

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 713 181**

51 Int. Cl.:

C07C 45/61 (2006.01)

C07D 307/20 (2006.01)

C07C 49/753 (2006.01)

C07D 307/33 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.02.2014 PCT/US2014/017284**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.08.2014 WO14130618**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2014 E 14754902 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.01.2019 EP 2958883**

54 Título: **Composiciones de ciclohexenona y proceso para hacerla**

30 Prioridad:

20.02.2013 US 201361767212 P

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

20.05.2019

73 Titular/es:

**GOLDEN BIOTECHNOLOGY CORPORATION
(100.0%)**

**101 Hudson Street, Suite 2100
Jersey City, NJ 07302, US**

72 Inventor/es:

**LIU, SHENG-YUNG;
WEN, WU-CHE;
CHEN, CHIH-MING y
CHENG, HSIU-YI**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 713 181 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).

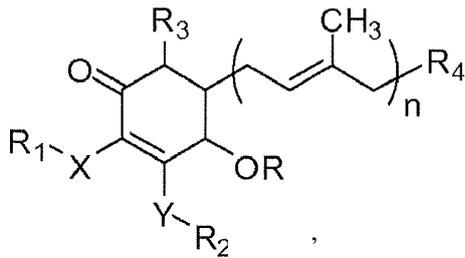
DESCRIPCIÓN

Composiciones de ciclohexenona y proceso para hacerla

Antecedentes de la invención

La presente descripción se refiere a compuestos de ciclohexenona como se definen en la reivindicación.

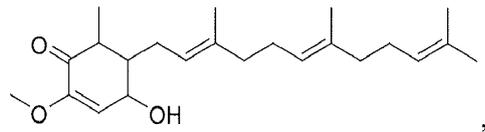
5 El documento WO2012170720 describe compuestos de la siguiente fórmula general para el tratamiento del cáncer cerebral:



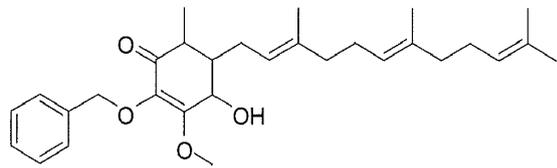
en particular el compuesto 1 como se muestra a continuación.

Sumario de la invención

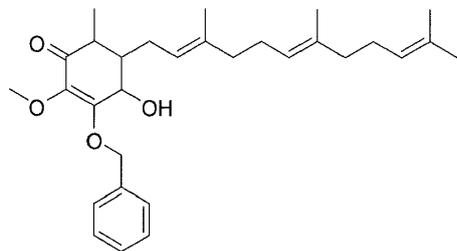
10 La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula



o



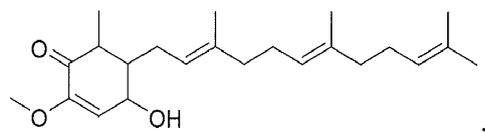
o



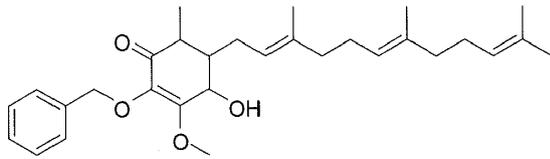
15

Descripción detallada del invento

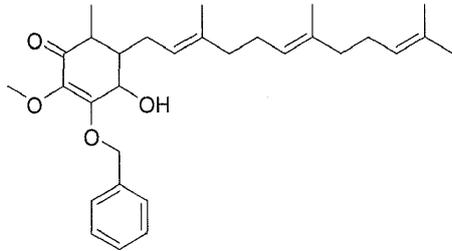
La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula



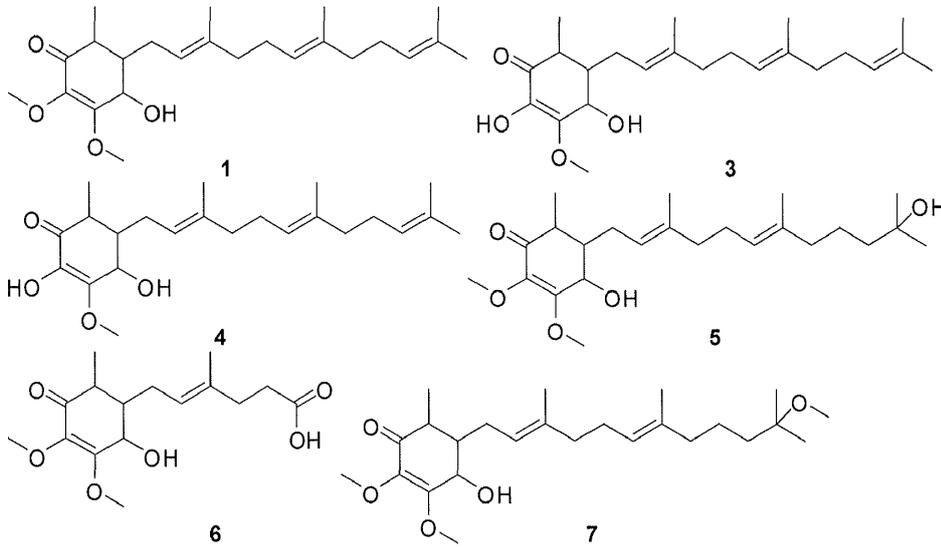
o



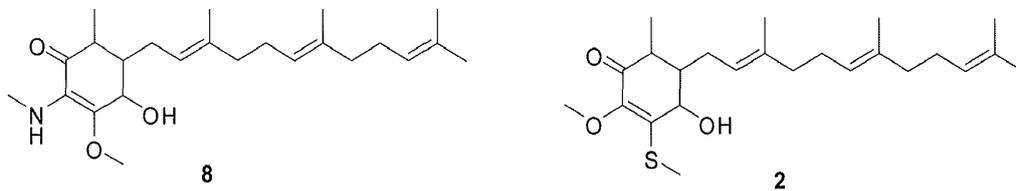
o

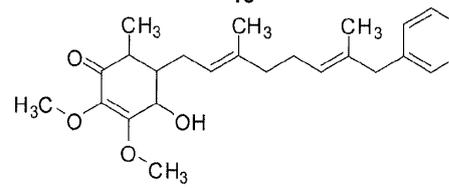
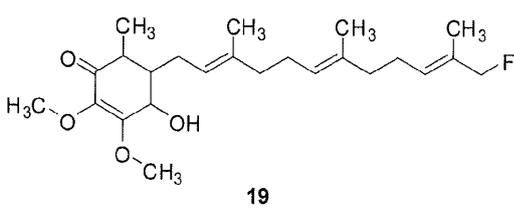
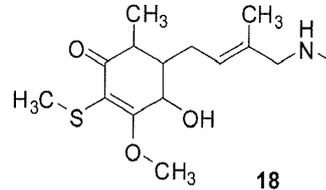
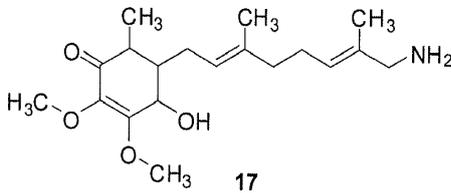
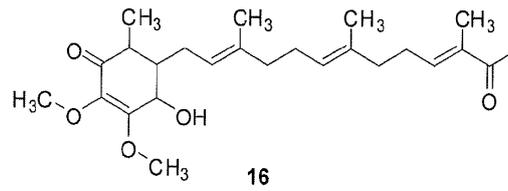
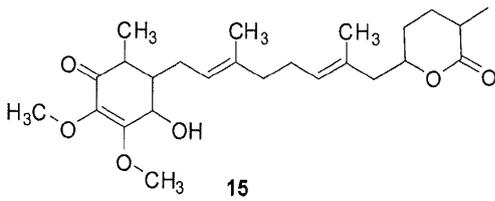
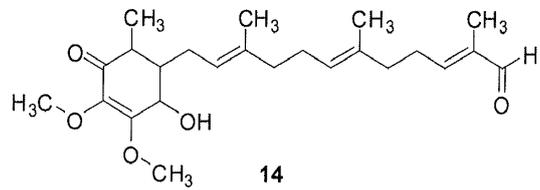
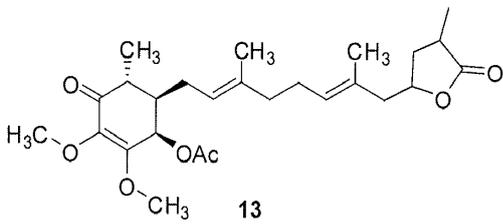
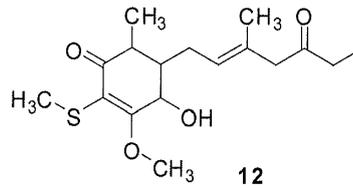
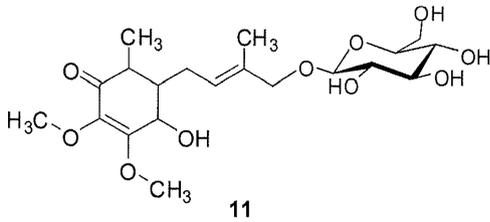
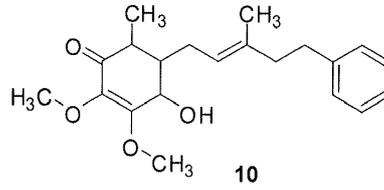
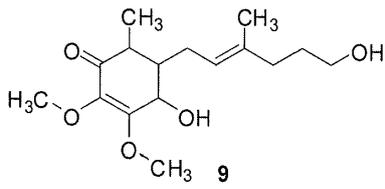


5 Los compuestos de ciclohexenona pueden aislarse a partir de los extractos de *Antrodia camphorata*. Por ejemplo, los Compuestos 1 y 3 a 7 se aíslan de extractos en disolventes orgánicos.

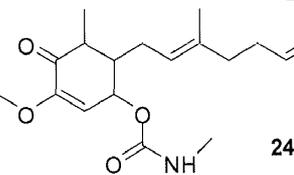
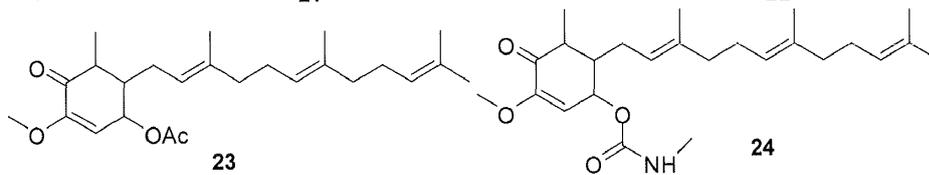
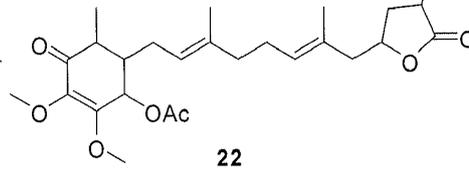
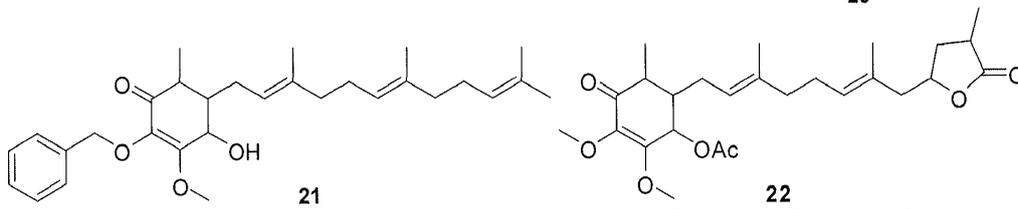


10 Ciertos compuestos de ciclohexenona pueden prepararse sintéticamente. Los siguientes son algunos ejemplos no limitados.



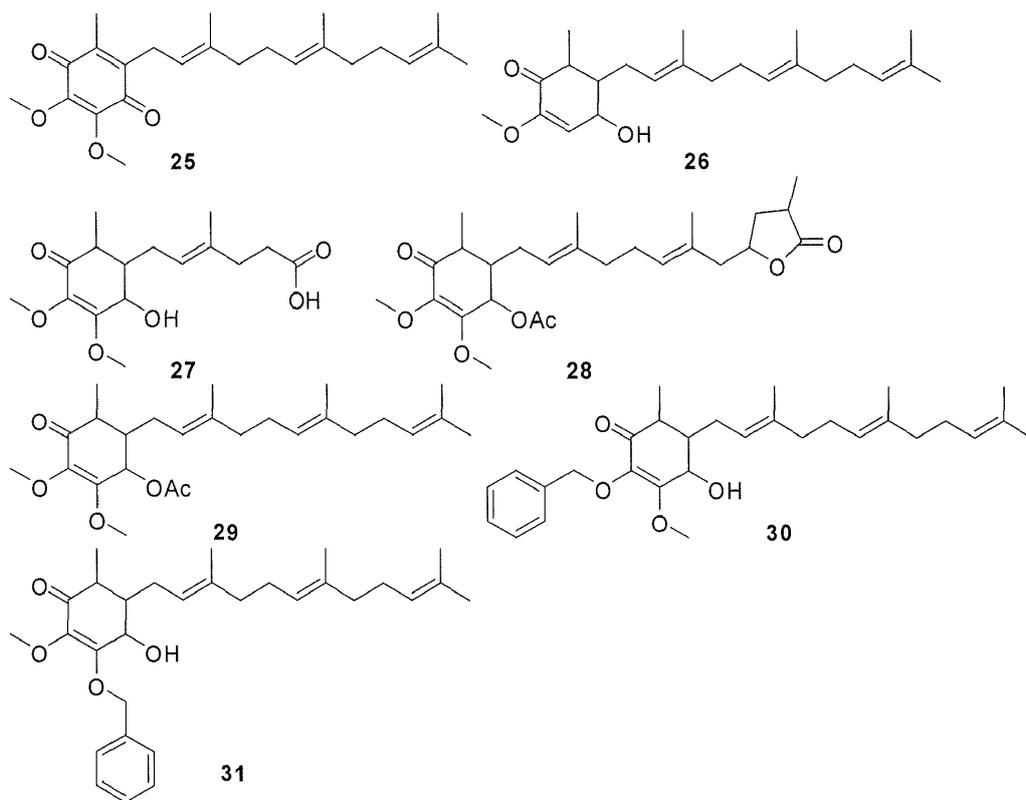


5



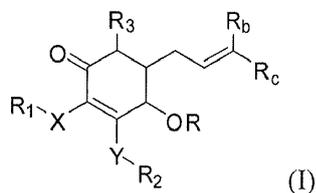
Muchos compuestos de ciclohexenona aislados a partir de los extractos de *Antrodia camphorata* proporcionan ciertos efectos biológicos. En particular, los Compuestos 25 a 31 se prepararon y se sometieron a ensayo frente al Compuesto 1 para determinar sus propiedades biológicas.

10

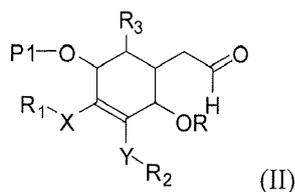


- 5 En ciertas realizaciones, el compuesto como se define en la reivindicación se aísla a partir de los extractos en disolventes orgánicos de *Antrodia camphorata*. En algunas realizaciones, el disolvente orgánico se selecciona entre alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, propanol, o similares), ésteres (por ejemplo, acetato de metilo, acetato de etilo, o similares), alcanos (por ejemplo, pentano, hexano, o similares), alcanos halogenados (por ejemplo, clorometano, cloroetano, cloroformo, cloruro de metileno, y similares), y similares. En ciertas realizaciones, el disolvente orgánico es alcohol. En ciertas realizaciones, el alcohol es etanol. En algunas realizaciones, el compuesto como se define en la reivindicación se aísla a partir de los extractos acuosos de *Antrodia camphorata*. En algunas realizaciones, el compuesto como se define en la reivindicación se prepara sintéticamente por el método descrito en el presente documento. En otras realizaciones, el compuesto como se define en la reivindicación se prepara mediante otros métodos fácilmente disponibles en la técnica, como a través de métodos sintéticos o semisintéticos.
- 10
- 15 Debido al alto coste para obtener compuestos de ciclohexenona a partir de *Antrodia camphorata* mediante purificación, y/o para preparar análogos deseados para ensayos clínicos adicionales, los procesos sintéticos para la preparación de compuestos de ciclohexenona se describen en el presente documento.

En general, un compuesto de fórmula I:



- 20 se puede preparar mediante un proceso que comprende una etapa de reacción de un compuesto de fórmula (II),



con un compuesto de fórmula (III), $\text{Ph}_3\text{PCHR}_b\text{R}_c\text{L}$ (III) en presencia de una base, en donde L es un grupo saliente, P1 es un grupo protector hidroxilo; cada uno de X e Y es independientemente un enlace, oxígeno, NR_5 o azufre;

R es H, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, C(=O)SR₅, C(=S)R₅, o C(=S)NR₅R₆;

cada uno de R₁, R₂ y R₃ es independientemente H, o un alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido;

cada uno de R_b y R_c es independientemente H, alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido con (CH₂CH=C(CH₃))(CH₂)_m-R₄, en donde

5 R₄ es hidrógeno, NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, halógeno, lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, arilo, glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 miembros, el alquilo C₁-C₈, el alquenilo C₂-C₈, el alquinilo C₂-C₈, el arilo y el glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre NR₅R₆, OR₅, OC(=O)R₇, C(=O)OR₅, C(=O)R₅, C(=O)NR₅R₆, alquilo C₁-C₈, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₈ y haloalquilo C₁-C₈;

10 cada uno de R₅ y R₆ es independientemente H o alquilo C₁-C₈;

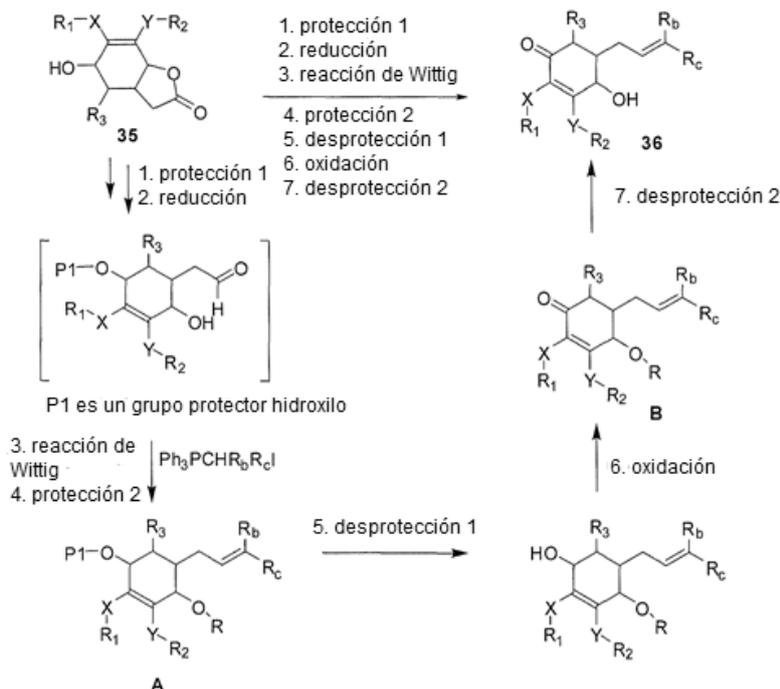
R₇ es un alquilo C₁-C₈, OR₅ o NR₅R₆;

m = 0-11. R puede ser un grupo protector hidroxilo como un grupo protector sililo, y

otros grupos protectores adecuados iguales o diferentes a P1.

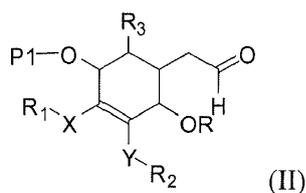
15 La reacción entre un compuesto de fórmula (II) y un compuesto de fórmula (III) se conoce como reacción de Wittig. Como los aldehídos, en general, no son químicamente estables, los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar in situ. El Esquema 1 proporciona una ruta ejemplar no limitada para preparar un compuesto de fórmula (I). La protección del grupo hidroxilo libre del compuesto 35 va seguida por la reducción del anillo lactona para obtener el compuesto aldehído de fórmula (II), que después experimenta la reacción de Wittig con Ph₃PCHR_bR_c para preparar el intermedio A. Después de la desprotección y oxidación, se prepara el compuesto B (que es un compuesto de fórmula (I)). EL

20 Compuesto 36 donde R es H se puede preparar fácilmente por reacción de desprotección.

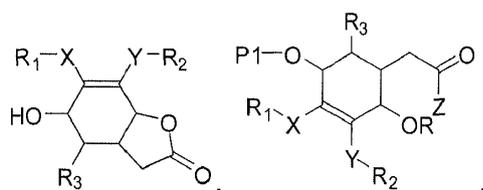


Esquema 1. Esquema de síntesis ejemplar para preparar un compuesto de fórmula (I)

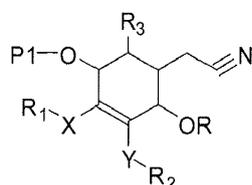
Un aldehído se puede preparar a partir de la reducción de acilsilanos, ácidos carboxílicos, haluros de ácido, anhídrido, ésteres, lactonas, amidas, nitrilos o similares. En algunos casos, se puede preparar un aldehído a partir de la oxidación de un grupo hidroxilo libre. Un experto en la técnica puede considerar fácilmente otras reacciones adecuadas para preparar un compuesto de fórmula (II). Un compuesto de fórmula (II),



se puede preparar a partir de la reducción de un compuesto que tiene la estructura de



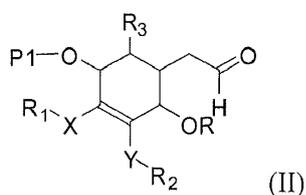
o



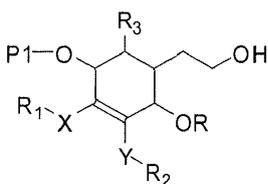
5

en donde Z es halógeno, $OR_5OC(=O)R_7$, o NR_5R_6 .

Un compuesto de fórmula (II),



se puede preparar a partir de la oxidación de un compuesto que tiene la estructura de



10

R puede ser cualquier grupo protector hidroxilo adecuado que pueda superar las condiciones de la reacción de Wittig. Por ejemplo, R es $C(=O)OR_5$, $C(=O)R_5$, $C(=O)NR_5R_6$, $C(=O)SR_5$, $C(=S)R_5$, $C(=S)NR_5R_6$, o similar.

Dicha base puede ser una base que puede formar un iluro a partir de un compuesto de fórmula (III), por ejemplo, n-butil litio (n-BuLi), o similares.

15

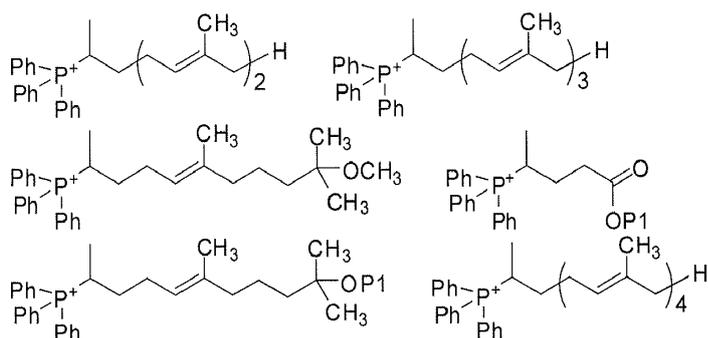
Cada uno de R_1 , R_2 y R_3 puede ser independientemente H, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo opcionalmente sustituido con un arilo o un heteroarilo. Cada uno de R_1 , R_2 y R_3 puede ser independientemente H, o metilo.

20

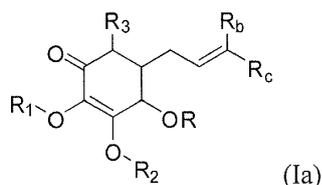
La reacción de Wittig proporcionada en el presente documento es aplicable a muchos precursores de unidades de isopreno. Por ejemplo, la reacción es aplicable cuando R_b es CH_3 y R_c es CH_2 sustituido con $(CH_2CH=C(CH_3)(CH_2))_m$ - R_4 , en donde R_4 es hidrógeno NR_5R_6 , OR_5 , $OC(=O)R_7$, $C(=O)OR_5$, $C(=O)R_5$, $C(=O)NR_5R_6$, halógeno, lactona de 5 o 6 miembros, alquilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , arilo y glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre NR_5R_6 , OR_5 , $OC(=O)R_7$, $C(=O)OR_5$, $C(=O)R_5$, $C(=O)NR_5R_6$, alquilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , cicloalquilo C_3-C_8 y haloalquilo C_1-C_8 ; cada uno de R_5 y R_6 es independientemente H o alquilo C_1-C_8 ; y R_7 es un alquilo C_1-C_8 , OR_5 o NR_5R_6 .

25

Por ejemplo, sin limitación, un experto en la técnica puede utilizar los siguientes precursores de isopreno en los que P1 es un grupo protector hidroxilo.

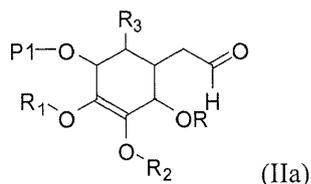


Un compuesto de fórmula (Ia):



5

puede prepararse mediante un proceso que comprende una etapa de reacción de un compuesto de fórmula IIa,



con un compuesto de fórmula (III), $\text{Ph}_3\text{PCHR}_b\text{R}_c\text{L}$ (III) en presencia de una base, en donde

en donde L es un grupo saliente, P1 es un grupo protector hidroxilo;

10 R es H, $\text{C}(=\text{O})\text{OR}_5$, $\text{C}(=\text{O})\text{R}_5$, $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$, $\text{C}(=\text{O})\text{SR}_5$, $\text{C}(=\text{S})\text{R}_5$, o $\text{C}(=\text{S})\text{NR}_5\text{R}_6$;

cada uno de R_1 , R_2 y R_3 es independientemente H, o un alquilo $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ opcionalmente sustituido;

cada uno de R_b y R_c es independientemente hidrógeno, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_{12}$, opcionalmente sustituido con $(\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2))_m\text{-R}_4$ en donde

15 R_4 es NR_5R_6 , OR_5 , $\text{OC}(=\text{O})\text{R}_7$, $\text{C}(=\text{O})\text{OR}_5$, $\text{C}(=\text{O})\text{R}_5$, $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$, halógeno, lactona de 5 o 6 miembros, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alquenilo $\text{C}_2\text{-C}_8$, alquinilo $\text{C}_2\text{-C}_8$, arilo, glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 miembros, el alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, el alquenilo $\text{C}_2\text{-C}_8$, el alquinilo $\text{C}_2\text{-C}_8$, el arilo y el glucosilo, en donde la lactona de 5 o 6 miembros, el alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, el alquenilo $\text{C}_2\text{-C}_8$, el alquinilo $\text{C}_2\text{-C}_8$, el arilo y el glucosilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados entre NR_5R_6 , OR_5 , $\text{OC}(=\text{O})\text{R}_7$, $\text{C}(=\text{O})\text{OR}_5$, $\text{C}(=\text{O})\text{R}_5$, $\text{C}(=\text{O})\text{NR}_5\text{R}_6$, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alquenilo $\text{C}_2\text{-C}_8$, alquinilo $\text{C}_2\text{-C}_8$, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_8$ y haloalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$;

20 cada uno de R_5 y R_6 es independientemente H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$;

R_7 es un alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, OR_5 o NR_5R_6 ;

$m = 0\text{-}11$.

L puede ser un grupo saliente que experimenta una reacción tanto SN_1 , SN_2 como S_{Ni} en condiciones adecuadas. Por ejemplo, L es un halógeno como Cl, Br o I. En algunos casos, L es un grupo saliente derivado de hidroxilo, como un tosilato o metilato. Un experto en la técnica puede utilizar otros grupos salientes adecuados siguiendo el procedimiento conocido fácilmente disponible.

25

Formación de enlaces covalentes por reacción de un electrófilo con un nucleófilo

Los compuestos descritos en el presente documento se modifican utilizando varios electrófilos o nucleófilos para formar nuevos grupos funcionales o sustituyentes. La Tabla 1 titulada "Ejemplos de enlaces covalentes y precursores de los mismos" enumera ejemplos seleccionados, no limitantes, de enlaces covalentes y grupos funcionales precursores que se utilizan para preparar los compuestos modificados. Los grupos funcionales precursores se muestran como grupos electrófilos y grupos nucleófilos.

30

ES 2 713 181 T3

Tabla 1: Ejemplos de enlaces covalentes y precursores de los mismos

Producto de enlace covalente	Electrófilo	Nucleófilo
Carboxamidas	ésteres activados	aminas/anilinas
Carboxamidas	acil azidas	aminas/anilinas
Carboxamidas	haluros de acilo	aminas/anilinas
Ésteres	haluros de acilo	alcoholes/fenoles
Ésteres	acil nitrilos	alcoholes/fenoles
Carboxamidas	acil nitrilos	aminas/anilinas
Iminas	aldehídos	aminas/anilinas
Hidrazonas	aldehídos o cetonas	Hidracinas
Oximas	aldehídos o cetonas	Hidroxilaminas
Alquil aminas	haluros de alquilo	aminas/anilinas
Ésteres	haluros de alquilo	ácidos carboxílicos
Tioéteres	haluros de alquilo	Tioles
Éteres	haluros de alquilo	alcoholes/fenoles
Tioéteres	alquil sulfonatos	Tioles
Ésteres	alquil sulfonatos	ácidos carboxílicos
Éteres	alquil sulfonatos	alcoholes/fenoles
Ésteres	Anhídridos	alcoholes/fenoles
Carboxamidas	Anhídridos	aminas/anilinas
Tiofenoles	haluros de arilo	Tioles
Aril aminas	haluros de arilo	Aminas
Tioéteres	Azindinas	Tioles
Ésteres de boronato	Boronatos	Glicoles
Carboxamidas	ácidos carboxílicos	aminas/anilinas
Ésteres	ácidos carboxílicos	Alcoholes
hidracinas	Hidracidas	ácidos carboxílicos
<i>N</i> -acilureas o anhídridos	carbodiimidas	ácidos carboxílicos
Ésteres	diazoalcanos	ácidos carboxílicos
Tioéteres	Epóxidos	Tioles

Tioéteres	haloacetamidas	Tioles
Ammotriazinas	halotriazinas	aminas/anilinas
Éteres de triazinilo	halotriazinas	alcoholes/fenoles
Amidinas	ésteres imido	aminas/anilinas
Ureas	Isocianatos	aminas/anilinas
Uretanos	Isocianatos	alcoholes/fenoles
Tioureas	isotiocianatos	aminas/anilinas
Tioéteres	Maleimidias	Tioles
Ésteres de fosfito	fosforamiditas	Alcoholes
Éteres de sililo	haluros de sililo	Alcoholes
Alquil aminas	ésteres de sulfonato	aminas/anilinas
Tioéteres	ésteres de sulfonato	Tioles
Ésteres	ésteres de sulfonato	ácidos carboxílicos
Éteres	ésteres de sulfonato	Alcoholes
Sulfonamidas	haluros de sulfonilo	aminas/anilinas
Ésteres de sulfonato	haluros de sulfonilo	fenoles/alcoholes

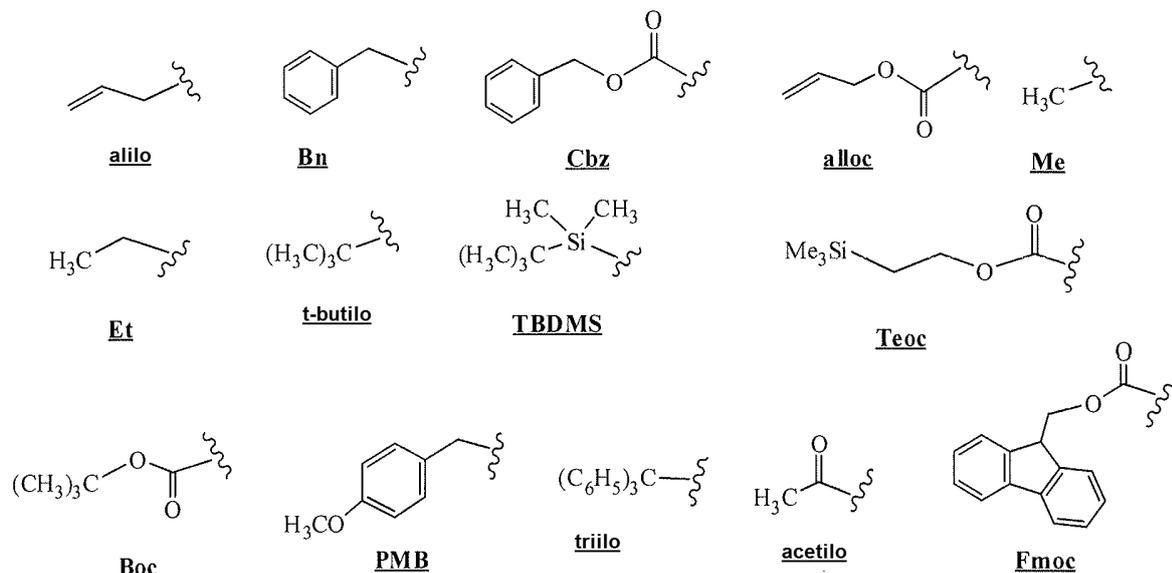
Uso de grupos protectores

5 En las reacciones descritas, en ciertas realizaciones es necesario proteger grupos funcionales reactivos, por ejemplo grupos hidroxilo, amino, tiol o carboxi, cuando se deseen en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Los grupos protectores se utilizan para bloquear algunos o todos los restos reactivos y evitar que dichos grupos participen en reacciones químicas hasta que se elimine el grupo protector. Cada grupo protector se puede eliminar por diferentes medios. Los grupos protectores que se escinden en condiciones de reacción totalmente dispares cumplen con el requisito de eliminación diferencial. Los grupos protectores se pueden eliminar mediante ácido, base y/o hidrogenolisis. Grupos como tritilo, dimetoxitritilo, acetal y t-butildimetilsililo son lábiles frente a ácidos y se pueden usar para proteger restos reactivos carboxi e hidroxilo en presencia de grupos amino protegidos con grupos Cbz, que se pueden eliminar mediante hidrogenolisis y/o grupos Fmoc, que son lábiles frente a bases. Los restos reactivos de ácido carboxílico y de hidroxilo se pueden bloquear con grupos lábiles frente a bases como, pero no limitado a, metilo, etilo y acetilo, en presencia de aminas bloqueadas con grupos lábiles frente a ácidos, como carbamato de t-butilo o con carbamatos que son estables tanto frente a ácidos como a bases pero se eliminan hidrolíticamente.

15 Los restos reactivos de ácido carboxílico y de hidroxilo pueden bloquearse con grupos protectores que se eliminan hidrolíticamente, como el grupo bencilo, mientras que los grupos amino capaces de enlazarse al hidrógeno con los ácidos se bloquean con grupos lábiles frente a bases como Fmoc. Los restos reactivos de ácido carboxílico pueden protegerse mediante la conversión a compuestos éster simples, como se ejemplifica en el presente documento, o pueden bloquearse con grupos protectores que se eliminan por oxidación, como el 2,4-dimetoxibencilo, mientras que los grupos amino coexistentes se bloquean con carbamatos de sililo lábiles frente al flúor.

25 Los grupos bloqueadores alilo son útiles en presencia de grupos protectores de ácido y base ya que los primeros son estables y, opcionalmente, se eliminan posteriormente mediante catalizadores de metal o ácido pi. Por ejemplo, un ácido carboxílico bloqueado con alilo se desprotege opcionalmente con una reacción catalizada con Pd(0) en presencia de grupos protectores de carbamato de t-butilo lábil frente a ácido o acetato de amina lábil frente a base. Otra forma más de grupo protector es una resina a la que se une un compuesto o intermedio. Mientras el residuo esté unido a la resina, ese grupo funcional se bloquea y no puede reaccionar. Una vez liberado de la resina, el grupo funcional está disponible para reaccionar.

Normalmente, los grupos de bloqueo/protectores son, solo a modo de ejemplo:



Otros grupos protectores, más una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación se describen en Greene y Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª Edición, John Wiley & Sons, Nueva York, NY, 1999, y Kocienski, *Protective Groups*, Thieme Verlag, Nueva York, NY, 1994.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una formulación de un compuesto que no causa una irritación significativa a un organismo al que se administra y no anula la actividad biológica y las propiedades del compuesto. Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden obtener haciendo reaccionar un compuesto proporcionado en el presente documento con ácidos. Las sales farmacéuticamente aceptables se obtienen también haciendo reaccionar un compuesto proporcionado en el presente documento con una base para formar una sal.

Los compuestos descritos en el presente documento se pueden formar como, y/o usarse como sales farmacéuticamente aceptables. El tipo de sales farmacéuticamente aceptables, incluye (1) sales de adición de ácido, formadas al hacer reaccionar la forma de base libre del compuesto con: ácido inorgánico, como, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metafosfórico, o con un ácido orgánico, como, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido trifluoroacético, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido toluensulfónico, ácido 2-naftalensulfónico, ácido 4-metilbicyclo-[2.2.2]oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 4,4'-metilénbis-(3-hidroxi-2-eno-1-carboxílico), ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido laurilsulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico, ácido butírico, ácido fenilacético, ácido fenilbutírico, ácido valproico, farmacéuticamente aceptables; (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original se reemplaza por un ion metálico, por ejemplo, un ion de metal alcalino (por ejemplo, litio, sodio, potasio), un ion alcalinotérreo (por ejemplo, magnesio o calcio) o un ion de aluminio. En algunos casos, los compuestos descritos en el presente documento pueden coordinarse con una base orgánica, como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina, dicitohexilamina, tris(hidroximetil)metilamina. En otros casos, los compuestos descritos en el presente documento pueden formar sales con aminoácidos como arginina o lisina. Las bases inorgánicas aceptables utilizadas para formar sales con compuestos que incluyen un protón ácido incluyen hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio, hidróxido de sodio.

El término "grupo saliente" como se usa en el presente documento puede ser cualquier grupo que se conoce generalmente como un grupo saliente en síntesis orgánica, sin limitación, por ejemplo: halógenos como flúor, cloro, bromo y yodo, grupos alquilsulfonilo como metanosulfonilo, trifluorometanosulfonilo y etanosulfonilo, grupos arilsulfonilo como bencenosulfonilo y p-toluenosulfonilo. Los "grupos salientes" preferidos son halógenos como flúor, cloro, bromo y yodo.

Debe entenderse que una referencia a una sal farmacéuticamente aceptable incluye las formas de adición de disolvente o formas cristalinas de las mismas, particularmente solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen tanto cantidades estequiométricas como no estequiométricas de un disolvente, y pueden formarse durante el proceso de cristalización con disolventes farmacéuticamente aceptables como, por ejemplo, agua o etanol.

Los hidratos se forman cuando el disolvente es agua, o los alcoholatos se forman cuando el disolvente es alcohol. Los

solvatos de los compuestos descritos en el presente documento pueden prepararse o formarse convenientemente durante los procesos descritos en el presente documento. Además, los compuestos proporcionados en el presente documento pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las formas no solvatadas para los propósitos de los compuestos y métodos proporcionados en el presente documento.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el significado estándar que pertenece a la materia reivindicada correspondiente. En el caso de que haya una pluralidad de definiciones para los términos en el presente documento, prevalecerán las de esta sección. Cuando se hace referencia a una URL u otro identificador o dirección similar, se entiende que dichos identificadores pueden cambiar y la información particular en Internet puede aparecer y desaparecer, pero se puede encontrar información equivalente buscando en Internet. La referencia al mismo evidencia la disponibilidad y difusión pública de dicha información.

Debe entenderse que la descripción general precedente y la siguiente descripción detallada son solo ejemplares y explicativas y no son restrictivas de ningún tema reivindicado.

A menos que se indique lo contrario, se emplean métodos convencionales de espectroscopía de masas, RMN, HPLC, química de proteínas, bioquímica, técnicas de ADN recombinante y farmacología. A menos que se proporcionen definiciones específicas, se emplea la nomenclatura estándar empleada en relación con los procedimientos y técnicas de laboratorio estándar de química analítica, química orgánica sintética y química médica y farmacéutica. En ciertos casos, las técnicas estándar se utilizan para síntesis química, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación y distribución, y tratamiento de pacientes. Se pueden utilizar técnicas estándar para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos y cultivo y transformación de tejidos (por ejemplo, electroporación, lipofección). Las reacciones y las técnicas de purificación se pueden realizar, por ejemplo, utilizando kits de las especificaciones del fabricante o como se realiza comúnmente o como se describe en el presente documento.

Según se utiliza a lo largo de esta solicitud y en las reivindicaciones adjuntas, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

El término "alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo lineal, de cadena ramificada, o cíclico (en este caso, también se conocería como "cicloalquilo") que contiene de 1 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos ilustrativos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, 3- metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilhexilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo y n-decilo.

El término " alquilo C₁-C₆" como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo lineal, de cadena ramificada, o cíclico (en este caso, también se conocería como "cicloalquilo") que contiene de 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no están limitados a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, ciclobutilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, ciclopentilo y n-hexilo.

El término "tioalquilo" como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo, como se define en el presente documento, unido al resto molecular parental a través de un átomo de azufre. Los ejemplos ilustrativos de tioalquilo incluyen, pero no se limitan a, metiltio, etiltio, butiltio, terc-butiltio y hexiltio.

El término "halo" o "halógeno" como se usa en el presente documento, se refiere a un -Cl, -Br, -I o -F.

Como se usa en el presente documento, el término "sulfinilo" se refiere a un -S(=O)-R, donde R se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (enlazado a través de un anillo de carbono) y heterocicloalquilo (enlazado a través de un anillo de carbono).

Como se usa en el presente documento, el término "sulfonilo" se refiere a un -S(=O)₂-R, donde R se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (enlazado a través de un anillo de carbono) y heterocicloalquilo (enlazado a través de un anillo de carbono).

El término "opcionalmente sustituido" o "sustituido" se refiere a que el grupo al que se hace referencia puede estar sustituido con uno o más grupo(s) adicional(es) individual e independientemente seleccionado entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, alquilsulfóxido, arilsulfóxido, alquilsulfona, arilsulfona, ciano, halo, nitro, haloalquilo, fluoroalquilo, fluoroalcoxi y amino, incluyendo grupos amino mono y disustituidos, y los derivados protegidos de los mismos. A modo de ejemplo, los sustituyentes opcionales pueden ser haluro, -CN, -NO₂ o L_sR_s, en donde cada L_s se selecciona independientemente entre un enlace, -O-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NH-, -NHC(=O)-, -C(=O)NH-, S(=O)₂NH-, -NHS(=O)₂-, -OC(=O)NH-, -NHC(=O)O-, o -(alquilenos C₁-C₆)-; y cada R_s se selecciona entre H, alquilo, fluoroalquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo. Los grupos protectores que pueden formar los derivados protectores de los sustituyentes anteriores se pueden encontrar en fuentes como Greene y Wuts, arriba. Los sustituyentes opcionales se pueden seleccionar entre halógeno, -CN, -NH₂, -OH, -N(CH₃)₂, alquilo, fluoroalquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, alquilsulfóxido, arilsulfóxido, alquilsulfona y arilsulfona. Un sustituyente opcional puede ser halógeno, -CN, -NH₂, -OH, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, alquilo, fluoroalquilo, heteroalquilo, alcoxi, fluoroalcoxi, -S-alquilo, o -S(=O)₂ alquilo. Un sustituyente opcional puede seleccionarse entre

halógeno, -CN, -NH₂, -OH, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, -CH₃, -CH₂CH₃, -CF₃, -OCH₃ y -OCF₃. Los grupos sustituidos pueden estar sustituidos con uno o dos de los grupos anteriores. Los grupos sustituidos pueden estar sustituidos con uno de los grupos anteriores. Un sustituyente opcional en un átomo de carbono alifático (átomos de carbono acíclicos o cíclicos, saturados o insaturados, excluyendo los átomos de carbono aromáticos) puede incluir oxo (=O).

- 5 El término "amina protegida" se refiere a una amina con un grupo protector eliminable que modifica la reactividad de una amina, contra una reacción indeseable durante los procedimientos sintéticos y para después eliminarse. Los ejemplos de grupos protectores de amina incluyen, pero no se limitan a, terc-butoxicarbonilo (Boc), 9-fluorenilmetilcarbonilo (Fmoc), trifenilmetil (Tr) y carbobenciloxi (Cbz). Por ejemplo, para proteger y activar el sistema de anillo de pirimidina con el resto 6-amino, se pueden utilizar bis-BOC o bis-FMOC, CBZ, alloc, Teoc, metil/etil-oxycarbonilo, bis-acetilo o N-succinilo o N-ftaloilo además de sus análogos mono-N protegidos.

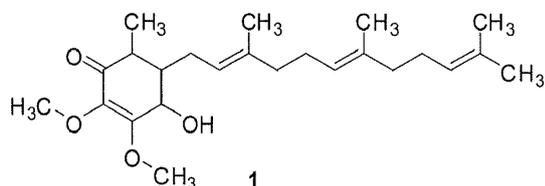
Ejemplo (solo los compuestos 26, 30 y 31 son de acuerdo con la presente invención)

Ejemplo 1. Preparación de los compuestos ejemplares de ciclohexenona a partir de *Antrodia camphorata*

- 15 Se colocaron en un matraz cien gramos de micelios, cuerpos frutales o mezcla de ambos de *Antrodia camphorata*. Se añadió una cantidad adecuada de agua y alcohol (disolución de alcohol al 70-100 %) en el matraz y se agitó a 20-25 °C durante al menos 1 hora. La disolución se filtró a través de un filtro y una membrana de 0,45 µm y el filtrado se recogió como extracto.

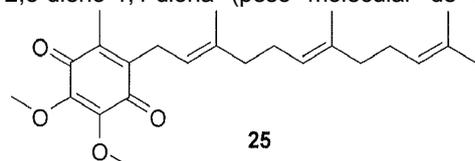
- 20 El filtrado de *Antrodia camphorata* se sometió a análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés). La separación se realizó en una columna RP18, la fase móvil consistió en metanol (A) y 0,3 % de ácido acético (B), con las condiciones de gradiente de 0 a 10 min en 95 %-20 % de B, 10 a 20 min en 20 %-10 % de B, 20 a 35 min en 10 %-10 % de B, 35 a 40 min en 10 %-95 % de B, a un caudal de 1 ml/min. El eluyente de la columna se monitorizó con un detector de UV visible.

- 25 Se recogieron y se concentraron las fracciones recogidas a los 25 a 30 min para obtener 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metil-5-(3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohex-2-enona (compuesto 1), un producto líquido marrón amarillo pálido. El análisis del compuesto 1 reveló la fórmula molecular de C₂₄H₃₈O₄, peso molecular de 390 con un punto de fusión de 48 a 52 °C. Los espectros de RMN mostraron que ¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm) = 1,51, 1,67, 1,71, 1,75, 1,94, 2,03, 2,07, 2,22, 2,25, 3,68, 4,05, 5,07 y 5,14; ¹³C-NMR (CDCl₃) δ (ppm) = 12,31, 16,1, 16,12, 17,67, 25,67, 26,44, 26,74, 27,00, 39,71, 39,81, 40,27, 43,34, 59,22, 60,59, 120,97, 123,84, 124,30, 131,32, 135,35, 135,92, 138,05, 160,45, y 197,12.

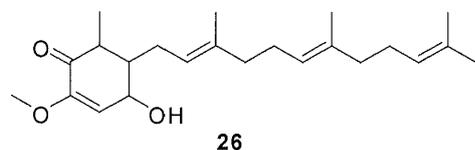


- 30 Compuesto 1 (no reivindicado): 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metil-5-(3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohex-2-enona

- 35 Se obtuvo el compuesto 27 (no reivindicado), un metabolito del compuesto 1, de muestras de orina de ratas alimentadas con compuesto 1 en el estudio en animales. El compuesto 27 se determinó como 4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metil-5-(ácido 3-metil-2-hexenoico)ciclohex-2-enona con un peso molecular de 312 (C₁₆H₂₄O₆). El compuesto 25 (no reivindicado) que se determinó como 2,3-dimetoxi-5-metil-6-((2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona (peso molecular de 386,52, C₂₄H₃₄O₄), se obtuvo a partir del proceso de purificación.

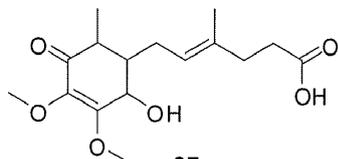


- También se preparó el compuesto 26, 4-hidroxi-2-metoxi-6-metil-5-((2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)ciclohex-2-enona, mediante un proceso de purificación con peso molecular de 350,53 (C₂₃H₃₆O₃). También se preparó el compuesto 28 (no reivindicado).



- 40 ¹H (500 MHz; CD₃OD) δ 1,16 (3H, d, J= 6,9 Hz), 1,58 (3H, s), 1,60 (3H, s), 1,62 (3H, s), 1,65 (3H, s), 1,77-1,83 (1H,

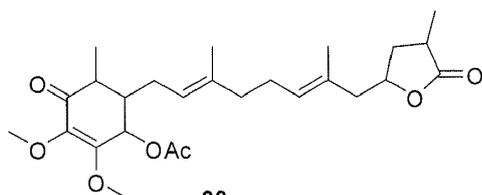
m), 1,93-2,20 (2H, m), 2,00-2,20 (7H, m), 2,23-2,31 (1H, m), 2,63-2,71 (1H, m), 3,59 (3H, s), 4,64 (1H, dd, $J = 5,5$ y $3,7$ Hz), 5,07-5,12 (2H, m), 5,21 (1H, t, $J = 7,3$ Hz), 5,91 (1H, d, $J = 5,7$ Hz); ^{13}C (125 MHz; CD_3OD) δ 13,1, 16,2, 17,8, 17,8, 25,9, 27,4, 27,8, 28,2, 40,9, 43,4, 47,5, 48,5, 49,8, 55,3, 65,0, 116,6, 123,3, 125,3, 125,4, 132,1, 136,0, 138,1, 152,0, 198,7.



5

27

$[\alpha]^{24}_{\text{D}}$ 66,9 (c 0,69, MeOH); ^1H (600 MHz; CD_3OD) δ 1,14 (3H, d, $J = 6,9$ Hz), 1,65-1,70 (1H, m), 1,67 (3H, s), 2,24 (2H, t, $J = 7,4$ Hz), 2,32 (2H, t, $J = 7,4$ Hz), 2,43 (2H, t, $J = 7,4$ Hz), 2,44-2,50 (m, 1H), 3,57 (3H, s), 4,04 (3H, s), 4,36 (1H, d, $J = 3,5$ Hz), 5,29 (1H, t, $J = 7,1$ Hz); ^{13}C (150 MHz; CD_3OD) δ 12,8, 16,2, 28,1, 33,8, 35,8, 41,4, 45,6, 58,6, 60,7, 66,8, 123,4, 137,1, 137,2, 164,9, 177,3, 199,4.



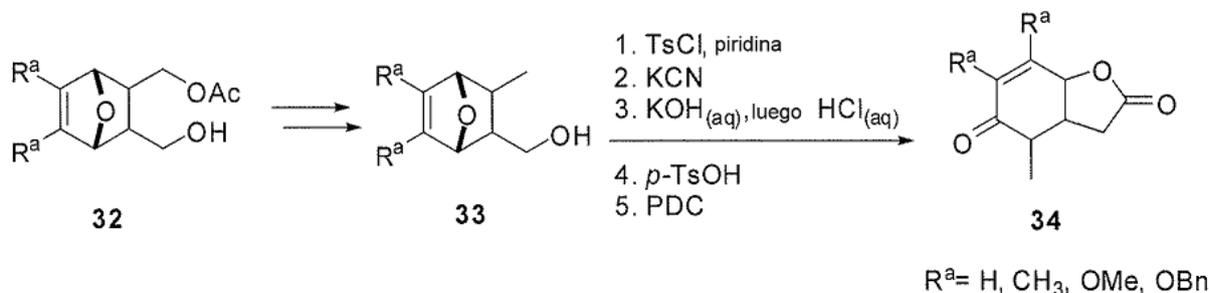
10

28

EI-MS, m/z 486 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; ^1H (600 MHz; CD_3OD) δ 1,19 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 1,24 (3H, d, $J = 7,4$ Hz), 1,60 (3H, s), 1,69 (3H, s), 1,93-2,00 (2H, m), 2,00-2,04 (1H, m), 2,05-2,08 (2H, m), 2,11 (3H, m s), 2,13-2,20 (2H, m), 2,20-2,25 (m, 1H), 2,26-2,31 (2H, m), 2,40 (1H, dd, $J = 13,8$ Hz y $7,0$ Hz), 2,50-2,56 (1H, m), 2,73-2,80 (1H, m), 3,63 (3H, s), 4,00 (3H, s), 4,69-4,74 (1H, m), 5,17 (1H, t, $J = 6,7$ Hz), 5,31 (1H, t, $J = 7,0$ Hz), 5,75 (1H, d, $J = 3,1$ Hz); ^{13}C (150 MHz; CD_3OD) δ 13,1, 16,0, 16,2, 16,5, 20,9, 27,1, 28,0, 35,0, 35,6, 40,5, 42,5, 44,2, 45,9, 60,3, 61,1, 70,4, 78,8, 122,5, 129,2, 131,7, 138,3, 138,7, 160,5, 171,4, 182,7, 199,0.

15

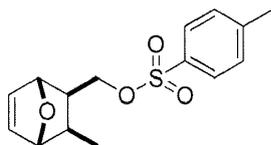
Ejemplo 2: Preparación de un núcleo ejemplar de ciclohexenona.



20

Se preparó el compuesto 33 ($\text{R}^a = \text{H}$) mediante un método conocido (por ejemplo, J. Org. Chem. 2004, 69, 8789-8795) a partir del compuesto 32. Se preparó el intermedio ejemplar 34a ($\text{R}^a = \text{H}$) siguiendo las siguientes etapas. Pueden prepararse otros intermedios de núcleo ejemplares (34b-d, $\text{R}^a = \text{CH}_3, \text{OMe}, \text{OBn}$, respectivamente, o similares) en consecuencia.

Etapas 1. Preparación del [(1R,2R,3R,4S)-3-metil-7-oxabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-il]metil 4-metil-benceno-1-sulfonato



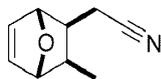
25

A una disolución del compuesto 21 (8,3 g, 59 mmol) en CH_2Cl_2 (210 ml) en baño de hielo, se añadieron Et_3N (21,0 ml, 148 mmol), 4-DMAP (1,0 g, 8,9 mmol) y TsCl (16,9 g, 88,8 mmol). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h, se lavó con H_2O (100 ml x 3) y salmuera (100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc:hexano, 1:3, R_f 0,46) para dar lugar a 14,8 g (50,2 mmol, 85 %) como un aceite incoloro. EI-MS, m/z 317 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; $[\alpha]^{24}_{\text{D}} -14,8$ (c 2,34, CHCl_3); ^1H (600 MHz; CDCl_3) δ 1,04 (3H, d, $J = 7,3$ Hz), 1,83-1,90 (1H, m), 1,91-1,97 (1H, m), 2,51 (3H, s), 4,02 (1H, t, $J = 9,8$ Hz), 4,22 (1H, dd, $J = 9,5$ y $5,4$ Hz), 4,49 (1H, s), 4,75 (1H, s), 6,32 (1H, dd, $J = 5,8$ Hz y $1,6$ Hz), 6,41 (1H, dd, $J = 5,8$ y $1,6$ Hz), 7,43 (2H, d, $J = 8,2$ Hz), 7,87 (2H, d, $J = 8,2$ Hz); ^{13}C (150 MHz; CDCl_3) δ 14,1, 21,4, 33,6, 39,2, 71,0,

30

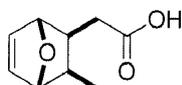
80,0, 84,5, 127,6, 129,7, 132,6, 134,4, 135,9, 144,7.

Etapla 2. Preparación del 2-[(1R,2S,3R,4S)-3-metil-7-oxabicyclo[2.2.1] hept-5-en-2-il] acetonitrilo



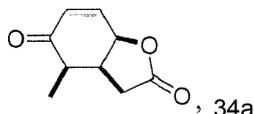
5 A una disolución de compuesto 21 (8,3 g, 59 mmol) en CH₂Cl₂ (210 ml) en baño de hielo, se añadieron Et₃N (21,0 ml, 148 mmol), 4-DMAP (1,0 g, 8,9 mmol) y TsCl (16,9 g, 88,8 mmol). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h, se lavó con H₂O (100 ml x 3) y salmuera (100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc:hexano, 1:3, *R_f* 0,46) para dar lugar a 14,8 g (50,2 mmol, 85 %) como un aceite incoloro. EI-MS, *m/z* 317 [M+Na]⁺; [α]²⁴_D-14,8 (c 2,34, CHCl₃); ¹H (600 MHz; CDCl₃) δ 1,04 (3H, d, *J* = 7,3 Hz), 1,83-1,90 (1H, m), 1,91-1,97 (1H, m), 2,51 (3H, s), 4,02 (1H, t, *J* = 9,8 Hz), 4,22 (1H, dd, *J* = 9,5 y 5,4 Hz), 4,49 (1H, s), 4,75 (1H, s), 6,32 (1H, dd, *J* = 5,8 Hz y 1,6 Hz), 6,41 (1H, dd, *J* = 5,8 y 1,6 Hz), 7,43 (2H, d, *J* = 8,2 Hz), 7,87 (2H, d, *J* = 8,2 Hz); ¹³C (150 MHz; CDCl₃) 14,1, 21,4, 33,6, 39,2, 71,0, 80,0, 84,5, 127,6, 129,7, 132,6, 134,4, 135,9, 144,7.

Etapla 3. Preparación del ácido 2-[(1R,2S,3R,4S)-3-metil-7-oxabicyclo[2.2.1] hept-5-en-2-il] acético

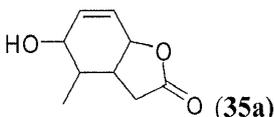


15 Se calentó el nitrilo (6,7 g, 45 mmol) preparado en la Etapa 2 a reflujo durante 4 h en una disolución de hidróxido de potasio 1N (480 ml, 480 mmol). Después de 4 h, la mezcla se concentró. El residuo se dejó enfriar en un baño de hielo, se acidificó a pH 1 con HCl concentrado HCl_(ac), y se extrajo con EtOAc (300 ml x 3). Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío para dar lugar al ácido (7,4 g, 44 mmol, 98 %). TLC *R_f* 0,63 (EtOAc:hexano, 2:1); EI-MS, *m/z* 191 [M+Na]⁺; [α]²⁴_D-7,03 (c 1,95, CHCl₃); ¹H (600 MHz; CDCl₃) δ 1,00 (3H, d, *J* = 7,3 Hz), 1,77-1,84 (1H, m), 1,98-2,04 (1H, m), 2,39 (1H, dd, *J* = 16,9 y 10,0 Hz), 2,51 (1H, dd, *J* = 16,9 y 5,4 Hz), 4,45 (1H, s), 4,65 (1H, s), 6,31 (2H, s); ¹³C (150 MHz; CDCl₃) δ 15,3, 33,5, 34,0, 35,9, 82,8, 84,8, 135,1, 135,6, 179,2.

Etapla 4. Preparación del (3aS,4R,7aR)-4-metil-2,3,3a,4,5,7a-hexahidro-1-benzofuran-2,5-diona

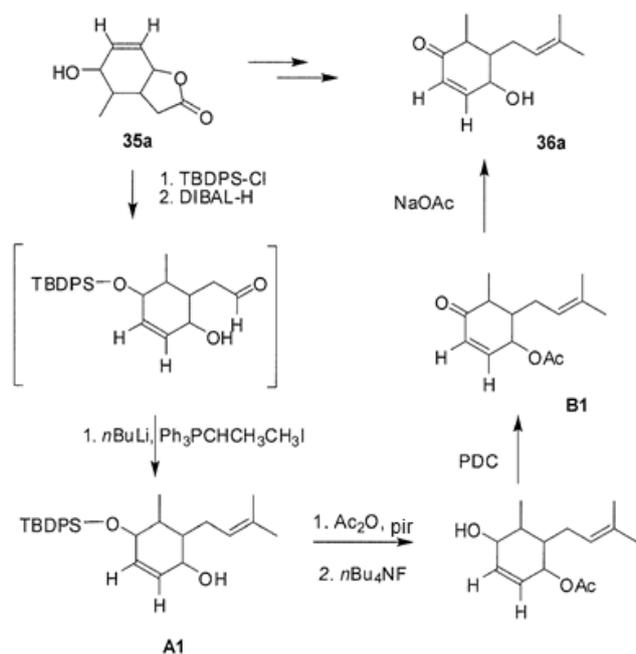


25 Se calentó una disolución de ácido (500 mg, 2,97 mmol) resultante de la Etapa 3 y *p*-TSA (57 mg, 0,30 mmol) en tolueno (20 ml) a 100 °C durante 3 h. Después de 3 h, la mezcla se concentró a vacío para producir un compuesto de hidroxil lactona 35a (450 mg); TLC *R_f* 0,46 (EtOAc:hexano, 2:1); EI-MS, *m/z* 191 [M+Na]⁺.

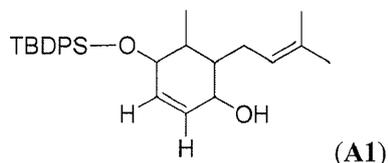


30 A una disolución bajo agitación de hidroxil lactona cruda 35a (450 mg) en CH₂Cl₂ (15 ml), se añadió PDC (2,0 g, 5,4 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se diluyó con EtOAc (30 ml) y se filtró. El residuo se concentró a vacío y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc:hexano, 1:1, TLC *R_f* 0,38) para dar lugar al compuesto 34a, 294 mg (1,77 mmol, 60 %, 2 etapas) como sólidos blancos; EI-MS, *m/z* 189 [M+Na]⁺; [α]²⁴_D-269,3 (c 2,03, CHCl₃); ¹H (600 MHz; CDCl₃) δ 1,15 (3H, d, *J* = 6,9 Hz), 2,17 (1H, dd, *J* = 17,4 y 12,7 Hz), 2,53 (1H, dd, *J* = 17,4 y 8,5 Hz), 2,78 (1H, dd, *J* = 6,7 y 5,5 Hz), 3,26-3,35 (1H, m), 5,32 (1H, dt, *J* = 7,2 y 1,9 Hz), 6,18 (1H, dd, *J* = 10,3 y 1,3 Hz), 6,68 (1H, dt, *J* = 10,3 y 1,9 Hz); ¹³C (150 MHz; CDCl₃) 8 12,9, 29,6, 41,1, 75,2, 131,1, 141,1, 174,4, 197,7.

35 Ejemplo 3: Preparación de un compuesto ejemplar 36a a partir de la lactona 35a.



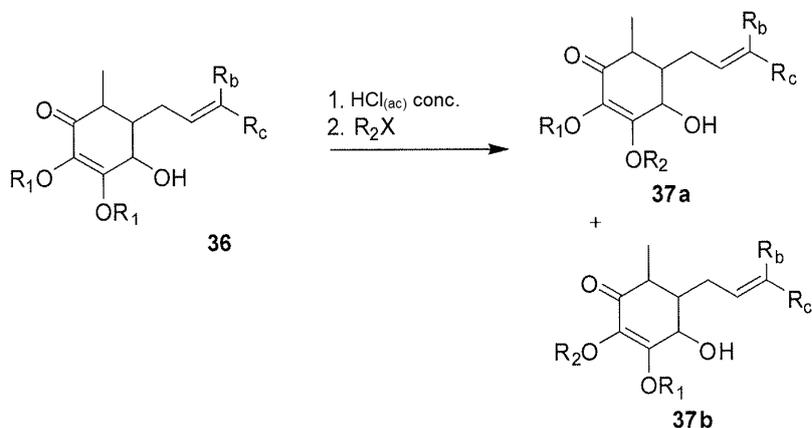
Se preparó el compuesto 36a a partir de compuesto 35a siguiendo las siguientes etapas. Primero, el grupo hidroxilo se protegió con cloruro de *t*-butildifenilsililo (TBDPSCl) (también se pueden usar otros grupos protectores hidroxilo adecuados ejemplares, no limitados, que son inertes a condiciones básicas fuertes, por ejemplo, grupos protectores de MOM, MEM, THP, o similares). Después, primero se redujo el compuesto resultante con DIBAL-H y después se hizo reaccionar con $\text{Ph}_3\text{PCH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)\text{I}$ (reacción de Wittig) en condiciones básicas (*n*-BuLi) para dar el intermedio A1. Primero se protegió el grupo hidroxilo del intermedio A1 con acetato (condición: Ac_2O , piridina) y después el grupo protector sililo TBDS se eliminó mediante *n*-Bu₄NF. Se oxidó después el grupo hidroxilo sin protección con PDC para dar lugar al compuesto B1. La desprotección del grupo acetato dio lugar al compuesto 36a. Se puede preparar una serie de compuestos 36 de manera similar.



¹H (600 MHz; CD₃Cl) δ 0,77 (3H, d, *J* = 7,3 Hz), 1,07 (9H, s), 1,65 (3H, s), 1,73 (3H, s), 1,84-1,90 (1H, m), 2,02-2,10 (1H, m), 2,21-2,28 (2H, m), 3,93 (1H, t, *J* = 4,0 Hz), 4,18 (1H, a), 5,20-5,25 (1H, m), 5,66 (1H, dd, *J* = 9,9 Hz y 4,5 Hz), 5,85 (1H, dd, *J* = 9,9 Hz y 4,0 Hz), 7,37-7,41 (4H, m), 7,42-7,46 (2H, m), 7,66-7,70 (4H, m).

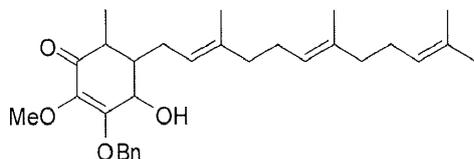
Ejemplo 4: Preparación del compuesto ejemplar 37a y 37b a partir del compuesto 36.

Se prepararon los compuestos deseados 37a y 37b por reacción con R₂X (X es un grupo saliente como halógeno o tosilato) con HCl concentrado en disolución acuosa.



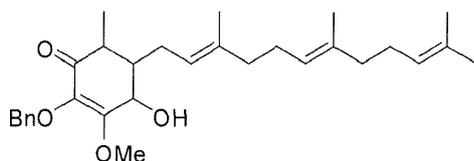
Los siguientes compuestos se prepararon en consecuencia.

Compuesto 31: 3-(benciloxi)-4-hidroxi-2-metoxi-6-metil-5-[(2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il]ciclohex-2-en-1-ona



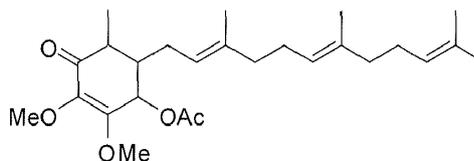
Se enfrió (4S, 5S, 6S)-4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metil-5-[(2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il]ciclohex-2-en-1-ona (10,0 g, 25,6 mmol) en MeOH 50 ml a 0 °C, se añadió HCl_(ac) concentrado (22,5 ml, 270 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de 30 minutos, la mezcla se concentró a vacío. El residuo se diluyó con EtOAc (100 ml), se lavó con una disolución saturada de NaHCO₃ (50 ml x 3) y salmuera (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc:hexano, 1:5, TLC R_f 0,26) para obtener el producto 3,0 g (6,4 mmol, 25 %); EI-MS, m/z 489 [M+Na]⁺; [α]²⁴_D+18,6 (c 2,19, CHCl₃); ¹H (500 MHz; CDCl₃) δ 1,16 (3H, d, J= 7,0 Hz), 1,59 (6H, s), 1,64 (3H, s), 1,67 (3H, s), 1,73-1,75 (1H, m), 1,94-2,00 (2H, m), 2,00-2,09 (7H, s) m), 2,21-2,24 (2H, m), 2,52-2,56 (1H, m), 3,66 (3H, s), 4,35 (1H, t, J= 3,6 Hz), 5,05-5,10 (2H, m), 5,12 (1H, t, J= 7,0 Hz), 5,28 (1H, d, J= 11,9 Hz), 5,44 (1H, d, J= 11,9 Hz), 7,34-7,39 (5H, m); ¹³C (125 MHz; CDCl₃) δ 12,4, 16,0, 16,1, 17,7, 25,7, 26,5, 26,7, 26,9, 39,7, 39,8, 40,4, 43,4, 60,4, 68,1, 73,4, 121,0, 123,9, 124,3, 127,8, 128,4, 128,6, 131,2, 135,2, 136,3, 136,8, 137,9, 159,8, 197,3.

Compuesto 30: 2-(benciloxi)-4-hidroxi-3-metoxi-6-metil-5-[(2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il]ciclohex-2-en-1-ona



6,1 g (13 mmol, 50 %); TLC R_f 0,26 (EtOAc:hexano, 1:5); EI-MS, m/z 489 [M+Na]⁺; [α]²⁴_D-8,04 (c 2,04, CHCl₃); ¹H (600 MHz; CDCl₃) δ 1,28 (3H, d, J= 7,3 Hz), 1,49 (3H, s), 1,55 (3H, s), 1,57 (3H, s), 1,65 (s, 3H), 1,67-1,77 (m, 1H), 1,90-1,99 (2H, m), 1,94-1,99 (2H, m), 1,99-2,05 (4H, m), 2,05-2,10 (1H, m), 2,21-2,23 (1H, m), 2,61-2,65 (1H, m), 3,57 (1H, m) a), 3,67 (3H, s), 4,97-5,00 (1H, m), 5,03-5,06 (2H, m), 5,19 (1H, d, J= 11,9 Hz), 5,46 (1H, d, J= 11,9 Hz), 7,32-7,36 (5H, m); ¹³C (150 MHz; CDCl₃) δ 15,9, 16,0, 17,6, 17,7, 24,0, 25,6, 26,4, 26,7, 35,4, 39,6, 39,7, 44,9, 60,5, 70,8, 73,4, 121,8, 123,9, 124,3, 127,7, 128,4, 128,6, 131,2, 133,7, 135,1, 136,5, 137,9, 165,7, 195,1.

Compuesto 29: 2,3-dimetoxi-5-metil-4-oxo-6-[(2E, 6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il] ciclohex-2-en-1-ilacetato



Se enfriaron (4S,5S,6S)-4-hidroxi-2,3-dimetoxi-6-metil-5-[(2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il]ciclohex-2-en-1-ona (500 mg, 1,38 mmol) en piridina 5 ml a 0 °C, se añadió anhídrido acético (300 μl, 3,19 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Después de 4 h, la mezcla se diluyó con EtOAc (20 ml), se lavó con HCl 1N (ac) (10 ml x 2), NaHCO₃ saturado (10 ml x 2), salmuera (20 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc:hexano, 1:3, TLC R_f 0,56) para obtener el producto 404 mg (0,934 mmol, 68 %); EI-MS, m/z 433 [M+H]⁺; ¹H (500 MHz; CDCl₃) δ 1,19 (3H, d, J= 7,0 Hz), 1,56 (3H, s), 1,59 (6H, s), 1,66 (3H, s), 1,83-1,90 (1H, m), 1,92-2,10 (10H, m), 2,08 (3H, s), 2,20-2,38 (1H, m), 2,48-2,56 (1H, m), 3,66 (3H, s), 3,98 (3H, s), 5,06-5,13 (3H, m), 5,74 (1H, d, J= 3,2 Hz).

Ejemplo 6: Determinar los efectos citotóxicos de los compuestos de ciclohexenona ejemplares 25 a 31 frente al compuesto 1.

La viabilidad celular se midió utilizando el Kit de Conteo Celular 8 (CCK-8, Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY). En este ensayo, WST-8 se reduce por deshidrogenasas en las células para producir un producto de color amarillo (formazán), que es soluble en el medio de cultivo. La cantidad de formazán generado es directamente proporcional al número de células vivas. Después del tratamiento, se añadió una disolución de CCK-8 a cada pocillo y se incubó durante 4 h. La concentración de formazán se midió con un espectrofotómetro a una longitud de onda de absorbancia de 450 nm. La viabilidad celular se expresó como un porcentaje del control correspondiente.

Para determinar si los efectos citotóxicos del Compuesto 1 se correlacionan con la presencia de mutaciones *Ras*, se utilizaron líneas celulares derivadas de cáncer de pulmón humano (A549 y H838), cáncer de hígado (HepG2 y Hep3B)

y leucemia (K562 y THP-1) con *Ras* tipo silvestre (H838, Hep3B, y K562) o *Ras* mutante (A549, HepG2, y THP-1). Se midió la viabilidad celular después de 48 h de tratamiento con el compuesto 1. Las líneas celulares y sus IC₅₀ en orden creciente fueron THP-1 (2,22 µM) < A549 (3,24 µM) < H838 (3,32 µM) < Hep3B (3,74 µM) < K562 (5,12 µM) < HepG2 (6,42 µM) (Véase Tabla 1).

- 5 A continuación, se determinaron los valores IC₅₀ para los análogos del compuesto 1 (compuestos 29, 30 y 31), un metabolito (Compuesto 27), y análogos aislados de filamentos de *A. camphorata* (Compuestos 25, 26, 28) en células H838. Los resultados indicaron que el grupo 2'-hidroxi y el grupo farnesilo del Compuesto 1 eran importantes por sus efectos citotóxicos. Además, el compuesto 31 era incluso más citotóxico que el compuesto 1. (Tabla 1)

Tabla 1. Valores IC₅₀ de compuestos ejemplares de fórmula X determinados por el ensayo de viabilidad celular CCK-8.

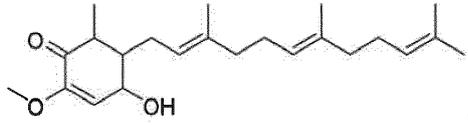
Compuesto	A549	H838	Hep3B	HepG2	K562	THP-1
1	3,24±0,35	2,96±0,05	3,74±0,35	6,42±0,08	5,12±0,83	2,22±0,03
25	-	22,56±6,45	-	-	-	-
26	-	11,34±4,17	-	-	-	-
27	-	>100	-	-	-	-
28	-	>100	-	-	-	-
29	-	>100	-	-	-	-
30	22,61±2,24	25,56±6,54	9,06±3,03	27,03±6,06	-	-
31	6,68±0,75	3,41±1,43	7,46±7,06	8,98±0,97	-	-

10

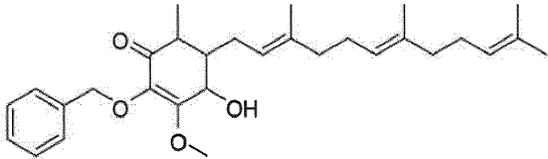
Los valores se presentaron como medias ± S.E.M.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula



o



5

o

