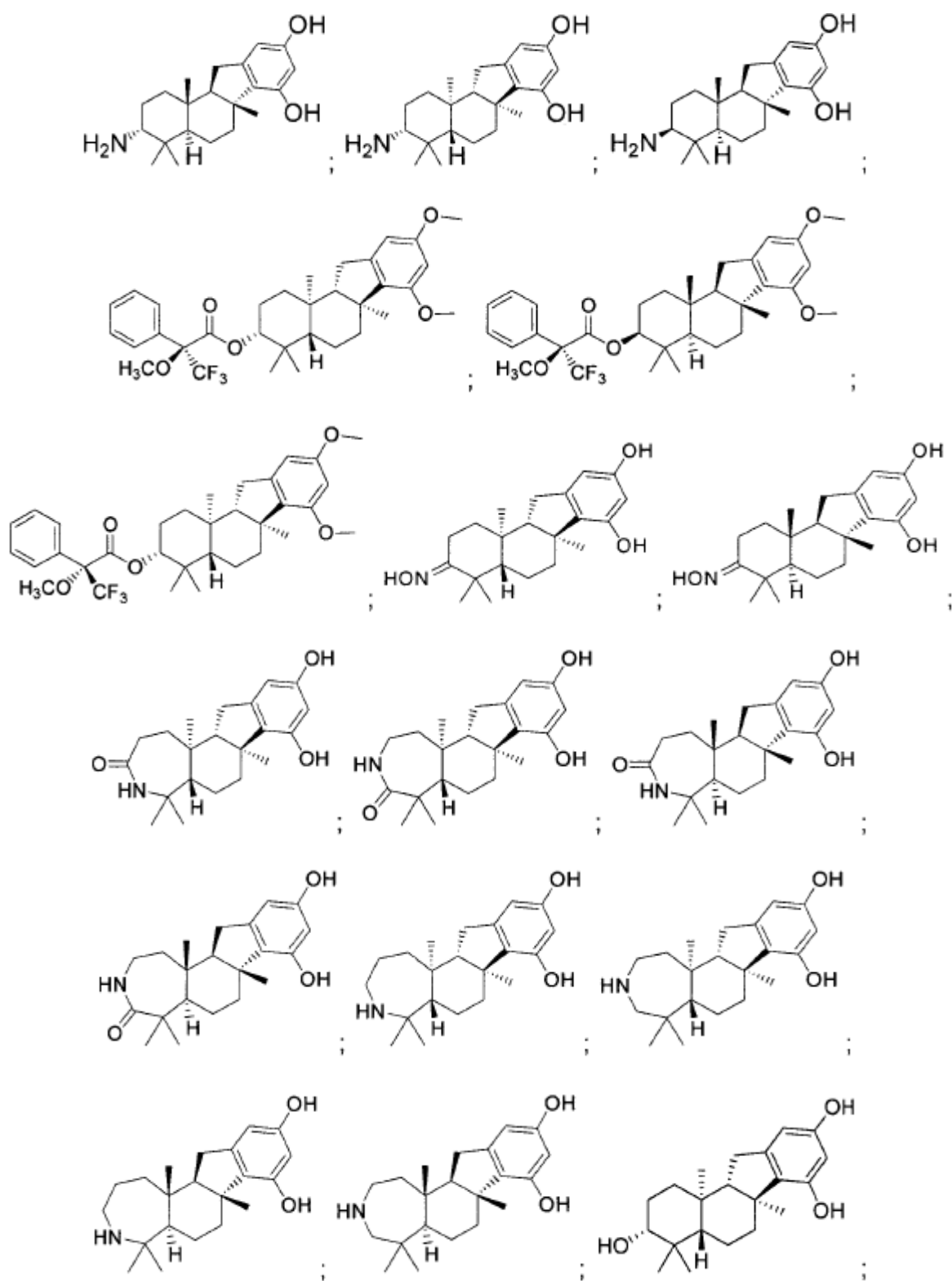


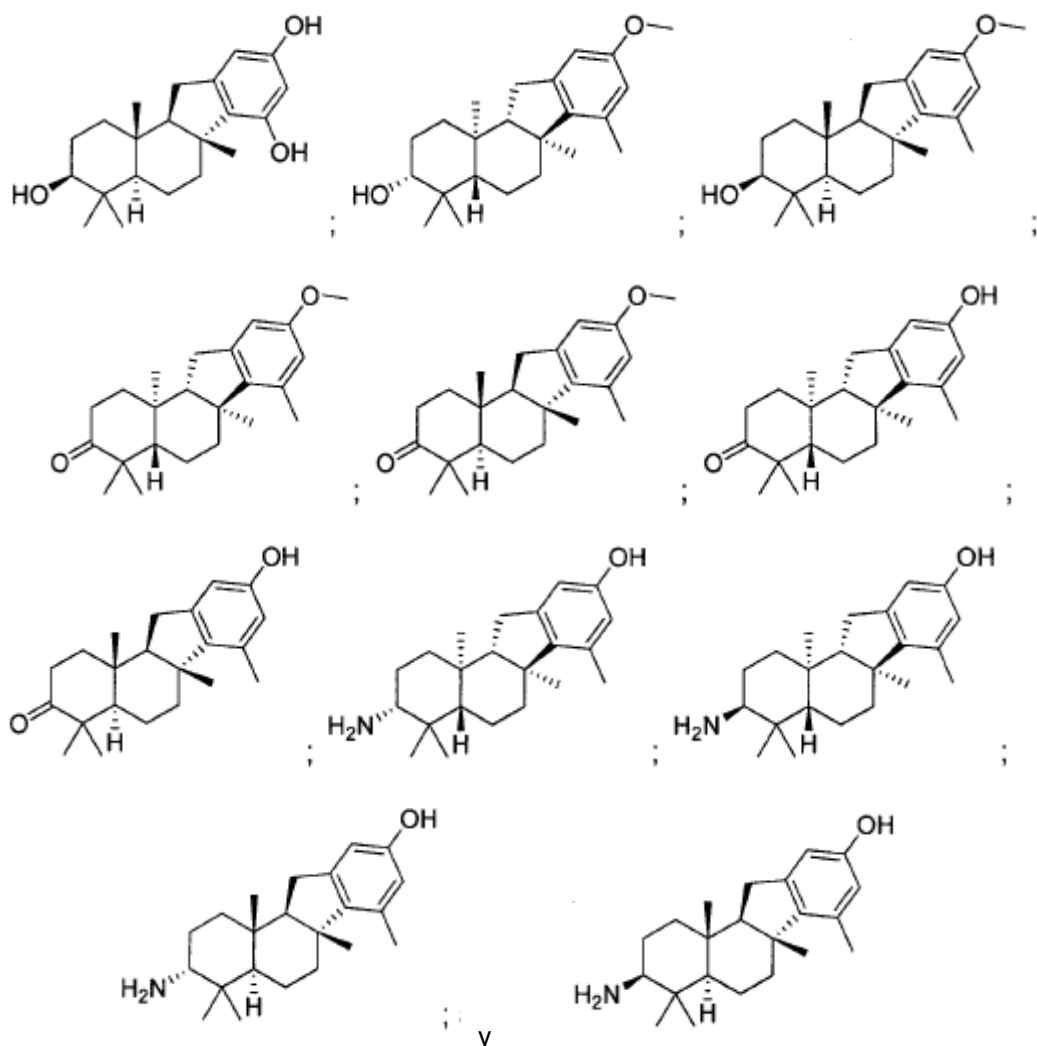


5 o una de sus sales o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

6. Un compuesto según la reivindicación 5, seleccionado del grupo que consiste en:







5 o una de sus sales o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

7. Una composición que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

8. La composición según la reivindicación 7, para uso en la modulación de SHIP1.

10 9. La composición según la reivindicación 7, para uso en el tratamiento de una enfermedad, de un trastorno o de una afección, en donde la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad, un trastorno o una afección autoinmune, una enfermedad, un trastorno o una afección inflamatoria, o una enfermedad, un trastorno o una afección neoplásica o proliferativa celular.

15 10. La composición para uso según la reivindicación 9, en donde la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad, un trastorno o una afección autoinmune, seleccionada entre fibrosis pulmonar idiopática, una enfermedad inflamatoria del intestino, artritis reumatoide, enfermedad de Still, síndrome de Sjogren, lupus eritematoso sistémico y esclerosis sistémica.

11. La composición para uso según la reivindicación 10, en donde la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad inflamatoria intestinal seleccionada de la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa.

20 12. La composición para uso según la reivindicación 9, en donde la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad, un trastorno o una afección inflamatoria, seleccionada entre rinitis alérgica, enfermedad de Alzheimer, asma, una enfermedad ocular inflamatoria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, eczema, inflamación post operatoria, esclerosis múltiple, psoriasis, una espondiloartropatía seronegativa, y vasculitis.

25 13. La composición para uso según la reivindicación 12, en donde la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad inflamatoria ocular seleccionada entre conjuntivitis alérgica, ojo seco, y uveitis, una espondiloartropatía seronegativa seleccionada de espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, y síndrome de Reiter; o vasculitis

seleccionada de granulomatosis de Wegener, poliarteritis nudosa, vasculitis leucocitoclástica, síndrome de Churg-Strauss, vasculitis crioglobulinémica, y arteritis de células gigantes.

14. La composición para uso según la reivindicación 9, en donde la enfermedad, el trastorno o la afección es una enfermedad, un trastorno o una afección neoplásica o proliferativa celular seleccionada de leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia basófila, linfoma cutáneo de células T, Síndrome de Sezary, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, síndromes hipereosinofílicos, mastocitosis y trombocitemia

15. Un método para la preparación de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, comprendiendo el método la etapa de ciclación de un epóxido de la estructura C para obtener un compuesto de la estructura (IV-3):

