



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 281 692**

⑯ Int. Cl.:

C07D 493/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **03793304 .1**

⑯ Fecha de presentación : **22.08.2003**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **1506203**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **16.02.2005**

⑯ Título: **Síntesis de epotilones, sus intermediarios, sus análogos y sus usos.**

⑯ Prioridad: **23.08.2002 US 405823 P**
06.09.2002 US 408589 P
01.11.2002 US 423129 P
20.03.2003 US 456159 P
28.03.2003 US 402004
09.05.2003 US 435408
21.08.2003 US 496741 P

⑯ Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.10.2007

⑯ Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.10.2007

⑯ Titular/es:
**Sloan-Kettering Institute For Cancer Research
1275 York Avenue
New York, New York 10021, US**

⑯ Inventor/es: **Danishefsky, Samuel, J.;
Rivkin, Alexey;
Yoshimura, Fumihiko;
Gabarda Ortega, Ana Esther;
Cho, Young, Shin;
Chou, Ting-Chao y
Dong, Huajin**

⑯ Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 281 692 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

Síntesis de epotilones, sus intermediarios, sus análogos y sus usos.

5 Antecedentes de la invención

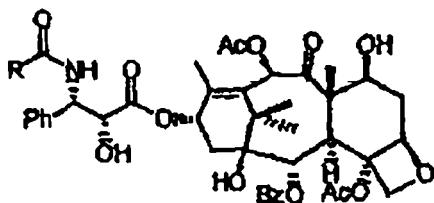
Los epotilones A y B (2a y 2b, Esquema 1) son macrólidos citotóxicos presentes naturalmente que se aislaron a partir de una micobacteria que degrada la celulosa, *Sorangium cellulosum* (Höfle *et al.* *Angew. Chem., Int. Ed Engl.* **1996**, 35, 1567 y *J. Antibiot.* **1996**, 49, 560). A pesar de sus estructuras diferentes ampliamente, los epotilones A y B comparten el mismo mecanismo de acción que el paclitaxel (Taxol®) el cual involucra la inhibición del crecimiento de células tumorales mediante la polimerización de la tubulina y la estabilización de los ensambles del microtúbulo (Bollag *et al.* *Cancer Res.* **1995**, 55, 2325). A pesar de su incuestionable valor clínico como un agente quimioterapéutico de primera línea, Taxol® está lejos de ser un fármaco ideal. Su marginal solubilidad en agua precisa del recurso de vehículos para formulación tales como Cremophores que poseen sus propios riesgos y tópicos de administración (Essayan *et al.* *J. Allergy Clin. Immunol.* **1996**, 97, 42). Por otra parte, Taxol® es vulnerable a la desactivación a través de la resistencia a múltiples fármacos (MDR) (Giannakakou *et al.* *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 17118). sin embargo, se ha demostrado que los epotilones A y B guardan una notable potencia contra las células tumorales MDR (Kowalski *et al.* *Mol. Biol. Cell.* **1995**, 6, 2137). Adicionalmente, el incremento de solubilidad en agua en comparación con el paclitaxel puede ser útil para la capacidad de formulación de los epotilones. Mientras que el compuesto presente naturalmente, el epotilone B (2b, EpoB, en el Esquema 1), es un miembro potente de la familia epotilone de productos naturales, desafortunadamente posee, al menos en ratones de xenoinjerto, un índice terapéutico estrecho de manera preocupante (Su *et al.* *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **1997**, 36, 1093; Harris *et al.* *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 8434).

25

Esquema 1

Taxoides y Epotilones

30



40

1a R = Ph, Paclitaxel (Taxol)
1b R = t-Bu, Docetaxel (Taxotere)

2a $R_1 = H, R_2 = CH_3$, Epotilone A (EpoA)
 2b $R_1 = CH_3, R_2 = CH_3$, Epotilone B (EpoB)
 2c $R_1 = H, R_2 = CH_2OH$, Epotilone C (EpoC)
 2d $R_1 = CH_3, R_2 = CH_2OH$, Epotilone F (EpoF)

45

Dado el limitado índice terapéutico del EpoB, otros análogos del epotilone, en particular los 12,13-desoxiepotilones, se investigaron por su capacidad de proporcionar un perfil terapéutico mejorado (ver, Patente U.S. No.: 6,242,469, 6,284,781, 6,300,355, 6,369,234, 6,204,388, 6,316,630).

50

Los experimentos *in vivo* conducidos sobre varios modelos de ratón demostraron que el 12,13-desoxiepotilone B (3b, dEpoB en el Esquema 2) posee potencial terapéutico contra varios tumores humanos sensibles y resistentes en xenoinjertos en ratones (Chou *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1998**, 95, 9642 y 15798).

55

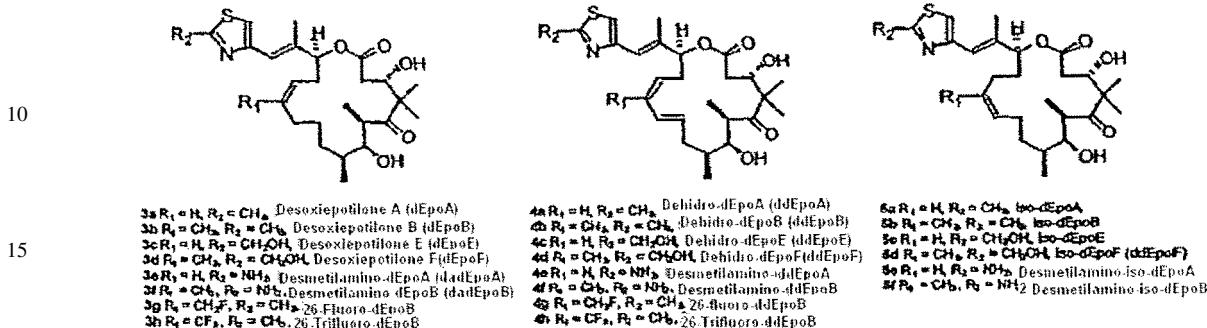
Recientemente, la superioridad terapéutica de estos desoxiepotilones sobre otros agentes anticáncer se ha demostrado concluyentemente mediante estudios comparativos minuciosos (Chou *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, *98*, 8113).

60 Debido a su impresionante perfil *in vivo*, el dEpoB se ha desarrollado en evaluaciones toxicológicas en perros, y actualmente está en pruebas en humanos como un fármaco anticáncer.

Esquema 2

Varios Análogos de los Desoxiepotilones

5



ES 2 281 692 T3

Figura 11 muestra las potencias de varios análogos del epotilone contra el crecimiento del tumor celular *in vitro* e índice terapéutico, con respecto a paclitaxel y vinblastina.

Figura 12 es una tabla que resume el efecto de dEpoB, Taxol, y 26-triF-9,10-deH-dEpoB contra el xenoinjerto MX-1 en ratones desnudos.

Figura 13 muestra el efecto terapéutico de 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y 9,10-dihidro-EpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan xenoinjertos MX-1 (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx6 & Q2Dx9, respectivamente).

Figura 14 muestra los cambios en peso corporal de los ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 del tumor de carcinoma mamario humano siguiendo el tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y 9,10-dihidro-EpoB (infusión 6 horas, Q2Dx6 & Q2Dx9, respectivamente).

Figura 15 muestra el efecto terapéutico del 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y 9,10-dihidro-EpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan xenoinjertos MX-1 (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx6 & Q2Dx9, respectivamente).

Figura 16 muestra los cambios de peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 del tumor de carcinoma mamario humano siguiendo el tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y 9,10-dihidro-EpoB (infusión i.v. 6 hora, Q2Dx6 & Q2Dx9, respectivamente).

Figura 17 muestra el efecto terapéutico del 9,10-dihidro-dEpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan xenoinjertos HCT-116 (infusión i.v., Q2Dx7).

Figura 18 muestra el efecto del 9,10-dihidro-dEpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan xenoinjertos HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión i.v., Q3Dx5).

Figura 19 muestra el efecto del 9,10-dihidro-dEpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan xenoinjertos A549/Taxol (infusión i.v. 6 horas, Q3Dx7).

Figura 20 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan el xenoinjerto A549/Taxol tratado con 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y 9,10-dihidro-dEpoB (infusión i.v. 6 horas, Q3Dx7).

Figura 21 muestra el efecto del 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y 9,10-dihidro-dEpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan los xenoinjertos A549/Taxol (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx7).

Figura 22 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan los xenoinjertos A549/Taxol tratados con 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y 9,10-dihidro-dEpoB (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx7).

Figura 23 muestra el efecto del 9,10-dihidro-EpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan los xenoinjertos de tumor en carcinoma de colon humano HCT-116 (infusión i.v. 6 horas).

Figura 24 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan el xenoinjerto de tumor HCT-116 carcinoma de colon humano siguiendo el tratamiento con el 9,10-dihidro-EpoB (infusión i.v. 6 horas).

Figura 25 muestra la formación del microtúbulo a partir de tubulina en la presencia de varios análogos del epotilone a 37°C.

Figura 26 muestra la formación del microtúbulo a partir de la tubulina en la presencia de varios análogos de epotilone a 4°C.

Figura 27 muestra el efecto del 9,10-dihidro-dEpoB y dEpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan los xenoinjertos HCT-116 (infusión i.v., Q2Dx6).

Figura 28 muestra cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan los xenoinjertos HCT-116 después del tratamiento con el 9,10-dihidro-dEpoB y dEpoB (infusión i.v., Q2Dx6).

Figura 29 muestra el efecto del 9,10-dihidro-dEpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan xenoinjertos HCT-116 carcinoma de colon humano (infusión i.v., Q3Dx4).

Figura 30 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos que llevan los xenoinjertos HCT-116 del tumor de carcinoma de colon humano siguiendo el tratamiento con 9,10-dihidro-dEpoB (5 mg/kg, infusión i.v., X3Dx4).

Figura 31 es una tabla con los valores de IC_{50} para los análogos del epotilone contra el crecimiento celular CCRF-CEM.

Figura 32 muestra la estabilidad metabólica de los análogos del epotilone *in vitro*.

ES 2 281 692 T3

Figura 33 es una tabla detallada de los efectos terapéuticos de varios análogos del epotilone contra los xenoinjertos de tumor humano en ratones con infusión i.v. 6 horas.

Figura 34 muestra el efecto del 9,10-dihidro-EpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan el xenoinjerto del tumor HCT-116 del carcinoma de colon humano (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx7).

Figura 35 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjertos del tumor HCT-116 de carcinoma de colon humano siguiendo el tratamiento con el 9,10-dihidro-EpoB y oxazol-EpoD (infusión 6 horas, Q2Dx7).

Figura 36 muestra el efecto del 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y el 9,10-dihidro-dEpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan xenoinjertos A549/Taxol (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx4).

Figura 37 muestra el efecto del 9,10-dihidro-dEpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan xenoinjertos A549/Taxol (infusión i.v. 6 horas, Q3Dx3).

Figura 38 muestra la estabilidad de los análogos del epotilone en 20% plasma de ratón/PBS.

Figura 39 muestra la estabilidad de los análogos del epotilone en 10% Men Liver S9/PBS.

Figura 40 muestra el cromatograma de la estabilidad del EpoD en 10% Men Liver S9/PBS.

Figura 41 son tablas que describen el efecto de varios análogos de epotilone sobre la polimerización del microtúbulo *in vitro* a 37°C en la ausencia de GTP (A) y la citotoxicidad de varios análogos del epotilone en la línea celular de pulmón humano A549 (B).

Figura 42 muestra la estabilización de la formación del microtúbulo por los epotilones a 35°C y 4°C.

Figura 43 muestra el efecto terapéutico del 9,10-dihidro-dEpoB en ratones desnudos que llevan el xenoinjerto (MX-1) del carcinoma mamario humano T (infusión 6 horas, Q2Dx5).

Figura 44 muestra el cambio en peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto (MX-1) del carcinoma mamario humano siguiendo el tratamiento con el 9,10-dihidro-dEpoB (infusión 6 horas, Q2Dx8).

Figura 45 muestra el cambio en peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto HCT-116 siguiendo el tratamiento con el 9,10-dihidro-dEpoB (infusión i.v., Q2Dx7).

Figura 46 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dihidro-dEpoF, dEpoB, y Taxol sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos que llevan xenoinjerto del tumor de carcinoma mamario humano (MX-1) (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx6).

Figura 47 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto del tumor del carcinoma mamario humano (MX-1) siguiendo el tratamiento con 9,10-dihidro-dEpoF, dEpoB, y Taxol (infusión 6 horas, Q2Dx6).

Figura 48 muestra el efecto terapéutico del 9,10-dihidro-dEpoF y dEpoB en ratones desnudos que llevan xenoinjerto del carcinoma de colon humano HCT-116 (infusión 6 horas, Q2Dx8).

Figura 49 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan el xenoinjerto HCT-116 siguiendo el tratamiento con el 9,10-dihidro-dEpoF y dEpoB (infusión 6 horas, Q2Dx8).

Figura 50 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dihidro-dEpoF y dEpoB en ratones desnudos que llevan xenoinjerto del carcinoma pulmonar humano Taxol-resistente (A549/Taxol) (infusión 6 horas, Q2Dx5).

Figura 51 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto del carcinoma pulmonar humano Taxol-resistente (A549/Taxol) siguiendo el tratamiento con el 9,10-dihidro-dEpoF y dEpoB (infusión 6 horas, Q2Dx5).

Figura 52 es una tabla que compara la potencia de varios análogos del epotilone con respecto a la inhibición de crecimiento del tumor *in vitro* y el índice terapéutico relativo.

Figura 53 muestra el efecto terapéutico del 9,10-dihidro-dEpoB en ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 (Q3Dx9, 6 horas-infusión i.v.).

Figura 54 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan un xenoinjerto MX-1 siguiendo el tratamiento con 9,10-dihidro-dEpoB (Q3Dx9, 6 horas-infusión i.v.).

ES 2 281 692 T3

Figura 55 muestra el efecto terapéutico del 9,10-dihidro-epotilone B en ratones desnudos que llevan el xenoinjerto MX-1 (Q3Dx9, infusión 6 horas).

Figura 56 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan el xenoinjerto MX-1 siguiendo el 5 tratamiento con 9,10-dihidroepotilone B (Q3Dx9, 6 horas-infusión i.v.).

Figura 57 muestra el efecto terapéutico a dosis bajas del 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB en ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 (6 horas-i.v. infusión, Q2Dx12).

10 Figura 58 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan un xenoinjerto MX-1 siguiendo el tratamiento con dosis bajas de 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB (6 horas-i.v. infusión, Q2Dx12).

Figura 59 muestra el efecto quimioterapéutico de los análogos del epotilone contra xenoinjertos de tumor humano 15 en ratones desnudos. El tejido tumoral (40-50 mg) se implantó s.c. en el Día 0. El tratamiento se inició cuando el tamaño del tumor alcanzó aproximadamente 100 mm³ o más grande según se indica. Todos los tratamientos como se indica por las flechas se llevaron a cabo con infusión i.v.-6 horas vía vena de la cola utilizando un mini-catéter y una bomba programable según lo descrito primero (Su, D.-S. *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 2093; Chou, T. C. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1998**, *95*, 15798. Cada grupo de dosis consiste de cuatro o más ratones. El peso corporal se refiere como el peso corporal total menos el peso del tumor que asume 1 mm³ del tumor igual a 1 20 mg del tejido tumoral. A. Xenoinjerto MX-1 del carcinoma mamario tratado con una dosis baja de 25-trifluoro-(E)-9,10-dihidro-12,13-desoxiEpoB (10 mg/kg) cuando se compara con aquellos en la Tabla 1 (20 mg/kg y 30 mg/kg). B. xenoinjertos grandes MX-1 (500 mm³) se trataron con el 25-trifluoro-(E)-9,10-dihidro-12,13-desoxiEpoB (25 mg/kg) 25 y el dEpoB (30 mg/kg). C. Xenoinjerto del carcinoma pulmonar A549 de crecimiento lento tratado con 25-trifluoro-(E)-9,10-dihidro-12,13-desoxiEpoB (25 mg/kg) y dEpoB (30 mg/kg). D. Xenoinjerto A549/Taxol (resistencia de 44- veces al paclitaxel *in vitro*) tratado con el 25-trifluoro-(E)-9,10-dihidro-12,13-desoxiEpoB (20 mg/kg) y (E)-9,10- 25 dihidro-12,13-desoxiEpoB (4 mg/kg). El tratamiento para deH-dEpoB en el día 28 se saltó debido a la marcada y rápida pérdida de peso corporal.

Figura 60 representa la síntesis del 9,10-(E)-dihidro-epotilones C-21 modificados. Figura 60A muestra la síntesis 30 del 26-trifluoro-21-metilamino-9,10-(E)-dihidro-12,13-desoxiepotilone B. Figura 60B es un esquema sintético para la preparación del 26-trifluoro-21-amino-9,10-(E)-dihidro-12,13-desoxiepotilone B como un intermediario en la síntesis del 26-trifluoro-21-dimetilamino-9,10-(E)-dihidro-12,13-desoxiepotilone B.

Figura 61 es la tabla con los valores de IC₅₀ para los epotilones C-21 modificados contra la línea celular del tumor 35 CCRF-CEM y sus sublíneas resistentes al fármaco.

Figura 62 muestra el efecto terapéutico del 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y Taxol en ratones desnudos que llevan xenoinjerto CCRF-CEM de leucemia linfoblástica célula-T humana (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx8).

40 Figura 63 muestra las variaciones en los cambios de peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto CCRF-CEM de leucemia linfoblástica célula-T humana siguiendo el tratamiento con 25-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y Taxol (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx8).

Figura 64 muestra el efecto terapéutico del 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y Taxol en ratones desnudos que llevan xenoinjerto CCRF-CEM/Taxol (Taxol resistente) de leucemia linfoblástica célula-T humana (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx7, x5).

50 Figura 65 muestra las variaciones en los cambios de peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto CCRF-CEM/Taxol (Taxol resistente) de leucemia linfoblástica célula-T humana siguiendo el tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y Taxol (infusión i.v. 6 horas, Q2Dx7, x5).

Figura 66 muestra el efecto terapéutico del 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y Taxol en ratones desnudos que llevan xenoinjerto HCT-116 del carcinoma de colon humano (Q2Dx4, x2, infusión i.v. 6 horas).

55 Figura 67 muestra los cambios en peso corporal, de ratones desnudos que llevan xenoinjerto HCT-116 del carcinoma de colon humano siguiendo el tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB y Taxol (Q2Dx4, x2, infusión i.v. 6 horas).

60 Figura 68 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dihidro-EpoB en ratones desnudos que llevan el xenoinjerto MX-1 (infusión i.v. 6 horas).

Figura 69 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano siguiendo el tratamiento con 9,10-dihidro-EpoB (infusión i.v. 6 horas).

65 Figura 70 muestra el efecto terapéutico del 9,10-dihidro-EpoB en ratones desnudos que llevan xenoinjerto CCRF-CEM/Taxol (Taxol resistente) de leucemia linfoblástica célula-T humana (infusión i.v. 6 horas, Q3Dx5, x2).

ES 2 281 692 T3

Figura 71 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto CCRFCEM/Taxol (Taxol resistente) de leucemia linfoblástica célula-T humana siguiendo el tratamiento con 9,10-dihidro-EpoB (infusión i.v. 6 horas, Q3Dx5, x2).

5 Figura 72 muestra el efecto terapéutico del 26-trifluoro-dEpoB y 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoF en ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano (Q2Dx11, inyección i.v.).

10 Figura 73 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano siguiendo el tratamiento con 26-trifluoro-dEpoB y 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoF (Q2Dx11, inyección i.v.).

Figura 74 muestra el efecto terapéutico del 9,10-dihidro-dEpoB en ratones desnudos que llevan el xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano (Q3Dx9, infusión i.v. 6 horas).

15 Figura 75 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano siguiendo el tratamiento con el 9,10-dihidro-dEpoB (Q3DX9, infusión i.v. 6 horas).

Figura 76 muestra el efecto terapéutico del 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoF en ratones desnudos que llevan xenoinjerto (MX-1) de carcinoma pulmonar humano (infusión i.v. 6 horas e inyección i.v.).

20 Figura 77 muestra los cambios en peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 siguiendo el tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoF (infusión i.v. 6 horas e inyección i.v.).

Definiciones

25 Ciertos compuestos de la presente invención, y definiciones de los grupos funcionales específicos también se describen con más detalle abajo. Para los propósitos de esta invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, *Handbook of Chemistry y Physics*, 75th Ed., inside cover, y los grupos funcionales específicos generalmente se definen según lo descrito en esta. Adicionalmente, los principios generales de la química orgánica, así como las fracciones y reactividad funcionales específicas, se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999.

30 Adicionalmente, se valorará por alguien de ordinaria habilidad en el oficio que los métodos sintéticos, como se describen aquí, utilicen una variedad de grupos protectores. Por el término "grupo protector", como se utiliza aquí, se entiende que una fracción funcional particular, por ejemplo, O, S, o N, temporalmente se bloquea así que una reacción se puede realizar selectivamente en otro sitio reactivo en un compuesto multifuncional. En modalidades preferidas, un grupo protector reacciona selectivamente con un buen rendimiento para dar un sustrato protegido que es estable para las reacciones proyectadas; el grupo protector debe ser selectivamente extraído en buena producción mediante reactivos fácilmente disponibles, preferiblemente no tóxicos que no atacan los otros grupos funcionales; el grupo protector forma 35 un derivado separable fácilmente (más preferiblemente sin la generación de nuevos centros estereogénicos); y el grupo protector tiene un mínimo de funcionalidad adicional para evitar sitios de reacción adicionales. Como se detalla en esta, los grupos protectores oxígeno, azufre, nitrógeno y carbono pueden ser utilizados. Grupos protectores ejemplares se detallan en esta, sin embargo, se valorará que la presente invención no pretende ser limitada a estos grupos protectores; más bien, una variedad de grupos protectores equivalentes adicionales se pueden identificar fácilmente utilizando el 40 criterio citado anteriormente y utilizado en el método de la presente invención. Adicionalmente, una variedad de grupos protectores se describen en "Protective Groups in Organic Synthesis" Third Ed. Greene, T.W. y Wuts, P.G., Eds., John Wiley & Sons, New York: 1999.

45 Se apreciará que los compuestos, como se describen aquí, puedan ser sustituidos con cualquier número de sustituyentes o fracciones funcionales. En general, el término "sustituido" tanto si se precede por el término "opcionalmente" o no, y los sustituyentes contenidos en las fórmulas de esta invención, refiriéndose a la reposición de los radicales de hidrógeno en una estructura dada con el radical de un sustituyente especificado. Cuando más de una posición en 50 cualquier estructura dada puede ser sustituida con más de un sustituyente seleccionado de un grupo específico, el sustituyente puede ser tanto el mismo como diferente en cada posición.

55 Las combinaciones de los sustituyentes y las variables visualizados por esta invención preferiblemente son aquellos que resultan en la formación de compuestos estables útiles en el tratamiento, por ejemplo de desórdenes proliferativos, que incluyen, pero no limitan a cáncer. El término "estable", como se utiliza aquí, preferiblemente se refiere a los compuestos que poseen estabilidad suficiente para permitir la fabricación y que mantienen la integridad del compuesto 60 durante un periodo de tiempo suficiente para ser detectado y preferiblemente por un periodo de tiempo suficiente para ser útil para los propósitos detallados en esta.

65 El término "alifático", como se utiliza aquí, incluye hidrocarburos alifáticos de cadena saturada e insaturada, lineal (i.e., no ramificada), ramificado, cíclico, o policíclicos, que son opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales. Como será apreciado por alguien de ordinaria habilidad en el oficio, "alifático" se propone aquí para incluir, pero no se limita a, fracciones alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, y cicloalquinilo. Así, como se utiliza aquí, el término "alquilo" incluye grupos alquilo lineales, ramificados y cílicos. Una convención análoga aplica a otros términos genéricos tal como "alquenilo", "alquinilo" y similares. Adicionalmente, como se

utiliza aquí, los términos “alquilo”, “alquenilo”, “alquinilo” y similares abarcan grupos sustituidos y no sustituidos. En ciertas modalidades, como se utiliza aquí, “alquilo inferior” se utiliza para indicar aquellos grupos alquilo (cíclico, acíclico, sustituido, ramificado o no ramificado) que tiene de 1-6 átomos de carbono.

5 En ciertas modalidades, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo empleados en la invención contienen de 1-20 átomos de carbono alifático. En otras ciertas modalidades, los grupos alquilo, alquenilo, y alquinilo empleados en la invención contienen alifáticos de 1-10 átomos de carbono. En aún otras modalidades, los grupos alquilo, alquenilo, y alquinilo empleados en la invención contienen alifáticos de 1-8 átomos de carbono. En otras modalidades, los grupos alquilo, alquenilo, y alquinilo empleados en la invención contiene alifáticos de 1-6 átomos de carbono. En 10 otras modalidades, los grupos alquilo, alquenilo, y alquinilo empleados en la invención contienen de 1-4 átomos de carbono. Los grupos alifáticos ilustrativos de esta manera incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, fracciones metilo, etilo, n-propil, isopropil, ciclopropil, -CH₂-ciclopropil, alilo, n-butil, sec-butil, isobutil, ter-butil, ciclobutil, -CH₂-ciclobutil, n-pentil, sec-pentil, isopentil, ter-pentil, ciclopentil, -CH₂-ciclopentil, n-hexil, sec-hexil, ciclohexil, -CH₂-ciclohexil y similares, que también, puede soportar uno o más sustituyentes. Los grupos alquenilo incluyen, pero 15 no se limitan a, por ejemplo, etenilo, propenilo, butenilo, 1-metilo-2-buten-1-il, y similares. Representativos grupos alquinilo incluyen, pero no se limitan a, etinilo, 2-propinilo (propargil), 1-propinilo y similares.

El término “alcoxi”, o “tioalquilo” como se utiliza aquí se refiere a un grupo alquilo, como previamente se define, adherido a la fracción molecular principal a través de un átomo de oxígeno o a través de un átomo de azufre. En 20 ciertas modalidades, el grupo alquilo contiene de 1-20 átomos de carbono alifático. En ciertas otras modalidades, el grupo alquilo contiene de 1-10 átomos de carbono alifático. En aún otras modalidades, los grupos alquilo, alquenilo, y alquinilo empleados en la invención contienen de 1-8 átomos de carbono alifático. En otras modalidades, el grupo alquilo contiene de 1-6 átomos de carbono alifático. En otras modalidades, el grupo alquilo contiene de 1-4 átomos 25 de carbono alifático. Ejemplos de alcoxi, incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, ter-butoxi, neopentoxi y n-hexoxi. Ejemplos de tioalquilo incluyen, pero no se limitan a, metiltio, etílio, propyltio, isopropiltio, n-butiltio, y similares.

El término “alquiloamino” se refiere a un grupo que tiene la estructura -NHR' en donde R' es alquilo, según se define en esta. En ciertas modalidades, el grupo alquilo contiene de 1-20 átomos de carbono alifático. En ciertas otras 30 modalidades, el grupo alquilo contiene de 1-10 átomos de carbono alifático. En aún otras modalidades, los grupos alquilo, alquenilo, y alquinilo empleados en la invención contienen de 1-8 átomos de carbono alifático. En aún otras modalidades, el grupo alquilo contiene de 1-6 átomos de carbono alifático. En otras modalidades, el grupo alquilo contiene de 1-4 átomos de carbono alifático. Ejemplos de alquiloamino incluyen, pero no se limitan a, metilamino, 35 etilamino, iso-propilamino y similares.

Algunos ejemplos de sustituyentes de las fracciones alifáticas arriba-descritas (y otros) de los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, alifático; heteroalifático; arilo; heteroarilo; arilalquilo; heteroarilalquilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(O)Rx; -CO₂(Rx); -CON(Rx); -OC(O)Rx; -OCO₂Rx; -OCON(Rx); -N(Rx); -S(O)Rx; -NRx(CO)Rx en donde cada ocurrencia de Rx independientemente incluye, pero no se limita a, alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifático, heteroalifático, arilalquilo, o heteroarilalquilo descritos arriba y aquí pueden ser sustituidos o no sustituidos, ramificados o no ramificados, cíclicos o acíclicos, y en donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo descritos arriba y en esta pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los ejemplos adicionales 40 de sustituyentes generalmente aplicables se ilustran por las modalidades específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en esta.

En general, los términos “arilo” y “heteroarilo”, como se utiliza aquí, se refirieren a fracciones estables mono- o 50 policíclicas, heterocíclicas, policíclicas, y poliheterocíclicas insaturadas que tienen preferiblemente de 3-14 átomos de carbono, cada una de las cuales puede ser sustituida o no sustituida. Los sustituyentes incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los sustituyentes mencionados previamente, i.e., los sustituyentes enumerados para las fracciones alifáticas, o para otras fracciones según se revela en esta, resultando en la formación de un compuesto estable. En ciertas modalidades de la presente invención, “arilo” se refiere a un sistema de anillo carbocíclico mono- o bicíclico que tiene uno o dos anillos aromáticos que incluyen, pero no limitan a, fenil, naftil, tetrahidronaftil, indanil, indenil y 55 similares. En ciertas modalidades de la presente invención, el término “heteroarilo”, como se utiliza aquí, se refiere a un radical aromático cíclico que tiene de cinco a diez átomos en el anillo del cual un átomo en el anillo se selecciona de S, O y N; cero, uno o dos átomos en el anillo son heteroátomos adicionales independientemente seleccionados de S, O y N; y los átomos en el anillo remanente son carbonos, el radical que está unido al resto de la molécula a través de cualquiera de los átomos en el anillo, tal como, por ejemplo, piridil, pirazinil, pirimidinil, pirrolil, pirazolil, imidazolil, 60 tiazolil, oxazolil, isooxazolil, tiadiazolil, oxadiazolil, tiofenil, furanil, quinolinil, isoquinolinil, y similares.

Se apreciará que los grupos arilo y heteroarilo (que incluyen los grupos arilo bicíclicos) puedan ser no sustituidos o sustituidos, en donde la sustitución incluye reposición de uno, dos o tres de los átomos de hidrógeno aquí independientemente con cualquiera de una o más de las siguientes fracciones que incluyen, pero no limitan a: alifático; 65 heteroalifático; arilo; heteroarilo; arilalquilo; heteroarilalquilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(O)Rx; -CO₂(Rx); -CON(Rx); -OC(O)Rx; -OCO₂Rx; -OCON(Rx); -N(Rx); -S(O)Rx; -NRx(CO)Rx en donde cada ocurrencia de Rx independientemente incluye, pero no se limita a, alifático, heteroalifáti-

ES 2 281 692 T3

co, arilo, heteroarilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifático, heteroalifático, arilalquilo, o heteroarilalquilo descritos arriba y en esta puede ser sustituido o no sustituido, ramificado o no ramificado, cíclico o acíclico, y en donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo descritos arriba y en esta puede ser sustituido o no sustituido. Ejemplos adicionales de los sustituyentes generalmente aplicables se ilustran por las modalidades específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en esta.

El término “cicloalquilo”, como se utiliza aquí, se refiere específicamente a grupos que tienen de tres a siete, preferiblemente de tres a diez átomos de carbono. Apropiados cicloalquilos incluyen, pero no se limitan a ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, ciclohexil, cicloheptil y similares, que, como en el caso de otras fracciones alifáticas, heteroalifáticas o heterocíclicas, pueden ser opcionalmente sustituidas con sustituyentes que incluyen, pero no limitan a alifático; heteroalifático; arilo; heteroarilo; arilalquilo; heteroarilalquilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(O)Rx; -CO₂(Rx); -CON(Rx)₂; -OC(O)Rx; -OCO₂Rx; -OCON(Rx)₂; -N(Rx)₂; -S(O)₂Rx; NRx(CO)Rx en donde cada ocurrencia de Rx independientemente incluye, pero no se limita a, alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifático, heteroalifático, arilalquilo, o heteroarilalquilo descritos arriba y en esta puede ser sustituido o no sustituido, ramificado o no ramificado, cíclico o acíclico, y en donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo descritos arriba y en esta puede ser sustituido o no sustituido. Ejemplos adicionales de sustituyentes aplicables generalmente se ilustran por las modalidades específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en esta.

El término “heteroalifático”, como se utiliza aquí, se refiere a las fracciones alifáticas que contienen uno o más átomos de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio, por ejemplo, en lugar de átomos de carbono. Las fracciones heteroalifáticas pueden ser ramificadas, no ramificadas, cíclicas o acíclicas e incluyen heterociclos saturados e insaturados tal como morfolino, pirrolidinil, etc. En ciertas modalidades, las heterofracciones alifáticas se sustituyen por reposición independiente de uno o más de los átomos de hidrógeno en esta con una o más fracciones que incluyen, pero no limitan a alifático; heteroalifático; arilo; heteroarilo; arilalquilo; heteroarilalquilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(O)Rx; -CO₂(Rx); -CON(Rx)₂; -OC(O)Rx; -OCO₂Rx; -OCON(Rx)₂; -N(Rx)₂; -S(O)₂Rx; -NRx(CO)Rx en donde cada ocurrencia de Rx independientemente incluye, pero no se limita a, alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifático, heteroalifático, arilalquilo, o heteroarilalquilo descritos arriba y en esta pueden ser sustituidos o no sustituidos, ramificados o no ramificados, cíclicos o acíclicos, y en donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo descritos arriba y en esta pueden ser sustituidos o no sustituidos. Ejemplos adicionales de sustituyentes aplicables generalmente se ilustran por las modalidades específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en esta.

Los términos “halo” y “halógeno” como se utiliza aquí refiriéndose a un átomo seleccionado de flúor, cloro, bromo y yodo.

El término “haloalquilo” indica un grupo alquilo, como se define arriba, que tiene uno, dos, o tres átomos de halógeno adherido a este y se ilustra por dichos grupos como clorometil, bromoetil, trifluorometil, y similares.

El término “heterocicloalquilo” o “heterociclo”, como se utiliza aquí, se refiere a un anillo no-aromático de 5-, 6-, o 7- miembros o un grupo policíclico, que incluye, pero no limita a un grupo bi- o tri-cíclico que comprende anillos fundidos de seis-miembros que tiene entre uno y tres heteroátomos independientemente seleccionados del oxígeno, azufre y nitrógeno, en donde (i) cada anillo de 5-miembros tiene 0 a 1 doble enlaces y cada anillo de 6-miembros tiene de 0 a 2 dobles enlaces, (ii) los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden ser opcionalmente oxidados, (iii) el heteroátomo de nitrógeno opcionalmente puede ser cuaternizado, y (i.v) cualquiera de los anillos heterocíclicos citados anteriormente pueden estar fundidos a un anillo bencénico. Los heterociclos representativos incluyen, pero no se limitan a, pirrolidinil, pirazolinil, pirazolidinil, imidazolinil, imidazolidinil, piperidinil, piperazinil, oxazolidinil, isoxazolidinil, morfolinil, tiazolidinil, isotiazolidinil, y tetrahidrofuranil. En ciertas modalidades, un grupo “heterocicloalquilo o heterociclo sustituido” se utiliza y como se usa aquí, se refiere a un grupo heterocicloalquilo o heterociclo, como se define arriba, sustituido mediante la reposición independiente de uno, dos o tres de los átomos de hidrógeno en esta con, pero no se limitan, un alifático; heteroalifático; arilo; heteroarilo; arilalquilo; heteroarilalquilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(O)Rx; -CO₂(Rx); -CON(Rx)₂; -OC(O)Rx; -OCO₂Rx; -OCON(Rx)₂; -N(Rx)₂; -S(O)₂Rx; -NRx(CO)Rx en donde cada ocurrencia de Rx independientemente incluye, pero no se limita a, alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo, en donde cualquier de los sustituyentes alifático, heteroalifático, arilalquilo, o heteroarilalquilo descritos arriba y en esta pueden ser sustituidos o no sustituidos, ramificados o no ramificados, cíclicos o acíclicos, y en donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo descritos arriba y en esta pueden ser sustituidos o no sustituidos. Adicionales ejemplos de sustituyentes aplicables generalmente se ilustran mediante las modalidades específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en esta.

“Marcado”: Como se utiliza en esta, el término “marcado” se propone para significar que un compuesto tiene al menos un elemento, isótopo o compuesto químico adherido para permitir la detección del compuesto. En general, los marcadores caen en tres clases: a) marcadores isotópicos, que pueden ser isótopos radioactivos o pesados, que incluyen, pero no limitan a, ²H, ³H, ³²P, ³⁵S, ⁶⁷Ga, ^{99m}Tc (Tc-99m), ¹¹¹In, ¹²³I, ¹²⁵I, ¹⁶⁹Yb y ¹⁸⁶Re; b) marcadores inmunes, que puede ser anticuerpos o antígenos; y c) tintas coloreadas o fluorescentes. Se apreciará que los marcadores puedan ser

incorporados dentro del compuesto en cualquier posición que no interfiera con la actividad biológica o características del compuesto que esta siendo detectado. En ciertas modalidades de la invención, la marcación por fotoafinidad se utiliza para la elucidación directa de interacciones intermoleculares interinolecular en sistemas biológicos (por ejemplo, para probar el sitio de enlace del epotilone en un dímero de tubulina). Una variedad de fotófobos conocidos pueden ser empleados, confiando en la fotoconversión de los compuestos diazo, azidas, o diazirinas a nitrenos o carbenos (Ver, Bayley, H., Photogenerated Reagents in Biochemistry y Molecular Biology (1983), Elsevier, Amsterdam.).

En ciertas modalidades de la invención, los marcadores de fotoafinidad empleados son o-, m- y p-azidobenzoilos, sustituidos con una o más fracciones de halógeno, que incluyen, pero no limitan a ácido 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobenzoico.

“Polímero”: El término “polímero”, como se utiliza aquí, se refiere a una composición que comprende cadenas que pueden ser abiertas, cerradas, lineales, ramificadas o ligadas en cruz de unidades repetidoras (monómeros) que pueden ser iguales o diferentes. Se apreciará que en ciertas modalidades el término polímero se refiere a biopolímeros, que, como se utiliza aquí, se proponen para referirse a materiales poliméricos presentes naturalmente o basados en aquellos materiales encontrados en la naturaleza, que incluyen, pero no limitan a ácidos nucleicos, péptidos, y miméticos de estos. En ciertas otras modalidades, el término polímero se refiere a polímeros sintéticos, tal como polímeros biodegradables u otros materiales poliméricos. Se apreciará que los soportes poliméricos sólidos también comprenden por los polímeros de la presente invención. Los compuestos inventivos pueden ser adheridos a soportes poliméricos y de esta manera ciertas modificaciones sintéticas se pueden conducir sobre la fase sólida. Como se utiliza en esta, el término “soporte sólido” se entiende para incluir, pero no se limita a, gránulos, discos, capilares, fibras huecas, agujas, alfileres, fibras sólidas, perlas de celulosa, perlas de cristal poroso, sílica gel, perlas de poliestireno opcionalmente ligadas en cruz con divinilbenceno, perlas de co-polímero injerto, perlas de poli-acrilamida, perlas de látex, perlas de dimetilacrilamida opcionalmente ligadas en cruz con N-N'-bis-acriloletilenediamina, y partículas de vidrio cubiertas con un polímero hidrofóbico. Alguien de ordinaria habilidad en el oficio se dará cuenta que el cambio del soporte sólido particular será limitado por la compatibilidad del soporte con la reacción química que se utilice. Un soporte sólido ejemplar es una resina amino Tentagel, una mezcla de 1) un glóbulo de poliestireno ligado en cruz con divinilbenceno y 2) PEG (polietilenglicol). El Tentagel es un soporte sólido útil particularmente porque proporciona un soporte versátil para usar en ensayos on-bead u off-bead, y también experimentan excelente hinchazón en solventes que oscilan entre tolueno y agua.

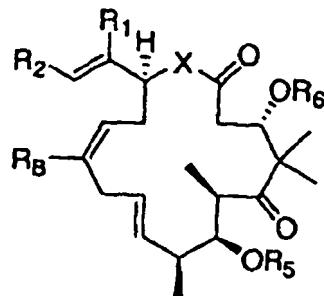
Descripción de ciertas modalidades de la invención

En el reconocimiento de la necesidad de desarrollar terapias para el cáncer novedosas y eficaces, la presente invención proporciona metodologías sintéticas novedosas permitiendo el acceso a los macrociclos que tienen un amplio rango de actividad biológica y farmacológica, así como los compuestos novedosos con dicha actividad, las composiciones terapéuticas novedosas, y los métodos para utilizar estos compuestos y composiciones.

En ciertas modalidades, los compuestos inventivos son útiles en el tratamiento de cáncer. Ciertos compuestos de la invención muestran efectos inhibitorios de crecimiento o citotóxicos en líneas celulares de cáncer, muestran una habilidad para polimerizar la tubulina y estabilizar los ensambles del microtúbulo, y/o conducir a la disminución o desvanecimiento de los tumores en modelos de xenoinjerto en célula cancerígena. En ciertas modalidades, los compuestos pueden tener efectos secundarios reducidos o mínimos que incluyen toxicidad a órganos vitales, náusea, vómito, diarrea, alopecia, pérdida de peso, ganancia de peso, toxicidad del hígado, desórdenes de la piel, etc. Los compuestos también pueden ser más fáciles de formular debido al incremento de su solubilidad en agua, disminución de la toxicidad, incremento del rango terapéutico, incremento de la eficacia, etc.

Descripción General de los Compuestos de la Invención

Los compuestos de la invención incluyen compuestos de la fórmula general según se define más abajo:



65 en donde R₁ es un hidrógeno o alquilo inferior; en ciertas modalidades, R₁ es un metilo; en ciertas modalidades, R₁ es -CF₃, -CF₂H, o CH₂F; en otras modalidades, R₁ es grupo alquilo perfluorinado o fluorinado; en aún otras modalidades, R₁ es un grupo alquilo halogenado o perhalogenado;

ES 2 281 692 T3

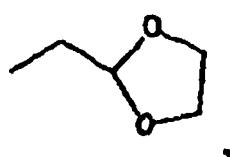
R_2 es un arilo, heteroarilo, arilalquilo sustituido o no sustituido, o una fracción heteroarilalquilo; en ciertas modalidades, R_2 es un oxazol sustituido o no sustituido; en otras modalidades, R_2 es un sustituido o tiazol no sustituido;

5 R_5 y R_6 son cada uno independientemente un hidrógeno o un grupo protector; en ciertas modalidades, R_5 y R_6 ambos son hidrógeno;

X es O, S, C (R_7)₂, o NR₇, en donde cada ocurrencia de R_7 es independientemente un hidrógeno o alquilo inferior; en ciertas modalidades, X es O; en otras modalidades, X es NH;

10 R_B es, independientemente para cada ocurrencia, hidrógeno; halógeno; -OR_{B'}; -SR_{B'}; -N(R_{B'})₂; -C(O)OR_{B'}; -C(O)R_{B'}; -CONHR_{B'}; -O(C=O)R_{B'}; -O(C=O)OR_{B'}; -NR_{B'}(C=O)R_{B'}; N₃; N₂R_{B'}; acetal cíclico; o cíclico o acíclico, lineal o ramificado, alifático, heteroalifático, arilo o heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno o más de hidrógeno; halógeno; -OR_{B'}; -SR_{B'}; -N(R_{B'})₂; -C(O)OR_{B'}; -C(O)R_{B'}; -CONHR_{B'}; -O(C=O)R_{B'}; -O(C=O)OR_{B'}; -NR_{B'}(C=O)R_{B'}; N₃; N₂R_{B'}; acetal cíclico; o cíclico o acíclico, alifático lineal o ramificado sustituido o no sustituido, heteroalifático, 15 arilo, o una fracción heteroarilo; o es un epotilone, desoxiepotilone, o sus análogos; o es un polímero; carbohidrato; marcador de fotoafinidad; o radiomarcador; en ciertas modalidades, R_B es un hidrógeno,

20



25

30 metilo, etilo, propil, butil, pentil, hexil, ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, o ciclohexil, cada uno no sustituido u opcionalmente sustituido con una o más ocurrencias de halógeno, -OH, -OR_{B'}, NH₂, o N(R_{B'})₂, o cualquiera de sus combinaciones, en donde cada ocurrencia de R_B' es independientemente un hidrógeno, alquilo, arilo, o un grupo protector, en otras modalidades, R_B es un hidrógeno, metilo, o etilo, en aún otras modalidades, R_B es un metilo, en aún otras modalidades, R_B es -CF₃, -CH₂F, o CHF₂; y

35 sus derivados farmacéuticamente aceptables.

35

En ciertas modalidades, X es O. En otras modalidades, X es NH. En otras modalidades, X es CH₂.

40

En algunas modalidades, R_2 es un tiazol sustituido o no sustituido. En ciertas modalidades, R_2 es 2-metiltiazol-4-il. En otras modalidades, R_2 es 2-hidroxilmethyl-tiazol-4-il. En aún otras modalidades, R_2 es 2-aminometiltiazol-4-il. En otras modalidades, R_2 es 2-tiolmetil-tiazol-4-il.

45

En ciertas modalidades R_2 es un oxazol sustituido o no sustituido. En ciertas modalidades, R_2 es 2-metioxazol-4-il. En otras modalidades, R_2 es 2-hidroxilmethyl-oxazol-4-il. En aún otras modalidades, R_2 es 2-aminometioxazol-4-il. En otras modalidades, R_2 es 2-tiolmetil-oxazol-4-il.

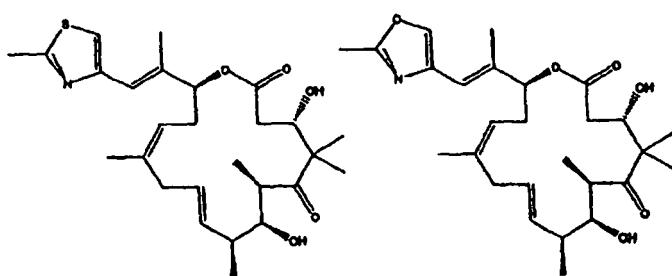
50

En ciertas modalidades, R_B es un hidrógeno, metilo, etilo, -CF₃, -CH₂F, -CF₂H. En ciertas modalidades, R_B es un metilo. En aún otras modalidades, R_B es -CF₃. En ciertas modalidades, R_B es un hidrógeno. En otras modalidades, R_B es un etilo.

50

Ciertos compuestos preferidos incluye, por ejemplo:

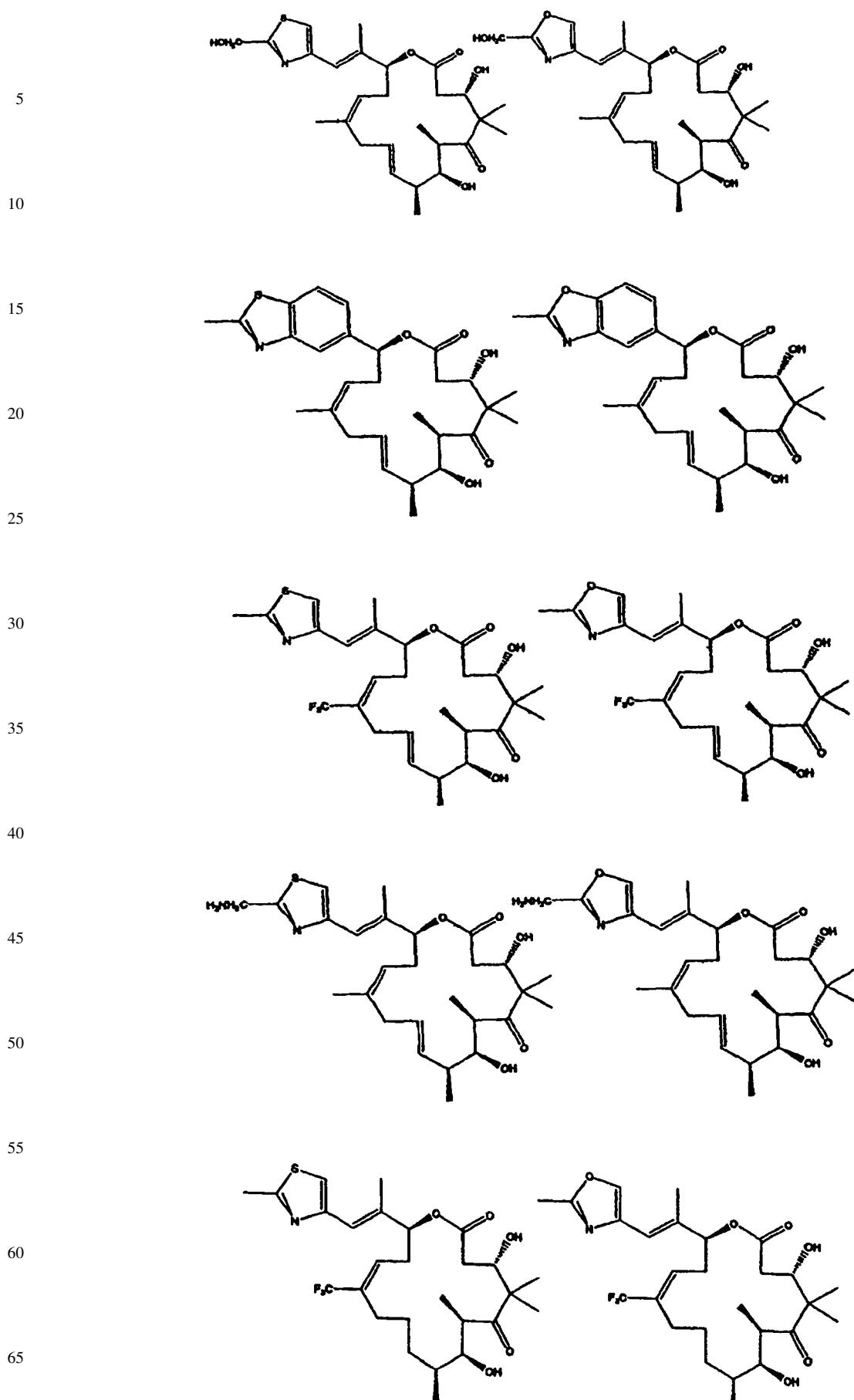
55

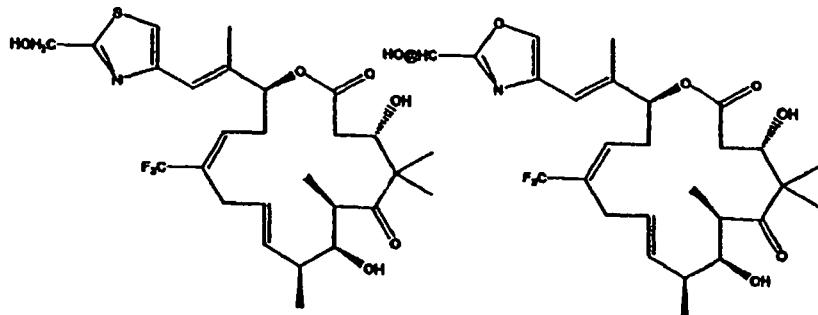


60

65

ES 2 281 692 T3





Los compuestos de esta invención incluyen específicamente aquellos publicados arriba y descritos en esta, y se ilustran en parte mediante las varias clases, subgéneros y especies revelados en otra parte en esta.

Se apreciará por alguien de ordinaria habilidad en el oficio que los centros asimétricos pueden existir en los compuestos de la presente invención. Así, los compuestos inventivos y las composiciones farmacéuticas de estos puede estar en la forma de un enantiómero, diastereómero o isómero geométrico individual, o pueden estar en la forma de una mezcla de estereoisómeros. En ciertas modalidades, los compuestos de la invención son compuestos enatiopuros. En ciertas otras modalidades, unas mezclas de estereoisómeros o diastereómeros se proporcionan.

Se apreciará que alguna de las clases precedentes y las subclases de los compuestos puedan existir en varias formas isométricas. La invención abarca los compuestos como isómeros individuales sustancialmente libres de otros isómeros y alternativamente, como mezclas de varios isómeros, por ejemplo, mezclas racémicas de estereoisómeros. Adicionalmente, la invención abarca isómeros de doble enlace (Z) y (E) a menos que de otra manera específicamente designada.

En ciertas modalidades preferidas, el doble enlace en la posición C12-C13 está en la configuración cis o Z. En algunas modalidades, el doble enlace en la posición C9-C10 está en la configuración trans o E. En aún otras modalidades, el doble enlace en la posición C12-C13 está en la configuración cis o Z, y el doble enlace en la posición C9-C10 está en la configuración trans o E. La invención también abarca los tautómeros de los compuestos específicos como se describe arriba.

Adicionalmente, la presente invención proporciona derivados de los compuestos inventivos farmacéuticamente aceptables, y los métodos del tratamiento a un sujeto utilizando estos compuestos, las composiciones farmacéuticas de estos, o en combinación tanto de estos con uno o más agentes terapéuticos adicionales. La frase, "derivado farmacéuticamente aceptable", como se utiliza aquí, indica cualquier sal farmacéuticamente aceptable, éster, o sal de dicho éster, de tal compuesto, o cualquier otro producto de adición o derivado que, bajo la administración a un paciente, es capaz de proporcionar (directamente o indirectamente) un compuesto según se describen de otra manera en esta, o un metabolito o residuo de estos. Derivados farmacéuticamente aceptables de esta manera incluyen entre otros pro-medicamentos. Un pro-medicamento es un derivado de un compuesto, usualmente con actividad farmacológica reducida significativamente, que contiene una fracción adicional que es susceptible para retirar *in vivo* la producción de la molécula original como las especies activas farmacológicamente. Un ejemplo de un pro-fármaco es un éster que se divide *in vivo* para producir un compuesto de interés. Los pro-medicamentos de una variedad de compuestos, y los materiales y los métodos para derivatizar los compuestos originales para crear los pro-medicamentos, se conocen y pueden ser adaptados a la presente invención. Ciertas composiciones farmacéuticas ejemplares y los derivados farmacéuticamente aceptables serán discutidos con más detalle en esta abajo.

Los compuestos de esta invención que son de particular interés incluyen aquellos que:

- muestran efecto inhibitorio de crecimiento o citotóxico sobre líneas celulares cancerígenas mantenidas *in vitro* o en estudios de animales utilizando un modelo de xenoinjerto de célula cancerígena científicamente aceptable;
- muestran una habilidad para polimerizar la tubulina y estabilizar los ensambles del microtúbulo;
- muestran niveles mínimos de toxicidad para órganos vitales;
- conducir al desvanecimiento del tumor en modelos de xenoinjerto de célula cancerígena científicamente aceptables;
- conducir a la disminución del tumor en modelos de xenoinjerto de célula cancerígena científicamente aceptables;
- conducir al desvanecimiento del tumor en modelos de xenoinjerto de célula cancerígena científicamente aceptables y retardando/o no recurrencia del tumor después de detener el tratamiento;
- mostrar disminución transitoria y reversible del peso corporal y mostrar efectos terapéuticos en modelos de xenoinjerto de célula cancerígena científicamente aceptables;

- mostrar solubilidad mejorada en agua sobre los epotilones A, B, C o D, o paclitaxel, o adicionalmente o alternativamente mostrar suficiente solubilidad para ser formulados en un medio acuoso utilizando una proporción reducida del chremophor; y/o

5 • mostrar un perfil terapéutico (por ejemplo, efecto curativo y seguridad óptima) que es superior a aquella del epotilone B, epotilone D, o paclitaxel.

Una variedad de análogos del epotilone como los descritos arriba han sido preparados, caracterizados, y probados según se ilustra en esta. Los análogos del 9,10-dihidro-epotilone se han encontrado por ser útiles en el tratamiento 10 de cáncer, y particularmente los compuestos han sido preparados y se ha encontrado que poseen una o más de las características deseada enumeradas arriba.

Metodología Sintética

15 La síntesis de ciertos epotilones, desoxiepotilones y sus análogos ha sido descrita previamente (ver, Patentes U.S. 6,242,469, 6,284,781, 6,300,355, 6,204,388, 6,316,630, y 6,369,234; Patente U.S. Aplicaciones 09/797,027, 09/796,959, y 10/236,135; y PCT Publicación Nos. WO 99/01124, WO 99/43653, y WO 01/64650). En reconocimiento a la necesidad de metodologías sintéticas mejoradas o adicionales para generar eficientemente los epotilones, desoxiepotilones y sus análogos en grandes cantidades, la presente invención proporciona una ruta eficiente y modular para la síntesis de los epotilones, desoxiepotilones y los análogos de estos. A pesar de que la síntesis de ciertos compuestos ejemplar se describe en la Ejemplificación en esta, se valorará que esta metodología generalmente sea aplicable a la generación de los análogos y los conjugados según se discute arriba para cada una de las clases y subclases descritas en esta.

25 En particular, los compuestos 9,10-dihidroepotilone de la presente invención pueden ser preparados por una variedad de medios utilizando metodologías sintéticas útiles en la síntesis de epotilones. En ciertas modalidades, los compuestos se preparan utilizando una ruta sintética convergente. Por ejemplo, el epotilone puede ser sintetizado mediante la preparación de dos o tres intermediarios que se reúnen para producir el compuesto deseado. En una modalidad, uno de los intermediarios es una porción acilo que contiene 1-9 carbonos, y otro intermediario que contiene 20 10-15 carbonos y también pueden contener la cadena lateral tiazol. Estas dos porciones iguales en líneas generales del epotilone pueden ser reunidas primero utilizando una reacción de esterificación entre C-1 y un oxígeno fuera de sitio C-15. El macrociclo luego puede estar cerrado utilizando una reacción de acoplamiento carbono-carbono tal como un acoplamiento Suzuki o una reacción de metátesis de cierre del anillo. En una modalidad, la etapa final de cierre del anillo se logra utilizando una reacción de metátesis de cierre del anillo para formar el doble enlace 9,10- y cerrar el 30 macrociclo. La reacción de metátesis de cierre del anillo se logra utilizando un catalizador organometálico tal como el catalizador Grubbs como se muestra en el Esquema 8 abajo. En ciertas modalidades, el doble enlace 9,10- es reducido u oxidado, o el doble enlace 9,10- puede ser además funcionalizado para preparar derivados adicionales del epotilone.

35 En otras modalidades, la etapa final de cierre del anillo se logra utilizando una reacción de metátesis de cierre del anillo para formar el doble enlace 12,13- y cerrar el macrociclo. En ciertas modalidades, el doble enlace 12,13- se reduce u oxida. En otras modalidades, una reacción de macroaldolización o macrolactonización se utiliza para formar el macrociclo.

40 Ciertas síntesis ejemplares de los compuestos de la invención se proporcionan en las Figuras y en los Ejemplos. Como sería apreciado por alguien de ordinaria habilidad en el oficio, una variedad de análogos y sus derivados pueden 45 ser preparados utilizando el procedimiento sintético descrito en esta. Por ejemplo, uno podría lograr muchas de las etapas sintéticas con diferentes grupos protectores o diferentes sustituyentes sobre el anillo de 16-miembros.

Composiciones Farmacéuticas

50 Esta invención también proporciona una preparación farmacéutica que comprende al menos uno de los compuestos como se describe arriba y en esta, o un derivado de estos farmacéuticamente aceptable, compuestos que son capaces de inhibir el crecimiento de o matar las células cancerígenas, y, en ciertas modalidades de especial interés son capaces de inhibir el crecimiento de o matar las células cancerígenas resistentes a multifármacos. En ciertas modalidades, 55 la preparación farmacéutica también comprende como agente de solubilización o de emulsión tal como Cremophor (aceite de castor polioxil 35) o Solutol (polietilenglicol 660 12-hidroxiestearato hydroxystreaiate).

60 Como se discute arriba, la presente invención proporciona compuestos novedosos que tienen actividad antitumor y antiproliferativa, y de esta manera los compuestos inventivos son útiles para el tratamiento del cáncer. Por consiguiente, en otro aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas, en donde estas composiciones comprenden cualquiera de los compuestos como se describen aquí, y opcionalmente comprenden un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas modalidades, estas composiciones opcionalmente comprenden uno o más agentes terapéuticos adicionales. En otras ciertas modalidades, el agente terapéutico adicional es un agente anticáncer, como se discute con más detalle en esta.

65 También será apreciado que ciertos de los compuestos de presente invención puedan existir en forma libre para el tratamiento, o cuando sea apropiado, como uno de sus derivados farmacéuticamente aceptable. De acuerdo con la presente invención, un derivado farmacéuticamente aceptable incluye, pero no se limita a, sales farmacéuticamente

aceptables, ésteres, sales de tales ésteres, o cualquier otro producto de adición o derivado el cual bajo la administración a un paciente con necesidad sea capaz de proporcionar, directamente o indirectamente, un compuesto según lo descrito de otra manera en esta, o un metabolito o residuo de estos, por ejemplo, un promedicamento.

5 Como se utiliza en esta, el término “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas sales que están, dentro del alcance de estimación médica acertada, apropiadas para usar en contacto con los tejidos de humanos y animales inferiores sin indebida toxicidad, irritación, respuestas alérgicas y similares, y son proporcionados con una relación razonable riesgo/beneficio. Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en el oficio. Por ejemplo, S. M. Berge, *et al.* describe las sales farmacéuticamente aceptables en detalle en *J. Pharmaceutical Sciences*, 66: 1-19 (1977), incluido en esta por referencia. Las sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos de la invención, o individualmente por la reacción de la función de base libre con un apropiado ácido orgánico. Ejemplos de sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables, no-tóxicas son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido malélico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o utilizando otros métodos utilizados en el oficio tal como intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hernisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, sales de valerato, y similares. Representativas sales álcali o de metal alcalinotéreo incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, y similares. Adicionalmente las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando sea apropiado, amonio no tóxico, amonio cuaternario, y cationes de amina formados utilizando contraiones tal como haluro, hidroxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato alquilo inferior y aril sulfonato.

30 Adicionalmente, como se utiliza aquí, el término “éster farmacéuticamente aceptable” se refiere a los ésteres que hidrolizan *in vivo* e incluyen aquellos que se rompen fácilmente en el cuerpo humano para dejar el compuesto principal o una sal de estos. Los grupos éster apropiados incluyen, por ejemplo, aquellos derivados a partir de los ácidos carboxílicos alifáticos farmacéuticamente aceptables, particularmente ácidos alcanoico, alquenoico, cicloalcanoico y alcanodioico, en los cuales cada fracción alquilo o alquenilo favorablemente tiene más de 6 átomos de carbono. Ejemplos de ésteres particulares incluyen formatos, acetatos, propionatos, butiratos, acrilatos y etilsuccinatos.

35 Adicionalmente, el término “promedicamentos farmacéuticamente aceptables” como se utiliza aquí se refiere a aquellos promedicamentos de los compuestos de la presente invención que están, dentro del alcance de la estimación médica acertada, apropiados para utilizar en contacto con los tejidos de humanos y de animales inferiores con indebida toxicidad, irritación, respuesta alérgica, y similares, proporcionados con una relación riesgo/beneficio razonable, y eficaces para su pretendido uso, así como las formas zwitteriónicas, cuando es posible, de los compuestos de la invención. El término “promedicamento” se refiere a los compuestos que son rápidamente transformados *in vivo* para producir el compuesto principal de la fórmula de arriba, por ejemplo por hidrólisis en sangre. Una discusión minuciosa se proporciona en T. Higuchi y V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series, y in Edward B. Roche, ed., *Bioreversible Carriers in Drug Design*, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987, los cuales se incorporan en esta por referencia.

45 Como se describe arriba, las composiciones farmacéuticas de la presente invención adicionalmente comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable, que, como se utiliza aquí, incluye cualquiera y todos los solventes, diluyentes, u otros vehículos líquidos, de dispersión o ayudantes de suspensión, agentes activos superficiales, agentes isotónicos, agentes de engrosamiento o emulsificantes, preservativos, ligantes sólidos, lubricantes y similares, como corresponde a la dosificación particular de deseada. Remington's Pharmaceutical Sciences, Fifteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1975) revela varios excipientes utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticas y técnicas conocidas para la preparación de estas. Excepto a tal grado como cualquier vehículo excipiente convencional es incompatible con los compuestos anti-cáncer de la invención, tal como por la producción de cualquier efecto biológico indeseable o de otra manera que interactúa de una manera nociva con cualquier otro(s) componente(s) de la composición farmacéutica, su uso se contempla para estar dentro del alcance de esta invención. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, azúcares tal como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tal como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tal como carboximetil celulosa de sodio, etil celulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; Cremophor; Solutol; excipientes tal como manteca de cacao y ceras de supositorio; aceites tal como aceite de maní, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de ajonjolí; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; tal como propilen glicol; ésteres tal como etil oleato y etilo laurato; agar; agentes reguladores tal como hidroxido de magnesio y hidroxido de aluminio; ácido de algínico; agua libre de pirógenos; salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico, y soluciones reguladoras de fosfato, así como otros lubricantes compatibles no-tóxico tal como sodio lauril sulfato y magnesio estearato, así como agentes de coloración, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y de aroma, preservativos y antioxidantes también pueden estar presentes en la composición, de acuerdo con el juicio del formulador.

Usos de los compuestos y las Composiciones Farmacéuticas

La invención además proporciona un método para inhibir el crecimiento del tumor y/o la metástasis del tumor. En ciertas modalidades de especial interés, la invención proporciona un compuesto de la invención para el tratamiento de

5 cánceres por la inhibición del crecimiento del tumor y/o de la metástasis del tumor para tumores de células cancerígenas con resistencia a multifármacos. El compuesto o un derivado de este farmacéuticamente aceptable se administra a un sujeto en una cantidad efectiva terapéuticamente (que incluyen, pero no limitan a humano o animal) con necesidad de este. En ciertas modalidades, específicamente para el tratamiento cánceres que comprenden células cancerígenas con resistencia a multifármacos, la cantidad efectiva terapéuticamente es una cantidad suficiente para matar o inhibir el 10 crecimiento de líneas celulares cancerígenas con resistencia a multifármacos. En ciertas modalidades, los compuestos inventivos son útiles para el tratamiento de tumores sólidos.

Los compuestos y las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden utilizar en el tratamiento o la prevención de cualquier enfermedad o condiciones que incluyen enfermedades proliferativas (por ejemplo, cáncer), 15 enfermedades autoinmunes (por ejemplo, artritis reumatoide), y infecciones (por ejemplo, bacteriana, por hongos, etc.). Los compuestos y las composiciones farmacéuticas pueden ser administrados a animales, preferiblemente mamíferos (por ejemplo, animales domésticos, gatos, perros, ratones, ratas), y más preferiblemente humanos. Cualquier método de administración puede ser utilizado para entregar el compuesto de las composiciones farmacéuticas al animal. En ciertas modalidades, el compuesto o la composición farmacéutica se administran vía parenteral.

20 En aún otro aspecto, de acuerdo con la presente invención, las células tumorales se matan, o su crecimiento se inhibe por el contacto de las células tumorales con el compuesto o la composición inventivos, según lo descrito aquí. Así, en aún otro aspecto de la invención, una cantidad efectiva terapéuticamente de un compuesto inventivo, o una composición farmacéutica que contiene un compuesto inventivo se puede administrar a un sujeto con necesidad de este, en 25 tales cantidades y para tal tiempo como sea necesario para lograr el resultado deseado. En ciertas modalidades de la presente invención una "cantidad efectiva terapéuticamente" del compuesto inventivo o una composición farmacéutica es aquella cantidad eficaz para matar o inhibir el crecimiento de células tumorales. Los compuestos y las composiciones, de acuerdo con el método de la presente invención, puede ser administrados utilizando cualquier cantidad y cualquier ruta de administración eficaces para matar o inhibir el crecimiento de las células tumorales. De esta manera, 30 la expresión "cantidad eficaz para matar o inhibir el crecimiento de las células tumorales", como se utiliza aquí, se refiere a una cantidad suficiente del agente para matar o inhibir el crecimiento de las células tumorales. La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro sujeto, dependiendo de las especies, edad, y condición general del sujeto, la severidad de la infección, el agente anticáncer particular, su modo de administración, y similares. Los compuestos anticáncer de la invención preferiblemente se formulan en la forma de dosificación por unidad para la comodidad de 35 la administración y uniformidad de dosificación. La expresión "forma de dosificación por unidad" como se utiliza aquí se refiere a una unidad discreta físicamente del agente anticáncer apropiado para el paciente a ser tratado. Será entendido, sin embargo, que el consumo diario total de los compuestos y las composiciones de la presente invención será decidido por el médico que atiende dentro del alcance de la estimación médica acertada. El nivel de dosis eficaz terapéuticamente específico para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una variedad de factores que 40 incluyen el desorden que es tratado y la severidad del desorden; la actividad de compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; el tiempo de administración, ruta de administración, y el índice de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos utilizados en combinación o coincidentes con el compuesto específico empleado; y como 45 los factores bien conocidos en los oficios de la medicina.

Adicionalmente, después de la formulación con un apropiado excipiente farmacéuticamente aceptable en una dosificación deseada, las composiciones farmacéuticas de esta invención se puede administrar a humanos y otros animales vía oral, vía rectal, vía parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como mediante polvos, ungüentos, o gotas), vía bucal, como un aerosol oral o nasal, o similares, que dependen de la severidad de la infección que 50 es tratada. En ciertas modalidades de la invención, los compuestos inventivos como se describen aquí se formulan por conjugación con quelantes solubles en agua, o polímeros solubles en agua tal como polietilenglicol como poli (1-ácido glutámico), o polí (1-ácido aspártico), como se describe en la Patente U.S. 5,977,163.

En ciertas modalidades, los compuestos de la invención pueden ser administrados vía oral o vía parenteral en niveles de dosificación suficientes para entregar desde aproximadamente 0.001 mg/Kg. a aproximadamente 100 mg/Kg., desde aproximadamente 0.01 mg/Kg. a aproximadamente 50 mg/Kg., preferiblemente desde aproximadamente 0.1 mg/Kg. a aproximadamente 40 mg/Kg., preferiblemente desde aproximadamente 0.5 mg/Kg. a aproximadamente 30 mg/Kg., desde aproximadamente 0.01 mg/Kg. a aproximadamente 10 mg/Kg., desde aproximadamente 0.1 mg/Kg. a aproximadamente 10 mg/Kg., y más preferiblemente desde aproximadamente 1 mg/Kg. a aproximadamente 25 mg/Kg., de peso corporal del sujeto por día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado. La dosificación deseada puede ser entregada como entrega cada otro día, cada tercer día, cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas, o cada cuatro semanas. En ciertas modalidades, la dosificación deseada puede ser entregada utilizando administraciones múltiples (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, o diez administraciones).

65 Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen, pero no se limitan a, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Adicionalmente a los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en el

oficio tal como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes de solubilización y emulsificadores tal como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzil benzoato, propilen glicol, 1,3-butilen glicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, castor, y ajonjolí), glicerol, tetrahidrofurfuril alcohol, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos del sorbitan, 5 y mezclas de estos. Además de los diluentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tal como agentes de humectación, agentes emulsificantes y de suspensión, edulcorantes, saborizantes, y agentes de aroma.

10 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles se pueden formular de acuerdo con el oficio conocido utilizando apropiados agentes de dispersión o de humectación y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión estéril inyectable en un diluente o solvente no-tóxico aceptable vía parenteral, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanediol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden ser empleados están el agua, solución de Ringer, U.S.P. y solución de 15 cloruro de sodio isotónico. Además, aceites estériles, fijos se emplean convencionalmente como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito cualquier aceite fijo blando puede ser empleado incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tal como ácido oleico se utilizan en la preparación de inyectables.

20 Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, por filtración a través de un filtro que retiene las bacterias, o por los agentes de esterilización que se incorporan en la forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver o dispersar en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de utilizar.

25 Con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, con frecuencia es deseable reducir la absorción del fármaco a partir de una inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr por el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con solubilidad pobre en agua. El índice de absorción del fármaco entonces depende de su índice de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrado vía parenteral se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso. Las formas de depósito inyectables se hacen formando matrices microencapsuladas del fármaco en polímeros biodegradables tal como polilactido-poliglicolido. Dependiendo de la relación del fármaco al polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, el índice del fármaco liberado puede ser controlado. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli (ortoésteres) y poli (anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan entrappando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con tejidos corporales.

35 Las composiciones para administración rectal o vaginal preferiblemente son supositorios que pueden ser preparadas mezclando los compuestos de esta invención con excipientes que no irritan apropiados o excipientes tal como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de suppositorio que es sólida a temperatura ambiente pero líquida a temperatura corporal y por consiguiente se funde en la cavidad vaginal o rectal y liberando el compuesto activo.

40 Las formas de dosificación sólidas para la administración oral incluyen cápsulas, tabletas, píldoras, polvos, y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, inerte o un excipiente tal como citrato de sodio o fosfato dicalcio y/o a) rellenos o extendedores tal como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y ácido silícico, b) aglutinantes tal como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirolidinona, sacarosa, y acacia, c) humectantes tal como glicerol, d) 45 agentes desintegrantes tal como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido de algínico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio, e) agentes retardantes en solución tal como parafina, f) aceleradores de absorción tal como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes de humectación tal como, por ejemplo, alcohol cetílico y glicerol monostearato, h) absorbentes tal como caolín y arcilla bentonita, y i) lubricantes tal como talco, calcio estearato, magnesio estearato, polietilenglicoles sólidos, sodio lauril sulfato, y mezclas de estos. En el caso de las cápsulas, tabletas y píldoras, la forma de dosificación también puede contener agentes reguladores.

55 Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden ser empleadas como rellenos en cápsulas de gelatinas duras y blandas utilizando tales excipientes como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de pesos moleculares altos y similares. Las formas de dosificación sólidas de tabletas, grajeas, cápsulas, píldoras, y gránulos pueden ser preparadas con cubiertas y corazas tal como cubiertas entéricas y otras cubiertas bien conocidas en el oficio de formulación farmacéutica. Opcionalmente pueden contener agentes opacificantes y también pueden ser de una composición que libera el(s) ingrediente(s) activo(s) solamente, o preferencialmente, en cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, en una forma retardada. Ejemplos de composiciones de imbibición que pueden ser utilizadas incluyen sustancias poliméricas y ceras. Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden ser empleadas 60 como rellenos en cápsulas de gelatina duras y blandas utilizando dichos excipientes como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de peso molecular alto y similares.

65 Los compuestos activos también pueden estar en forma micro-encapsulada con uno o más excipientes como se registra arriba. Las formas de dosificación sólidas de tabletas, grajeas, cápsulas, píldoras, y gránulos pueden ser preparadas con cubiertas y corazas tal como cubiertas entéricas, cubiertas de liberación controlada y otras cubiertas bien conocidas en el oficio de formulación farmacéutica. En tales formas sólidas de dosificación el compuesto activo puede de ser mezclado con al menos un diluente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación también pueden comprender, como en la práctica normal, sustancias adicionales con excepción de diluentes iner-

tes, por ejemplo, lubricantes de tableteado y otros ayudantes de tableteado tales como magnesio estearato y celulosa microcristalina. En el caso de las cápsulas, tabletas y píldoras, las formas de dosificación también pueden contener agentes reguladores. Opcionalmente pueden contener agentes opacificantes y también pueden ser de una composición que libera solamente el(s) ingrediente(s), activo(s) o preferencialmente, en cierta parte del tracto intestinal, 5 opcionalmente, en una forma retardada. Ejemplos de composiciones de imbibición que pueden ser utilizadas incluyen sustancias poliméricas y ceras.

Las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, vaporizadores, inhalantes o parches. El componente 10 activo se mezcla bajo condiciones estériles con un excipiente farmacéuticamente aceptable y cualquiera de los preservativos o soluciones reguladoras necesarias como puedan ser requeridas. La formulación oftálmica, gotas para oídos, y gotas para ojos también se contemplan como parte del alcance de esta invención. Adicionalmente, la presente invención contempla el uso de los parches transdérmicos, que tienen la ventaja adicional de proporcionar la liberación controlada de un compuesto en el cuerpo. Tales formas de dosificación pueden ser hechas disolviendo o dispensando 15 el compuesto en el medio apropiado. Los mejoradores de absorción también se pueden utilizar para incrementar el flujo del compuesto a través de la piel. El índice puede ser controlado proporcionando una membrana que controla el índice o dispersando el compuesto en una matriz de polímero o gel.

Como se discute arriba, los compuestos de la presente invención son útiles como agentes anticáncer, y de esta 20 manera pueden ser útiles en el tratamiento de cáncer, ocasionando muerte de células tumorales o la inhibición del crecimiento de células tumorales. En general, los agentes anticáncer inventivos son útiles en el tratamiento de cánceres y otros desórdenes proliferativos, que incluyen, pero no limitan a cáncer de mama, cáncer de cerebro, cáncer de piel, cáncer cervical, cáncer del recto y de colon, leucemia, cáncer de pulmón, melanoma, mieloma múltiple, linfoma distinto al de Hodgkin, cáncer ovárico, cáncer pancreático, cáncer de próstata, y cáncer gástrico, para nombrar pocos. 25 En ciertas modalidades, los agentes anticáncer inventivos son activos contra las células de leucemia y células del melanoma, y de esta manera son útiles para el tratamiento de leucemias (por ejemplo, leucemia mieloide, linfocítica, promielocítica, mielocítica y linfoblástica, tanto en formas agudas o crónicas) y melanomas malignos. En aún otras modalidades, los agentes anticáncer inventivos son activos contra tumores sólidos y también matan y/o inhiben el 30 crecimiento de células con resistencia multifármaco (MDR células). En ciertas modalidades, los agentes anticáncer inventivos son activos contra cánceres que son resistentes a otros agentes anti-neoplásicos conocidos o que han sido encontrados que no responden clínicamente a otros agentes anti-neoplásicos conocidos. En otras modalidades, los agentes anticáncer inventivos son activos contra el cáncer los cuales son resistentes a otros agentes anti-neoplásicos que estabilizan el microtúbulo (por ejemplo, el paclitaxel).

35 También será apreciado que los compuestos y las composiciones farmacéuticas de la presente invención puedan ser empleados en terapias de combinación, es decir, los compuestos y las composiciones farmacéuticas se puedan administrar al mismo tiempo con, anteriormente a, o subsiguiente a, uno o más otros procedimientos terapéuticos o médicos deseados. La combinación particular de terapias (terapéuticos o procedimientos) para emplear en un régimen de combinación tomarán en cuenta la compatibilidad de los terapéuticos y/o procedimientos deseados y el efecto 40 terapéutico deseado para ser conseguido. También será apreciado que las terapias empleadas puedan lograr un efecto deseado para el mismo desorden (por ejemplo, un compuesto inventivo puede ser administrado al mismo tiempo con otro agente anticáncer), o pueden lograr diferentes efectos (por ejemplo, control de cualquiera de los efectos adversos).

45 Por ejemplo, otras terapias o agentes anticáncer que pueden ser utilizados en combinación con los agentes anticáncer inventivos de la presente invención incluyen cirugía, radioterapia (en solamente unos pocos ejemplos, γ -radiación, radioterapia con haz de neutrones, radioterapia con haz de electrones, terapia con protones, braquiterapia, y Isótopos radioactivos sistémicos, para nombrar algunos), terapia endocrina, modificadores de respuesta biológica (interferones, interleucinas, y factor de necrosis tumoral (TNF) para nombrar algunos), hipertermia y crioterapia, agentes para atenuar cualquiera de los efectos adversos (por ejemplo, antieméticos), y otros fármacos quimioterapéuticos aprobados, 50 que incluyen, pero no limitan a, fármacos alquilantes (mecloretamina, clorambucil, Ciclofosfamida, Melfalan, Ifosfamida), antimetabolitos (Metotrexato), antagonistas de la purina y antagonistas de la pirimidina (6-Mercaptourine, 5-Fluorouracil, Cytarabine, Gemcitabine), toxicidad spindle o de la célula husiforme spindle poisons (Vinblastine, Vincristine, Vinorelbine, Paclitaxel, Docetaxel), podofilotoxinas (Etoposide, Irinotecan, Topotecan), antibióticos (Doxorubicin, Bleomycin, Mitomycin), nitrosoureas (Carmustine, Lomustine), iones inorgánicos (Cisplatin, Carboplatin), 55 enzimas (Asparaginase), y hormonas (Tamoxifen, Leuprolide, Flutamide, y Megestrol); para nombrar algunos. Para una discusión más comprensiva de las terapias contra el cáncer actualizadas ver, <http://www.aci.uih.gov/>, una lista de la FDA de los fármacos en oncología aprobados en <http://www.fda.gov/cder/cáncer/druglistframe.htm>, y The Merck Manual, Seventeenth Ed. 1999.

60 También se ha proporcionado un paquete o kit farmacéutico que comprende uno o más recipientes rellenos con uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas de la invención, puede, incluir un agente terapéutico aprobado adicional para usar como terapia de combinación. Opcionalmente asociado con tal recipiente(s) puede estar una información en la forma prescrita por una agencia del gobierno regulando la fabricación, uso o venta de los 65 productos farmacéuticos, información que refleja la aprobación por la agencia de la fabricación, el uso o venta para la administración humana.

Equivalentes

Los ejemplos representativos que siguen tienen la intención de ayudar a ilustrar la invención, y no tienen la intención, ni deben ser interpretados para, limitar el alcance de la invención. De hecho, varias modificaciones de la invención y muchas otras modalidades de esta, además de aquellas mostradas y descritas en esta, serán evidentes para aquellos de habilidad en el oficio a partir del contenido completo de este documento, incluyendo los ejemplos que siguen y las referencias a la literatura científica y de la patente citada aquí.

Los siguientes ejemplos contienen información adicional importante, la exemplificación y la dirección que pueden ser adaptadas a la práctica de esta invención en sus varias modalidades y equivalentes de esta.

Ejemplificación

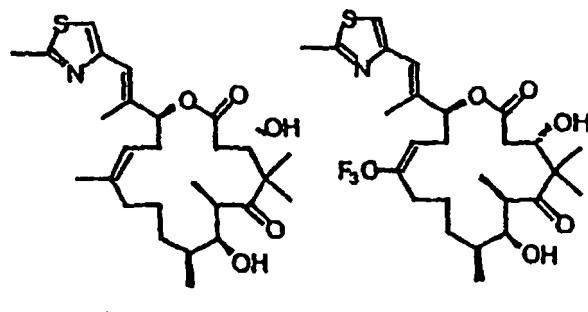
15 Ejemplo 1

Síntesis de 9,10-dihidro-12,13-desoxi-epotilones

Este Ejemplo describe la síntesis del *trans*-9,10-dihidro-12,13-desoxiepotilone B, 26-trifluoro-*trans*-9,10-dihidro-12,13-desoxiepotilone B, 26-trifluoro-12,13-desoxiepotilone B, y 12,13-desoxiepotilone B y la experimentación biológica de estos compuestos.

Los derivados fluorinados de los epotilones se prepararon y probaron dando la farmacocinética mejorada y el índice quimioterapéutico de otros agentes medicinales con sustituciones de flúor (Ojima, I.; Inoue, T.; Chakravarty, S.; *J. Fluorine Chem.* **1999**, 97; Newman, R. A.; Yang, J.; Finlay, M. R. V.; Cabral, F.; Vourloumis, D.; Stephens, L. C.; Troncoso, P.; Wu, X.; Logothetis, C. J.; Nicolaou, K. C.; Navone, N. M. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2001**, 48, 319-326).

30



40

45

Para alcanzar el compuesto 2, intentamos tomar ventaja de una ruta altamente convergente reportada recientemente de nuestro laboratorio para la síntesis del epotilone 490 (6, dihidrodeoxi Epo B) en la ruta al dEpoB (1, Esquema 3) (Biswas, K.; Lin, H.; Njardarson, J. T.; Chappell, M.D., Chou, T.C., Guan, Y.; Tong, W. P., He, L.; Horwitz, S.B., Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124 (33); 9825-9832; Rivkin, A.; Njardarson, J. T.; Biswas, K; Chou, T.C.; Danishefsky, S. J. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 7737-7740). En esa síntesis, introdujimos un grupo vinilo de flanqueo en el compuesto 4 vía un acoplamiento estereoespecífico Stille de un precursor de yoduro de vinilo 3 con hidruro de estaño tri-*n*-butylvinilstannane. La metátesis con cierre del anillo seguido por la desprotección dirigida a 6, que luego se transforma en dEpoB (1) vía una reducción con diimida regioselectiva.

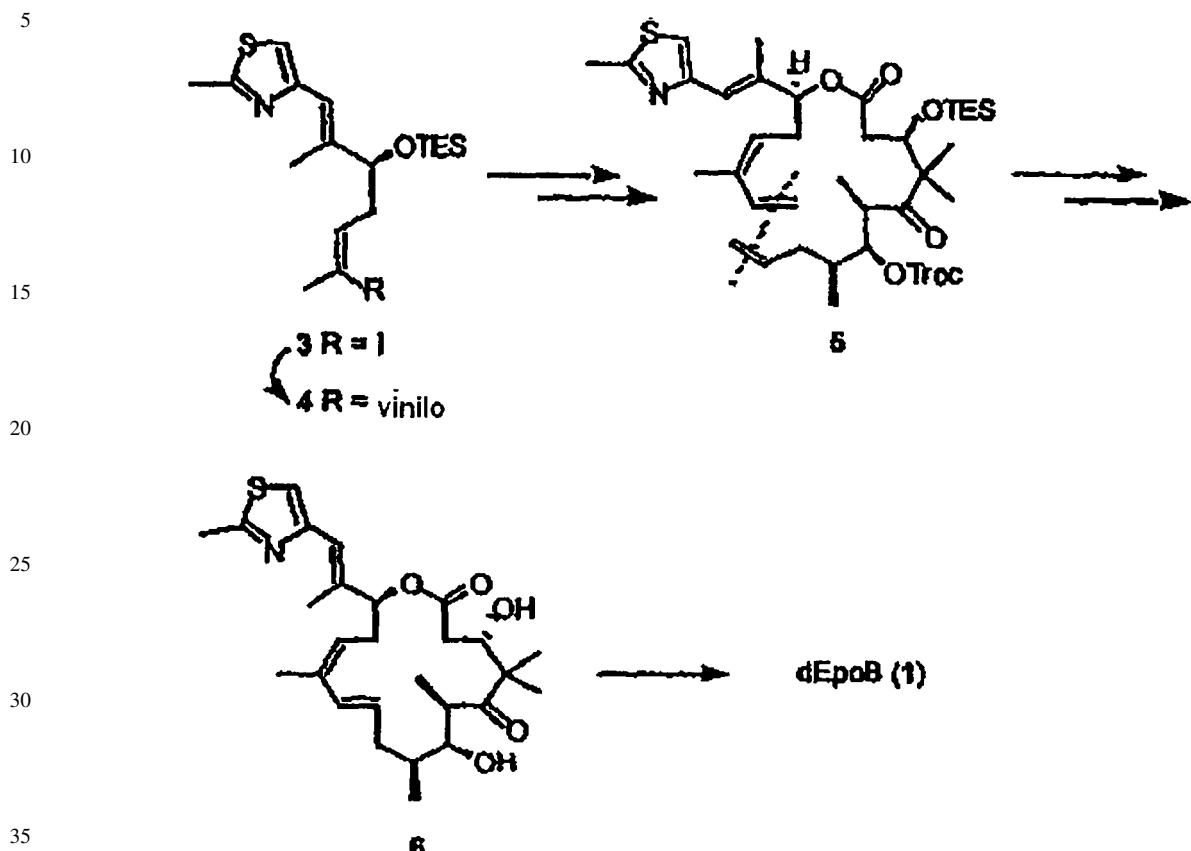
55

60

65

Esquema 3

Síntesis del Epotilone 490



40 La atención primero fue dirigida a la síntesis de 15 (Esquema 4). La alquilación del enolato de litio de 7 reportado
previamente (Chappell, M. D.; Stachel, S. J.; Lee, C. B.; Danishefsky, S. J. *Org. Lett.* **2000**, 2(11), 1633-1636) con
yoduro 8 (sintetizado a partir del conocido alcohol 16 utilizando TMSI en cloruro de metileno) proporciona 9 en
una producción del 78% y diastereoselectividad alta (>25:1 de). El compuesto 9 fue propuesto en tres etapas para
10 como se muestra. Los ensayos para lograr la adición de bromuro de metilmagnesio al enlace de la amida de
Weinreb de 10 fallaron. El fracaso de esta reacción se atribuyó a la presencia del enlace yodoalqueno. Sin embargo
45 podríamos lograr nuestro objetivo cambiando el orden de estas dos etapas que forman el enlace CC. Así, la reacción
de 10 con el viniltributyltin bajo las condiciones de Stille entonces podría ser seguida por la adición del reactivo de
Grignard metil para dar la deseada cetona 11. La condensación de la cetona 11 con óxido de fosfina 12, seguido por la
desprotección del trietilsilil éter, proporciona el fragmento 13 en buena producción. La esterificación del 13 resultante
50 con un fragmento ácido C1-C10 14 (Biswas, K.; Lin, H.; Njardarson, J. T.; Chappell, M.D., Chou, T.C., Guan, Y.;
Tong, W. P.; He, L.; Horwitz, S.B.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124 (33); 9825-9832; Rivkin, A.;
Njardarson, J. T.; Biswas, K.; Chou, T.C.; Danishefsky, S. J. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 7737-7740) proporcionando el
deseado 15, en una producción del 75% (Esquema 4).

55

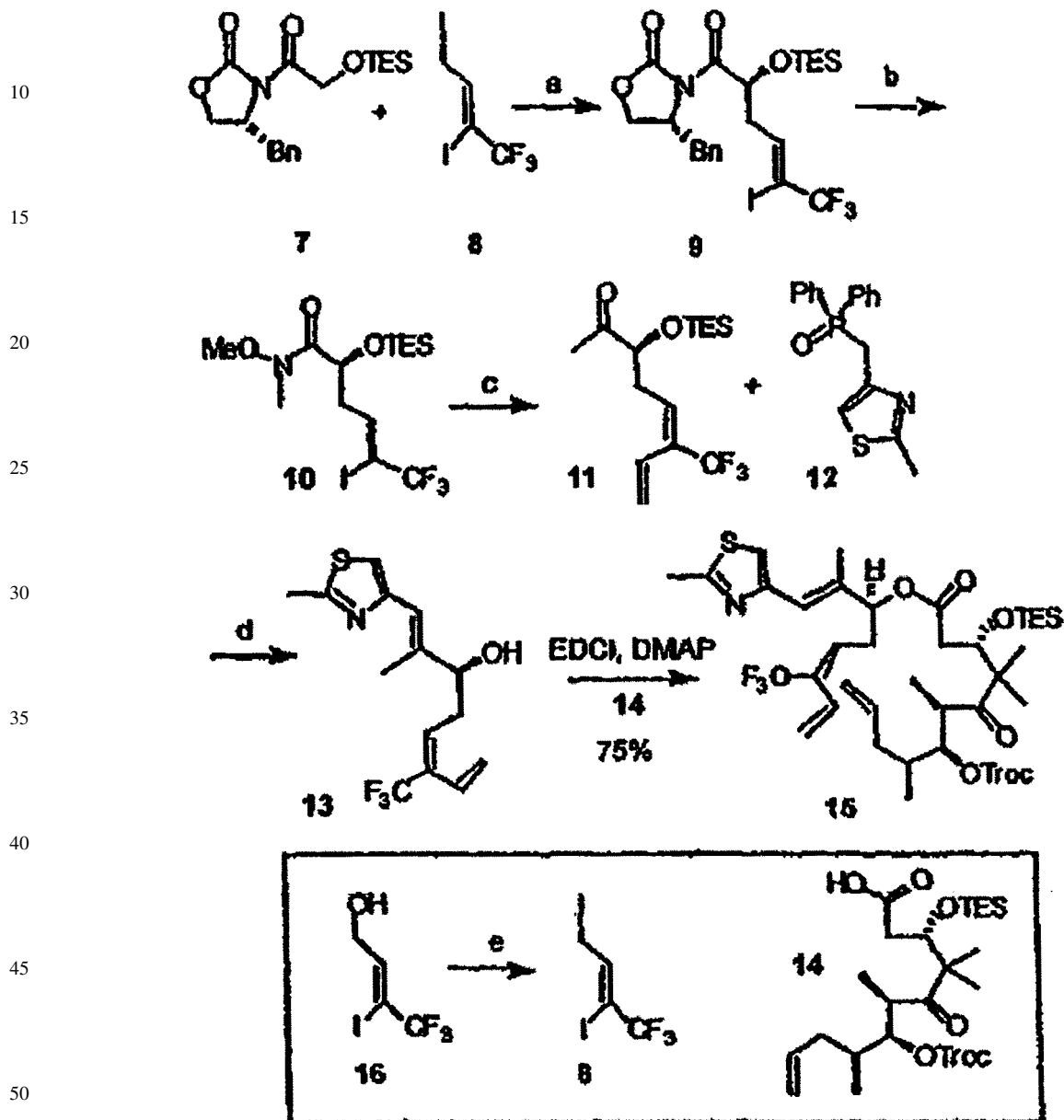
60

65

Esquema 4

Síntesis del precursor RCM 15

5



55

(a) LHMDS, -78 °C, 78%; (b) i) HOAc:THF:H₂O (3:1:1); ii) CH₃ONHCH₃, AlMe₃; iii) TESCl, imidazol, DMF, 79% overall; (c) i) Vinyltributyltin, Pd(dba), DMF, 80 °C, 3h 43%; ii) MeMgBr, 0 °C, 94%; (d) i) *n*-BuLi, THF, -78 °C, 30 min., ii) 12, -78 °C to rt, 81%; iii) HOAc:THF:H₂O (3:1:1), 94%; (e) TMSI, CH₂Cl₂, 0 °C, 82%

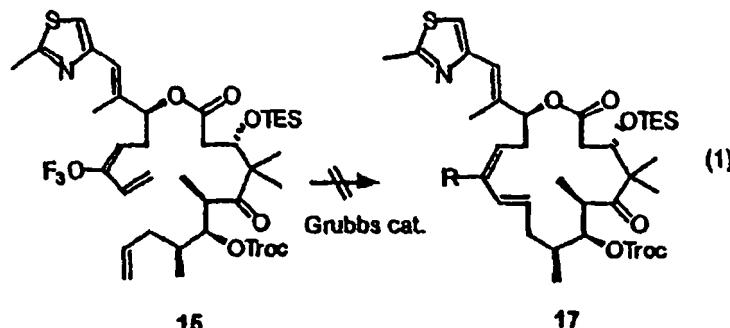
65

Desafortunadamente, los ensayos para realizar la reacción de metátesis del cierre del anillo de 15 utilizando el catalizador de Grubbs de segunda generación (Revisión: Grubbs, R. H.; Miller, S. J.; Fu, G. C. *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 446; Trnka, T. M.; Grubbs, R. H. *Acc. Chem. Res.* **2001**, 34, 18; Alkene Metathesis in Organic Chemistry

Ed.: Fürstner, A.; Springer, Berlin, **1998**; Fürstner, A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 3012; Schrock, R. R. *Top. Organomet. Chem.* **1998**, *1*, 1) en cloruro de metileno dirigido primariamente a la dimerización aparente del material inicial (Ecación 1). Dado el hecho de que la RCM trabaja bastante bien en la fijación relacionada de 5 → 6, naturalmente atribuimos la falla en el caso de 15 a la presencia del grupo trifluorometil en el C12.

5

10



15

20

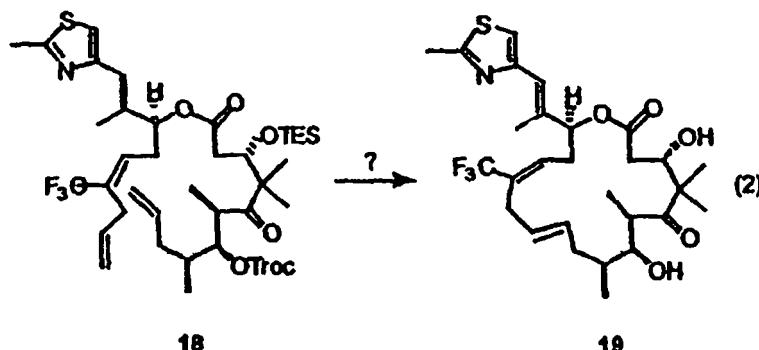
Fue supuesto que el impacto perjudicial del sustituyente 26-trifluoro residente en la reacción deseada, pudo ser aliviado adicionando un espaciador de carbono entre el centro de la reacción del RCM y el grupo trifluorometil. Por consiguiente, emprendimos la síntesis de 19 (Ecación 2) vía la metátesis del cierre del anillo de 18, que plantearía el grupo trifluorometil en el contexto de un anillo de 17-miembros que contiene un (1,4)-dieno enviado.

25

30

35

40



El programa de síntesis se dirigió a 19 comenzando con la preparación del compuesto 21, que corresponde al sector O-alquilo de nuestro sustrato RCM propuesto (Esquema 5). Comenzamos con la allilación de 10, esta vez bajo las condiciones de la reacción del radical como se muestra (Keck, G. E.; Yates, J. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5829; revisión: Curran, D. P. *Synthesis* **1988**, Part 1, pp 417-439; Part 2, pp. 489).

55 Esta conversión fue seguida por la reacción del producto alquilado con bromuro de metil magnesio, de esta manera se proporciona la requerida cetona 20. La condensación de este compuesto con el óxido de fosfina 12, seguido por la desprotección de la función triethylsilyl éter proporciona el 21 en una buena producción.

55

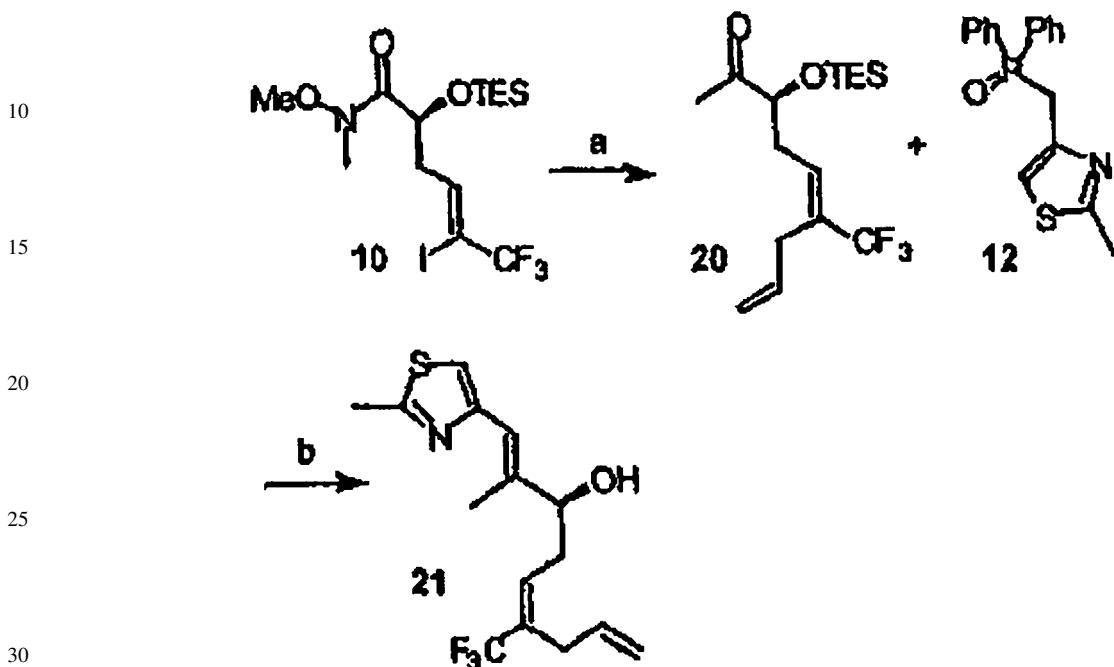
60

65

Esquema 5

Síntesis del fragmento de alcohol 21

5



35

(a) I) Allyltributyltin, AIBN, benceno, 80 °C, 3h 74%; II) MeMgBr, 0 °C, 93%; (b) I) 12, *n*-BuLi, THF, -78 °C, 30 min., II) 20, -78 °C a rt, 85%; III) HOAc:THF:H₂O (3:1:1), 98%; (c) TMSI, CH₂Cl₂, 0 °C, 92%

40

45

La esterificación de 21 con el fragmento ácido C1-C10 de 14, proporciona el precursor RCM propuesto 18 con una producción del 75% (Esquema 6). Felizmente en este caso, la reacción de metátesis del cierre del anillo de 18 podría lograrse utilizando el catalizador de Grubbs de segunda generación en cloruro de metileno. Como en el caso de la conversión de 5 → 6, la reacción proporciona exclusivamente el isómero *trans* 22 con una producción del 57%.⁶ Finalmente, la división reductiva del grupo protector trifluorometoxi con zinc y ácido acético, seguido por la desprotección del éter TES con HF-piridina, proporcionando el deseado 19 que contiene una función trifluorometil en el C12, a pesar del contexto de las series de un anillo de 17-miembros.

50

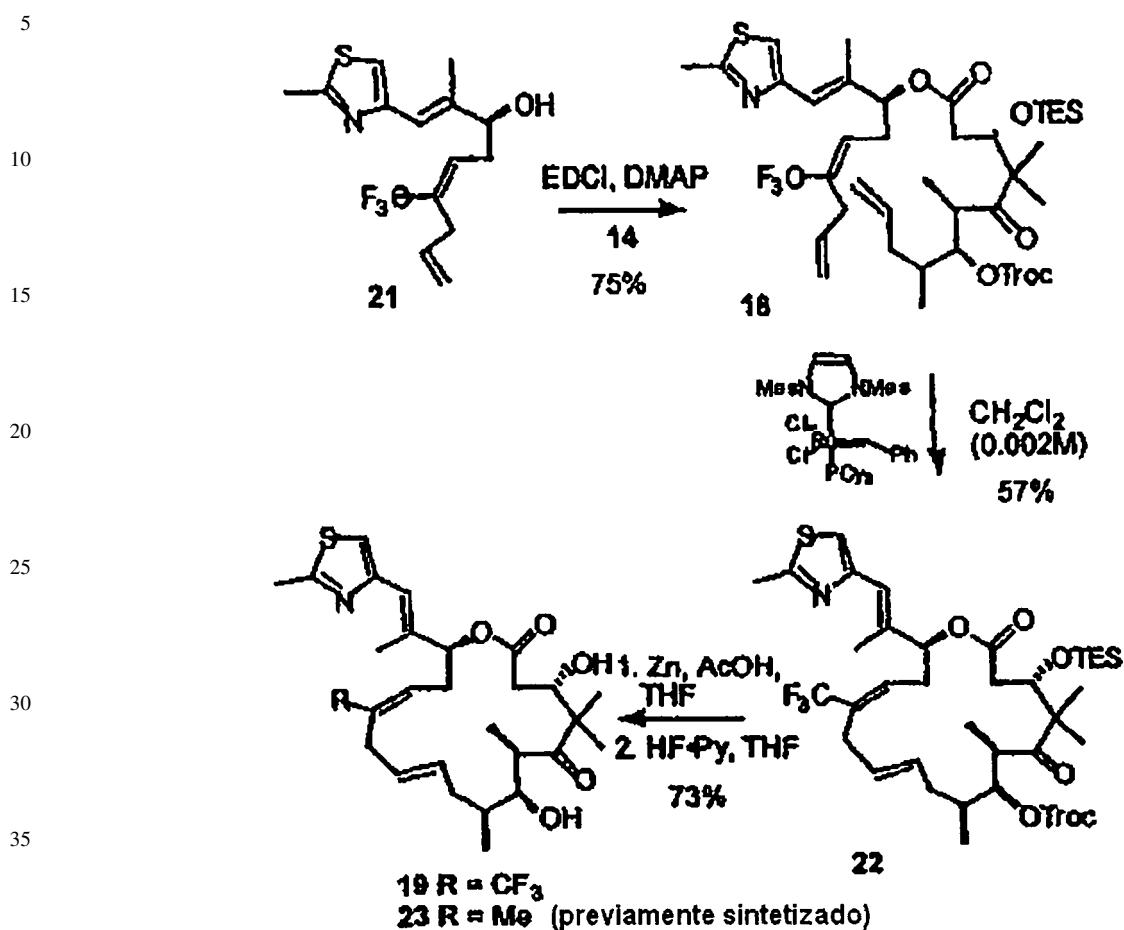
55

(Esquema pasa a página siguiente)

60

65

Esquema 6

Síntesis del 27- F_3 -ddEpoB (19)

El sintético 19 se evaluó según su actividad citotóxica. Como se muestra en la Tabla 1-1 abajo, la comparación directa de el [17] dEpoB previamente reportada (23) con el 27- F_3 -[17] ddEpoB (19) indicó que el nuevo compuesto perflorinado posee una comparativamente potencia citotóxica alta.

TABLA 1-1

Citotoxicidad *in vitro* (IC_{50}) con líneas celulares^a tumorales

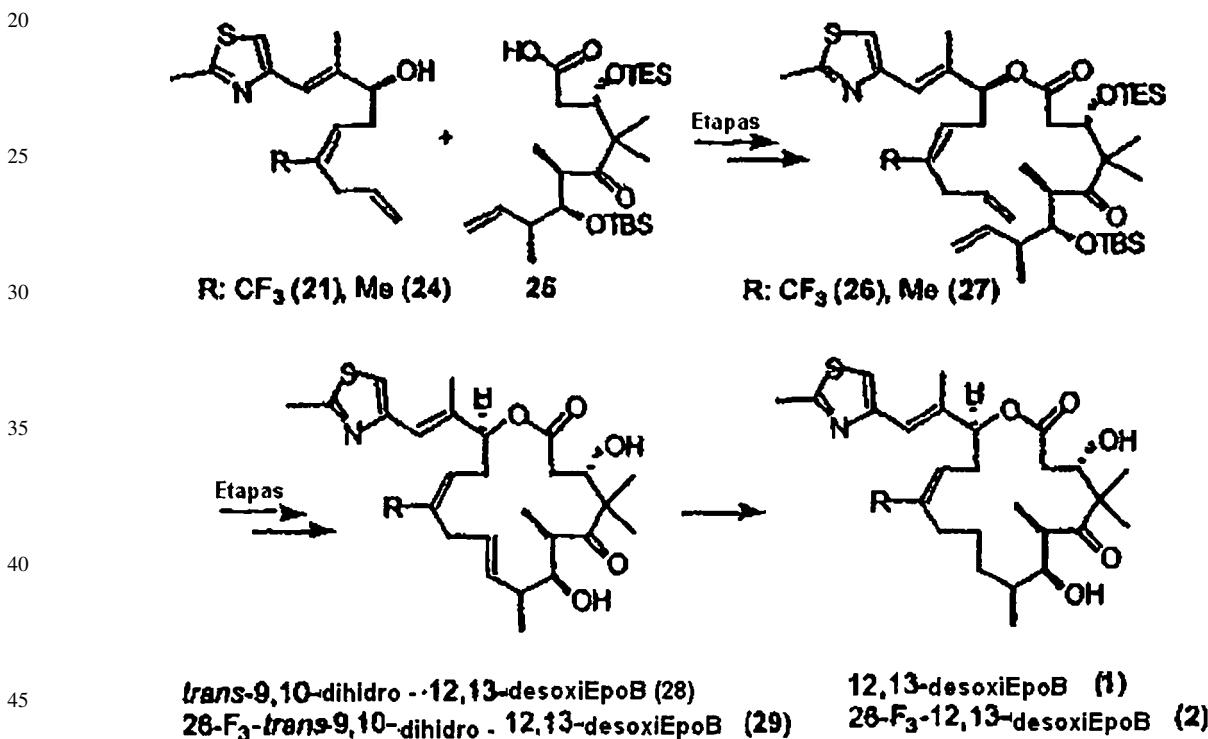
Compuesto	CCRF-CEM (IC_{50} (μ M) ^a)	CCRF-CEM/VBL (IC_{50} (μ M) ^a)
27- F_3 -[17]ddEpoB (19)	0.068	0.191
[17]ddEpoB (23)	0.040	0.126
[16]ddEpoB (6)	0.020'	0.068

Ensayo ^aXTT siguiendo una inhibición de 72 h. CCRF-CEM es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda de célula-T humana. Las líneas celulares CCRF-CEM/VBL₁₀₀, CCRF-CEM/VBL₁₀₀ y CCRF-CEM/Taxol todas sobreexpresar P-glicoproteína y muestran un fenotipo resistente a multifármacos para oncolíticos asociados a MDR (Ojima, I.; Inoue, T.; Chakravarty, S.; *J. Fluorine Chem.* 1999, 97; Newman, R. A.; Yang, J.; Finlay, M. R. V.; Cabral, F., Vourloumis, D.; Stephens, L. C.; Troncoso, P.; Wu, X.; Logothetis, C. J.; Nicolaou, K. C.; Navone, N. M. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2001, 48, 319-326).

Sin embargo la sustitución isotérica del trifluorometil tuvo un pequeño efecto en la actividad citotóxica gruesa, los datos preliminares de los estudios de degradación metabólica en plasma de ratón mostraron que 19 es notablemente más estable que el 23 primario. La exposición de los epotilones 19 y 23 al plasma de ratón desnudo y humano conduce a la degradación de 23 dentro de 30 minutos, mientras que el epotilone 19 permanece intacto en su mayor parte. Dado 5 que los puntos farmacocinéticos son probablemente críticos en el uso actual de cualquier agente del epotilone como fármaco, tomamos que este hallazgo es bastante alentador.

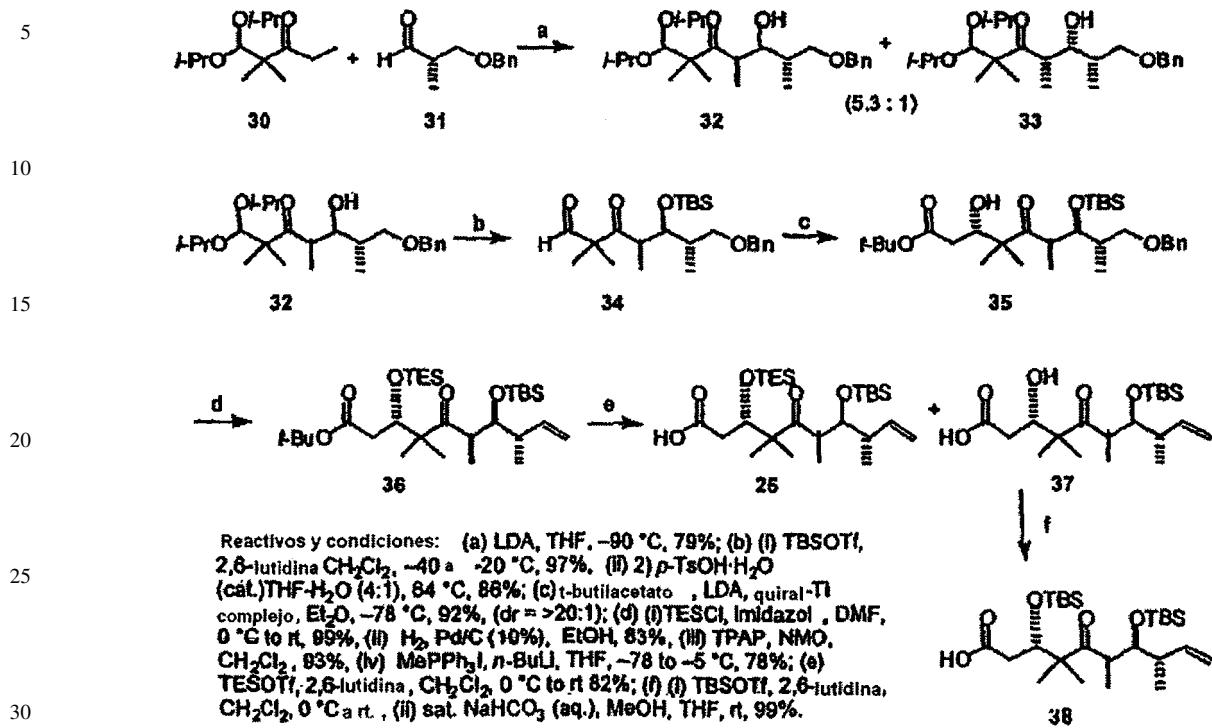
La síntesis del 26-F₃-dEpoB (2) podría lograrse por medio de un método altamente convergente, a fin de que sea 10 empleado en la síntesis del 27-F₃-[17] ddEpoB (19). Por consiguiente, los fragmentos de similar complejidad servirán como clave en los bloques de construcción (Esquema 7). Visualizamos que el sector acil 25, podría servir como el 15 dominio polipropionato y el sector alquilo 21 o 24 sería preparado según lo descrito previamente en la introducción. La unión de los dos fragmentos 21 (24) y 25 sería iniciada a través de una esterificación y cumplida vía una subsiguiente metátesis de cierre del anillo. Finalmente, la división de los grupos protectores proporcionaría los deseados análogos 28 y 29. La reducción quimioselectiva de la 9,10-olefina de 28 y 29 proporcionaría el dEpoB (1) y el deseado 26-F₃-12,13-desoxiEpoB (2).

Esquema 7



50 La síntesis de 1 y 2 se inicia con la preparación del sector acil de 25. La cetona 30, previamente reportada, se sometió a una reacción aldol con el aldehído fácilmente disponible 31. Bajo la desprotonación y la reacción del "litio" de 30 con 31, la condensación suave dio origen a una mezcla 5.3:1 de los productos aldol 32 y 33. El principal diastereoisómero 32 fácilmente se separó por cromatografía instantánea y se protegió como un silyl éter TBS. La hidrólisis 55 del grupo diisopropil acetal bajo catálisis ácida dio el aldehído ceto 34, la fijación de la etapa para la segunda reacción aldol. Siguiendo el método ter-butil éster "titano" practicado previamente, con el nuevo aldehído 34 como el acoplamiento asociado, el deseado producto aldol 35 se obtuvo de una diastereoselectividad alta (dr > 20: 1) y una producción de (86%). La protección del alcohol del C3 de 35 con un grupo silyl TES fue seguido por la desprotección del benzil éter. La oxidación del hidroxi primario resultante proporciona el aldehído correspondiente, que luego fue convertido a una olefina terminal vía una reacción de Wittig para proporcionar 36 con una alta producción. Finalmente, la hidrólisis 60 del t-butil éster de 36 con TESOTf proporciona el sector acil 25 (82%) junto con un producto-secundario 37 (14%), que fue convertido en el sector acil 38 con una alta producción. Las propiedades espectrales y cromatográficas de 38 fueron idénticas al material obtenido previamente de otros programas en Dr. Sinha's laboratories (Scripps).

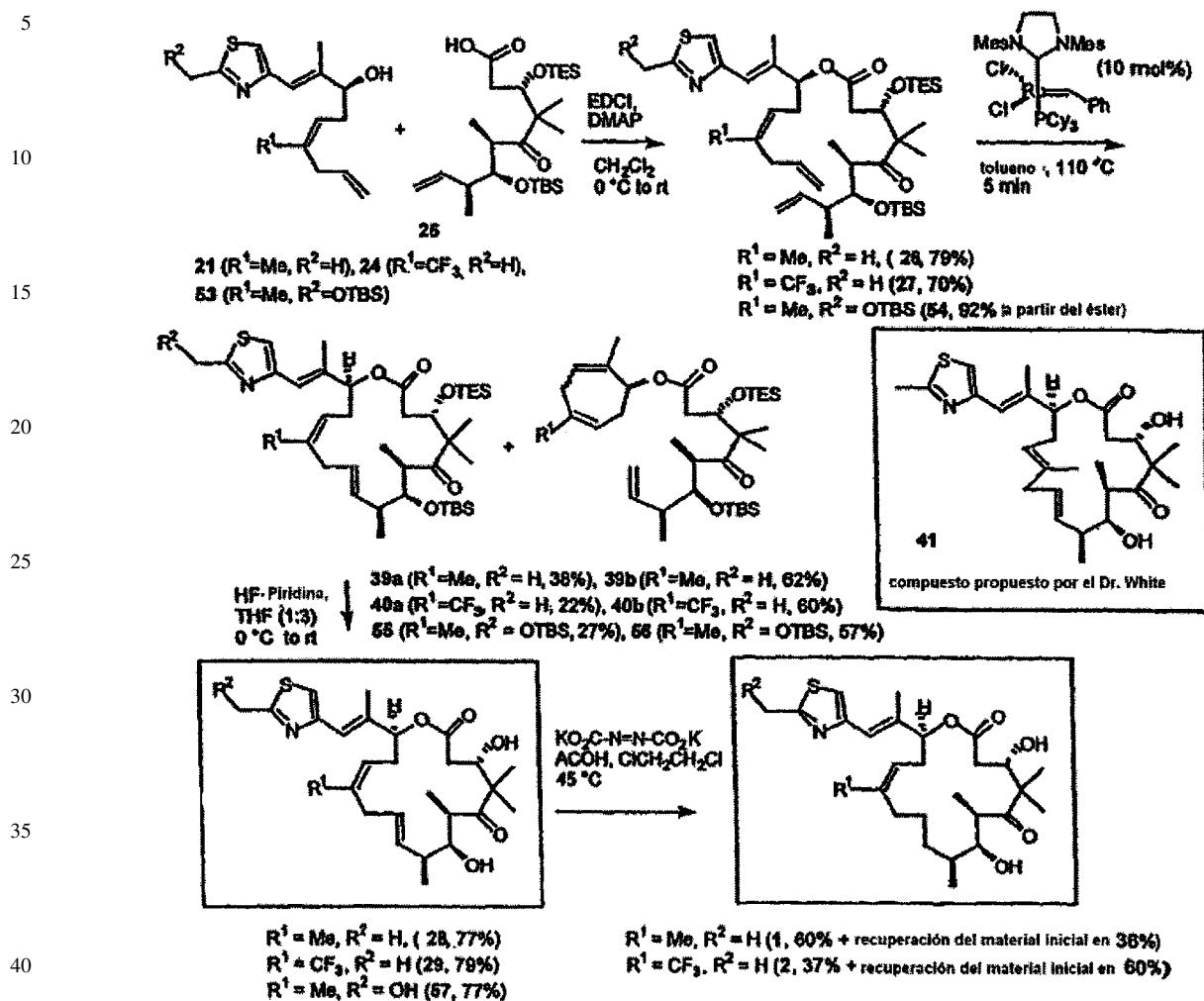
Esquema 8



La esterificación de los alcoholes alílicos 21 y 24 con el fragmento ácido C1-C9 25 proporciona los correspondientes precursores de ciclización de RCM 26 y 27, respectivamente (Esquema 9).

(Esquema pasa a página siguiente)

Esquema 9



Las reacciones de metátesis del cierre del anillo 26, 27 y 54 luego se realizaron utilizando el catalizador de Grubbs de segunda generación en tolueno, que proporciona, como en nuestro estudio previo, exclusivamente el isómero *trans* 39a, 40a, y 55 junto con los correspondientes productos secundarios 39b, 40b, y 56. Finalmente, la desprotección de silyl éteres con HF-piridina dirigido a los compuestos deseados 28, 29, y 57. Las propiedades espectrales y cromatográficas de 28 no fueron idénticas al material obtenido previamente del programa epotilone en Dr. James D. White's laboratories (Oregon State University). El Dr. James D. White pensaba que había sintetizado el compuesto 28, sin embargo inadvertidamente el fabricó en lugar de este el 12,13E isómero 41, lo que podría explicar la pobre actividad biológica que el observó. Por consiguiente, fuimos los primeros en haber sintetizado el compuesto 28 y en probar su actividad antitumor.

Los completamente sintéticos 28, 29, y 2 han sido evaluados contra una variedad de tipos de células para determinar su potencial antitumor. Como se muestra en la Tabla 1-2, los tres compuestos muestran una alta actividad citotóxica contra una variedad de líneas celulares tumorales sensibles y resistentes. La comparación directa de 28 con el dEpoB previamente reportada (1) indica que el nuevo compuesto posee aproximadamente tres veces más potencia.

TABLA 1-2

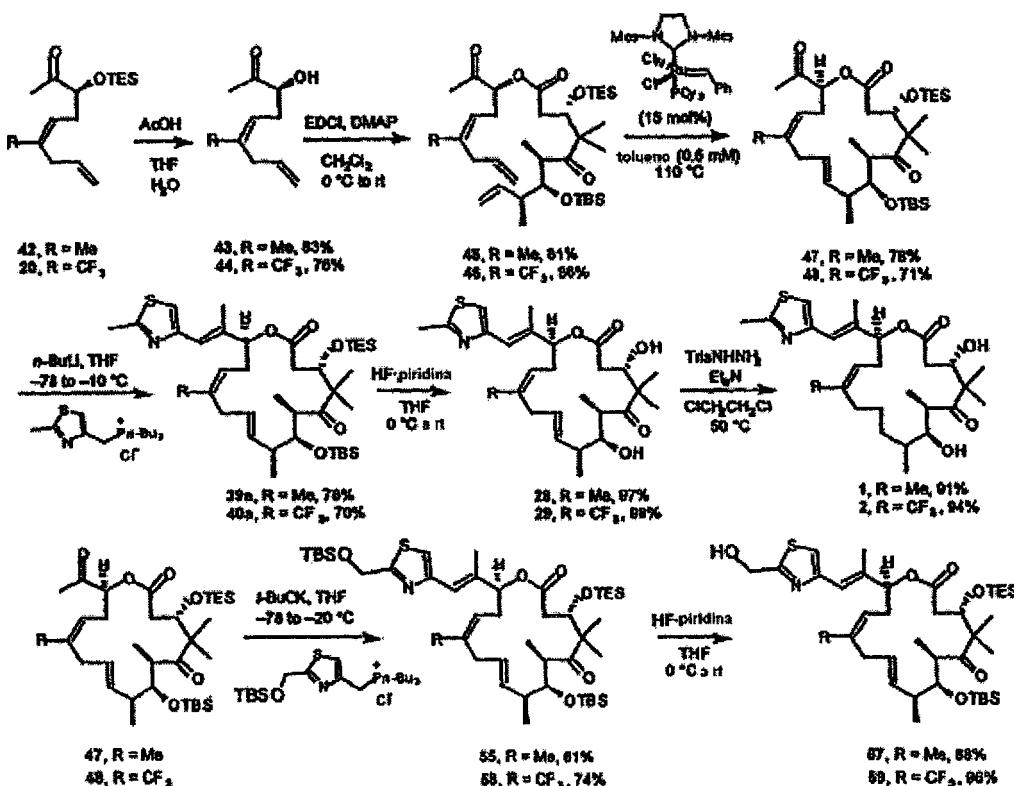
Citotóxicidad *in vitro* (IC_{50}) con líneas celulares tumorales^a

Líneas Celulares Tumorales	IC_{50} (μM) ^a			
	28	29	dEpoB (1)	57
CCRF-CEM	0.0014	0.0035	0.0036	0.00051
CCRT-CBM/VBL ₁₀₀	0.0065	0.0210	0.014	0.0106
CCRF-CEM/ _{Taxol}	0.0017	0.0057	0.0057	0.00073

^aXTT ensayo siguiendo 72 h inhibición. CCRF-CEM es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda de célula-T humana. Las líneas celulares CCRF-CEM/VBL100, CCRF-CEM/VM1 y CCRF-CEM/_{Taxol} todas sobreexpresan P-glicoproteína y muestran una resistencia multifármaco fenotípico para oncolíticos MDR-asociados. (Ptié, G.; Thibonnet, J.; Abarbri, M.; Duchêne, A.; Parrain, J. *Synlett* 1998, 839; incluido en esta por referencia).

Para mejorar la producción total de nuestra síntesis de 28, 29, y 2, decidimos realizar la reacción RCM en la ausencia de la olefina sustituida de tiazol y al actuar así evitamos la formación de los indeseados productos secundarios 39b y 40b. La desprotección del silil éter del previamente reportado 42 y 20 proporciona las hidroxicetonas 43 y 44. La esterificación de las hidroxicetonas resultantes 43 y 44 con fragmento ácido C1-C9 25 proporciona los precursores RCM correspondientes de ciclización 45 y 46, respectivamente (Esquema 10). La reacción de metátesis del cierre del anillo de 45 y 46 luego se realizó utilizando el catalizador de Grubbs de segunda generación en tolueno, lo cual proporciona, como en nuestro estudio previo, exclusivamente el isómero *trans* 47 y 48 con una alta producción. La instalación de la fracción tiazol dio el 39a, 40a, y 55 con una alta producción. La desprotección de los dos silil éteres con HF-piridina conduce a 28 y 29. Finalmente, la reducción selectiva de la olefina C9-C10 proporciona los epotilones correspondientes 1 y 2. La estructura de 28 fue rigurosamente corroborada por su alta producción de conversión a 1. La síntesis total de 1 ha sido simplificada muy sustancialmente relativa a las rutas practicadas previamente. Así el uso del fácilmente disponible 31, obtenido de la mezcla quiral, es ciertamente una gran mejora relativa a la confianza sobre el (S)-2-metilo-4-pentenal cuya síntesis requiere que intervengan auxiliares quirales.

Esquema 10



ES 2 281 692 T3

Con el compuesto 28 de la estructura probada rigurosamente a mano, nos sorprendimos al encontrar que sus propiedades espectrales no fueron congruentes con aquellas previamente reportadas para un compuesto presumido para ser la misma entidad. Sin embargo es claro en retrospectiva que el 28 no ha sido previamente preparado y, de hecho la familia entera de los (E)-9,10-dihidroepothilones reportada aquí es una nueva clase de compuestos.

5 Los análisis de los análogos sintéticos (2, 28, y 29), en entornos de cultivo celular, revelan efectos inhibitorios fuertes sobre varias líneas celulares tumorales MDR y sensibles que se muestran por nuestra entrada clínica dEpoB (1) (Tabla 1-3). Observamos que el Epo 3 (28) es el primer compuesto 12,13-desoxiepotilone que posee sustancialmente citotoxicidad mejorada relativa a aquella del dEpoB (1).

10

TABLA 1-3

Citotoxicidad in vitro (IC₅₀) con líneas Celulares Tumorales^a

15

Compuesto	CCRF-CEM(C) (μ M)	C/VBL ₁₀₀ (μ M)	C/Taxol (μ M)
Epo 1 (1, dEpoB)	0.0036	0.016	0.0046
Epo 2 (2)	0.0041	0.080	0.018
Epo 3 (28)	0.0009	0.0042	0.0012
Epo 4 (29)	0.0035	0.0210	0.0057

^aXTT ensayo siguiendo 72 h de inhibición. CCRF-CEM es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda de célula-T humana. La línea celular CCRF-CEM/VBL100 es resistente para vinblastina y CCRF-CEM/Taxol al taxol.

30

35

40

La impresionante inhibición del crecimiento celular mostrada por los epotilones 2, 28 y 29 (Epo 2-4) a través de un rango de varios tumores fármaco-resistentes impulsó a la determinación de la estabilidad del plasma sanguíneo de estos nuevos (E)-9,10 congénères. Por ejemplo el recientemente descrito (E)-10,11-dihidro-dEpoB (del caso 1 con un grupo CH₃ en el C-12) muestra muy pobre estabilidad del plasma con respecto a la abertura de la lactona. Es esta inestabilidad del plasma la que ha reprimido el avance de (E)-10,11-dihidro-dEpoB. Por el contrario, bajo la exposición de 2, 28 y 29 (Epo 2-4) al plasma de murina, observamos una degradación mucho más lenta del fármaco con respecto al dEpoB (1) por un factor de siete. Esta estabilidad constituye un avance sustancial de una perspectiva de la disponibilidad fármaco relativo al dEpoB (ver Figura 9).

45

La combinación de los datos de citotoxicidad y estabilidad del plasma nos animaron a sintetizar cantidades sustanciales de 28 (Epo 3) para determinar su eficacia *in vivo*, en ratones desnudos que llevan xenoinjertos de tumor humano. El epotilone 28 (Epo 3) demostró una marcada potencia mejorada en la inhibición sobre el crecimiento de tumores implantados, relativo a dEpoB (ver Figura 10). La mejorada potencia y estabilidad del plasma permite una reducción muy sustancial de la dosificación del fármaco (una orden de magnitud) en el contexto de xenoinjertos de 28 (Epo 3).

50

55

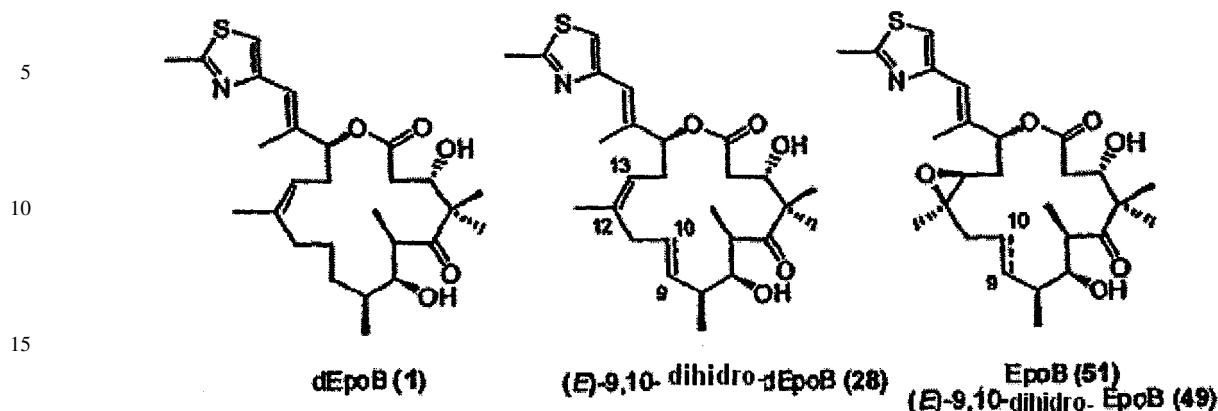
En nuestros primeros estudios habíamos encontrado que el epotilone B, por medio del 12,13 epóxido, es significativamente más citotóxico que su análogo 12,13-desoxi (dEpoB). Sin embargo, a partir de la perspectiva del índice terapéutico, el compuesto desoxi parece para nosotros que es mucho más prometedor. Más recientemente, reportamos la síntesis total del (E)-9,10-dihidro-12,13-desoxiepotilone B (28) utilizando una metátesis de cierre del anillo estereoselectiva. Mostramos que la incorporación de la instauración E-9,10 en el contexto de la usual Z-12,13 olefina (ver compuesto 1) resulta en un gran incremento de la potencia *in vitro*. Más en el punto, esto es traducible a una fijación *in vivo* en ratones con xenoinjertos. Por otra parte, el compuesto 28 goza de ventajas farmacéuticas principales relativas a dEpoB (1). Esto permitió la reducción de los niveles dosificación para 28 relativo a 1 en los experimentos de xenoinjerto para ser reducido en una orden de magnitud.

60

Por consiguiente, nos preguntábamos si la incorporación de la olefina C9-C10 en el epotilone B (51, EpoB) alteraría su perfil biológico en la misma dirección.

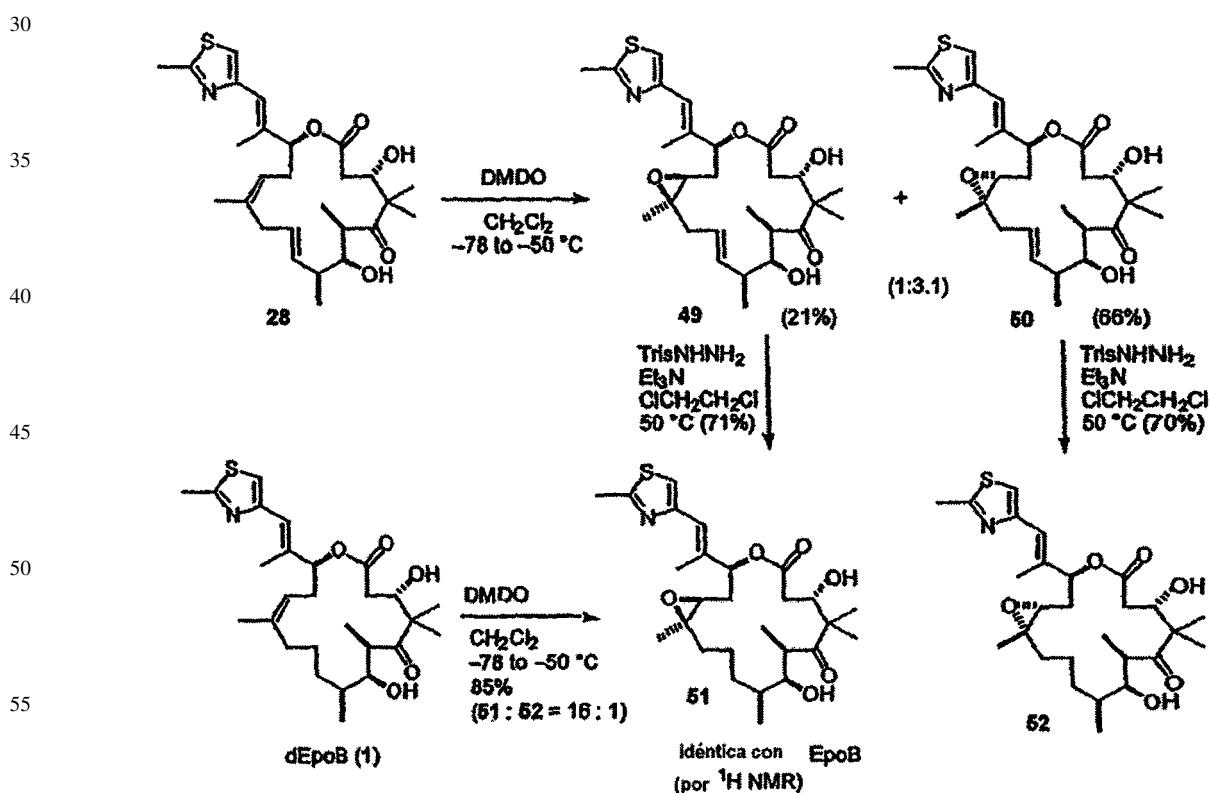
65

Producción comparativa del Compuesto 51



20 La epoxidación de 28 con 2,2'-dimetildioxirano (DMDO) prosigue con alta quimioselectividad en la olefina C12-C13 más sustituido para dar una producción del 87% de una relación 1:2.6 del (E)-9,10-dihidroepitolone B (49) y su diastereómero (50). La estereoquímica de los epóxidos se determinó por reducción diimida selectiva de los dobles enlaces C9-C10. El análisis de las propiedades espectrales de estos productos reveló el producto menor (49) para ser dEpoB. La preferencia para la α -epoxidación en el caso de 28 radica en el notable contraste a la epoxidación altamente estereoselectiva del dEpoB, que ocurre a partir de la cara β conduciendo a EpoB (Meng, D.; Bertinato, P.; Balog, A.; Su, D.-S.; Kamenecka, T.; Sorensen, E. J.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10073).

Esquema 11



60 El (E)-9,10-dihidroepotilone B (51) se evaluó contra una variedad de tipos de células para determinar su potencial antitumor. Según se muestra en la Tabla 1-4, (E)-9,10-dihidroepothiloneB (49) exhibe alta actividad citotóxica contra una variedad de líneas celulares tumorales sensivas y resistentes. La comparación directa de 49 y el EpoB (51) indica que este nuevo análogo posee aproximadamente 3-veces más potencia que el EpoB (51) haciendo de este uno de los más potentes análogos del epotilone reportados hasta la fecha. Interesantemente, las series α -epóxido (50, 52) mostraron una actividad mucho menor que el EpoB (51). La gráfica abajo muestra los hallazgos para estudios *in vivo* del compuesto 49.

ES 2 281 692 T3

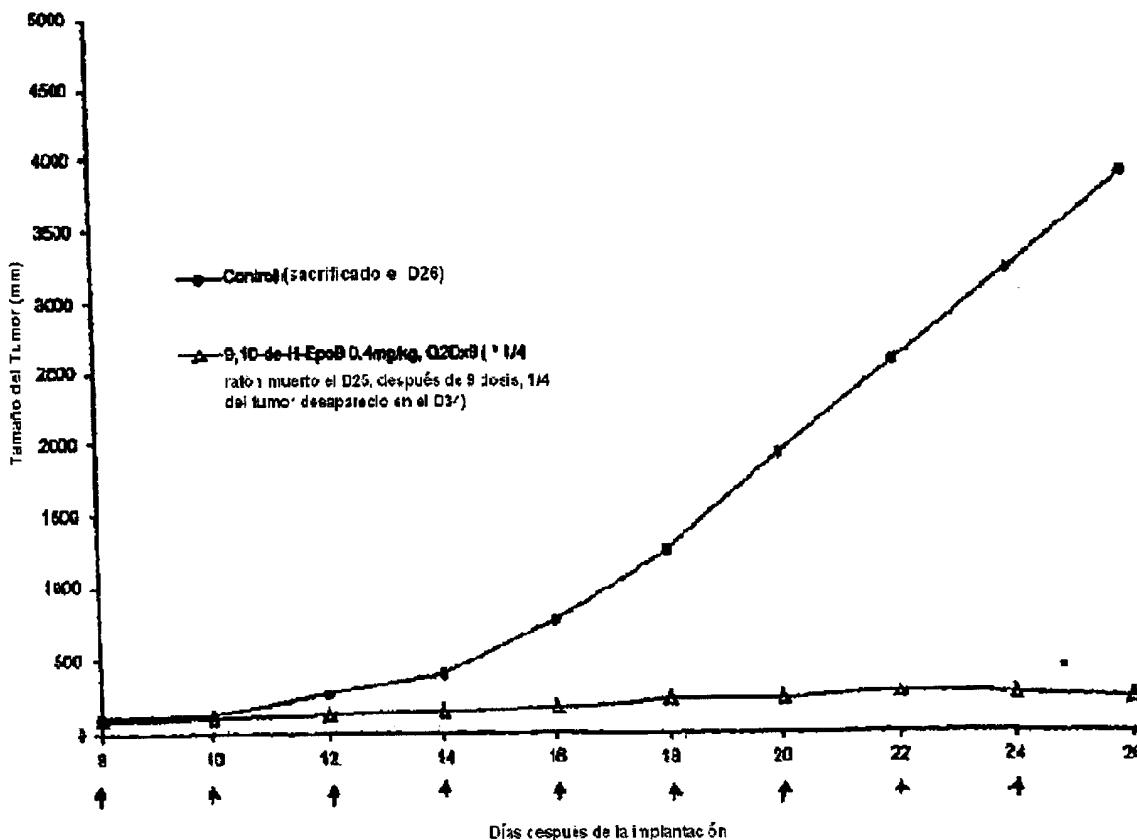
TABLA 1-4

Citotoxicidades in vitro (IC₅₀) con líneas celulares tumorales^a

compuesto	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol
1(dEpoB)	0.0036	0.016	0.0046
28	0.0009	0.0042	0.0012
51(EpoB).	0.00062	0.0037	0.0011
49	0.00023	0.00032	0.00042
50	0.0134	0.0959	0.0802
52	0.083	0.4519	0.1507

^aXTT ensayo siguiendo 72 h de inhibición. CCRF-CEM es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda de célula-T humana. Las líneas celulares CCRF-CEM/VBL y CCRF-CEM/Taxol todas sobreexpresan P-glicoproteína y muestran una resistencia multifármaco fenotipo para oncolíticos MDR-asociados.

El efecto terapéutico del 9,10-de-H-EpoB en ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 (6 horas-infusión i.v., n = 4).



En resumen, lo delineado arriba es una síntesis total estereoselectiva de gran alcance del 28 (Epo 3) y, siguiendo la reducción dimida sitio-selectiva, el dEpoB (1) por si mismo. El método descrito aquí entonces se aplicó explícitamente a la preparación de los análogos trifluoro correspondientes 2 y 29 (Epo 4). Adicionalmente, la epoxidación del 28 proporcionó 49 y 50, que bajo la reducción diimida sitio-selectiva dio el Epotilone B (51) y 52. Los datos reportados arriba apuntan hacia el surgimiento de una familia nueva más prometedora de los fármacos anticáncer apropiados para una evaluación adicional en el camino al avance entonces posible a un ajuste clínico humano. Adicionalmente el nuevo método de síntesis comprende una mejora práctica significante en la síntesis total del dEpoB y del Epotilone B.

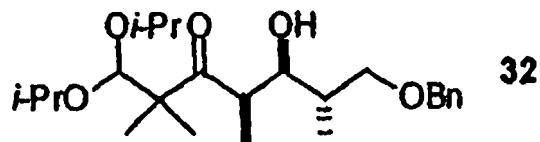
Parte Experimental

Métodos Generales

5 Los reactivos obtenidos a partir de proveedores comerciales se utilizaron sin purificación adicional a menos que de otra manera se indique. Los siguientes solventes se obtuvieron a partir de un sistema de secado de solvente (pasado a través de una columna pre-empacada de alúmina) y utilizados sin un secado adicional: tetrahidrofurano, cloruro de metileno, dietil éter, benceno, y tolueno. Todas las reacciones sensibles al aire y el agua se realizaron en vidrio secado en llama bajo una presión positiva de gas de argón prepurificado. El espectro NMR (^1H y ^{13}C) se registró en un instrumento Bruker AMX-400 MHz o Bruker Advance DRX-500 MHz según se registra individualmente, referido a CDCl_3 (7.27 ppm para ^1H y 77.0 ppm para ^{13}C). Los espectros infrarrojo (IR) se obtuvieron en un espectrómetro Perkin-Elmer FT-IR modelo 1600. La rotaciones ópticas se obtuvieron en un polarímetro digital JASCO modelo DIP-370 a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. La cromatografía analítica de capa delgada se realizó sobre placas E. Merck de silice gel 60 F254. Los compuestos que no fueron activos a UV se visualizaron sumergiendo las placas en una solución de molibdato de amonio cérico o *para*-anisaldehído y calentándolas. La cromatografía de silice gel se realizó utilizando el solvente indicado sobre silice gel Davisil® (grado 1740, tipo 60A, malla 170-400).

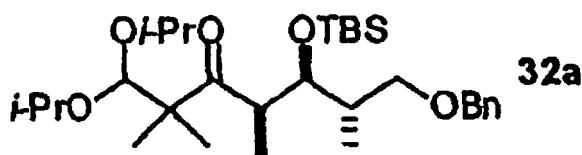
Siglas y Abreviaturas

20 TES, trietilsilil; TBS, Dimetilterbutilsilil; EDCI, 1-etilo-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; HF-PY, ácido fluorhídrico en piridina; DMAP, 4-N,N-dimetilaminopiridina; DCM, diclorometano; DMF, N,N-dimetilformamida; THF, tetrahidrofurano.



30

35 A una solución de LDA preparada recientemente (11.6 mmol) en THF (25 mmol) se le adicionó gota a gota una solución de cetona 30 (2.40 g, 10.4 mmol) en THF (6.8 mL) a -78°C. Después de la agitación a -40°C por 0.5 h, la mezcla se enfrió a -90°C. Se adicionó una solución del aldehído 31 (1.38 g, 7.72 mmol) en THF (6.8 mL) gota a gota. Después de la agitación a -90°C por 35 min., la reacción se apagó con NH₄Cl saturado acuoso (15 mL) y se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación por cromatografía de columna instantánea (SiO₂, hexano/EtOAc = 15:1 a 12:1) proporcionó el 32 (2.09 g, 66%) y el isómero 33 (0.39 g, 12%) ambos como aceites de color amarillo. 32: [α]_D²⁵ 13.1 (c 1.22, CHCl₃); IR (film) ν 3494, 40 2972, 2932, 1708, 1454, 1380, 1329, 1120, 1038, 998, 734 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.98 (3H, d, *J* = 6.9 Hz), 1.06 (3H, d, *J* = 6.9 Hz), 1.10 (3H, d, *J* = 6.1 Hz), 1.14 (3H, d, *J* = 6.9 Hz), 1.15 (3H, s), 1.17 (3H, d, *J* = 6.2 Hz), 1.18 (3H, s), 1.20 (3H, d, *J* = 6.2 Hz), 1.81-1.92 (1H, m), 3.33 (1H, qd, *J* = 7.0, 2.2. Hz), 3.51 (1H, dd, *J* = 8.9, 6.3 Hz), 3.64 (1H, d, *J* = 1.8 Hz), 3.66-3.71 (2H, m), 3.78-3.86 (2H, m), 4.51 (1H, d, *J* = 12.0 Hz), 4.54 (1H, d, *J* = 12.0 Hz), 4.58 (1H, s), 7.25-7.35 (5H, m); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 10.0, 14.3, 20.5, 21.3, 21.9, 22.5, 23.5, 45 23.6, 36.4, 42.1, 54.1, 69.8, 71.2, 72.8, 73.3, 73.4, 103.8, 127.6, 127.7 (2C), 128.5 (2C), 138.9, 221.6; LRMS (ESI) calc. para C₂₄H₃₆O₅Na [M+Na⁺] 431.3, encontrado 431.4.

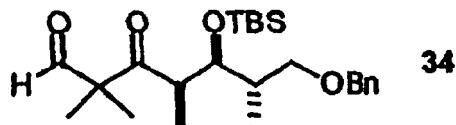


55 Compuesto 32a (no mostrado)

A una solución de alcohol 32 fría (-40°C) (1.01 g, 2.47 mmol) y 2,6-lutidina (691 μ L, 5.93 mmol) se le adicionó TBSOTf (681 μ L, 3.00 mmol), y la mezcla se calentó a -20°C durante 3.5 h. La reacción se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 mL). Después de la extracción con hexano (50 mL x 3), los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación por cromatografía de columna instantánea (SiO₂, hexano/EtOAc = 50:1) proporcionó el 32a (1.25 g, 2.39 mmol, 97%) como un aceite incoloro; $[\alpha]_D^{25}$ -19.7 (c 0.58, CHCl₃); IR (film) ν 2966, 2931, 1696, 1455, 1378, 1320, 1255, 1091, 1044, 991, 873, 838, 773 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.08 (6H, s), 0.89 (9H, s), 0.99 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.04 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.07 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.07 (3H, s), 1.14 (3H, d, J = 6.1 Hz), 1.17 (3H, s), 1.17 (3H, d, J = 6.0 Hz), 1.20 (3H, d, J = 6.2 Hz), 1.76-1.85 (1H, m), 3.21 (1H, dd, J = 9.2, 7.3 Hz), 3.32 (1H, quint, J = 7.4 Hz), 3.62 (1H, dd, J = 9.2, 5.7 Hz), 3.78-3.85 (2H, m), 3.87 (1H, dd, J = 7.7, 2.0 Hz), 4.46 (1H, d, J = 12.1 Hz), 4.50 (1H, d, J = 12.1 Hz), 4.73 (1H, s), 7.24-7.37 (5H, m); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -3.6, -3.3, 15.6, 16.8, 18.7, 18.8, 21.8, 22.1, 22.5, 23.5, 23.7, 26.4 (3C), 39.0, 46.2, 54.0, 69.7, 70.9,

72.1, 73.4, 76.7, 103.1, 127.6, 127.8 (2C), 128.5 (2C), 139.0, 218.9; LRMS (ESI) calc. para $C_{30}H_{54}O_5SiNa$ [M+Na+] 545.4, encontrado 545.4.

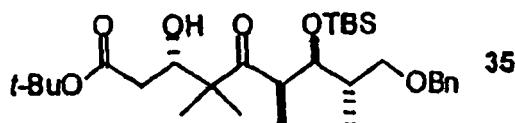
5



10 Compuesto 34

La mezcla de 32a (3.03 g, 5.79 mmol) y p-TsOH-H₂O (286 mg) en THF acuoso (64 mL, THF/H₂O = 4:1) se calentó bajo refugio por 6.5 h. La mezcla de reacción se enfrió a rt y se vertió en NaHCO₃ acuoso saturado (25 mL). Después de la extracción con EtOAc (100 mL + 50 mL x 2), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación por cromatografía de columna instantánea (SiO₂, hexano/EtOAc = 50:1 a 30:1) proporcionó el 34 (2.37 g, 5.64 mmol, 98%) como un aceite incoloro: $[\alpha]_D^{25}$ -25.8 (c 0.515, CHCl₃); IR (film) ν 2955, 2931, 1731, 1696, 1455, 1360, 1255, 1091, 1026, 873, 826, 767 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.06 (3H, s), 0.07 (3H, s), 0.90 (9H, s), 0.95 (3H, d, *J* = 7.1 Hz), 1.03 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.28 (3H, s), 1.33 (3H, s), 1.73-1.82 (1H, m), 3.16 (1H, dd, *J* = 9.2, 6.1 Hz), 3.28 (1H, quint, *J* = 7.3 Hz), 3.55 (1H, dd, *J* = 9:2, 6.7 Hz), 3.91 (1H, dd, *J* = 7.8, 2.1 Hz), 4.46 (2H, s), 7.27-7.36 (5H, m), 9.58 (1H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -3.6, -3.5, 15.7, 16.3, 18.6, 19.8, 20.1, 26.3 (3C), 39.1, 47.0, 61.1, 71.9, 73.4, 75.8, 127.7, 128.0 (2C), 128.5 (2C), 138.6, 201.3, 213.3; LRMS (ESI) calc. para $C_{24}H_{40}O_4SiNa$ [M+Na+] 443.3, encontrado 443.2.

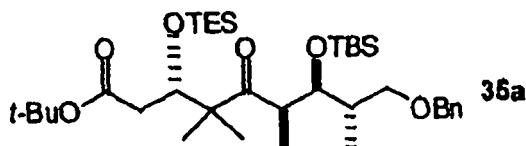
25



30 Compuesto 35

A una solución de LDA preparada recientemente (18 mL de una solución 0.5 M en Et₂O, 9.0 mmol) en Et₂O (20 mL) se le adicionó t-butil acetato (1.16 mL, 8.61 mmol) a -78°C. Después de la agitación por 50 min., se le adicionó gota a gota CpTiCl (OR)₂ (100 mL de una solución 0.1 M en Et₂O, 10.0 mmol) durante 65 min. por medio de una bomba de inyección. Después de la agitación por 20 min., la mezcla de reacción se calentó a -30°C, se agitó por 50 min., y re-enfrió a -78°C. Una solución de 34 (2.42 g, 5.75 mmol) en Et₂O (9 mL) se adicionó gota a gota durante 10 min., y la mezcla resultante se agitó a -78°C. Después de la agitación por 2 h, la reacción se apagó con THF acuoso (5 M H₂O, 37 mL) y se agitó a rt por 2 h. Después de la adición de agua (40 mL), la mezcla se agitó por 1 h más. El precipitado formado se filtró completamente por Celite (enjuagar con Et₂O), y el filtrado se lavó con agua (40 mL). La capa acuosa se extrajo con Et₂O (100 mL x 2) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (40 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación por cromatografía de columna instantánea (SiO₂, hexano/EtOAc = 10:1) proporcionó el 35 (2.65 g, 4.94 mmol, 86%) como un aceite de color amarillo pálido; $[\alpha]_D^{25}$ -20.3 (c 1.0, CHCl₃); IR (film) ν 3523, 2957, 2930, 2856, 1732, 1700, 1472, 1368, 1252, 1152, 1091, 1042, 986, 834, 774 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.07 (3H, s), 0.07 (3H, s), 0.90 (9H, s), 0.99 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.07 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.10 (3H, s), 1.14 (3H, s), 1.47 (9H, s), 1.77-1.83 (1H, m), 2.26 (1H, dd, *J* = 16.0, 10.0 Hz), 2.34 (1H, dd, *J* = 15.9, 2.7 Hz), 3.23 (1H, dd, *J* = 9.2, 7.1 Hz); 3.35 (1H, d, *J* = 2.7 Hz, -OH), 3.36 (1H, quint, *J* = 7.0 Hz), 3.61 (1H, dd, *J* = 9.2, 5.9 Hz), 3.88 (1H, dd, *J* = 7.6, 2.0 Hz), 4.17 (1H, dt, *J* = 10.0, 2.7 Hz), 4.48 (2H, s), 7.27-7.36 (5H, m); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -3.5, -3.4, 16.3, 16.7, 18.7, 20.1, 21.6, 26.4 (3C), 28.3 (3C), 38.0, 39.1, 45.8, 51.8, 72.2, 72.9, 73.5, 76.7, 81.4, 127.7, 128.0 (2C), 128.5 (2C), 138.8, 172.7, 219.6; LRMS (ESI) calc. para $C_{30}H_{52}O_6SiNa$ [M+Na+] 559.3, encontrado 559.4.

55



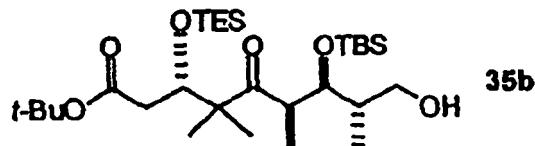
60 Compuesto 35a (No mostrado)

A una mezcla del alcohol 35 (10.2 g, 18.9 mmol) e imidazol (2.70 g, 39.7 mmol) en DMF (25 mL) se le adicionó TESC1 (3.3 mL, 19.8 mmol) a 0°C, y la mezcla se agitó a rt por 2 h. La reacción se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (50 mL). Después de la extracción con hexano (500 mL + 120 mL x 2), los extractos orgánicos combinados se lavaron sucesivamente con agua (30 mL x 2) y salmuera (30 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación por cromatografía de columna instantánea (SiO₂, hexano/EtOAc = 40:1) proporcionó el 35a (12.1 g, 18.5 mmol, 98%) como un aceite incoloro: $[\alpha]_D^{25}$ -38.0 (c 0.46, CHCl₃); IR (film) ν 2955, 2877, 1733, 1697, 1456, 1367,

ES 2 281 692 T3

1298, 1251, 1155, 1099, 988, 835, 742 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.05 (6H, s), 0.57-0.68 (6H, m), 0.89 (9H, s), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.99 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.02 (3H, d, J = 6.8 Hz), 1.04 (3H, s), 1.18 (3H, s), 1.45 (9H, s), 1.70-1.79 (1H, m), 2.16 (1H, dd, J = 17.0, 7.0 Hz), 2.40 (1H, dd, J = 17.0, 3.1 Hz), 3.22 (1H, dd, J = 9.1, 7.5 Hz), 3.31 (1H, quint, J = 6.9 Hz), 3.61 (1H, dd, J = 9.1, 5.4 Hz), 3.83 (1H, dd, J = 7.3, 2.3 Hz), 4.30 (1H, dd, J = 6.9, 3.1 Hz), 4.48 (2H, s), 7.27-7.36 (5H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ -3.5, -3.4, 5.3 (3C), 7.3 (3C), 15.3, 16.9, 18.7, 20.1, 23.4, 26.4 (3C), 28.3 (3C), 39.1, 41.1, 46.2, 53.4, 72.2, 73.4, 74.3, 76.7, 80.6, 127.6, 127.9 (2C), 128.5 (2C), 138.9, 171.5, 218.4; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{36}\text{H}_{66}\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ [M+Na $^+$] 673.4, encontrado 673.5.

10



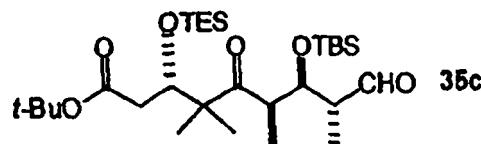
15

Compuesto 35b (No mostrado)

A una solución agitada de 35a (4.37 g, 6.72 mmol) en THF (67 mL) se le adicionó Pd/C (adquirida de Acros, 10% en peso, 437 mg) y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de H_2 . Despues de la agitación por 2.2 h, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite, que se enjuagó con THF (120 mL). El filtrado se concentró y purificó por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 , hexano/ EtOAc = 30:1 a 10:1) para dar el 35b (3.53 g, 6.28 mmol, 94%) como un aceite incoloro; $[\alpha]_D^{25}$ -16.1 (c 0.62, CHCl_3); IR (film) ν 3543, 2956, 1732, 1696, 1472, 1368, 1299, 1252, 1155, 1100, 988, 837, 775, 742 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.10 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.60-0.68 (6H, m), 0.93 (9H, s), 0.96 (9H, t, J = 8.0 Hz), 0.99 (3H, d, J = 7.1 Hz), 1.10 (3H, d, J = 6.9 Hz), 1.14 (3H, s), 1.20 (3H, s), 1.45 (9H, s), 1.46-1.55 (1H, m), 2.21 (1H, dd, J = 17.2, 7.1 Hz), 2.39 (1H, dd, J = 17.2, 2.8 Hz), 2.54 (1H, t, J = 5.8 Hz, -OH), 3.30 (1H, quint, J = 6.9 Hz), 3.58 (1H, dt, J = 11.5, 5.5 Hz), 3.66 (1H, dt, J = 11.3, 5.4 Hz), 3.92 (1H, dd, J = 8.0, 2.1 Hz), 4.32 (1H, dd, J = 7.1, 2.9 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ -3.6, -3.5, 5.3 (3C), 7.2 (3C), 16.0, 16.1, 18.6, 20.0, 23.4, 26.4 (3C), 28.3 (3C), 40.0, 40.9, 46.9, 53.7, 64.8, 73.3, 78.1, 80.9, 171.7, 218.5; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ [M+Na $^+$] 583.4, encontrado 583.5.

30

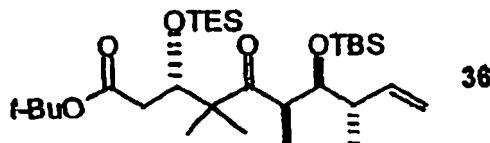
35



Compuesto 35c (No mostrado)

A una mezcla agitada de alcohol 35b (3.53 g, 6.28 mmol) y MS4A (activado recientemente, 2.50 g) pulverizado en CH_2Cl_2 (32 mL) se le adicionaron NMO (1.17 g, 10.0 mmol) seguido por TPAP (132 mg, 0.377 mmol). Despues de la agitación a rt por 35 min., la mezcla se filtró a través de una columna de silice gel (hexano/ Et_2O = 8:1) para dar el 35c (3.34 g, 5.98 mmol, 95%) como un aceite incoloro; $[\alpha]_D^{25}$ -69.6 (c 0.25, CHCl_3); IR (film) ν 2955, 2878, 1732, 1696, 1472, 1368, 1253, 1155, 1097, 989, 837 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.09 (3H, s), 0.10 (3H, s), 0.59-0.68 (6H, m), 0.89 (9H, s), 0.95 (9H, t, J = 8.0 Hz), 1.08 (3H, s), 1.11 (3H, d, J = 6.9 Hz), 1.14 (3H, d, J = 7.1 Hz), 1.24 (3H, s), 1.45 (9H, s), 2.19 (1H, dd, J = 17.0, 6.7 Hz), 2.33 (1H, qt, J = 7.1, 2.2 Hz), 2.41 (1H, dd, J = 17.0, 3.3 Hz), 3.28 (1H, quint, J = 7.5 Hz), 4.07 (1H, dd, J = 7.9, 2.2 Hz), 4.32 (1H, dd, J = 6.7, 3.2 Hz), 9.74 (1H, d, J = 2.0 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ -3.8, -3.5, 5.3 (3C), 7.2 (3C), 12.6, 15.6, 18.5, 20.5, 23.3, 26.2 (3C), 28.3 (3C), 41.1, 46.9, 51.1, 53.5, 74.0, 76.5, 80.7, 171.1, 204.3, 218.0; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{29}\text{H}_{58}\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ [M+Na $^+$] 581.3, encontrado 581.3.

55

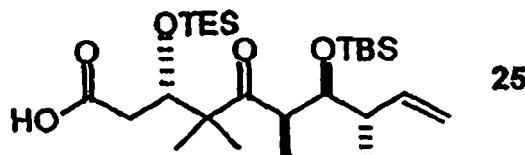


Compuesto 36

MePPh3I (2.56 g, 7.18 mmol) en THF (40.0 mL) se trató con t-BuOK (6.57 mL de una solución 1.0 M en THF, 6.57 mmol) a 0°C. Despues de la agitación a 0°C por 20 min., la suspensión resultante se enfrió a -78°C y se le adicionó una solución de aldehído 35c (3.34 g, 5.98 mmol) en THF (14 mL). Despues de la agitación a -78°C por 15 min., la mezcla se agitó a 0°C por 15 min. y a rt por 15 min. La reacción se apagó con NH_4Cl saturado acuoso (20 mL) y se extrajo con Et_2O (120 mL + 50 mL x 2). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 ~80 g, hexano/ Et_2O = 40:1) para dar el 36 (125.3 mg, 0.225 mmol, 78%) como un aceite incoloro; $[\alpha]_D^{25}$ -33.6 (c 0.250,

CHCl₃); IR (film) ν 2956, 2878, 1733, 1696, 1472, 1367, 1299, 1253, 1156, 1100, 988, 837, 774 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.08 (3H, s), 0.08 (3H, s), 0.60-0.68 (6H, m), 0.93 (9H, s), 0.96 (9H, t, *J* = 8.0 Hz), 1.04 (6H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.09 (3H, s), 1.20 (3H, s), 1.45 (9H, s), 2.08-2.15 (1H, m), 2.29 (1H, dd, *J* = 17.0, 7.0 Hz), 2.41 (1H, dd, *J* = 17.0, 3.1 Hz), 3.08 (1H, quint, *J* = 7.0 Hz), 3.84 (1H, dd, *J* = 7.0, 2.1 Hz), 4.32 (1H, dd, *J* = 7.0, 3.1 Hz), 5.02 (1H, dd, *J* = 17.9, 1.0 Hz), 5.06 (1H, dd, *J* = 10.5, 1.0 Hz), 5.93 (1H, ddd, *J* = 17.9, 10.5, 7.7 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -3.6, -3.3, 5.4 (3C), 7.2 (3C), 15.2, 18.7, 19.0, 20.2, 23.6, 26.4 (3C), 28.3 (3C), 41.1, 43.8, 46.4, 53.5, 73.9, 76.6, 80.6, 115.5, 140.2, 171.5, 218.5; LRMS (ESI) calc. para C₃₀H₆₀O₅Si₂Na [M+Na⁺] 579.4, encontrado 579.4.

10

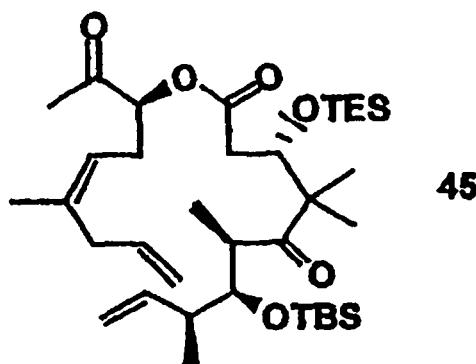


15

Compuesto 25

A una solución de t-butil éster 36 (4.87 g, 8.74 mmol) y 2,6-lutidina (destilada recientemente, 4.1 mL, 35.0 mmol) en CH₂Cl₂ (58 mL) se le adicionó TESOTf (4.0 mL, 17.5 mmol) a 0°C: Despues de la agitación a 0°C por 25 min., la mezcla se agitó a rt por 3.2 h. La mezcla se diluyó con Et₂O (600 mL), se lavo sucesivamente con KHSO₄ acuoso al 5% (60 mL x 2) y salmuera (60 mL), se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El residuo se secó bajo alto vacío por 1.5 h para dar el ácido crudo 25 (6.30 g, contaminado con TESOH). El producto crudo (6.30 g) se disolvió en THF acuoso (87.5 mL, THF/H₂O = 6:1) y se trató con NaHCO₃ acuoso saturado (12.5 mL). Despues de la agitación a rt por 20 min., la suspensión resultante se diluyó con Et₂O (500 mL) y se acidificó con KHSO₄ 5% acuoso (55 mL). Despues las capas se separaron, la capa acuosa se extrajo con Et₂O (100 mL x 2) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL x 2), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se secó bajo alto vacío durante la noche para dar el ácido crudo (5.60 g, contaminado con TESOH) como un aceite incoloro, que fue utilizado para una próxima reacción sin purificación adicional. Purificado por caracterización por cromatografía de columna instantánea sobre silice gel eluyendo con hexano/EtOAc = 4/1. $[\alpha]_D^{25}$ -30.7 (c 0.985, CHCl₃); IR (film) ν 2956, 2936, 2879, 1712, 1472, 1417, 1303, 1253, 1107, 1046, 1003, 988, 872, 837, 775, 741 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.08 (3H, s), 0.09 (3H, s), 0.59-0.67 (6H, m), 0.93 (9H, s), 0.96 (9H, t, *J* = 8.1 Hz), 1.05 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.05 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.20 (3H, s), 1.21 (3H, s), 2.06-2.13 (1H, m), 2.34 (1H, dd, *J* = 16.4, 7.4 Hz), 2.50 (1H, dd, *J* = 16.4, 3.0 Hz), 3.06 (1H, quint, *J* = 7.3 Hz), 3.87 (1H, dd, *J* = 7.5, 1.8 Hz), 4.40 (1H, dd, *J* = 7.3, 2.9 Hz); 5.01 (1H, dd, *J* = 18.0, 0.9 Hz), 5.07 (1H, dd, *J* = 10.4, 1.2 Hz), 5.93 (1H, ddd, *J* = 18.0, 10.4, 7.8 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -3.6, -3.3, 5.3 (3C), 7.1 (3C), 15.6, 18.7, 19.1, 19.2, 24.1, 26.4 (3C), 39.8, 43.6, 46.4, 53.5, 73.7, 76.6, 115.6, 140.0, 177.9, 218.7; LRMS (ESI) calc. para C₂₆H₅₂O₅Si₂Na [M+Na⁺] 523.3, encontrado 522.9.

40



45

Compuesto 45

55

El 3-O-TES-6-O-TBS ácido protegido 25 se secó a través de destilación azeotrópica a partir del benceno. El alcohol seco recientemente 43 (200 mg, 1.19 mmol) se disuelve en DCM (10 mL) y se enfriá a 0°C, en este punto se adicionan DMAP sólido (167 mg, 1.37 mmol) y EDCl sólido (261 mg, 1.37 mmol). Despues de la agitación de la mezcla de reacción a 0°C por 15 min., se le adiciona una solución del ácido 25 (425 mg, 0.85 mmol) en DCM (2 mL) gota a gota. El baño de enfriamiento se retira y la agitación continua por otras 2 horas. La mezcla de reacción cruda se diluye con DCM (10 mL) y se purifica por cromatografía de silice gel empleando 10% EtOAc/Hexanos como el eluente para dar el éster 45 (380 mg, una producción de 81%, dos etapas, iniciando a partir de 36) como un aceite libre de impurezas: $[\alpha]_D$ -15.1 (c 1.2, CDCl₃); IR (neat) 2955, 2932, 2877, 1743, 1732, 1694, 1474, 1461, 1417, 1380, 1360, 1295, 1252, 1169, 1094, 1043, 988.3, 912.9, 871.4, 836.5, 774.8, 741.6 cm⁻¹; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) 0.08 (3H, s), 0.08 (3H, s), 0.60-0.68 (6H, m), 0.93 (9H, s), 0.95 (9H, t, *J* = 8.0 Hz), 1.04 (3H, d, *J* = 6.9 Hz), 1.05 (3H, d, *J* = 6.9 Hz), 1.10 (3H, s), 1.25 (3H, s), 1.69 (3H, s), 2.08-2.15 (2H, m), 2.16 (3H, s), 2.38 (1H, dd, *J* = 17.0, 7.0 Hz), 2.48 (2H, t, *J* = 6.5 Hz), 2.57 (1H, dd, *J* = 17.0, 2.7 Hz), 2.71-2.76 (2H, m), 3.07 (1H, quint, *J* = 7.0 Hz), 3.83 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 4.36 (1H, dd, *J* = 7.0, 2.7 Hz), 4.97-5.07 (4H, m), 5.19 (1H, t, *J* = 7.0), 5.73 (1H, td, *J* = 15.4, 5.9 Hz), 5.92 (1H, dd, *J* =

ES 2 281 692 T3

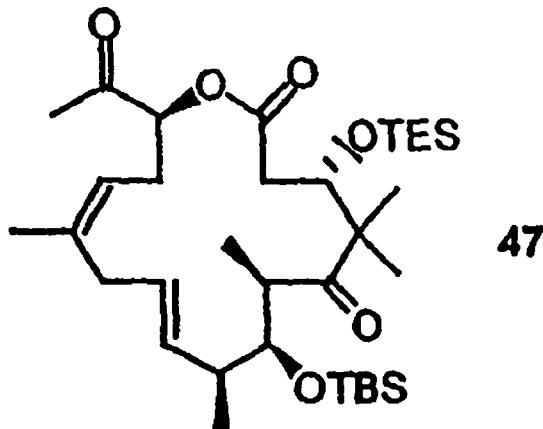
15.7, 8.0 Hz); ^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 218.4, 205.4, 172.1, 140.1, 137.4, 135.4, 119.1, 115.8, 115.6, 78.7, 76.5, 73.9, 53.3, 46.3, 43.7, 39.6, 36.6, 29.2, 26.7, 26.4, 23.8, 23.7, 19.9, 18.9, 18.7, 15.4, 7.06, 5.30, -3.29, -3.62; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{36}\text{H}_{66}\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ [M+Na+] 673.4, encontrado 673.5

5

10

15

20



Compuesto 47

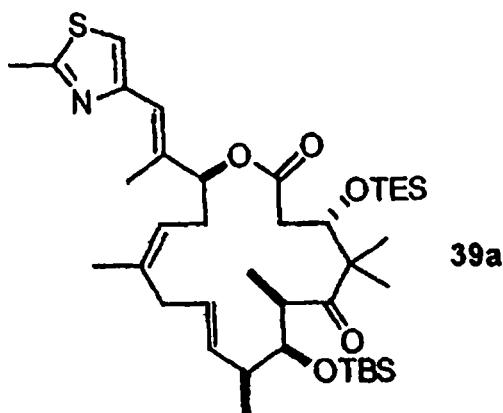
25 A una solución del compuesto 45 (20 mg, 0.031 mmol) en tolueno seco (60 mL) a reflujo se le adicionó en una porción una solución de triciclohexilfosfina [1,3-bis (2, 4,6-trimetilfenil)-4,5-dihidroimidazol-2-ilideno][benzilideno]mthinium (IV) dichloride (5.2 mg, 0.0061 mmol) en tolueno seco (2 mL) y la mezcla se calentó por 10 minutos. La mezcla de reacción se enfrió inmediatamente en un baño de hielo y se colocó sobre silice y se purificó utilizando cromatografía de silice empleando un gradiente de 4-10% EtOAc/pentano como el eluente para proveer el compuesto 47 (15 mg, una producción del 78%) como un aceite: $[\alpha]_{D}^{25} -28.6$ (c 1.2, CHCl_3); IR (neat) 2955, 2933, 2878, 1745, 1731, 1695, 1471, 1462, 1380, 1361, 125-1, 1159, 1104, 1080, 1019, 985.0, 876.1, 835.5, 774.7, 743.1, 670.1 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) 0.07 (3H, s), 0.10 (3H, s), 0.59-0.68 (6H, m), 0.91 (9H, t, J = 8.0 Hz), 0.93 (9H, s), 1.04 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.10 (3H, s), 1.11 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.17 (3H, s), 1.71 (3H, s), 2.21 (3H, s), 2.27-2.32 (1H), 2.38 (1H, dd, J = 14.6, 6.8 Hz), 2.51-2.61 (2H, m), 2.57 (1H, dd, J = 15.5, 3.3 Hz), 2.93-3.1 (3H, m), 3.94 (1H, d, J = 8.5 Hz), 4.28 (1H, dd, J = 8.6, 3.0 Hz), 5.04 (1H, dd, J = 8.7, 2.4), 5.16 (1H, t, J = 7.5), 5.73 (1H, tdd, J = 12.8, 9.94, 6.9 Hz), 5.92 (1H, ddd, J = 18.0, 10.3, 7.8 Hz); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 215.9, 204.8, 171.3, 140.0, 132.7, 129.2, 118.6, 79.1, 78.2, 75.4, 54.0, 48.2, 41.7, 40.3, 35.0, 29.2, 26.6, 26.5, 23.5, 22.8, 20.6, 18.8, 17.5, 14.3, 7.19, 5.53, -3.36; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{34}\text{H}_{62}\text{O}_6\text{Si}_2$ 645.4, encontrado 645.4 (M+Na+).

40

45

50

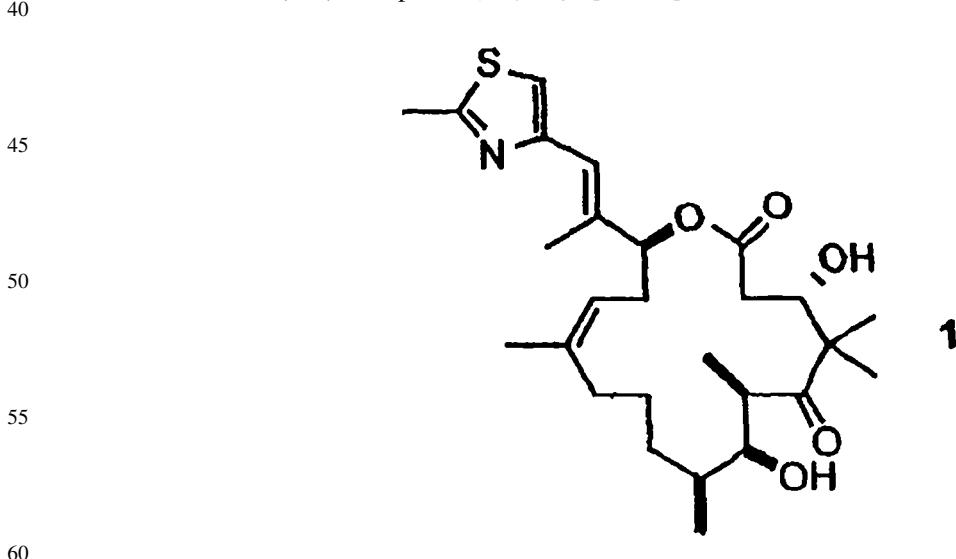
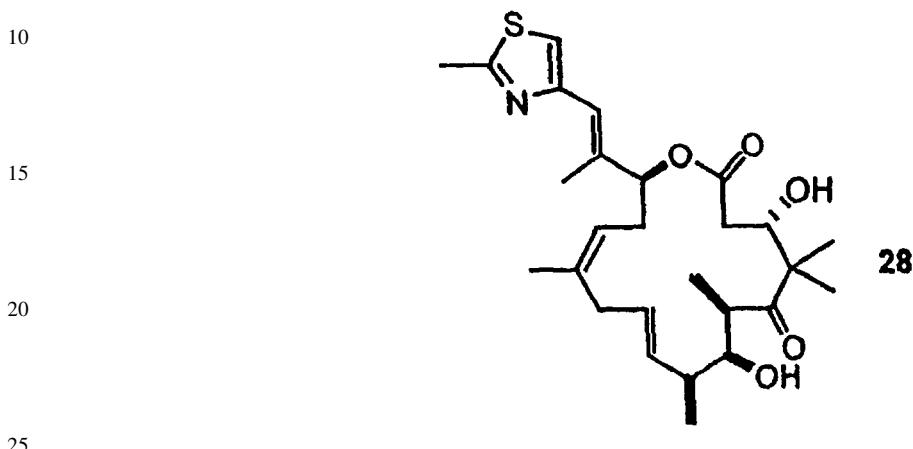
55



Compuesto 39a

60 A una solución de reactivo de Wittig (19.1 mg, 54.7 μmol) en THF (0.4 mL) se le adicionó KHMDS (109 μL de una solución 0.5 M en tolueno, 54.7 μmol) a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C por 0.5 h y luego se enfrió a -78°C. A la mezcla se le adicionó gota a gota una solución de cetona 47 (5.7 mg, 9.12 μmol) en THF (0.3 mL), y la mezcla resultante se dejó calentar a -20°C durante 1.5 h. La reacción se apagó con NH_4Cl saturado acuoso (2 mL) y se extrajo con EtOAc (7 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 , hexano/Et₂O = 10:1) para dar 5.6 mg de una mezcla inseparable de olefinas E/Z (E/Z = 9:1). La mezcla se purificó por TLC preparativa (hexano/Et₂O = 4:1) para dar el 39a puro (5.0 mg, 6.96 μmol , 76%) como un aceite incoloro; $[\alpha]_{D}^{25} -41.5$ (c 0.715, CHCl_3); IR (film) ν 2955, 2884, 1737, 1690, 1467, 1378, 1249, 1179, 1102, 1014, 979, 879, 826, 773 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.08 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.57 (6H, q, J = 7.8 Hz), 0.89 (9H, t, J = 8.0 Hz), 0.93 (9H, s), 1.04 (3H, s), 1.06 (3H, d, J = 7.1 Hz), 1.12 (3H, s), 1.17 (3H,

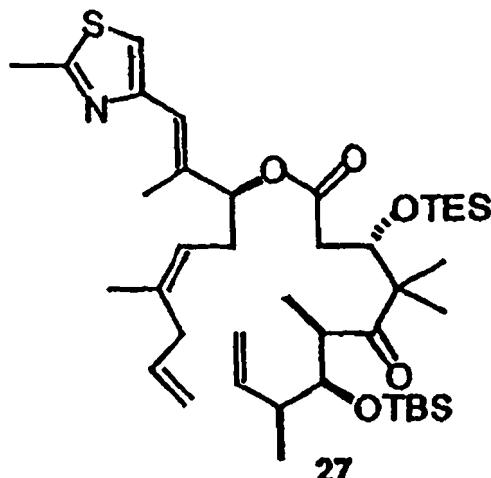
d, $J = 7.1$ Hz), 1.68 (3H, s), 2.15 (3H, d, $J = 0.8$ Hz), 2.14-2.27 (2H, m), 2.45 (1H, dd, $J = 14.0, 4.8$ Hz), 2.50 (1H, dd, $J = 14.9, 3.2$ Hz), 2.64-2.74 (2H, m), 2.72 (3H, s), 3.02 (1H, quint, $J = 7.0$ Hz), 3.10 (1H, dd, $J = 14.4, 7.3$ Hz), 3.96 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 4.43 (1H, dd, $J = 8.3, 2.9$ Hz), 5.22 (1H, dd, $J = 9.8, 5.7$ Hz), 5.33-5.42 (2H, m), 5.69 (1H, dd, $J = 15.8, 8.2$ Hz), 6.57 (1H, s), 6.96 (1H, s); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ -3.3, -3.2, 5.6 (3C), 7.1 (3C), 15.0, 17.2, 18.8, 19.4, 21.4, 21.7, 23.8, 24.3, 26.5 (3C), 33.2, 35.6, 41.3, 41.8, 48.2, 54.0, 74.4, 77.4, 79.3, 116.4, 120.5, 121.0, 129.3, 132.1, 137.8, 138.0, 152.7, 164.8, 170.7, 216.8; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{39}\text{H}_{68}\text{NO}_5\text{SSi}_2$ [M+H $^+$] 718.4, encontrado 718.3.



A una solución de 28 (1.2 mg, 2.5 μmol) y Tris NHNH₂ (29.3 mg, 98 μmol) en $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ (0.7 mL) a 50°C se le adicionó Et₃N (13.7 μL , 98 μmol). La reacción se monitoreo por HPTLC (hexano/EtOAc/CH₂Cl₂ = 1/1/2). Después de la agitación por 7 h, la mezcla se enfrió a rt, se diluyó con EtOAc y filtró a través de una almohadilla de silice gel, que se enjuagó con EtOAc. Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/EtOAc/CH₂Cl₂ = 1/1/2) para dar 1 (1.1 mg, 2.2 μmol , 91%) como un sólido de color blanco.

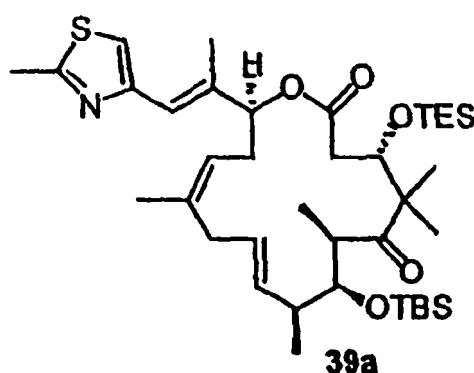
ES 2 281 692 T3

Los datos espectrales de 1 fueron idénticos a aquellos reportados de dEpoB.



Compuesto 27

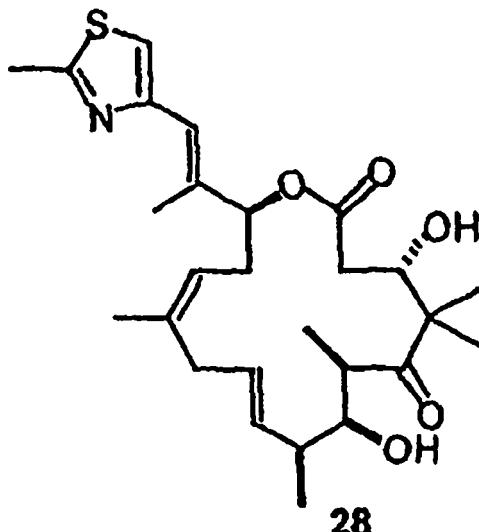
25 Se forma el azeótropo del ácido 25 y alcohol 24 con benceno seco (5 mL x 2) y se secan bajo alto vacío antes de la reacción. A una solución del alcohol 24 (639 mg, 2.63 mmol) en CH_2Cl_2 (13 mL) se le adicionaron EDCI (576 mg, 3.09 mmol) y DMAP (366 mg, 3.09 mmol) a 0°C. A la mezcla se le adicionó una solución del ácido 25 (1.11 g, como 1.88 mmol) en CH_2Cl_2 (enjuagar con 5 mL + 2 mL) gota a gota durante 16 min. a 0°C. Despues de la agitación a 0°C por 1.5 h, la mezcla se agitó a rt por 3.5 h. Despues de la concentración, el residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 , hexano/ EtOAc = 30: 1 a 20:1) para dar el 27 (1.20 g, 1.61 mmol, 86% a partir del t-butil éster) como un aceite incoloro; $[\alpha]D^{24}$ -25.1 (c 1.30, CHCl_3); IR (film) ν 2955, 2925, 2872, 1732, 1696, 1461, 1378, 1290, 1243, 1173, 1091, 985, 873, 773 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.06 (3H, s), 0.06 (3H, s), 0.58-0.66 (6H, m), 0.92 (9H, s), 0.95 (9H, t, J = 8.0 Hz), 1.02 (3H, d, J = 6.5 Hz), 1.03 (3H, d, J = 6.5 Hz), 1.07 (3H, s), 1.21 (3H, s), 1.67 (3H, s), 2.07 (3H, s), 2.05-2.12 (1H, m), 2.30 (1H, dd, J = 16.9, 7.5 Hz), 2.39 (1H, dt, J = 14.8, 6.7 Hz), 2.49 (1H, dd, J = 17.0, 3.0 Hz), 2.50 (1H, dt, J = 14.8, 6.7 Hz), 2.70 (3H, s), 2.74-2.30 (2H, m), 3.07 (1H, dd, J = 7.0 Hz), 3.83 (1H, dd, J = 7.1, 2.0 Hz), 4.35 (1H, dd, J = 7.4, 2.8 Hz), 4.98-5.07 (4H, m), 5.16 (1H, brt, J = 7.0 Hz), 5.23 (1H, t, J = 6.9 Hz), 5.74 (1H, ddt, J = 16.7, 10.2, 6.5 Hz), 5.91 (1H, ddd, J = 17.8, 10.5, 7.8 Hz), 6.50 (1H, s), 6.95 (1H, s); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ -3.7, -3.3, 5.3 (3C), 7.2 (3C), 14.8, 15.2, 18.7, 18.9, 19.4, 20.3, 23.6, 23.7, 26.4 (3C), 31.7, 36.7, 40.1, 43.8, 46.4, 53.3, 74.2, 76.5, 79.6, 115.5, 115.6, 116.5, 120.5, 121.3, 135.8, 136.1, 137.4, 140.2, 152.9, 164.7, 171.5, 218.4; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{41}\text{H}_{71}\text{NO}_5\text{SSi}$, [M+Na+] 768.5, encontrado 768.5.



Compuesto 39a

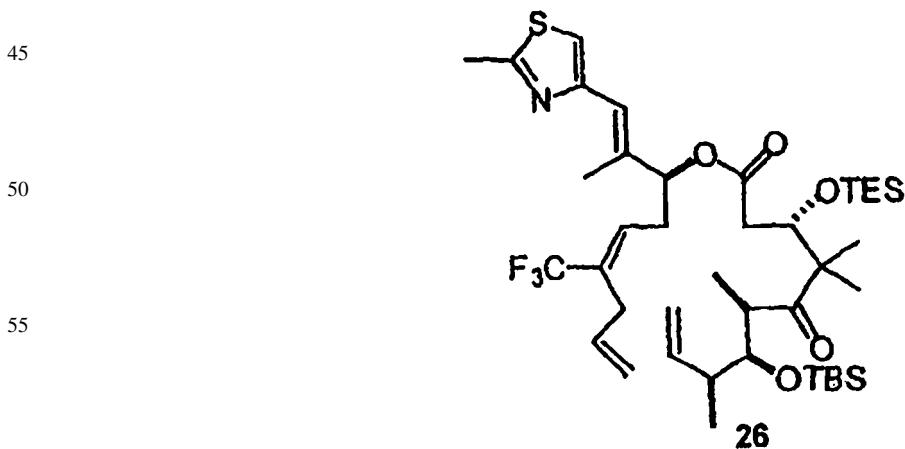
Una solución de 27 (26.9 mg, 36.1 μ mol) en tolueno (70 mL) se calentó a reflujo y se trató con una solución del catalizador de Grubbs (3.1 mg, 3.61 μ mol) en tolueno (2 mL). La mezcla se agitó por 25 min., se enfrió a 0°C y se filtró a través de una almohadilla de silice gel, la cual se enjuagó con hexano/EtOAc = 2/1. Los filtrados combinados se concentraron y purificaron por cromatografía de columna instantánea (SiO₂, hexano/Et₂O = 40:1 a 5:1) para dar el 39a (9.9 mg, 13.8 μ mol, 38%) como un aceite incoloro; $[\alpha]_D^{25}$ -41.5 (c 0.715, CHCl₃); IR (film) ν 2955, 2884, 1737, 1690, 1467, 1378, 1249, 1179, 1102, 1014, 979, 879, 826, 773 cm^{-1} ; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.08 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.57 (6H, q, J = 7.8 Hz), 0.89 (9H, t, J = 8.0 Hz), 0.93 (9H, s), 1.04 (3H, s), 1.06 (3H, d, J = 7.1 Hz), 1.12 (3H, s), 1.17 (3H, d, J = 7.1 Hz), 1.68 (3H, s), 2.15 (3H, d, J = 0.8 Hz), 2.14-2.27 (2H, m), 2.45 (1H, dd, J = 14.0, 4.8 Hz), 2.50 (1H, dd, J = 14.9, 3.2 Hz), 2.64-2.74 (2H, m), 2.72 (3H, s), 3.02 (1H, quint, J = 7.0 Hz), 3.10 (1H, dd, J =

14.4, 7.3 Hz), 3.96 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 4.43 (1H, dd, *J* = 8.3, 2.9 Hz), 5.22 (1H, dd, *J* = 9.8, 5.7 Hz), 5.33-5.42 (2H, m), 5.69 (1H, dd, *J* = 15.8, 8.2 Hz), 6.57 (1H, s), 6.96 (1H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -3.3, -3.2, 5.6 (3C), 7.1 (3C), 15.0, 17.2, 18.8, 19.4, 21.4, 21.7, 23.8, 24.3, 26.5 (3C), 33.2, 35.6, 41.3, 41.8, 48.2, 54.0, 74.4, 77.4, 79.3, 116.4, 120.5, 121.0, 129.3, 132.1, 137.8, 138.0, 152.7, 164.8, 170.7, 216.8; LRMS (ESI) calc. para C₃₉H₆₈NO₅SSi₂ [M+H⁺] 5 718.4, encontrado 718.3.



Compuesto 28

30 A una solución de 39a (298.8 mg, 0.416 mmol) en THF (6.5 mL) se le adicionó HF-piridina (3.2 mL) a 0°C, y la mezcla se agitó a rt por 3 h. La reacción se apagó con la adición gota a gota de TMSOMe (30 mL) a 0°C y la mezcla se agitó a rt por 3 h. Después de la concentración y el secado bajo alto vacío, el residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea (SiO₂, hexano/EtOAc = 1:1) para dar el 28 (196.6 mg, 0.402 mmol, 97%) como un sólido de color blanco; $[\alpha]_D^{25}$ -96.6 (c 0.235, CHCl₃); IR (film) ν 3502, 2970, 2927, 1733, 1685, 1506, 1456, 1375, 1251, 1152, 1040, 977 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.06 (3H, s), 1.11 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.22 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 1.28 (3H, s), 1.72 (3H, s), 2.10 (3H, s), 2.31-2.40 (2H, m), 2.43 (1H, dd, *J* = 16.0, 3.7 Hz), 2.49 (1H, dd, *J* = 16.0, 9.2 Hz), 2.55-2.68 (2H, m), 2.71 (3H, s), 2.98 (1H, dd, *J* = 14.4, 6.4 Hz), 3.16 (1H, quint, *J* = 6.2 Hz), 3.76 (1H, dd, *J* = 5.9, 3.2 Hz), 4.30 (1H, dd, *J* = 9.2, 3.7 Hz), 5.18 (1H, brt, *J* = 7.3 Hz), 5.32 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.5 Hz), 5.63 (1H, dd, *J* = 15.7, 6.4 Hz), 5.60 (1H, ddd, *J* = 15.7, 6.9, 5.1 Hz), 6.60 (1H, s), 6.98 (1H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 15.1, 35 16.0, 17.7, 19.2, 19.5, 22.5, 23.6, 32.0, 35.0, 39.6, 40.3, 44.8, 53.3, 71.8, 75.6, 78.3, 116.1, 119.6, 120.5, 129.9, 131.3, 137.5, 138.2, 152.2, 165.0, 170.7, 218.8; LRMS (ESI) calc. para C₂₇H₄₀NO₅S [M+H⁺] 490.3, encontrado 490.2.



Compuesto 26

65 Se forma el azeótropo del ácido 25 y el alcohol 21 con benceno seco (5 mL x 2) y se secan bajo alto vacío antes de la reacción. A una solución del alcohol 21 (240 mg, 0.756 mmol) en CH₂Cl₂ (5 mL) se le adicionaron EDCI (192.7 mg, 1.01 mmol) y DMAP (122.8 mg, 1.01 mmol) a 0°C. A la mezcla se le adicionó una solución del ácido 25 (314.6 mg, 0.628 mmol) en CH₂Cl₂ (enjuagar con 2 mL + 1 mL) gota a gota sobre 15 min. a 0°C. Después de la agitación a 0°C por 2 h, la mezcla se agitó a rt por 2 h. Después de la concentración, el residuo se purificó por cromatografía de

ES 2 281 692 T3

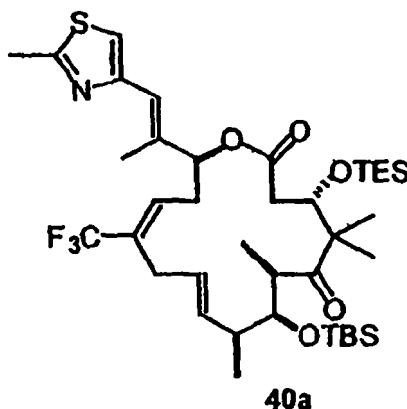
columna instantánea (SiO_2 , hexano/EtOAc = 20:1 a 15:1) para dar el 26 (340.1 mg, 0.425 mmol, 68% basado en el ácido) como un aceite incoloro; $[\alpha]_D^{24} -27.5$ (c 0.28, CHCl_3); IR (film) ν 2956, 2878, 1740, 1692, 1472, 1378, 1317, 1253, 1174, 1118, 988, 915, 872, 837, 775 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.06 (6H, s), 0.57-0.65 (6H, m), 0.92 (9H, s), 0.94 (9H, t, J = 7.9 Hz), 1.02 (3H, d, J = 6.9 Hz), 1.03 (3H, d, J = 6.8 Hz), 1.07 (3H, s), 1.22 (3H, s), 2.07-5.12 (4H, m), 5.30 (1H, t, J = 6.7 Hz), 5.76 (1H, ddt, J = 16.7, 10.2, 6.2 Hz), 5.92 (1H, ddd, J = 17.8, 9.9, 7.8 Hz), 6.19 (1H, t, J = 7.0 Hz), 6.51 (1H, s), 6.97 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{41}\text{H}_{68}\text{F}_3\text{NO}_5\text{SSi}_2\text{Na}$ [M+Na+] 822.4, encontrado 822.4.

10

15

20

25



Compuesto 40a (vía RCM del 26)

30 Una solución de 26 (57.6 mg, 72.0 μmol) en tolueno (142 mL) se calentó a refluro y se trató con una solución del catalizador de Grubbs (6.1 mg, 7.20 μmol) en tolueno (2 mL). La mezcla se agitó por 28 min., se enfrió a 0°C y se filtró a través de una almohadilla de silice gel, la cual se enjuagó con hexano/EtOAc = 2/1 (300 mL). Los filtrados combinados se concentraron y purificaron por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 , hexano/Et₂O = 40:1 a 15:2) para dar el 40a (12.0 mg, 15.5 μmol , 22%) como un aceite incoloro; IR (film) ν 2955, 2884, 1743, 1690, 1472, 1320, 1173, 1114, 1038, 1008, 873, 832, 773 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.09 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.55 (6H, q, J = 7.7 Hz), 0.88 (9H, t, J = 8.0 Hz), 0.96 (9H, s), 1.01 (3H, s), 1.06 (3H, d, J = 7.1 Hz), 1.12 (3H, s), 1.20 (3H, d, J = 7.1 Hz); 2.07-2.17 (1H, m), 2.19 (3H, s), 2.38 (1H, dd, J = 14.3, 3.5 Hz), 2.39-2.49 (1H, m), 2.50 (1H, dd, J = 14.3, 7.3 Hz), 2.73 (3H, s), 2.77-2.91 (2H, m), 2.96-3.09 (2H, m), 3.98 (1H, dd, J = 8.9 Hz), 4.54 (1H, dd, J = 7.3, 3.4 Hz), 5.28-5.38 (1H, m), 5.63 (1H, dd, J = 9.6, 2.3 Hz), 5.77 (1H, dd, J = 15.9, 8.5 Hz), 6.21-6.28 (1H, m), 6.60 (1H, s), 6.99 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{39}\text{H}_{65}\text{F}_3\text{NO}_5\text{SSi}_2$ [M+H+] 772.4, encontrado 772.4.

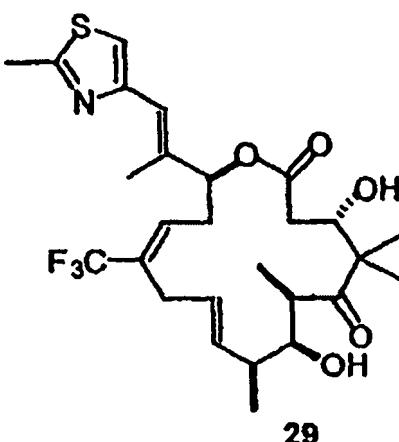
35

40

45

50

55

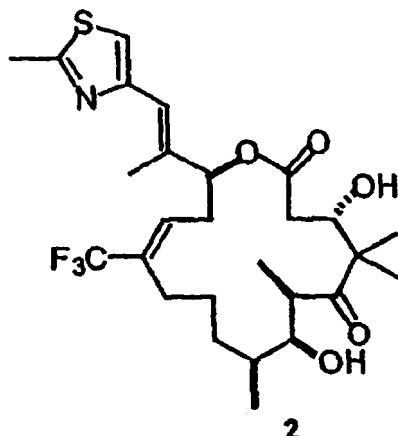


60 Compuesto 29

A una solución de 40a (1.78 g, 2.31 mmol) en THF (25 mL) se le adicionó lentamente HF-piridina (12.5 mL) a 0°C, y la mezcla se agitó a rt por 4 h. La reacción se apagó con adición gota a gota de TMSOMe (80 mL) durante 10 min. a 0°C. La mezcla se agitó vigorosamente a rt por 2.5 h. Despues de la concentración y el secado bajo alto vacío por 2 h, el residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 ~ 5.0 g, hexano/EtOAc = 1:1) para dar el 29 (1.20 g, 2.21 mmol, 96%) como un polvo incoloro; $[\alpha]_D^{25} -54.6$ (c 0.28, CHCl_3); IR (film) ν 3478, 2974, 2929, 1736, 1689, 1449, 1381, 1318, 1247, 1169, 1113, 1039, 983, 867, 736 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.05 (3H, s), 1.12 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.23 (3H, d, J = 6.8 Hz), 1.37 (3H, s), 2.04 (1H, brd, J = 3.8 Hz, -OH), 2.12 (3H, s),

2.25-2.33 (1H, m), 2.38 (1H, dd, J = 15.3, 3.0 Hz), 2.48 (1H, dd, J = 15.4, 9.8 Hz), 2.54-2.61 (1H, m), 2.66-2.76 (1H, m), 2.71 (3H, s), 2.96 (1H, dd, J = 16.5, 4.5 Hz), 3.02 (1H, dd, J = 16.3, 6.5 Hz), 3.11 (1H, quint, J = 6.7 Hz), 3.19 (1H, brs, =OH), 3.74 (1H, brs), 4.35 (1H, brd, J = 9.5 Hz), 5.42 (1H, dd, J = 6.2, 4.1 Hz), 5.60 (1H, ddd, J = 15.8, 5.6, 4.5 Hz), 5.66 (1H, dd, J = 15.8, 5.8 Hz), 6.24 (1H, t, J = 7.2 Hz), 6.64 (1H, s), 7.00 (1H, s); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 15.1, 16.1, 17.7, 18.5, 19.3, 22.5, 28.8, 31.1, 39.6, 39.7, 45.0, 53.7, 71.4, 75.3, 76.8, 116.7, 120.2, 124.3 [q, 1J(C,F) = 273.4 Hz], 127.9, 130.2 [q, 3J(C,F) = 6.0 Hz], 130.6 [q, 2J(C,F) = 28.4 Hz], 132.5, 136.7, 152.0, 165.4, 170.2, 218.4; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{NO}_5\text{S}$ [M+H+] 544.2, encontrado 544.1.

10



15

20

25

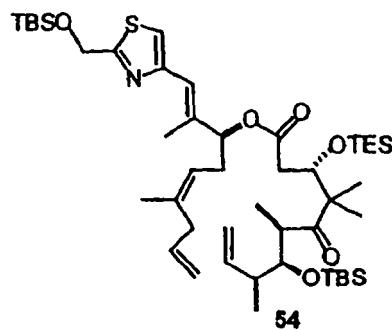
Compuesto 2

A una solución de 29 (1.22 mg, 2.24 μmol) y TtisNHNH₂ (26.7 mg, 89.6 μmol) en $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ (1 mL) a 50°C se le adicionó Et₃N (12.5 μL , 89.6 μmol). La reacción se monitoreó por HPTLC (hexano/EtOAc/CH₂Cl₂ = 1/1/2). Después de la agitación por 6.5 h, adicionalmente se le adicionaron a la mezcla TrisNHNH₂ (26.7 mg, 89.6 μmol) y Et₃N (12.5 μL , 89.6 μmol). Después de la agitación por 14 h, la mezcla se enfrió a rt, se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una almohadilla de silice gel, la cual se enjuagó con EtOAc. Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/EtOAc/CH₂Cl₂ = 1/1/2) para dar 2 (1.16 mg, 2.13 μmol , 94%) como un sólido de color blanco; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.03 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.08 (3H, s), 1.19 (3H, d, J = 6.8 Hz), 1.25-1.35 (2H, m), 1.37 (3H, s), 1.42-1.55 (2H, m), 1.65-1.82 (2H, m), 2.10 (3H, d, J = 0.8 Hz), 2.21-2.47 (2H, m), 2.27 (1H, dd, J = 14.2, 2.6 Hz), 2.48 (1H, dd, J = 14.3, 10.8 Hz), 2.70 (3H, s), 2.70-2.28 (1H, m), 3.02 (1H, d, J = 2.0 Hz, -OH), 3.19 (1H, qd, J = 6.9, 2.2 Hz), 3.65 (1H, d, J = 6.2 Hz, -OH), 3.69-3.72 (1H, m), 4.34 (1H, ddd, J = 10.8, 6.2, 2.6 Hz), 5.28 (1H, dd, J = 10.2, 2.2 Hz), 6.12 (1H, dd, J = 10.2, 5.2 Hz), 6.61 (1H, s), 6.98 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{F}_3\text{NO}_5\text{S}$ [M+H+] 546.3, encontrado 546.2.

40

45

50



55

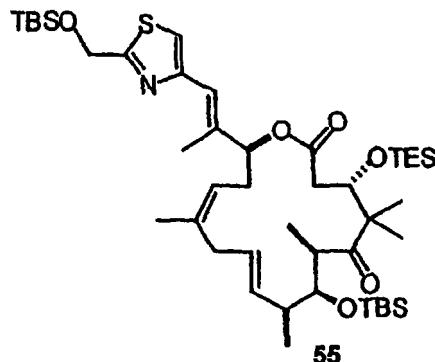
Compuesto 54

Se forma el azeótropo del ácido 25 y alcohol 53 con benceno seco (3 mL x 2) y se secaron bajo alto vacío antes de la reacción. A una solución del alcohol 53 (68.0 mg, 0.173 mmol) en CH₂Cl₂ (1.3 mL) se le adicionaron EDCI (37.8 mg, 0.197 mmol) y DMAP (24.1 mg, 0.197 mmol) a 0°C. A la mezcla se le adicionó una solución de ácido 25 (72.6 mg, como 0.123 mmol) en CH₂Cl₂ (0.7 mL) gota a gota durante 5 min. a 0°C. Después de la agitación a 0°C por 1 h, la mezcla se agitó a rt por 2.5 h. Después de la concentración, el residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea (SiO₂, hexano/EtOAc = 30: 1) para dar el 54 (99.5 mg, 0.114 mmol, 92% de t-butil éster) como un aceite incoloro; $[\alpha]_D^{25}$ -23.4 (c 0.56, CHCl₃); IR (film) ν 2955, 2931, 2880, 1735, 1696, 1506, 1472, 1386, 1362, 1294, 1254, 1174, 1104, 988, 878, 776, 742 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.06 (3H, s), 0.06 (3H, s), 0.14 (6H, s), 0.63 (6H, q, J = 8.0 Hz), 0.92 (9H, s), 0.94 (9H, t, J = 8.0 Hz), 0.97 (9H, s), 1.02 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.05 (3H, d, J = 6.5 Hz), 1.07 (3H, s), 1.21 (3H, s), 1.67 (3H, s), 2.06 (3H, d, J = 0.8 Hz), 2.05-2.14 (1H, m), 2.30 (1H, dd, J = 16.9, 7.5 Hz), 2.33-2.53 (2H, m), 2.50 (1H, dd, J = 16.9, 2.7 Hz), 2.76-2.80 (2H, m), 3.07 (1H, quint, J = 7.0 Hz), 3.83 (1H, dd, J

ES 2 281 692 T3

= 7.0, 2.2 Hz), 4.35 (1H, dd, *J* = 7.4, 2.8 Hz), 4.97 (2H, s), 4.97-5.07 (4H, m), 5.16 (1H, t, *J* = 7.2 Hz), 5.24 (1H, t, *J* = 6.9 Hz), 5.74 (1H, ddt, *J* = 16.6, 10.0, 6.5 Hz), 5.91 (1H, ddd, *J* = 17.6, 9.9, 7.7 Hz), 6.50 (1H, s), 7.06 (1H, s); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ -5.2 (2C), -3.7, -3.3, 5.3 (3C), 7.2 (3C), 14.7, 15.2, 18.5, 18.7, 18.9, 20.3, 23.6, 23.7, 26.0 (3C), 26.4 (3C), 31.7, 36.7, 40.1, 43.8, 46.4, 53.3, 63.4, 74.2, 76.5, 79.6, 115.5, 115.6, 116.6, 120.5, 121.3, 135.8, 136.1, 137.4, 140.1, 153.0, 171.5, 172.2, 218.4; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{47}\text{H}_{86}\text{NO}_6\text{SSi}_3$ [M+H+] 876.6, encontrado 876.5.

10



15

20

25 Compuesto 55

Una solución de 54 (69.7 mg, 79.5 μmol) en tolueno (158 mL) se calentó a reflujo y se trató con una solución del catalizador de Grubbs (6.7 mg, 7.95 μmol) en tolueno (2 mL). La mezcla se agitó por 11 min., se enfrió a 0°C y se filtró a través de una almohadilla de sílica gel, la cual se enjuagó con hexano/EtOAc = 3/1 (280 mL). Los filtrados combinados se concentraron y purificaron por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 , hexano/Et₂O = 20:1 a 15:1) para dar el 55 (18.4 mg, 21.7 μmol , 27%) como un aceite incoloro; $[\alpha]_D^{24}$ -40.4 (c 0.26, CHCl_3); IR (film) ν 2955, 2930, 2879, 1740, 1694, 1472, 1387, 1362, 1253, 1200, 1107, 1007, 838, 776, 742 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.08 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.15 (6H, s), 0.57 (6H, q, *J* = 7.9 Hz), 0.88 (9H, t, *J* = 8.0 Hz), 0.95 (9H, s), 0.97 (9H, s), 1.04 (3H, s), 1.06 (3H, d, *J* = 7.1 Hz), 1.12 (3H, s), 1.17 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.69 (3H, s), 2.06-2.30 (2H, m), 2.14 (3H, s), 2.45 (1H, dd, *J* = 15.6, 3.6 Hz), 2.50 (1H, dd, *J* = 14.9, 3.1 Hz), 2.63-2.75 (2H, m), 2.97-3.06 (1H, m), 3.10 (1H, dd, *J* = 14.6, 7.7 Hz), 3.97 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 4.44 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.9 Hz), 4.97 (2H, s), 5.22 (1H, dd, *J* = 8.7, 5.2 Hz), 5.33-5.44 (2H, m), 5.70 (1H, dd, *J* = 15.6, 8.1 Hz), 6.57 (1H, s), 7.07 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{45}\text{H}_{82}\text{NO}_6\text{SSi}_3$ [M+H+] 848.5, encontrado 848.5.

40

45

50

55

Compuesto 57

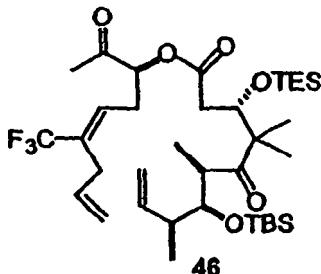
60

A una solución de 55 (61.8 mg, 72.8 μmol) en TBF (2 mL) se le adicionó HF-piridina (1 mL) a 0°C, y la mezcla se agitó a rt por 3.2 h. La reacción se apagó con la adición gota a gota de TMSOMe (15 mL) a 0°C. La mezcla se agitó a rt por 2 h. Después de la concentración y el secado bajo alto vacío, el residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 , hexano/EtOAc = 1:3) para dar el 57 (32.4 mg, 64.1 μmol , 88%) como un sólido de color blanco; $[\alpha]_D^{25}$ -108.4 (c 0.285, CHCl_3); IR (film) ν 3422, 2968, 2919, 2729, 1689, 1449, 1377, 1252, 1152, 1064, 978 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.05 (3H, s), 1.12 (3H, d, *J* = 6.9 Hz), 1.22 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 1.32 (3H, s), 1.72 (3H, s), 2.08 (3H, s), 2.31-2.40 (3H, m), 2.43 (1H, dd, *J* = 15.5, 3.5 Hz), 2.49 (1H, dd, *J* = 15.5, 9.5 Hz), 2.55-2.67 (2H, m), 2.95 (1H, dd, *J* = 14.6, 6.3 Hz), 3.13 (1H, quint, *J* = 6.6 Hz), 3.34 (1H, brs, -OH), 3.75 (1H, dd, *J* = 6.6,

ES 2 281 692 T3

2.4 Hz), 4.06 (1H, brs, -OH), 4.33 (1H, dd, J = 9.4, 3.0 Hz), 4.92 (2H, s), 5.18 (1H, t, J = 6.9 Hz), 5.33 (1H, dd, J = 8.0, 2.5 Hz), 5.52 (1H, dd, J = 15.8, 6.4 Hz), 5.59 (1H, ddd, J = 15.8, 6.6, 5.0 Hz), 6.63 (1H, s), 7.13 (1H, s); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 15.3, 16.3, 17.8, 19.2, 22.8, 23.7, 31.9, 35.1, 39.7, 40.2, 45.0, 53.4, 61.8, 71.7, 75.8, 78.1, 116.7, 119.0, 120.5, 130.0, 131.2, 137.6, 138.9, 152.5, 170.0, 170.7, 218.7; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{NO}_6\text{SNa}$ [M+Na+] 528.2, encontrado 528.0.

10



15

Compuesto 46

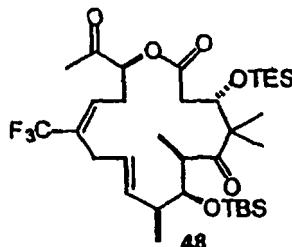
20

Se forma el azeótropo del ácido crudo 25 (4.65 g, como 7.27 mmol) y el alcohol 44 (2.18 g, 9.84 mmol) con benceno seco y se secaron bajo alto vacío antes de la reacción. A una solución de alcohol 44 (2.18 g, 9.84 mmol) en CH_2Cl_2 (65 mL) se le adicionaron EDCI (2.09 g, 10.9 mmol) y DMAP (1.33 g, 10.9 mmol) a 0°C. A la mezcla se le adicionó una solución de ácido crudo 25 (4.65 g, as 7.27 mmol) en CH_2Cl_2 (enjuagar con 20 mL + 5 mL) gota a gota durante 20 min. a 0°C. Después de la agitación a 0°C por 40 min., la mezcla se agitó a rt por 4 h. Después de la concentración, el residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 ~160 g, hexano/EtOAc = 20:1) para dar el 46 (4.85 g, 6.87 mmol, 94% de t-butil éster) como un aceite incoloro;

30 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.08 (3H, s), 0.08 (3H, s), 0.60 (6H, q, J = 7.8 Hz), 0.93 (9H, s), 0.94 (9H, t, J = 8.0 Hz), 1.04 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.04 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.11 (3H, s), 1.23 (3H, s), 2.05-2.14 (1H, m), 2.17 (3H, s), 2.40 (1H, dd, J = 16.9, 7.0 Hz), 2.59 (1H, dd, J = 17.0, 3.6 Hz), 2.56-2.64 (2H, m), 2.90-3.01 (2H, m), 3.06 (1H, quint, J = 7.0 Hz), 3.85 (1H, dd, J = 7.3, 2.0 Hz), 4.38 (1H, d, J = 7.0, 3.4 Hz), 4.97-5.14 (5H, m), 5.75 (1H, ddt, J = 16.0, 9.9, 6.2 Hz), 5.92 (1H, ddd, J = 17.8, 10.5, 7.8 Hz), 6.21 (1H, td, J = 7.2, 1.5 Hz); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{36}\text{H}_{63}\text{F}_3\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ [M+Na+] 727.4, encontrado 727.3.

35

40



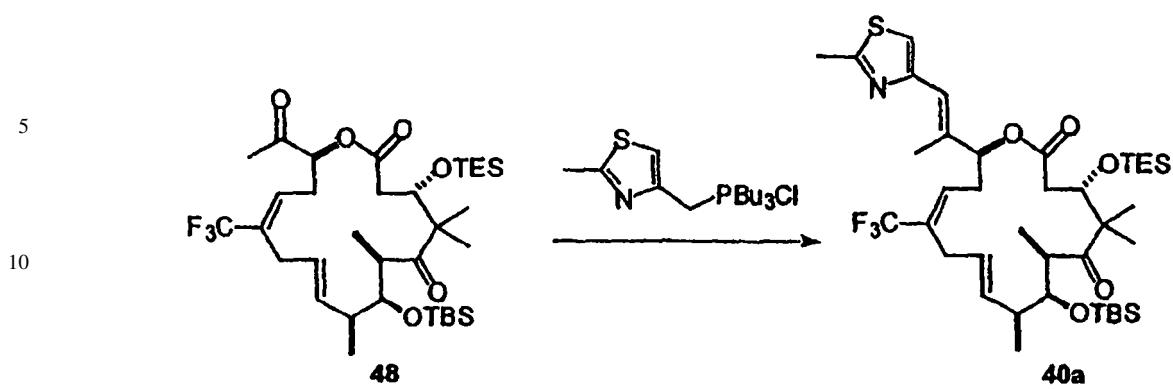
45

Compuesto 48

50 Una solución de 46 (510.0 mg, 0.723 mmol) en tolueno (500 mL) se calentó a reflujo y se trató con una solución del catalizador de Grubbs (92.1 mg, 0.109 mmol) en tolueno (10 mL). La mezcla se agitó por 17 min. bajo reflujo e inmediatamente se enfrió a 0°C y se conservó a 0°C antes de la filtración a través de una almohadilla de silica gel. Una segunda cantidad de dieno (510.0 mg, 0.723 mmol) se procesó idéntica y simultáneamente. Las mezclas de reacción se filtraron a través de una almohadilla de silica gel (100 g), que se enjuagó con hexano/EtOAc = 3/1 (1.4 L). Los filtrados combinados se concentraron y purificaron por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 ~65 g, hexano/Et₂O = 10:1 a 5:1) para dar el 48 (742.4 mg, 1.10 mmol, 76%) como un aceite incoloro;

55 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.08 (3H), 0.10 (3H, s), 0.60 (6H, q, J = 7.8 Hz), 0.93 (9H, s), 0.94 (9H, t, J = 7.8 Hz), 1.03 (3H, d, J = 7.1 Hz), 1.08 (3H, s), 1.13 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.17 (3H, s), 2.26 (3H, s), 2.25-2.34 (1H, m), 2.64 (1H, dd, J = 15.5, 5.0 Hz), 2.68-2.75 (2H, m), 2.76 (1H, dd, J = 15.6, 6.4 Hz), 2.85 (1H, dd, J = 15.6, 5.7 Hz), 2.97 (1H, dq, J = 8.3, 6.9 Hz), 3.04 (1H, dd, J = 15.6, 6.3 Hz), 3.92 (1H, dd, J = 8.3, 1.2 Hz), 4.36 (1H, t, J = 5.3 Hz), 5.30-5.39 (2H, m), 5.58 (1H, dd, J = 15.5, 8.0 Hz), 6.13 (1H, brt, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ -3.6, -3.6, 5.4 (3C), 7.0 (3C), 17.5, 18.5, 19.0, 21.6, 23.5, 26.3 (3C), 26.5, 28.6, 29.1, 41.0, 42.3, 47.3, 54.1, 74.2, 76.8, 77.7, 124.0 [$^{1}\text{J}(\text{C},\text{F})$ = 273.7 Hz], 126.0, 128.7 [$^{3}\text{J}(\text{C},\text{F})$ = 5.9 Hz], 132.2 [$^{2}\text{J}(\text{C},\text{F})$ = 28.1 Hz], 133.8, 170.5, 204.1, 216.1; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{34}\text{H}_{59}\text{F}_3\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ [M+Na+] 699.4, encontrado 699.4.

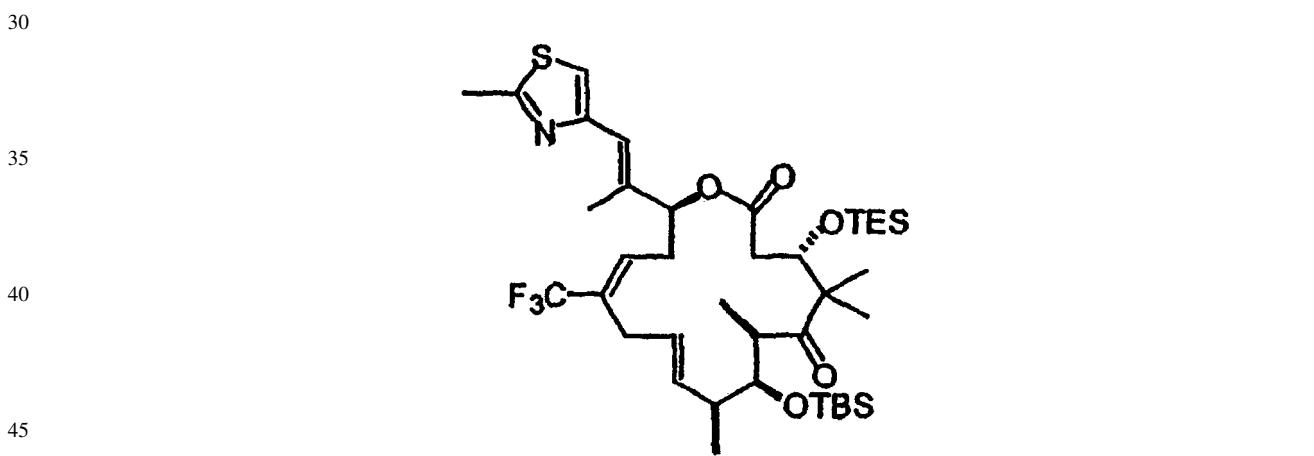
65



Compuesto 40a (vía reacción Wittig de la cetona 48)

20 La cetona 48 fue sometida a un proceso de azeotropía con benceno (5 mL x 2) y luego se seca bajo alto vacío por 0.5 h. A una solución de la sal de Wittig (907 mg, 2.59 mmol) en THF (19 mL) se le adicionó t-BuOK (2.4 mL de una solución 1.0 M en THF, 2.43 mmol) gota a gota durante 5 min. a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C por 0.5 h y luego se enfrió a -78°C. A la mezcla se le adicionó gota a gota una solución de cetona 48 (1.10 g, 1.62 mmol) en THF (13 mL) durante 10 min., y la mezcla resultante se dejó calentar a -20°C durante 2 h. La reacción se apagó con NH₄Cl saturado acuoso (15 mL) y se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (SiO₂, hexano/Et₂O = 20:1 a 10:1) para dar el deseado 16(E)-isómero 40a (940 mg, 1.22 mmol, 75%) junto con el indeseado 16(Z)-isómero 40b (140.9 mg, 0.182 mmol, 11%), ambos como aceites incoloros;

25



50

$[\alpha]_D^{26}$ -17.1 (c 0.14, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.09 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.55 (6H, q, *J* = 7.7 Hz), 0.88 (9H, t, *J* = 8.0 Hz), 0.96 (9H, s), 1.01 (3H, s), 1.06 (3H, d, *J* = 7.1 Hz), 1.12 (3H, s), 1.20 (3H, d, *J* = 7.1 Hz), 2.07-2.17 (1H, m), 2.19 (3H, s), 2.38 (1H, dd, *J* = 14.3, 3.5 Hz), 2.39-2.49 (1H, m), 2.50 (1H, dd, *J* = 14.3, 7.3 Hz), 2.73 (3H, s), 2.77-2.91 (2H, m), 2.96-3.09 (2H, m), 3.98 (1H, dd, *J* = 8.9 Hz), 4.54 (1H, dd, *J* = 7.3, 3.4 Hz), 5.28-5.38 (1H, m), 5.63 (1H, dd, *J* = 9.6, 2.3 Hz), 5.77 (1H, dd, *J* = 15.9, 8.5 Hz), 6.21-6.28 (1H, m), 6.60 (1H, s), 6.99 (1H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -3.4, -3.3, 5.5 (3C), 7.0 (3C), 14.6, 17.1, 18.7, 19.4, 19.9, 21.3, 24.8, 26.4 (3C), 29.6, 32.8, 42.0, 42.1, 48.2, 54.1, 73.4, 76.9, 77.8, 117.0, 121.6, 124.3 [*J*(C,F) = 273.5 Hz], 127.2, 130.6 [*J*(C,F) = 28.2 Hz], 130.8 [*J*(C,F) = 6.1 Hz], 133.2, 136.5, 152.3, 165.0, 170.1, 217.1; HRMS (ESI) calc. para C₃₉H₆₅F₃NO₅SSi₂ [M+H+] 772.4074, encontrado 772.4102.

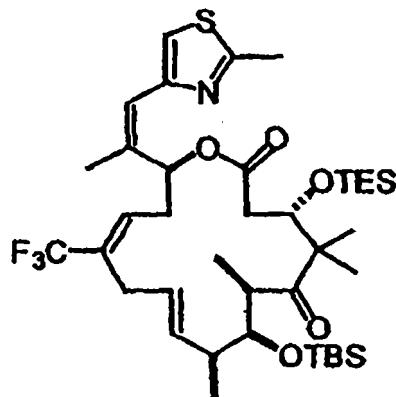
55

60

5

10

15



20

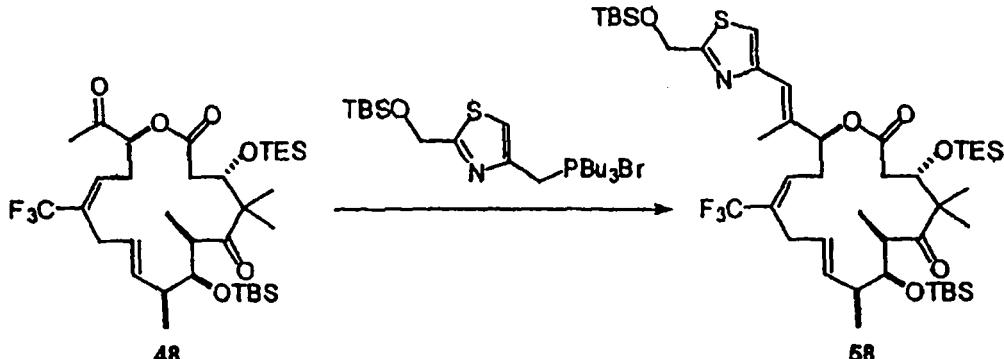
$[\alpha]_D^{25}$ 62.7 (c 0.33, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.09 (3H, s), 0.13 (3H, s), 0.49 (6H, q, J = 7.8 Hz), 0.85 (9H, t, J = 7.8 Hz), 0.97 (9H, s), 0.99 (3H, s), 1.06 (3H, d, J = 7.1 Hz), 1.11 (3H, s), 1.20 (3H, d, J = 7.1 Hz), 2.00 (3H, s), 2.03-2.13 (1H, m), 2.35 (1H, dd, J = 14.3, 3.0 Hz), 2.46 (1H, dd, J = 14.3, 7.8 Hz), 2.41-2.50 (1H, m), 2.73 (3H, s), 2.71-2.90 (2H, m) 2.98-3.12 (2H, m), 3.99 (1H, d, J = 9.2 Hz), 4.56 (1H, dd, J = 7.7, 2.8 Hz), 5.33 (1H, ddd, J = 15.6, 8.9, 4.1 Hz), 5.82 (1H, dd, J = 15.6, 8.4 Hz), 6.29 (1H, s), 6.33-6.40 (1H, m), 6.94 (1H, en), 7.09 (1H, brd; J = 8.4 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ -3.2, -3.2, 5.5 (3C), 7.0 (3C), 1.7.2, 18.7; 19.3, 19.6, 20.0, 22.3, 24.9, 26.4 (3C), 29.7, 32.9, 41.9, 42.0, 48.6, 54.0, 72.2, 73.3, 77.0, 116.7, 120.7, 124.5 [$^{1}\text{J}(\text{C},\text{F})$ = 273.3 Hz], 127.9, 129.7 [$^{2}\text{J}(\text{C},\text{F})$ = 28.0 Hz], 131.9 [$^{3}\text{J}(\text{C},\text{F})$ = 6.1 Hz], 132.9, 136.6, 152.1, 165.4, 170.2, 217.4; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{39}\text{H}_{65}\text{F}_3\text{NO}_5\text{SSi}_2$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 772.4, encontrado 772.4

30

35

40

45



Compuesto 58 (vía reacción Wittig de la cetona 48)

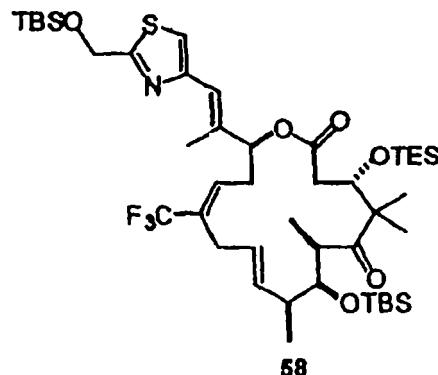
50

La cetona 48 fue sometida a un proceso de azeotropía con benceno (5 mL x 2) y luego se secaron bajo alto vacío por 0.5 h. A una solución de la sal Wittig (1.19 g, 2.27 mmol) en THF (18 mL) se le adicionó t-BuOK (2.2 mL de una solución 1.0 M en THF, 2.20 mmol) gota a gota durante 5 min. a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C por 20 min. y luego se enfrió a -78°C. A la mezcla se le adicionó gota a gota una solución de cetona (1.06 g, 1.51 mmol) en THF (enjuagar con 10 mL + 2 mL) durante 10 min., y la mezcla resultante se dejó calentar a -20°C durante 2 h. La reacción se apagó con NH_4Cl saturado acuoso (15 mL) y se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea ($\text{SiO}_2 \sim 65$ g, hexano/Et₂O = 30:1 a 20:1) para dar el deseado 16(E)-isómero 58 (1.01 g, 1.11 mmol, 74%) junto con el indeseado 16(Z)-isómero 58a (154.5 mg, 0.182 mmol, 11%) ambos como aceites incoloros;

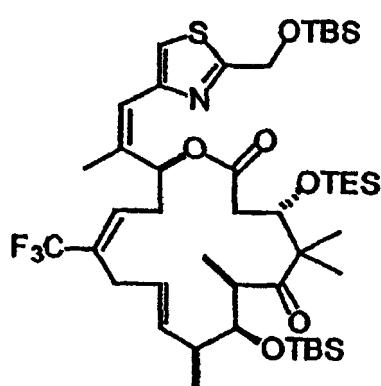
60

65

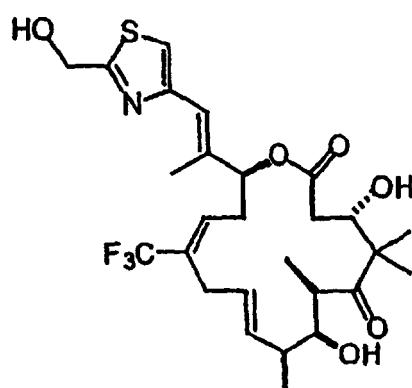
ES 2 281 692 T3



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.09 (3H, s), 0.12 (3H, s), 0.15 (6H, s), 0.55 (6H, q, *J* = 7.8 Hz), 0.87 (9H, t, *J* = 8.0 Hz), 0.96 (9H, s), 0.97 (9H, s), 1.01 (3H, s), 1.06 (3H, d, *J* = 7.1 Hz), 1.12 (3H, s), 1.20 (3H, d, *J* = 7.1 Hz), 2.07-2.16 (1H, m), 2.18 (3H, d, *J* = 1.0 Hz), 2.38 (1H, dd, *J* = 14.4, 3.3 Hz), 2.34-2.46 (1H, m), 2.49 (1H, dd, *J* = 14.4, 7.4 Hz), 2.78-2.90 (2H, m), 2.97-3.09 (2H, m), 3.98 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 4.54 (1H, dd, *J* = 7.3, 3.3 Hz), 4.97 (2H, s), 5.33 (1H, ddd, *J* = 15.8, 8.6, 4.9 Hz), 5.63 (1H, dd, *J* = 9.6, 2.4 Hz), 5.78 (1H, dd, *J* = 15.8, 8.2 Hz), 6.22-6.27 (1H, m), 6.60 (1H, s), 7.09 (1H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -5.3 (2C), -3.4, -3.3, 5.5 (3C), 7.0 (3C), 14.6, 17.1, 18.4, 18.7, 19.8, 21.3, 24.8, 25.9 (3C), 26.4 (3C), 29.6, 32.9, 42.0, 42.1, 48.2, 54.1, 63.4, 73.4, 76.9, 77.8, 117.2, 121.7; 124.3 [q, 1J(C,F) = 273.6 Hz], 127.2, 130.7 [q, 2J(C,F) = 27.5 Hz], 130.8 [q, 3J(C,F) = 6.2 Hz], 133.2, 136.4, 152.6, 170.1, 172.4, 217.1; LRMS (ESI) calc. para C₄₅H₇₈F₃NO₆SSi₃Na [M+Na⁺] 924.5, encontrado 924.5.



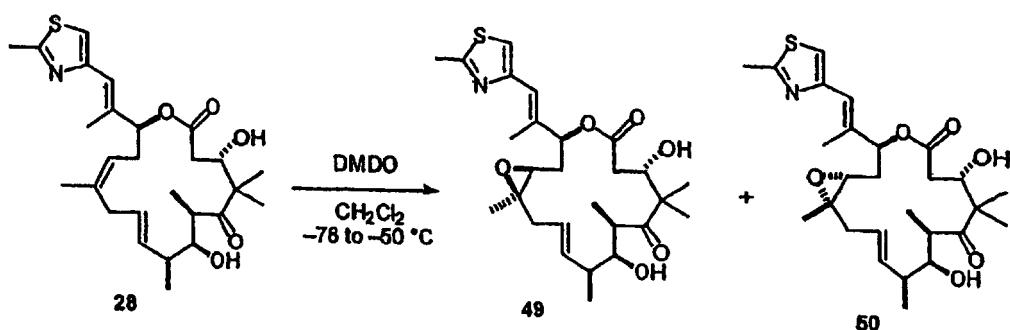
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.07 (3H, s), 0.13 (3H, s), 0.16 (6H, s), 0.48 (6H, q, *J* = 7.8 Hz), 0.84 (9H, t, *J* = 7.9 Hz), 0.97 (18H, s), 0.98 (3H, s), 1.06 (3H, d, *J* = 7.1 Hz), 1.11 (3H, s), 1.20 (3H, d, *J* = 7.2 Hz), 2.00 (3H, s), 2.03-2.11 (1H, m), 2.33 (1H, dd, *J* = 14.1, 2.8 Hz), 2.43 (1H, dd, *J* = 14.0, 7.8 Hz), 2.40-2.48 (1H, m), 2.76-2.89 (2H, m), 2.97-3.10 (2H, m), 3.99 (1H, d, *J* = 9.3 Hz), 4.57 (1H, dd, *J* = 7.8, 2.6 Hz), 4.95 (1H, d, *J* = 14.6 Hz), 5.00 (1H, d, *J* = 14.6 Hz), 5.33 (1H, ddd, *J* = 15.6, 9.1, 3.8 Hz), 5.82 (1H, dd, *J* = 15.6, 8.3 Hz), 6.30 (1H, s), 6.32-6.38 (1H, m), 7.04 (1H, s), 7.11 (1H, dd, *J* = 11.0, 2.3 Hz); LRMS (ESI) calc. para C₄₅H₇₈F₃NO₆SSNa [M+Na⁺] 924.5, encontrado 924.5.



Compuesto 59

A una solución de 58 (1.04 g, 2.25 mmol) en THF (22 mL) se le adicionó lentamente HF-piridina (11 mL) a 0°C, y la mezcla se agitó a rt por 4.3 h. La reacción se apagó con la adición gota a gota de TMSOMe (75 mL) durante 10 min. a 0°C. La mezcla se agitó vigorosamente a rt por 4.2 h. Despues de la concentración y el secado bajo alto vacío por 1 h, el residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 ~25 g, hexano/EtOAc = 3:4 a 1:2) para dar el 59 (615.7 mg, 1.00 mmol, 96%) como un polvo incoloro; $[\alpha]_D^{25}$ -57.7 (c 1.20, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.04 (3H, s), 1.12 (3H, d, J = 6.9 Hz), 1.25 (3H, d, J = 6.8 Hz), 1.36 (3H, s), 1.90 (1H, d, J = 6.6 Hz, OH), 2.08 (3H, s), 2.23-2.32 (1H, m), 2.34 (1H, dd, J = 15.7, 2.4 Hz), 2.49 (1H, dd, J = 15.7, 10.1 Hz), 2.59-2.69 (2H, m), 2.95-3.01 (2H, m), 3.04 (1H, quintet, J = 6.8 Hz), 3.72 (1H, td, J = 7.0, 3.0 Hz), 3.78 (1H, d, J = 5.7 Hz, OH), 4.38 (1H, ddd, J = 10.1, 5.7, 2.4 Hz), 4.90 (2H, d, J = 6.1 Hz), 5.10 (1H, t, J = 6.1 Hz, OH), 5.44 (1H, t, J = 4.7 Hz), 5.60 (1H, dd, J = 15.9, 4.4 Hz), 5.66 (1H, dd, J = 15.9, 5.0 Hz), 6.28 (1H, t, J = 6.7 Hz), 6.73 (1H, s), 7.16 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{NO}_6\text{SNa} [\text{M}+\text{H}^+]$ 560.2, encontrado 560.1.

15

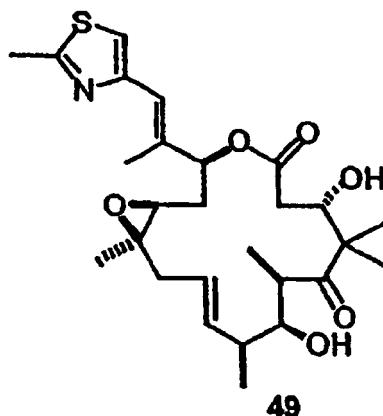


30

Los compuestos comparativos 49 y 50

Una solución de 28 (12.2 mg, 24.9 μmol) en CH_2Cl_2 (1.25 mL) se enfrió a -78°C y se trató con una solución fría de DMDO (-78°C, 0.06 M en acetona, 914 μL , 54.8 μmol). La mezcla se dejó calentar a -50°C y se agitó a -50°C por 2.7 h. El exceso de DMDO se eliminó a -50°C por la adición de dimetilsulfido (117 μL) y la mezcla se agitó a esta temperatura por 0.5 h. El solvente se retiro con vacío. La purificación por cromatografía de capa delgada preparativa (hexano/EtOAc = 1/2) proporcionó el β -epóxido 49 (3.0 mg, 5.93 μmol , 24%) y α -epóxido 50 (7.9 mg, 15.6 μmol , 63%) ambos como sólidos incoloros.

40



60

Compuesto comparativo 49

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.03 (3H, s), 1.11 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.14 (3H, d, J = 6.9 Hz), 1.34 (3H, s), 1.36 (3H, s), 2.00 (1H, ddd, J = 15.1, 7.3, 4.0 Hz), 2.14 (1H, dt, J = 15.1, 5.2 Hz), 2.14 (3H, s), 2.21 (1H, dd, J = 14.6, 8.0 Hz), 2.33 (1H, dd, J = 14.7, 4.8 Hz), 2.47 (1H, dd, J = 13.8, 3.3 Hz), 2.59 (1H, dd, J = 13.8, 9.4 Hz), 2.73 (3H, s), 2.77 (1H, brs, OH), 2.93 (1H, dd, J = 7.3, 4.8 Hz), 3.34 (1H, qd, J = 6.9, 3.7 Hz), 3.75-3.82 (1H, m), 4.12-4.24 (2H, m, incluyendo OH), 5.54 (1H, ddd, J = 15.7, 7.4, 5.0 Hz), 5.54-5.60 (1H, m), 5.64 (1H, dd, J = 15.7, 5.6 Hz), 6.94 (1H, s), 7.01 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{NO}_6\text{S} [\text{M}+\text{H}^+]$ 506.3, encontrado 506.3.

5

10

15

50

Compuesto comparativo 50

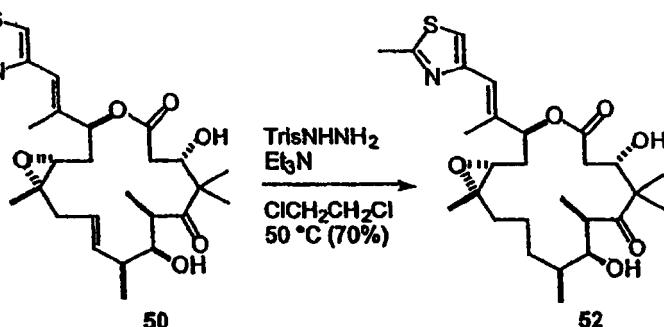
20

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.00 (3H, s), 1.04 (3H, d, *J* = 6.9 Hz), 1.12 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.35 (3H, s), 1.35 (3H, s), 1.87 (1H, dt, *J* = 15.0, 9.2 Hz), 2.03 (1H, dd, *J* = 13.9, 9.2 Hz), 2.13 (3H, s), 2.13-2.19 (1H, m), 2.36 (1H, dd, *J* = 13.9, 3.4 Hz), 2.39 (1H, dd, *J* = 12.2, 2.1 Hz), 2.42-2.51 (1H, m), 2.49 (1H, dd, *J* = 12.4, 10.9 Hz), 2.69 (1H, d, *J* = 2.7 Hz), 2.72 (3H, s), 3.06 (1H, dd, *J* = 9.7, 3.1 Hz), 3.54 (1H, qd, *J* = 7.0, 2.0 Hz), 3.76-3.80 (1H, m), 4.07-4.14 (1H, m), 4.31 (1H, d, *J* = 4.1 Hz), 5.52 (1H, dd, *J* = 15.5, 8.7 Hz), 5.60 (1H, ddd, *J* = 15.1, 9.4, 3.4 Hz), 5.71 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.63 (1H, s), 6.99 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para C₂₇H₃₉NO₆SnNa [M+Na⁺] 528.2, encontrado 528.2.

25

30

35



40

Compuesto comparativo 52

45

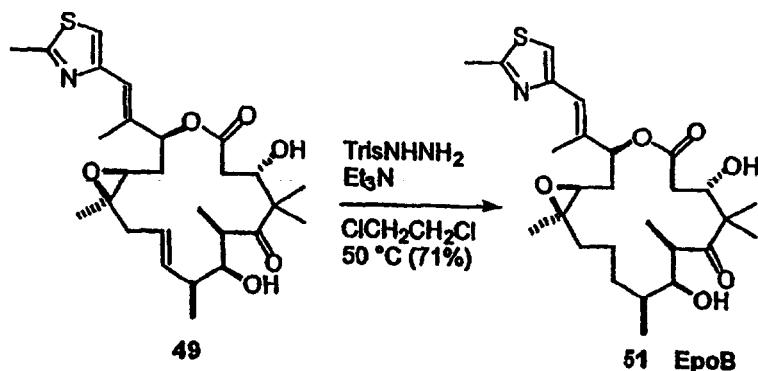
50

A una solución de 50 (1.7 mg, 3.4 μ mol) y TrisNHNH₂ (40.1 mg, 0.134 mmol) en ClCH₂CH₂Cl (0.8 mL) a 50°C se le adicionó Et₃N (18.7 μ L, 0.134 mmol). La reacción se monitoreó por HPTLC (hexano/EtOAc = 1/2). Después de la agitación por 4 h, la mezcla se enfrió a rt, se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una almohadilla de silice gel, que se enjuagó con EtOAc. Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/EtOAc = 1/2) para dar el 52 (1.2 ing, 2.4 μ mol, 70%) como un sólido de color blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.95 (3H, d, *J* = 7.1 Hz); 1.04 (3H, s), 1.11 (3H, d, *J* = 7.0 Hz); 1.28 (3H, s), 1.37 (3H, s), 1.35-1.44 (1H, m), 1.45-1.59 (4H, m), 1.71-1.82 (2H, m), 1.86 (1H, dt, *J* = 15.3, 9.5 Hz), 2.10 (1H, dd, *J* = 15.3, 3.6 Hz), 2.13 (3H, s), 2.40 (1H, dd, *J* = 12.5, 2.5 Hz), 2.49 (1H, dd, *J* = 12.5, 11.0 Hz), 2.74 (3H, s), 2.80 (1H, brs, OH), 3.07 (1H, dd, *J* = 10.3, 3.3 Hz), 3.34 (1H, qd, *J* = 7.0, 1.0 Hz), 3.89 (1H, brs, OH), 4.03-4.09 (1H, m), 4.12-4.17 (1H, m), 5.69 (1H, d, *J* = 9.1 Hz); 6.63 (1H, s), 7.00 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para C₂₇H₄₁NO₆SnNa [M+Na⁺] 530.3, encontrado 530.2.

55

60

65



Compuesto comparativo 51

A una solución de 49 (0.7 mg, 1.38 μ mol) y TrisNNNH₂ (20.6 mg, 69 μ mol) en ClCH₂CH₂Cl (0.4 mL) a 50°C se le adicionó Et₃N (9.6 μ L, 69 μ mol). La reacción se monitoreo por HPTLC (hexano/EtOAc = 1/2). Después de la agitación por 6 h, la mezcla se enfrió a rt, se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una almohadilla de sílica gel, que se enjuagó con EtOAc. Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/EtOAc = 1/2) proporcionó el 51 (0.5 mg, 0.985 μ mol, 71%) como un sólido de color blanco. Los datos espectrales de 51 fueron idénticos a aquellos reportados de EpoB.

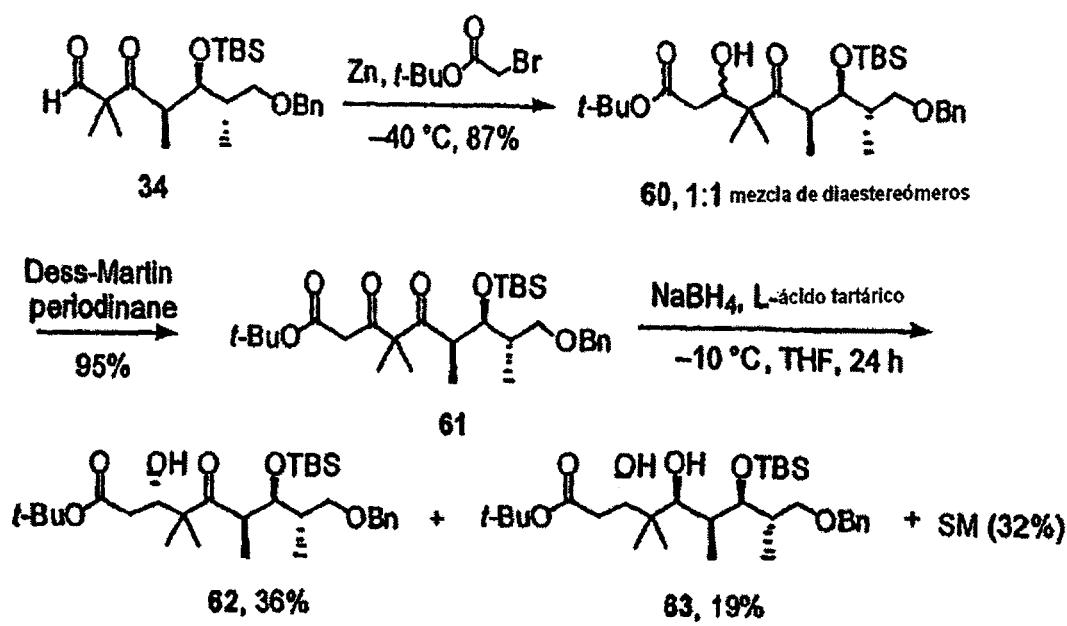
10 Ejemplo 2

Estrategias sintéticas alternativas para sintetizar los intermediarios de los epotilones

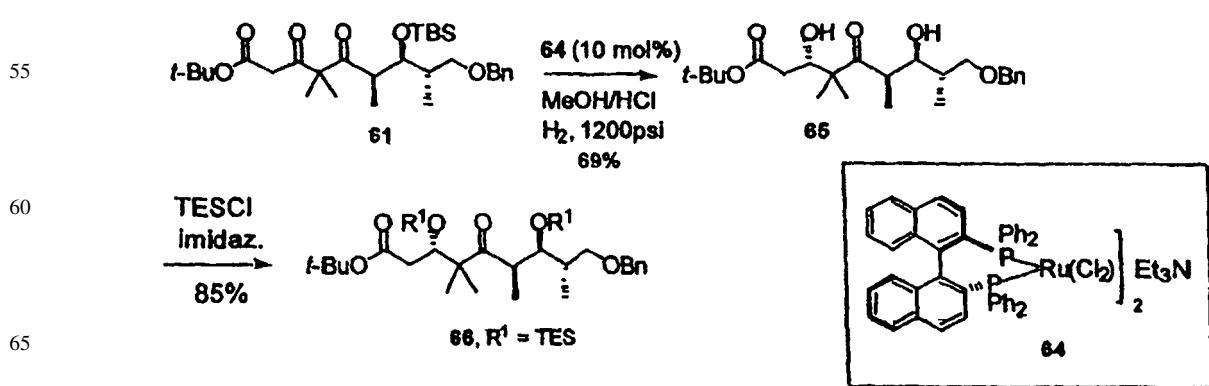
15 Los siguientes ejemplos ofrecen métodos de preparación de los varios intermediarios en la síntesis de análogos del epotilone.

Optimización de la Síntesis de 9,10-dihidroepotilones

20 Ejemplo 1



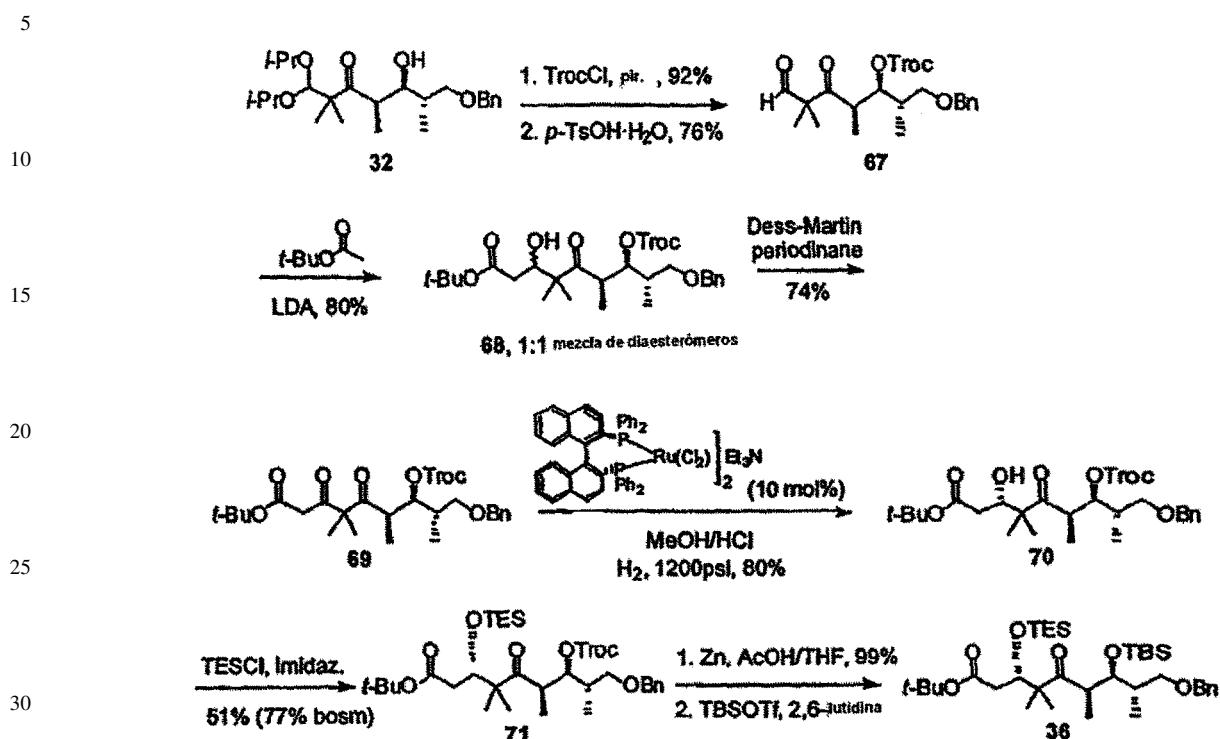
50 Ejemplo 2

Reducciones Noyori

ES 2 281 692 T3

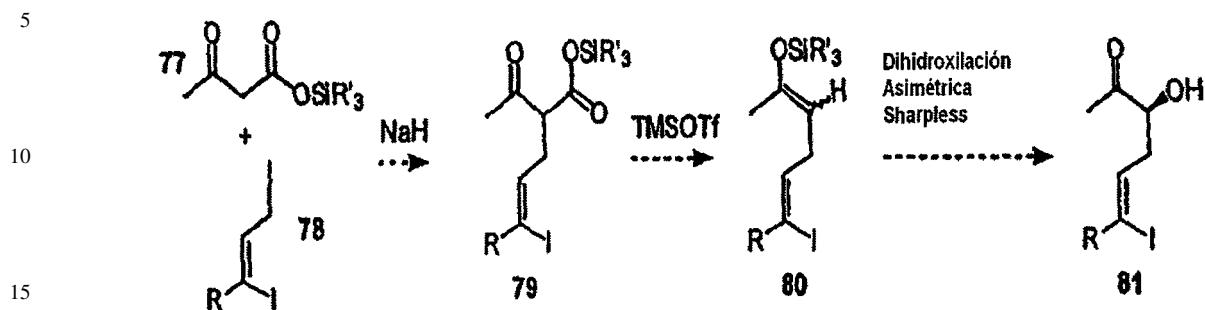
Ejemplo 3

Reducciones Noyori

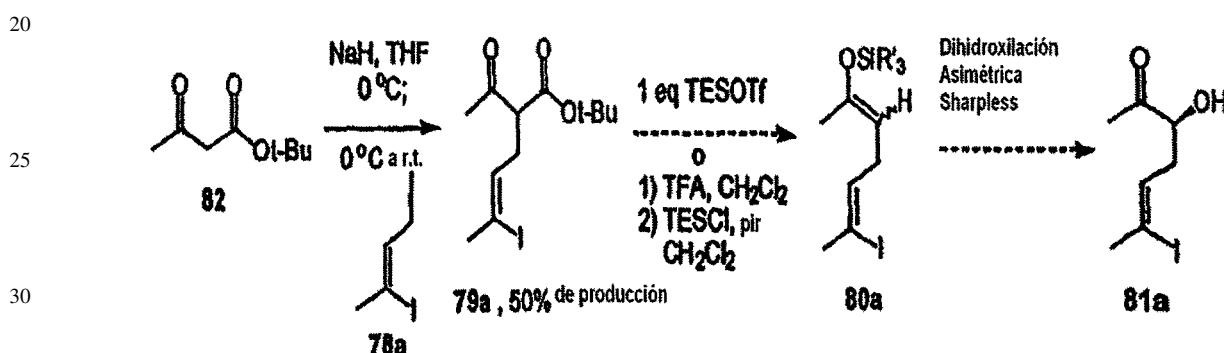


Ejemplo 5

Estrategia 1. Migración del Grupo Silil - Descarboxilación

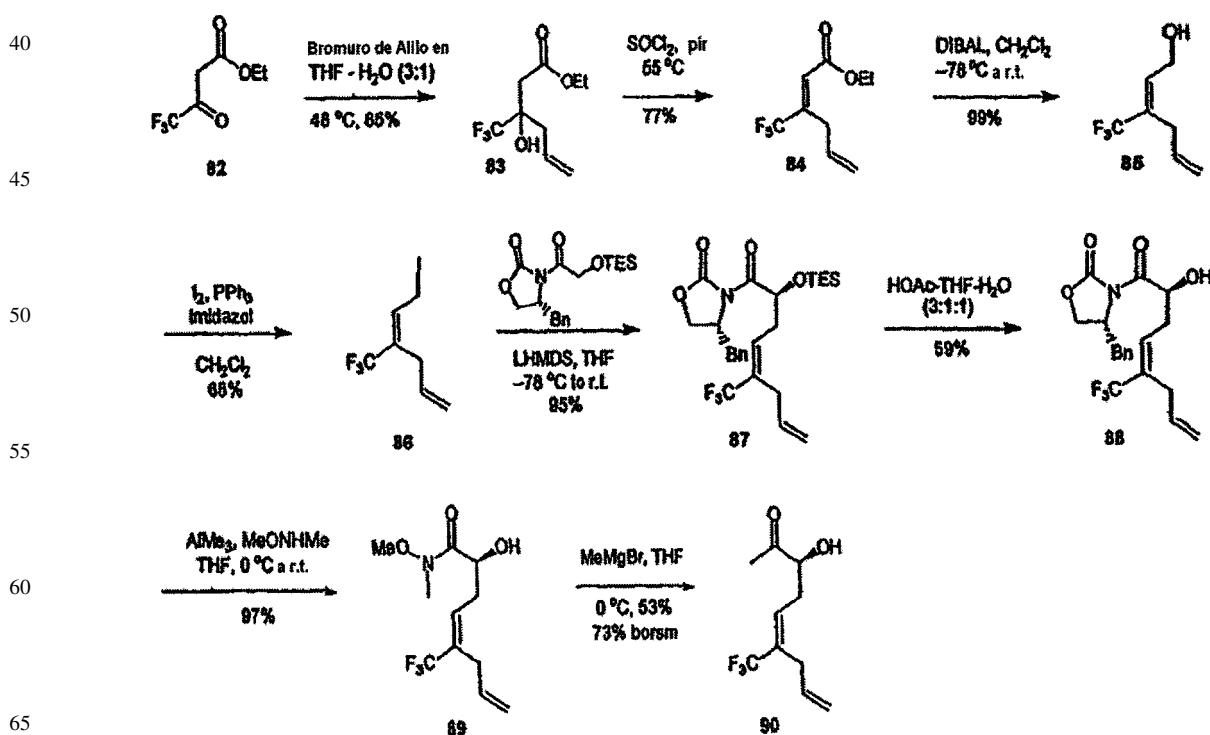


Estrategia 2. Descarboxilación - Incorporación del Grupo Silil



Ejemplo 6

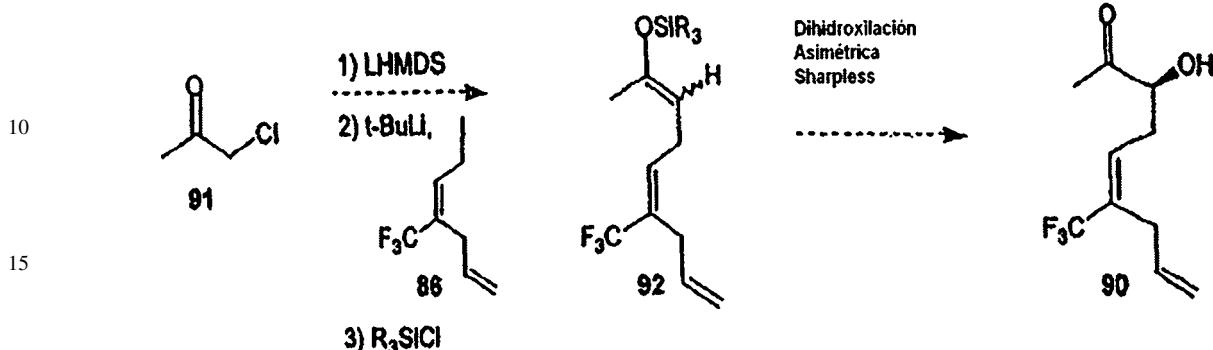
Auxiliar Evans Estrategia para la Síntesis de 2-Hidroxicetona



Ejemplo 7

Estrategia Kowalsky - Sharpless para la Síntesis de 2-Hidroxacetona

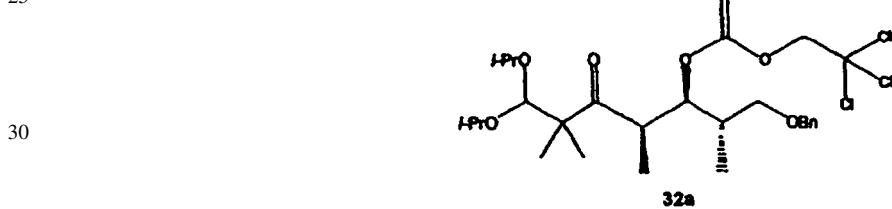
5



20

Parte Experimental

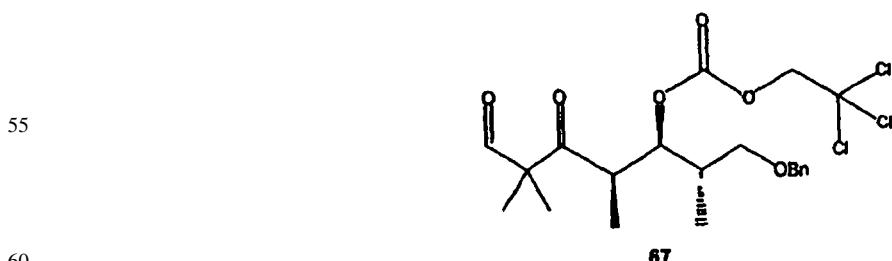
25



35 *Ácido Carbónico 1-(2-benziloxi-1-metiletil)-5,5-diisopropoxi-2,4,4-trimetil-3-oxopentil éster 2,2,2-tricloroetil éster (32a)*

A una solución de 7-Benziloxi-5-hidroxi-1,1-diisopropoxi-2,2,4,6-tetrametil-heptan-3-ona 32 (1.0 g, 2.4 mmol) y piridina (0.8 mL, 7.3 mmol) en CH_2Cl_2 (10.0 mL) a 0°C se le adicionó 2, 2,2-tricloroetil cloroformato (668.0 μ L, 4.9 mmol) y la mezcla después se dejó calentar a rt. Después de 1 h, la mezcla de reacción se apagó con salmuera y luego se extrajo con CH_2Cl_2 . Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía instantánea (gradiente hexano a hexano/EtOAc 93:7) para dar el 32a (1.285 g, 92%) como un aceite libre de impurezas: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1.03-1.09 (m, 12H), 1.15 (d, J = 1.8 Hz, 3H), 1.17 (d, J = 1.9 Hz, 3H), 1.19-1.21 (m, 6H), 1.97-2.11 (m, 1H), 3.2 (dd, J = 6.2 y 9.0 Hz, 1H), 3.54 (dd, J = 4.8 y 9.1 Hz, 1H), 3.57-3.60 (m, 1H), 3.82 (qd, J = 3.6 y 5.9 Hz, 2H), 4.47 (s, 2H), 4.57 (s, 1H), 4.72 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 4.81 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 5.08 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 7.29-7.35 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 11.9, 15.0, 18.8, 21.4, 21.7, 22.3, 23.2, 23.4, 35.7, 42.5, 53.4, 53.9, 69.4, 70.9, 71.4, 73.3, 81.3, 94.7, 103.4, 127.5, 127.6, 128.2, 138.2, 154.0, 215.6; IR (film, NaCl, cm^{-1}) 2966, 1760, 1698, 1247; LRMS (ESI) calc. para $C_{27}H_4O_7Cl_3Na$ [M+Na+] 605.2, encontrado 605.2; $[\alpha]^{23}_D$ = -20.4 (c = 1.0, $CHCl_3$).

50

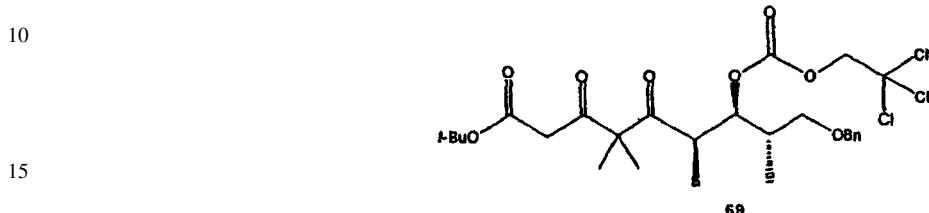


60

Ácido carbónico 1-(2-benziloxi-1-metiletil)-2,4,4-trimetil-3,5-dioxopentil éster 2,2,2-tricloroetil éster (67)

A una solución de 32a (1.28 g, 2.25 mmol) en 4:1 THF/ H_2O (25 mL) se le adicionó p-TsOH (111.0 mg, 0.6 mmol). 65 Después del calentamiento a 70°C. 5 h, la mezcla de reacción se vertió en una solución $NaHCO_3$ acuosa saturada fría (0°C) (12 mL) y luego se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía instantánea (gradiente

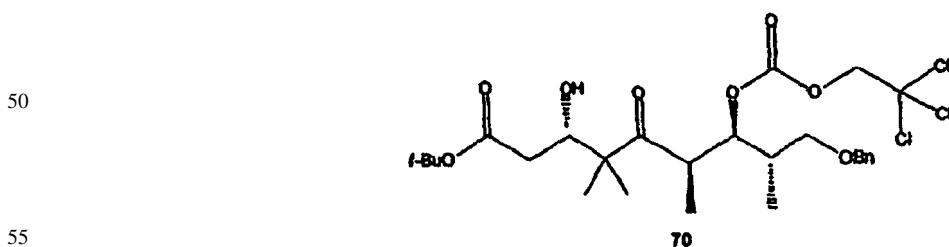
de hexano a hexano/EtOAc 84:16) para dar el 67 (793.2 mg, 76%) como un aceite libre de impurezas: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.90 (d, *J* = 5.8 Hz, 3H), 1.0 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.24 (s, 6H), 1.97-2.04 (m, 1H), 3.24 (dd, *J* = 4.8 y 9.2 Hz, 1H), 3.34 (m, 1H), 3.42 (dd, *J* = 5.8 y 9.2 Hz, 1H), 4.35 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 4.39 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 4.64 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 4.69 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 4.96 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.19-7.28 (m, 5H), 9.49 (s, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) -12.0, 14.8, 19.5, 19.6, 35.4, 43.3, 60.9, 71.1, 73.3, 80.37, 94.5, 127.7, 127.8, 128.3, 137.9, 154.1, 201.0, 210.1; IR (film, NaCl, cm⁻¹) 2973, 2880, 1758, 1701; 1453, 1380, 1248; LRMS (ESI) calc. para C₂₁H₂₇O₆Cl₃Na [M+Na⁺] 503.0, encontrado 503.0; [α]_D²³ = -18.5 (c = 0.8, CHCl₃).



9-Benziloxi-4,4,6,8-tetrametil-3,5-dioxo-7-(2,2,2-trichloroetoxicarboniloxi)-ácido nonanoico tert-butil éster (69)

20 A una solución de LDA (1.17 mmol, 0.3 M en Et₂O) a -78°C se le adicionó t-butil acetato (1.0 mmol, 135.0 μL). Despues de 30 min., una solución de 67 (464.0 mg, 1 mmol) en Et₂O (2 mL) se adicionó lentamente durante 15 min. Despues de la agitación por 1 h, la reacción se apagó con una solución de NH₄Cl acuoso saturado y luego se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía instantánea (gradiente hexano a hexano/EtOAc 86:14) para dar el 68 (1:1 mezcla epimérica, 461.4 mg, 80%) como un aceite libre de impurezas: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.87 (d, *J* = 5.3 Hz, 3H), 0.89 (d, *J* = 5.5 Hz, 3H), 1.02-1.10 (m, 18H), 1.38 (s, 18H), 1.97-2.2 (m, 2H), 2.27-2.31 (m, 2H), 3.22-3.27 (m, 3H), 3.39-3.48 (m, 5H), 4.03-4.06 (m, 1H), 4.11-4.14 (m, 1H), 4.38-4.45 (m, 4H), 4.58-4.73 (m, 4H), 4.97 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.02 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.18-7.27 (m, 10H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 11.9, 12.7, 14.9, 15.2, 18.7, 19.3, 21.4, 21.6, 28.0, 35.6, 37.4, 41.7, 42.0, 51.8, 51.9, 71.3, 71.3, 72.5, 73.0, 73.3, 80.6, 81.2, 81.3, 94.6, 127.5, 127.7, 127.8, 128.3, 138.0, 138.1, 154.0, 154.1, 172.3, 172.4, 216.0, 216.3; IR (film, NaCl, cm⁻¹) 3509, 2975, 1759, 1707, 1368, 1248, 1152; LRMS (ESI) calc. para C₂₇H₃₉O₈Cl₃Na [M+Na⁺] 619.1, encontrado 619.2.

35 A una solución 0°C de 68 (350.0 mg, 0.6 mmol) en CH₂Cl₂ (10 mL) se le adicionó Dess-Martin periodinano (398.0 mg, 0.9 mmol). La mezcla se agitó a rt por 1 h y luego se vertió en una mezcla bien-agitada de Na₂S₂O₃ sat./NaHCO₃ sat.:1. Las capas se separaron después de 30 min. La capa acuosa se extrajo tres veces con Et₂O. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ sat., salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron bajo vacío. El producto crudo se purificó por cromatografía instantánea (gradiente hexano a hexano/EtOAc 91:9) para dar el 69 (258.4 mg, 74%) como un aceite libre de impurezas: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.80 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 0.87 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.23 (s, 9H), 2.04-2.12 (m, 1H), 3.09-3.28 (m, 5H), 4.23 (s, 2H), 4.48 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 4.79 (dd, *J* = 4.6 y 7.3 Hz, 1H), 7.04-7.13 (m, 5H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 11.7, 14.6, 20.7, 21.5, 27.9, 35.5, 42.2, 43.4, 63.3, 71.3, 73.3, 79.9, 81.5, 90.5, 94.5, 127.6, 127.7, 128.2, 138.0, 154.0, 166.2, 202.9, 210.0; IR (film, NaCl, cm⁻¹) 2977, 1758, 1697, 1368, 1248, 1154; LRMS (ESI) calc. para C₂₇H₃₇O₈Cl₃Na [M+Na⁺] 617.1, encontrado 617.1; [α]_D²³ = 49.1 (c = 0.9, CHCl₃).



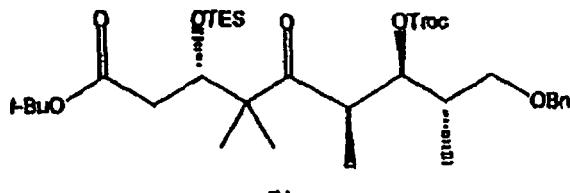
9-Benziloxi-3-hidroxi-4,4,6,8-tetrametil-5-oxo-7-(2,2,2-trichloroetoxicarboniloxi)-ácido nonanoico tert-butil éster (70)

60 Una línea de la bomba se cargó con un catalizador (R)-RuBINAP (16.8 mg, 10.0 μmol). Se le adicionó HCl (555 μL, 0.2N en MeOH) y la mezcla luego se sonico por 15 seg. Luego una solución de 69 (59.4 mg, 0.1 mmol) en MeOH (555 μL) se le adicionó y la mezcla transferida a un aparato de Parr. El recipiente se purgó con H₂ por 5 min y luego se presurizó a 1200 psi. Despues de 17 h, la reacción se regresa a la presión atmosférica y se vertió en una solución de NaHCO₃ acuosa saturada. La capa acuosa se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se secaron durante MgSO₄ y se concentraron bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía instantánea (gradiente hexano a hexano/EtOAc 88:12) para dar el 70 (dr >20:1 como se discrimina por el análisis ¹H NMR) (47.6 mg, 80%) como un aceite libre de impurezas: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.06 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.11 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.14 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.47 (s, 9H), 2.05-2.12 (m, 1H), 2.35-2.40 (m, 1H), 3.31-3.37 (m,

ES 2 281 692 T3

2H), 3.51-3.54 (m, 2H), 4.11-4.14 (m, 1H), 4.46 (s, 2H), 4.72 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 4.80 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 5.05 (dd, J = 5.0 y 6.7 Hz, 1H), 7.27-7.35 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 12.0, 15.0, 19.3, 21.7, 28.0, 35.6, 37.5, 41.7, 51.8, 71.3, 73.0, 73.3, 80.6, 81.3, 94.7, 127.5, 127.7, 128.3, 138.2, 154.1, 172.4, 216; IR (film, NaCl , cm^{-1}) 3849, 2974, 2879, 1758, 1701, 1454, 1368, 1248, 1152, 926, 734; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{O}_8\text{Cl}_3\text{Na}$ [M+Na+] 619.1, 5 encontrado 619.2; $[\alpha]^{23}\text{D}$ = -13.0 (c = 0.4, CHCl_3).

10



15

9-Benzoxi-4,4,6,8-tetrametil-5-oxo-7-(2,2,2-trichloroetoxicarbonilozi)-3-trietilsilaniloxi-ácido nonanoico ter-butil éster (71)

20

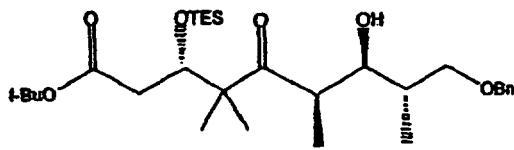
A una solución de 70 (37.6 mg, 6.3 μmol) e imidazol (9.4 mg, 13.8 μmol) en DMF (0.4 mL) a 0°C se le adicionó TESCl (11.6 μL , 69.3 μmol). Después de 3 h, la mezcla se diluyó con NaHCO_3 saturado acuoso. La capa acuosa se extrajo tres veces con hexanos. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía instantánea (gradiente hexano a hexano/EtOAc 93:7) para producir, en orden de elución, 71 (22.9 mg, 51%), y recuperado 70 (12.9 mg, 34%) como aceite libre de impurezas. 71: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.66 (q, J = 7.9 Hz, 6H), 0.96 (t, J = 7.9 Hz, 9H), 1.01 (s, 3H), 1.05 (d, J = 5.2 Hz, 3H), 1.07 (d, J = 5.3 Hz, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.44 (s, 9H), 2.05-2.11 (m, 2H), 2.50 (dd, J = 3.5 y 17.2 Hz, 1H), 3.35 (dd, J = 5.9 y 9.0 Hz, 1H), 3.49 (dd, J = 4.0 y 9.0 Hz, 1H), 3.53 (dd, J = 3.8 y 6.7 Hz, 1H), 4.18 (dd, J = 3.5 y 6.5 Hz, 1H), 4.45 (s, 2H), 4.65 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 4.79 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 4.97 (dd, J = 3.7 y 8.1 Hz, 1H), 7.29-7.52 (m, 5H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 5.3, 7.3, 10.9, 14.9, 21.3, 22.6, 28.4, 35.9, 41.1, 42.7, 53.7, 71.9, 73.7, 75.7, 80.1, 80.9, 95.1, 127.9, 129.0, 128.7, 138.6, 154.3, 171.7, 215.7; IR (film, NaCl , cm^{-1}) 2956, 2876, 1732, 1694, 1456, 1366, 1257, 1154, 1098, 988, 835, 774, 741; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{O}_8\text{SiCl}_3\text{Na}$ [M+Na+] 733.2, encontrado 733.3. $[\alpha]^{23}\text{D}$ = -16.1 (c = 0.1, CHCl_3).

25

30

35

40



45

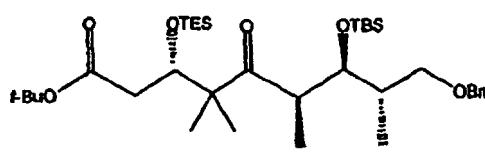
9-Benzoxi-3-(dietilmetsilanoloxi)-7-hidroxi-4,4,6,8-tetrametil-5-oxo-ácido nonanoico tert-butil éster (71a)

50

A una solución de 71 (22.9 mg, 3.2 μmol) en 1:1 THF/AcOH (1.4 mL) se le adicionó Zn (5.0 mg, 7.8 μmol , nanotamaño). La mezcla se sonicó por 15 min. Adicionalmente se le adicionó Zn (5.0 mg, 7.8 μmol , nanotamaño), seguido por la sonicación durante 15 min. más. La suspensión se filtró a través de una almohadilla de celite, se lavo varias veces con EtOAc. Los filtrados se lavaron con NaHCO_3 saturado, salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron bajo vacío. El residuo crudo se pasó a través de un pequeño tapón de silice gel eluyendo con hexano/EtOAc 4:1 para dar 17.1 mg (una producción del 99%) de 71a como un aceite incoloro: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (m, 6H), 0.96 (t, J = 7.9 Hz, 9H), 0.97 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.05 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.11 (s, 3H), 1.26 (s, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.84-1.90 (m, 1H), 2.21 (dd, J = 6.7 y 17.0 Hz, 1H), 2.36 (dd, J = 6.7 y 17.0 Hz, 1H), 3.24-3.29 (m, 1H), 3.44-3.52 (m, 2H), 3.67 (dd, J = 3.9 y 8.9 Hz, 1H), 4.36 (dd, J = 3.5 y 6.5 Hz, 1H), 4.50 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 4.54 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 7.32-7.36 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 5.0, 6.9, 9.7, 13.9, 20.2, 21.8, 28.0, 36.3, 40.8, 41.5, 53.7, 72.5, 72.9, 73.2, 73.6, 80.7, 127.4, 127.5, 128.2, 138.6, 171.0, 221.4; IR (film, NaCl , cm^{-1}) 3502, 2959, 2875, 1731, 1683, 1456, 1366, 1154, 1098, 996, 739; LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_6\text{SiCl}_3\text{Na}$ [M+Na+] 559.3, encontrado 559.3; $[\alpha]^{23}\text{D}$ = -41.0 (c = 0.4, CHCl_3).

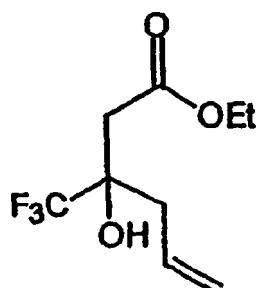
60

65



9-Benziloxi-7-(ter-butildimetilsilaniloxi)-3-(dietilmetsilaniloxi)-4,4,6,8-tetrametil-5-oxo-ácido nonanoico ter-butil éster (36)

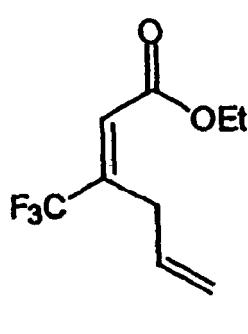
A una solución del 71a (4.1 mg, 7.6 μ mol) y 2,6-lutidina (10.0 μ L, 43.5 mmol) en CH_2Cl_2 (0.2 mL) a -78°C se le adicionó TBSOTf (10.0 μ L, 85.8 mmol). Después de 2 h, además, se le adicionaron 6-lutidina (10.0 μ L, 43.5 mmol) y TBSOTf (10.0 μ L, 85.8 mmol). Después de 6 h, la mezcla se diluyó con NaHCO_3 acuoso saturado. La capa acuosa se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía instantánea (gradiente hexano a hexano/EtOAc 91:9) para dar el 36 (5.4 mg, 82%) como un aceite libre de impurezas. Los datos espectroscópicos coincidieron bien con los valores reportados.



Alcohol 83

30 A una solución de 4,4,4-trifluoroacetato de etilo (24.0 mL, 0.164 mol) en THF-agua (3:1 = V:V, 320 mL) a temperatura ambiente se le adicionaron bromuro de alilo (20.0 mL, 1.4 equiv) e indio (polvo, -100 malla, 25 g, 1.3 equiv) y la mezcla resultante se agitó a 48°C por 15 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se apagó con HCl 2 N acuoso (400 mL) y se extrajo con CH_2Cl_2 (400 mL, 2 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron, y se concentraron *in vacuo*. La cromatografía instantánea (hexanos → hexanos-éter 10:1 → 8:1 → 6:1 → 4:1) proporcionó el alcohol 83 como un aceite libre de impurezas (31.64 g, una producción del 85%): IR (film) 3426 (br m), 2986 (m), 1713 (s), 1377 (m), 1345 (m), 1301 (m), 1232 (m), 1173 (s), 1095 (m), 1023 (m), 927 (m) cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.82 (m, 1 H), 5.15 (m, 3 H), 4.17 (m, 2 H), 2.59 (m, 1 H), 2.58 (d, J = 3.4 Hz, 2 H), 2.29 (dd, J = 14.2, 8.6 Hz, 1 H), 1.24 (t, J = 7.2 Hz, 3 H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 172.08, 130.89, 125.65 (q, J = 280 Hz), 120.27, 73.79 (q, J = 28 Hz), 61.55, 38.97, 35.65, 13.82; espectro de masas de alta resolución m/z 227.0895 [(M+H) $^+$; calc. para $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_2\text{F}_3$: 227.0895].

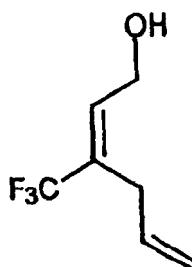
40



55 Éster 84

Una mezcla de alcohol 83 (16.71 g, 0.07386 mol) y piridina (15.0 mL, 2.5 equiv) se enfrió a -10°C y se trató con cloruro de tionil (11.3 mL, 2.1 equiv) lentamente durante 11 min. La mezcla resultante se calentó a 55°C y se agitó por 12 h. La mezcla de reacción se enfrió a -5°C, se apagó con agua (200 mL) y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 200 mL, 2 x 150 mL). Las capas orgánicas se lavaron con NaHCO_3 saturado (2 x 200 mL), y salmuera (200 mL), se secaron (MgSO_4), y se concentraron *in vacuo*. La cromatografía instantánea (pentano:éter 15:1) proporciona el éster 84 (11.90 g, una producción del 77%) como un aceite amarillo: IR (film) 2986 (w), 1731 (s), 1308 (s), 1265 (w), 1227 (m), 1197 (s), 1133 (s), 1025 (m), 920 (w), 896 (w) cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.36 (s, 1 H), 5.79 (ddt, J = 16.9, 10.2, 6.6 Hz, 1 H), 5.15 (dd, J = 17.1, 1.5 Hz, 1 H), 5.08 (dd, J = 10.0, 1.4 Hz, 1 H), 4.22 (q, J = 7.1 Hz, 2 H), 3.44 (d, J = 6.5 Hz, 2 H), 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3 H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 164.22, 143.37 (q, J = 29 Hz), 132.71, 123.21 (q, J = 274 Hz), 122.60 (q, J = 6 Hz), 117.32, 60.85, 30.54, 13.85; espectro de masas de alta resolución m/z 209.0788 [(M+H) $^+$; calc. para $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_2\text{F}_3$: 209.0789].

5

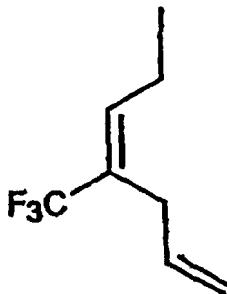


10

8515 *Alcohol 85*

A una solución del éster 84 fría (-75°C) (7.12 g, 0.0342 mol) en CH_2Cl_2 (120 mL) se le adicionó una solución de DIBAL-H (75 mL, 2.2 equiv) en CH_2Cl_2 (1.0 M) y la mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C, se apagó con NH_4Cl saturado (12 mL) y se agitó a temperatura ambiente por 20 min. La mezcla de reacción se diluyó con éter (200 mL), se secó (MgSO_4), y se concentró *in vacuo*. La cromatografía instantánea (pentano:éter 3:1 → 1:1) proporciona el alcohol 85 (5.68 g, 99%) como un aceite libre de impurezas: IR (film) 3331 (br s), 2929 (m), 1642 (m), 1445 (m), 1417 (w), 1348 (s), 1316 (s), 1217 (s), 1175 (s), 1119 (s), 1045 (m), 985 (s), 921 (m), 831 (w) cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.33 (td, J = 6.1, 1.6 Hz, 1 H), 5.75 (ddt, J = 17.2, 10.0, 6.2 Hz, 1 H), 5.07 (m, 2 H), 4.29 (ddd, J = 6.3, 4.3, 2.1 Hz, 2 H), 2.95 (d, J = 6.2 Hz, 2 H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 134.45 (q, J = 6 Hz), 133.38, 127.97 (q, J = 29 Hz), 123.76 (q, J = 271 Hz), 116.25, 57.87, 29.79.

30



35

86

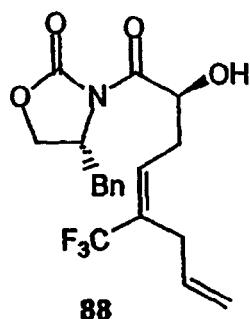
40

Yoduro 86

Una solución del alcohol 85 fría (0°C) (5.97 g, 0.0358 mol) en CH_2Cl_2 (50 mL) se trató con PPh_3 (11.17 g, 1.2 equiv), imidazol (3.55 g, 1.5 equiv) e I₂ (9.10 g, 1.1 equiv) y la mezcla resultante se agitó a 0°C por 10 min. La mezcla de reacción se apagó con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ saturado - NaHCO_3 saturado (1:1 = V:V, 200 mL) y se extrajo con pentano (3 x 200 mL). Las capas orgánicas se lavaron con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ saturado - NaHCO_3 saturado (1:1 = V:V, 200 mL), y salmuera (100 mL), se secaron (MgSO_4), y se concentraron *in vacuo*. La cromatografía instantánea (pentano) proporcionó el yoduro 86 (6.69 g, 68%) como un aceite de color rojo pálido: (IR Ifilm) 3083 (w), 2982 (w), 1636 (w), 1558 (w), 1456 (w), 1367 (w), 1317 (s), 1216 (m), 1181 (s), 1151 (s), 1120 (s), 989 (m), 921 (m), 896 (m) cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.45 (td, J = 8.9, 1.5 Hz, 1 H), 5.79 (ddt, J = 16.8, 10.3, 6.2 Hz, 1 H), 5.12 (m, 2 H), 3.85 (ddd, J = 8.9, 2.9, 1.4 Hz, 2 H), 3.00 (dt, J = 6.1, 1.4 Hz, 2 H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 132.42, 131.64 (q, J = 6 Hz), 129.63 (q, J = 29 Hz), 123.64 (q, J = 272 Hz), 117.00, 29.32, -4.27; espectro de masas de baja resolución m/z 298.7 [(M+Na)⁺; calc. para $\text{C}_7\text{H}_8\text{F}_3\text{Ina}$: 299.0].

55

60



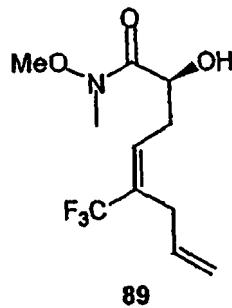
65

α-Hidroxioxazolidinona 88

A una solución fría (-78°C) de TES protegido 4-Benzil-3-hidroxi acetil-oxazolidin-2-ona 7 (16.28 g, 1.92 equiv) en THF (160 mL) se le adicionó gota a gota una solución de LHMDS (42.0 mL, 1.73 equiv) en THF (1.0 M) durante 5 51 min. y la mezcla resultante se agitó a -78°C por 35 min. La mezcla de reacción se trató con una solución de yoduro 86 (6.69 g, 24.2 mmol) en THF (10 mL) y la mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente lentamente durante la noche. La mezcla de reacción se apagó con NaHCO₃ saturado (200 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas se lavaron con NH₄Cl saturado (150 mL), salmuera (150 mL), se secaron (MgSO₄), y se concentraron *in vacuo*. La cromatografía instantánea (hexanos-EtOAc 6:1 → 3:1) proporciona una mezcla de 10 productos de alquilación (13.6 g) que se utilizaran para la próxima reacción sin purificación adicional. Una solución de los productos de alquilación en HOAcagua-THF (3:1:1 = V:V:V, 200 mL) se agitó a temperatura ambiente por 4 h. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* para retirar el HOAc, se apagó con NaHCO₃ saturado (400 mL), y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas se secaron (MgSO₄), y se concentraron *in vacuo*. La cromatografía 15 instantánea (hexanos:EtOAc 3:1 → 2:1) proporciona el *α*-hidroxioxazolidinona 88 (7.55 g, una producción del 81% por dos etapas) como un aceite libre de impurezas: $[\alpha]_D^{25}$ -48.2 (c 1.08, CHCl₃); IR (film) 3486 (br s), 3030 (m), 2983 (s), 2925 (m), 1790 (s), 1682 (s), 1481 (m), 1393 (m), 1360 (m), 1217 (m), 1171 (m), 1113 (m), 992 (m), 919 (m), 847 (w) cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.32 (m, 3 H), 7.17 (m, 2 H), 6.33 (td, *J* = 7.2, 1.5 Hz, 1 H), 5.77 (ddt, *J* = 16.6, 10.1, 6.2 Hz, 1 H), 5.08 (m, 3 H), 4.74 (ddt, *J* = 4.8, 3.7, 4.4 Hz, 1 H), 4.33 (dd, *J* = 8.6, 8.6 Hz, 1 H), 4.26 (dd, *J* = 9.2, 3.4 Hz, 1 H), 3.42 (br d, *J* = 6.4 Hz, 1 H), 3.24 (dd, *J* = 13.5, 3.4 Hz, 1 H), 2.99 (m, 2 H), 2.79 (dd, *J* = 13.5, 9.4 Hz, 1 H), 2.70 (m, 1 H), 2.50 (m, 1 H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 173.93, 153.05, 134.43, 133.64, 129.98 (q, *J* = 6 Hz), 129.82 (q, *J* = 28 Hz), 129.29, 120.01, 127.58, 124.00 (q, *J* = 272 Hz), 116.34, 69.60, 67.31, 54.95, 37.78, 32.29, 29.84; espectro de masas de alta resolución m/z 384.1421 [(M+H)⁺; calc. para C₁₉H₂₁NO₄F₃: 384.1423].

25

30



35

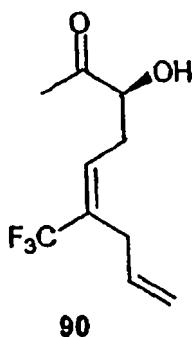
40

α-Hidroxiamida 89

Una suspensión de (MeO) NHMe·HCl (10.1 g, 5.25 equiv) en THF (100 mL) a 0°C se trató con una solución de AlMe₃ (50 mL, 5.1 equiv) en tolueno (2.0 M) gota a gota y la solución clara resultante se agitó a temperatura ambiente por 34 min., luego se adicionó a una solución fría (0°C) de *α*-hidroxioxazolidinona 88 (7.55 g, 19.7 mmol) en THF (70 mL). La mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó por 12 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C, se apagó mediante la adición lenta de ácido tartárico 1N acuoso (100 mL), se agitó a temperatura ambiente por 25 min., y se extrajo con EtOAc (3 x 200 mL). Las capas orgánicas se secaron (MgSO₄), y se concentraron *in vacuo*. La cromatografía instantánea (hexanos:EtOAc 2:1 → 1:1) proporcionó la *α*-hidroxiamida 89 (5.12 g, una producción del 97%) como un aceite libre de impurezas: $[\alpha]_D^{25}$ -57.2 (c 1.03, CHCl₃); IR (film) 3432 (br s), 3084 (w), 2980 (m), 2943 (m), 1652 (s), 1464 (m), 1373 (m), 1318 (m), 1214 (m), 1171 (m), 1112 (m), 991 (m), 919 (m), 818 (w) cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.32 (td, *J* = 7.3, 1.5 Hz, 1 H), 5.74 (ddt, *J* = 16.9, 10.3, 6.1 Hz, 1 H), 5.05 (m, 2 H), 4.43 (dd, *J* = 7.6, 3.5 Hz, 1 H), 3.70 (s, 3 H), 3.35 (br s, 1 H), 3.24 (s, 3 H), 2.94 (d, *J* = 6.1 Hz, 2 H), 2.59 (m, 1 H), 2.36 (m, 1 H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 173.43, 133.68, 130.59 (q, *J* = 6 Hz), 129.25 (q, *J* = 28 Hz), 124.05 (q, *J* = 271 Hz), 116.17, 67.57, 61.44, 32.56, 32.38; 29.75; espectro de masas de alta resolución m/z 268.1161 [(M+H)⁺; calc. para C₁₁H₁₇NO₃F₃: 268.1161].

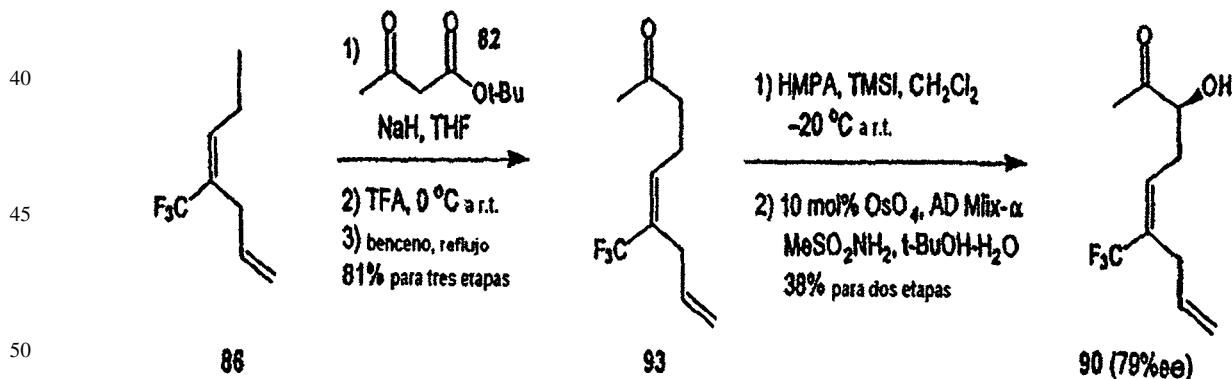
60

65

*α-Hidroxacetona 90*

20 A una solución fría (0°C) de α -hidroxiamida 89 (4.87 g, 18.2 mmol) en THF (150 mL) se le adicionó una solución de MeMgBr (75 mL, 12 equiv) en éter (3.0 M). Después de 5 min., la mezcla de reacción se apagó con NH₄Cl saturado (250 mL), y se extrajo con EtOAc (5 x 200 mL). Las capas orgánicas se secaron (MgSO₄), y se concentraron *in vacuo*. La cromatografía instantánea (hexanos:EtOAc 4:1 → 2:1 → 1:2) proporciona el α -hidroxacetona 90 (2.16 g, una producción del 53%, una producción del 73% basada en el material inicial recuperado) como un aceite libre de impurezas y el material inicial α -hidroxiamida 89 (1.30 g, una producción 27%): $[\alpha]_D^{25} + 58.5$ (c 1.30, CHCl₃); IR (film) 3460 (br s), 3085 (w), 2984 (m), 2926 (m), 1716 (s), 1679 (m), 1641 (m), 1417 (m), 1361 (m), 1319 (s), 1247 (m), 1216 (s), 1172 (s), 1113 (s), 1020 (m), 994 (m), 968 (w), 919 (m) cm⁻¹; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.21 (t, *J* = 7.0 Hz, 1 H), 5.75 (ddt, *J* = 16.7, 10.4, 6.2 Hz, 1 H), 5.07 (m, 2 H), 4.26 (dt, *J* = 7.1, 4.5 Hz, 1 H), 3.51 (d, *J* = 4.7 Hz, 1 H), 2.96 (d, *J* = 6.1 Hz, 2 H), 2.66 (m, 1 H), 2.42 (m, 1 H), 2.19 (s, 3 H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 208.53, 133.43, 129.80 (q, *J* = 28 Hz), 129.76 (q, *J* = 6 Hz), 123.85 (q, *J* = 271 Hz), 116.32, 75.36, 31.22, 29.81, 25.11; espectro de masas de alta resolución m/z 223.0945 [(M+H)⁺; calc. para C₁₀H₁₄NO₂F₃: 223.0946].

Ejemplo 8

35 *Estrategia de oxidación Asimétrica Catalítica*

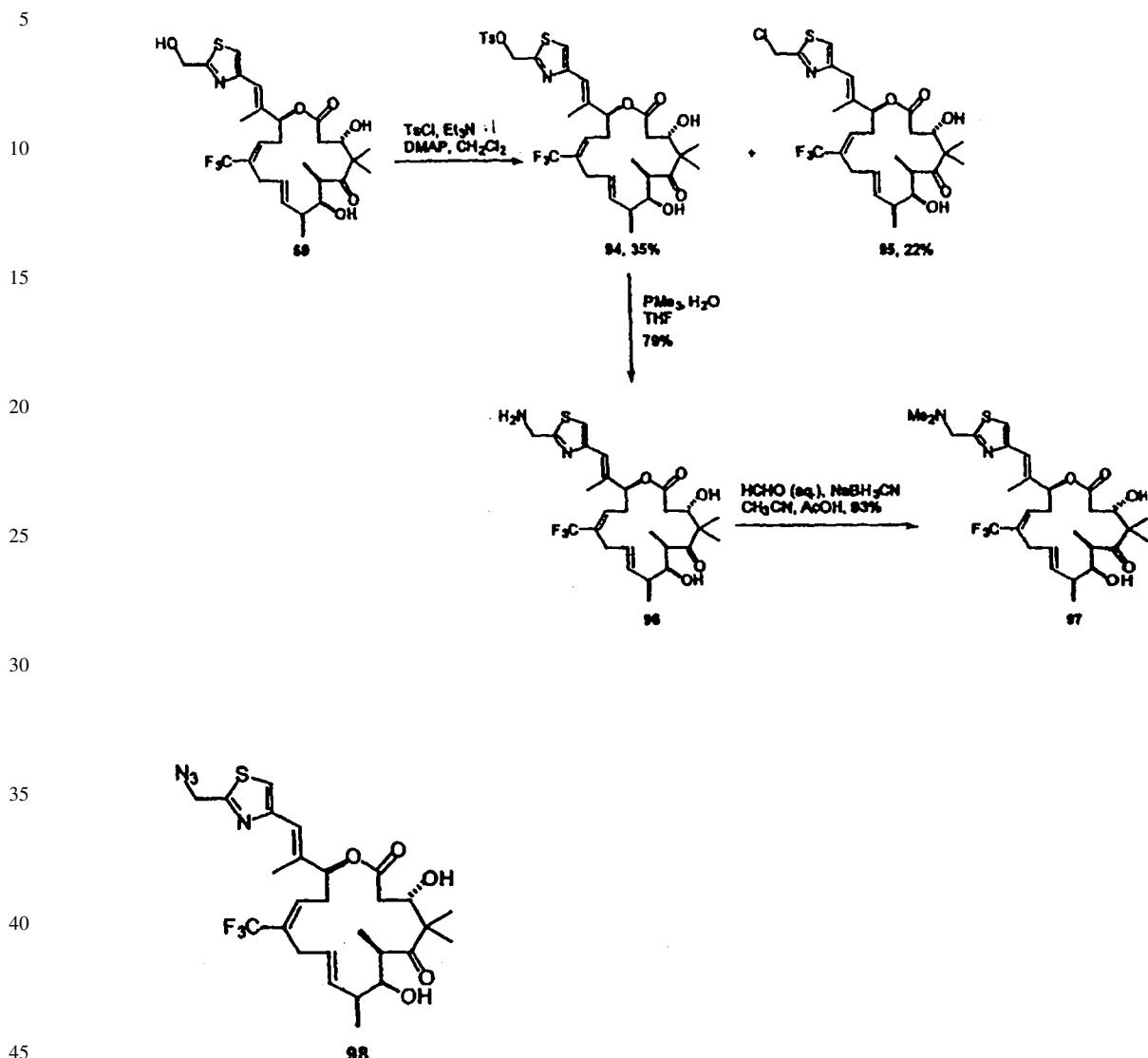
55

60

65

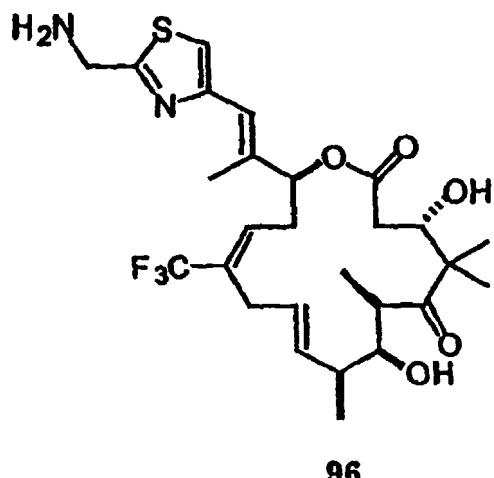
Ejemplo 9

Síntesis del 21-amino-26-trifluoro-(E)-9,10-dihidro-dEnoB



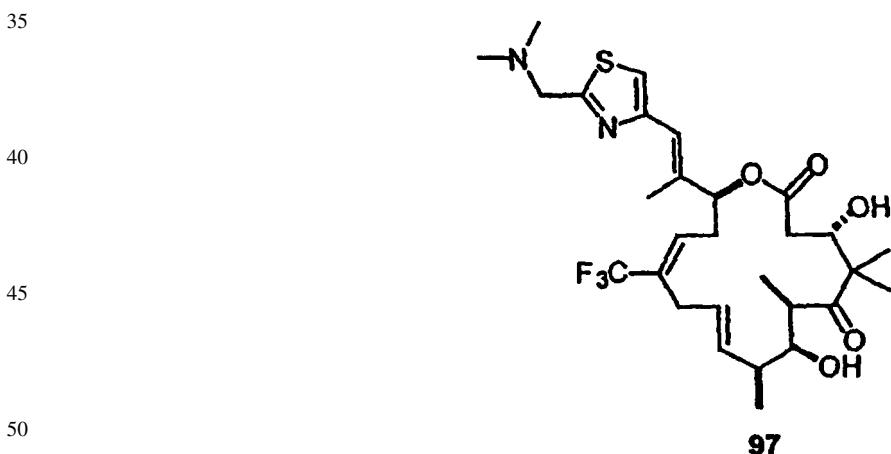
Compuesto 98

50 A una solución de 59 (50.4 mg, 90.1 μ mol) en THF (1 mL) se le adicionó $(\text{PhO})_2\text{PON}_3$ (27.2 PL, 126 μ mol) a 0°C. Despues de la agitación a 0°C por 5 min., DBU (16.2 μ L, 108 μ mol). Despues de la agitación a 0°C por 2 h, la mezcla se agitó a rt por 20.5 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se apagó mediante la adición de agua (2 mL). Despues las capas se separaron, la capa acuosa se extrajo con EtOAc (tres veces), y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 . Despues de la concentración, el residuo se secó bajo alto vacío por 10 min. para retirar el DBU. La purificación por cromatografía de columna instantánea (SiO_2 , hexano/EtOAc = 3:2) proporcionó el azida 98 (45.6 mg, 78.0 μ mol, 87%) como un sólido incoloro; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.05 (3H, s), 1.12 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.23 (3H, d, J = 6.8 Hz), 1.33 (3H, s), 2.01 (1H, d, J = 5.5 Hz, OH), 2.17 (3H, s), 2.25-2.35 (1H, m), 2.41 (1H, dd, J = 15.5, 3.2 Hz), 2.49 (1H, dd, J = 15.5, 9.5 Hz), 2.54-2.60 (1H, m), 2.66 (1H, d, J = 6.0 Hz), 2.65-2.76 (1H, m), 2.96 (1H, dd, J = 16.0, 4.2 Hz), 3.03 (1H, dd, J = 16.1, 6.7 Hz), 3.11 (1H, quintet, J = 6.8 Hz), 3.71-3.76 (1H, m), 4.31 (1H, ddd, J = 9.2, 5.9, 3.2 Hz), 4.65 (2H, s), 5.43 (1H, dd, J = 6.0, 4.3 Hz), 5.58 (1H, ddd, J = 15.8, 6.4, 4.6 Hz), 5.66 (1H, dd, J = 15.8, 6.1 Hz), 6.23 (1H, t, J = 7.3 Hz), 6.63 (1H, s), 7.18 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_5\text{SNa}$ [M+Na+] 607.2, encontrado 607.2.



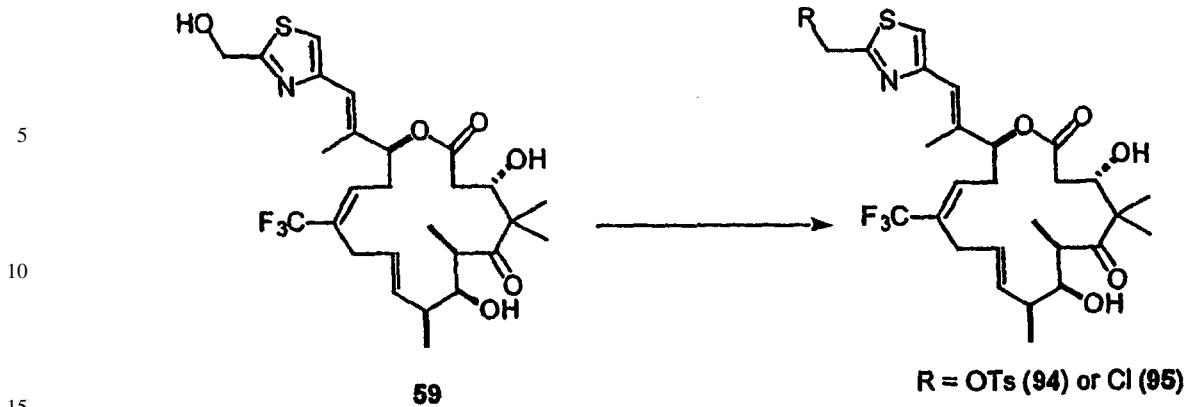
20 Compuesto 96

A una solución de azida 98 (21.0 mg, 35.9 μ mol) en THF (0.6 mL) se le adicionó PMe_3 (1.0 M en THF, 43.1 μ L, 43.1 μ mol). Después de la agitación a rt por 2 min., agua (0.1 mL) se le adicionó y la mezcla se agitó a rt por 3 h. PMe_3 (1.0 M en THF, 7.2 μ L, 7.2 μ mol) se le adicionó y la mezcla se agitó a rt por 1.5 h. A la mezcla se le adicionó NH_4OH al 28% (acuoso) (54.5 μ L). Después de la agitación por 1 h, la mezcla se purificó directamente por TLC preparativa ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 100:7.5$) para dar la amina 96 (15.9 mg, 28.5 μ mol, 79%) como un sólido incoloro; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.05 (3H, s), 1.12 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.23 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.34 (3H, s), 2.12 (3H, d, $J = 0.7$ Hz), 2.24-2.35 (1H, m), 2.39 (1H, dd, $J = 15.4, 3.0$ Hz), 2.49 (1H, dd, $J = 15.4, 9.8$ Hz), 2.54-2.63 (1H, m), 2.66-2.76 (1H, m), 2.97 (1H, dd, $J = 16.2, 4.2$ Hz), 3.03 (1H, dd, $J = 16.3, 6.5$ Hz), 3.10 (1H, quintet, $J = 6.8$ Hz), 3.74 (1H, dd, $J = 6.7, 3.5$ Hz), 4.18 (2H, s), 4.34 (1H, dd, $J = 9.8, 2.9$ Hz), 5.43 (1H, dd, $J = 6.0, 4.3$ Hz), 5.55-5.64 (1H, m), 5.67 (1H, dd, $J = 15.9, 5.8$ Hz), 6.24 (1H, brt, $J = 7.3$ Hz), 6.66 (1H, s), 7.10 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 559.2, encontrado 559.2.



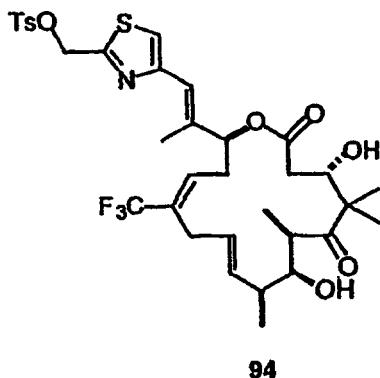
Compuesto 97

55 A una solución de amina 96 (15.9 mg, 28.5 μ mol) en CH_3CN (0.78 mL) se le adicionó HCHO 37% (acuoso) (31.4 μ L, 0.143 mmol) seguido por NaBH_3CN (1.0 M en THF, 85.5 μ L, 85.5 μ mol), y la mezcla se agitó a rt por 20 min. Se le adicionó AcOH (1 gota), y la mezcla se agitó a rt por 40 min. La mezcla se purificó directamente por TLC preparativa ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 100:8$) para dar el producto 97 (15.6 mg, 26.6 μ mol, 93%) como un sólido incoloro; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.05 (3H, s), 1.12 (3H, d, $J = 6.9$ Hz), 1.23 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.33 (3H, s), 2.17 (3H, s), 2.24-2.35 (1H, m), 2.43 (1H, dd, $J = 15.7, 3.6$ Hz), 2.49 (1H, dd, $J = 15.6, 9.1$ Hz), 2.55-2.64 (2H, m, incluyendo OH), 2.68-2.77 (1H, m), 2.80 (3H, s), 2.81 (3H, s), 2.92-3.06 (2H, m), 3.10 (1H, quintet, $J = 6.8$ Hz), 3.69-3.76 (1H, m), 4.25-4.34 (1H, m), 4.33 (2H, s), 5.42 (1H, t, $J = 5.5$ Hz), 5.57 (1H, dt, $J = 15.8, 6.3$ Hz), 5.66 (1H, dd, $J = 15.7, 6.4$ Hz), 6.22 (1H, brt, $J = 7.2$ Hz), 6.64 (1H, s), 7.30 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 580.2, encontrado 580.2.

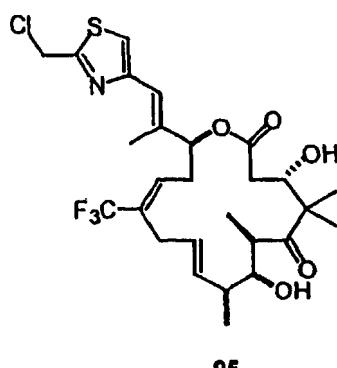


Los compuestos 94 y 95

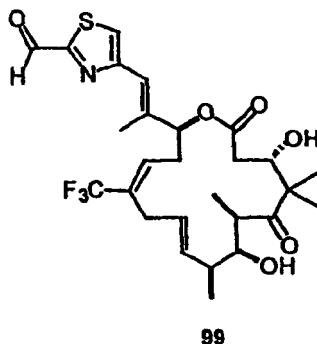
A una mezcla de 59 (18.9 mg, 33.8 μ mol) y Et₃N (18.8 μ L, 0.135 mmol) en CH₂Cl₂ (1 mL) se le adicionó TsCl (12.9 mg, 67.5 μ mol) y DMAP (2.1 mg, 16.9 μ mol) a 0°C. Después de la agitación a rt por 1.5 h, la mezcla se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una almohadilla de silice gel (enjuagar con EtOAc). Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/EtOAc = 1:1) para dar el tosilato 94 (8.5 mg, 11.9 μ mol, 35%) y cloruro 95 (4.3 mg, 7.44 μ mol, 22%); ambos como sólidos incoloros;



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.06 (3H, s), 1.12 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.23 (3H, d, *J* = 6.7 Hz), 1.33 (3H, s), 1.99 (1H, d, *J* = 5.5 Hz), 2.10 (3H, s), 2.25-2.34 (1H, m) 2.41 (1H, dd, *J* = 15.5, 3.3 Hz), 2.47 (3H, s), 2.48 (1H, dd, *J* = 15.7, 9.4 Hz), 2.51-2.63 (1H, m), 2.63 (1H, d, *J* = 6.1 Hz, OH), 2.64-2.75 (1H, m), 2.91-3.05 (2H, m), 3.10 (1H, quintet, *J* = 6.8 Hz), 3.70-3.75 (1H, m), 4.30 (1H, ddd, *J* = 9.3, 6.1, 3.2 Hz), 5.32 (2H, s), 5.41 (1H, dd, *J* = 5.8, 4.5 Hz), 5.57 (1H, ddd, *J* = 15.8, 6.4, 4.6 Hz), 5.65 (1H, dd, *J* = 15.8, 6.0 Hz), 6.21 (1H, t, *J* = 7.1 Hz), 6.59 (1H, s), 7.18 (1H, s), 7.37 (2H, d, *J* = 8.1 Hz); 7.84 (2H, d, *J* = 8.3 Hz); LRMS (ESI) calc. para C₃₄H₄₂F₃Nd₈S₂Na [M+Na⁺] 736.2, encontrado 736.3.



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.06 (3H, s), 1.12 (3H, d, *J* = 6.9 Hz), 1.23 (3H, d, *J* = 6.7 Hz), 1.34 (3H, s), 2.00 (1H, d, *J* = 5.6 Hz, OH), 2.15 (3H, s), 2.25-2.35 (1H, m), 2.41 (1H, dd, *J* = 15.5, 3.2 Hz), 2.49 (1H, dd, *J* = 15.5, 9.4 Hz), 2.53-2.62 (1H, m), 2.69 (1H, d, *J* = 6.1 Hz, OH), 2.66-2.76 (1H, m), 2.92-3.05 (2H, m), 3.11 (1H, quintet, *J* = 6.4 Hz), 3.70-3.76 (1H, m), 4.32 (1H, ddd, *J* = 9.2, 5.9, 3.1 Hz), 4.85 (2H, s), 5.43 (1H, dd, *J* = 6.0, 4.4 Hz), 5.59 (1H, ddd, *J* = 15.9, 6.4, 4.5 Hz), 5.66 (1H, dd, *J* = 15.9, 6.1 Hz), 6.23 (1H, t, *J* = 6.8 Hz), 6.63 (1H, s), 7.20 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para C₂₇H₃₅ClF₃NO₅SNa [M+Na⁺] 600.2, encontrado 600.2.



15 Compuesto 99

A una solución de 59 (6.9 mg, 12.3 μ mol) en CH_2Cl_2 (0.4 mL) se le adicionó MnO_2 activo (adquirido de Acros, 26.8 mg, 0.308 mmol). Después de la agitación vigorosamente a rt por 4 h, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite, que se enjuagó con EtOAc . Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/ EtOAc = 1:1) para dar el aldehído 99 (2.7 mg, 4.84 μ mol, 39%) como un sólido incoloro; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.06 (3H, s), 1.13 (3H, d, J = 7.2 Hz), 1.24 (3H, d, J = 6.9 Hz), 1.35 (3H, s), 1.96 (1H, d, J = 5.6 Hz, OH), 2.22 (3H, d, J = 0.7 Hz), 2.25-2.35 (1H, m), 2.44 (1H, dd, J = 15.4, 3.5 Hz), 2.46 (1H, d, J = 5.9 Hz, OH), 2.51 (1H, dd, J = 15.7, 9.3 Hz), 2.57-2.78 (1H, m), 2.68-2.79 (1H, m), 2.96-3.03 (2H, m), 3.10 (1H, quintet, J = 6.8 Hz), 3.71-3.76 (1H, m), 4.31 (1H, ddd, J = 9.4, 6.3, 3.5 Hz), 5.45 (1H, t, J = 5.0 Hz), 5.53-5.63 (1H, m), 5.67 (1H, dd, J = 15.7, 6.2 Hz), 6.24 (1H, t, J = 6.6 Hz), 6.72 (1H, s), 7.57 (1H, d, J = 0.9 Hz), 10.01 (1H, d, J = 1.2 Hz).



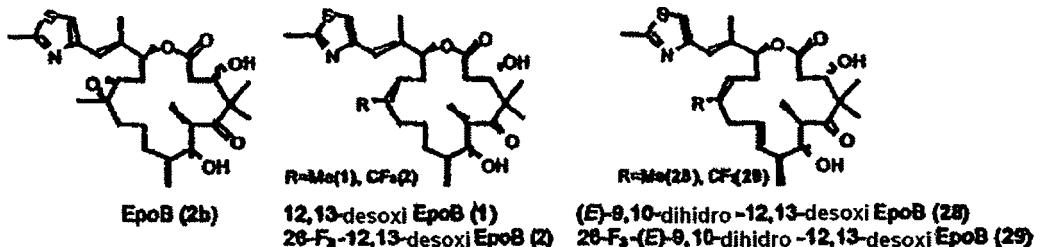
40 Compuesto 100

A una solución del aldehído 99 (4.6 mg, 8.25 μ mol) en CH_3CN (0.5 mL) a 0°C se le adicionó MeNH_2 (2.0 M en THF, 41.3 μ L, 41.3 μ mol). Después de la agitación a 0°C por 15 min., se le adicionó NaBH_3CN (1.0 M en THF, 25 μ L, 25 μ mol). Después de la agitación a 0°C por 0.5 h, se le adicionó AcOH (3 gotas). Después de la agitación a 0°C por 2 h, se le adicionó NH_4OH 28% (acuoso) (40 μ L), y la mezcla se agitó a rt por 10 min. La mezcla se purificó directamente dos veces por TLC preparativa (CH_2Cl_2 /MeOH = 100: 9) para dar 100 (2.4 mg, 4.19 μ mol, 51%) como un sólido incoloro; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.05 (3H, s), 1.12 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.23 (3H, d, J = 6.8 Hz), 1.34 (3H, s), 2.13 (3H, s), 2.25-2.34 (1H, m), 2.39 (1H, dd, J = 15.3, 3.0 Hz), 2.49 (1H, dd, J = 15.3, 9.7 Hz), 2.56 (3H, s), 2.54-2.64 (1H, m), 2.66-2.75 (1H, m), 2.89 (1H, d, J = 5.1 Hz), 2.94-3.05 (2H, m), 3.11 (1H, quintet, J = 6.8 Hz), 3.74 (1H, dd, J = 6.6, 3.5 Hz), 4.08 (2H, s), 4.34 (1H, dd, J = 9.6, 2.9 Hz), 5.43 (1H, dd, J = 6.2, 4.1 Hz), 5.56-5.63 (1H, m), 5.66 (1H, dd, J = 15.9, 5.7 Hz), 6.24 (1H, t, J = 7.3 Hz), 6.66 (1H, s), 7.11 (1H, s); LRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ [M+H+] 573.3, encontrado 573.3.

55 Ejemplo 10

Análogos del Epotilone que permiten eliminar Tumores de Xenoinjertos a un estado No Reincidente

Mediante una combinación de sustancias químicas, modelos moleculares y análisis espectroscópicos, hemos descubierto que la introducción de un doble enlace E-9,10 (ver compuesto 28 parte inferior) logra ca. mejoras de 10 veces la potencia del fármaco en experimentos de xenoinjerto con tumores MX-1 resistentes a medicamentos (A. Rivkin *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 2899; incluido en esta por referencia). Continuando la correlación de los experimentos *in vitro* e *in vivo*, dirigidos a los tipos de tumores MX-1, era evidente que 28 es inherentemente más citotóxico que 2b, sin embargo, otro factor que contribuye, es que la fracción lactona de la serie 9,10-dihidro es significativamente más estable en plasma de ratones y humano, el cual es el caso de los congéneres de la serie 9,10-dihidro. La suma de estos dos efectos complementarios, permitió que el compuesto 28 fuese capaz de lograr una completa supresión del tumor en una variedad de xenoinjertos de 3 mg/kg opuesto a los 30 mg/kg reglamentados para 1.



10 Bajo la suspensión del tratamiento, reaparecen los tumores palpables en algunas fracciones de los animales. Por consiguiente, al menos actualmente, por lo menos el compuesto 28 completamente sintético no ha resuelto totalmente los estándares rigurosos del índice terapéutico eficaz y de la eliminación de tumores a estados no reincidentes altamente favorables

15 Estos hallazgos dirigen nuestra atención a las consecuencias de la sustitución de tres hidrógenos del grupo 26-metilo de 28 con tres átomos de flúor. La incorporación de los átomos de flúor en este sitio llevó a mejorar la estabilidad del doble enlace en las posiciones 12,13- frente a una oxidación (Smart, B. E. *J. Fluorine Chem.* **2001**, *109*, 3; incluido aquí por referencia). Previas experiencias, han señalado hacia alguna atenuación de la citotoxicidad, por la colocación 20 de los grupos polares en el área del doble enlace de C12-C13 (A. Rivkin *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2899; incluidos aquí por referencia). Con esta divulgación, reportamos el descubrimiento, a través de la síntesis química 25 total, de los 9,10-dihidro-26-trifluoroepotilones, enfocando particularmente en el desempeño biológico exclusivo de la estructura primaria 29.

25 La eficacia terapéutica de dEpoB (30 mg/kg), paclitaxel (20 mg/kg) y F₃-deH-dEpoB (29, 20 y 30 mg/kg) contra los xenoinjertos MX-1 de carcinoma mamario humano, en términos del desvanecimiento del tumor y la reincidencia 30 del mismo, fueron estudiadas de cerca, y los resultados se muestran en la Tabla 10-1. Cada grupo de dosis consistió de cuatro o más ratones desnudos. El peso corporal referido, corresponde al peso corporal total menos el peso del tumor. Todos los tres compuestos lograron el desvanecimiento del tumor. En el día 10 después de la suspensión del tratamiento, 5/10 (dEpoB), 2/7 (Paclitaxel); y 0/4 (compuesto 29) los ratones reincidentieron. Prolongadas observaciones 35 seguidas a la suspensión del tratamiento con dosificaciones de 20 mg/kg de 29 mostraron a largo plazo, ausencia de tumores hasta el día 27, en el cual 2 de los 4 ratones reincidentieron con tumores. Notablemente, el tratamiento con dosificaciones de 30 mg/kg de 29, dieron como resultado el desvanecimiento completo del tumor y la ausencia de cualquier reincidencia después de dos meses de suspensión del tratamiento.

35

TABLA 10-1

Efecto terapéutico de dEpoB, Paclitaxel y F₃-deH-dEpoB contra xenoinjerto MX-1 en ratón desnudo^[a]

40	Fármaco	Dosisificación (mg/kg)	Cambios de peso corporal (%)		Tumor libre después del tratamiento Q2Dx6 6hr- Infusión i.v..	Reaparición del tumor después del día 10 de administración
			Día 4, después de detener la administración	Día 8, después de detener la administración		
45	dEpoB (1)	30	-25.3 ± 2.1	-9.1 ± 4.1	10/10	5/10
50	Paclitaxel	20	-23.9 ± 3.7	-8.7 ± 0.7	7/7	2/7
55	F ₃ -deH-	20	-22.4 ± 0.6	-7.3 ± 0.7	4/4	0/4 ^[b]
60	dEpoB (29)	30	-27.1 ± 2.7	-17.4 ± 5.5	4/4	0/4 ^[b]

[a] xenoinjerto MX-1 del carcinoma mamario humano, tejido de 50 mg se implantó S.C. en el día 0. El tratamiento, Q2Dx 6 6hr- infusión i.v. se inició el Día 8 y se detuvo el Día 18.

[b] Reaparición del tumor detectable en 2/4 del día 27avo después de detener el tratamiento . Sin posterior reaparición del tumor durante los días 28avos y 64avos después de detener el tratamiento.

[c] Sin reaparición del tumor durante los 64 días después de detener el tratamiento cuando el experimento terminó.

ES 2 281 692 T3

Disminuyendo la dosis del agente 29 a 10 mg/kg (Q2D), también se condujo al desvanecimiento del tumor MX-1, pero fueron necesarias nueve dosis para lograr este resultado (Figuras 57, 58 y 59A). Como un desafío agregado, el tratamiento quimioterapéutico se retrasó hasta que el tamaño del tumor alcanzó 0.5 g (~2.3% de peso corporal). El tratamiento con dosificaciones de 29, 25 mg/kg (Q2Dx7), ocasionó la desaparición en 4/4 de los tumores de los 5 ratones. En contraste, para dEpoB, dosificaciones de 30 mg/kg (Q2Dx8) fueron necesarias para inducir el desvanecimiento de los tumores en 3 de 4 ratones. Sin embargo, a diferencia del caso con el compuesto 29, las desapariciones aparentes que ocurrieron siguiendo el tratamiento con dEpoB estuvieron sujetas a reincidencias con el tiempo. (Figura 59B).

10 El hecho de que el agente 29 suprime completamente el crecimiento de los xenoinjertos MX-1 de carcinoma mamario humano, reduciendo los tumores y luego impresionantemente haciéndolos desaparecer a lo largo de 64 días. Por otra parte, continuando las curaciones logradas por 29, (20 mg/kg o 30 mg/kg Q2Dx6, infusión i.v.-6 horas, Tabla 1, citada anteriormente) el peso corporal de los xenoinjertos retornó a el nivel de control pre-tratamiento dentro de los 15 12-18 días después de la suspensión del tratamiento. Este hallazgo, sugiere que carece de daño en órganos vitales. En una dosificación baja curativa de 10 mg/kg, Q2Dx12 (Figura 59B), el peso corporal máximo disminuyó solamente en un 12%, con una ganancia de peso corporal del 6% durante las tres últimas dosis. El peso corporal, a nivel de control de pre-tratamiento, fue recuperado solamente tres días después del cese del tratamiento. La Tabla 1, mostrada anteriormente muestra que los animales deberían sobrevivir a las perdidas de peso corporal tanto como en un 27%. El margen de seguridad terapéutica realizado aquí es notablemente amplio para un agente terapéutico curativo del 20 cáncer.

25 La eficacia terapéutica de 29 contra el xenoinjerto (A549) de carcinoma pulmonar humano y los xenoinjertos A549/Taxol del carcinoma pulmonar humano resistente al paclitaxel, también fueron evaluados (Figuras 59C y 59D). Los xenoinjertos A549 del carcinoma pulmonar de lento crecimiento se trataron con 29 (25 mg/kg, Q2Dx6, dos veces, ocho días aparte), lo cual resultó en un 99.5% de supresión del tumor con la erradicación completa eventual de 4 de los 30 4 tumores después de dos dosis más (Figura 59C). Interesantemente, la disminución del peso corporal de los ratones tanto como en un 35% sin alguna letalidad y la suspensión del tratamiento condujo a una rápida recuperación del peso corporal cercano al peso obtenido en el nivel control del pre-tratamiento (Figura 59C). En contraste, un estudio paralelo con el compuesto dEpoB (30 mg/kg; Q2Dx6), resultó en un 97.6% de supresión del tumor, pero no llevó a la erradicación del tumor. En un estudio adicional de 29 (dosificación de 20 mg/kg) contra xenoinjerto resistente al A549/Taxol (Figura 59D), el crecimiento del tumor fue totalmente suprimido y el tumor eventualmente reducido en un 24.4% del control de pre-tratamiento. Durante este estudio, el peso corporal máximo disminuyó hasta un 24%; sin embargo, en la suspensión del tratamiento con el fármaco, el peso corporal se recuperó hasta un 90% con respecto al valor del control del pre-tratamiento. En un estudio comparativo de (E)-9,10-dihidro-dEpoB (grupo 28, 4 mg/kg), el 35 crecimiento del tumor fue suprimido en un 41.6%.

40 Los datos pertinentes para analizar que factores dotaban al compuesto 29 con su notable índice terapéutico conjuntamente con los datos comparables pertinentes a los congéneres relacionados de cerca se proporcionan en la Tabla 10-2. Se puede observar que en términos de citotoxicidad inherente en movimiento desde EpoB (2b) hasta dEpoB (1) se pierde la totalidad del orden de magnitud. Cerca del 60% de estas pérdidas se restablece en el caso del 9,10-dihidro-dEpoB (28): Alguna de esta citotoxicidad inherente se pierde a medida que se avanza a 29, la cual al menos en la célula es ~1.8 veces tan citotóxico como el compuesto de referencia dEpoB.

45 Observamos que entre los 12,13-dihidroepotilones, 29 muestra diferencias con mucho la mejor estabilidad en plasma de ratón y también es el más estable en plasma S9 de hígado humano. También anotamos que, en las 2-sistemas de 12,13-dihidro isómeros, el patrón 26-trifluoro lleva con este una disminución de lipofilicidad y algo de incremento de su solubilidad en agua (Tabla 10-2, parte inferior). Por el momento debería parecer que la gran ventaja de 29 proviene de su mejoramiento en la estabilidad y biodisponibilidad del suero.

50

(Tabla pasa a página siguiente)

55

60

65

TABLA 10-2

Perfil de los derivados de dEpoB

Compuestos	Cytotoxle Eficacia IC ₅₀ (nM) [a]	b.w máximo. % caída sin muerte	Estabilidad Vida media		Solubilidad en agua (Pg/mL)	Lipofilicidad Partición octanol/water (POW)	Régimen de dosis terapéutica para Q2D 6hr — infusión i.v. (mg/kg)	índice terapéutico relativo a MTD[b]
			Plasma de ratón (min)	Fracción S9 de hígado humano (hr)				
EpoB (2b)	0.53±0.2	15	57	15.8	NO	ND	0.6-0.8	+++
dEpoB (1)	5.6±2.8	32	467	1.0 ±0.1	9.4	4.4	25-30	++++
deH-dEpoB (28)	0.900.40	29	84 ± 6	4.9±0.7	27	3.3	3-4	++++
F3-dEpoB (2)	9.3± 5.2	22	66± 7	1.6±0.4	8	4.1	15-20	++
F3-deH- dEpoB (29)	3.2 ±0.3	33	212±88	10.5±2.3	20	3.3	10-30	+++++

[a] Los valores de IC₅₀ están dados para células leucémicas CCRF-CEM. Los valores están en el rango de dos experimentos, todos los valores son obtenidos a partir de siete puntos de concentraciones; ND = No Determinado.

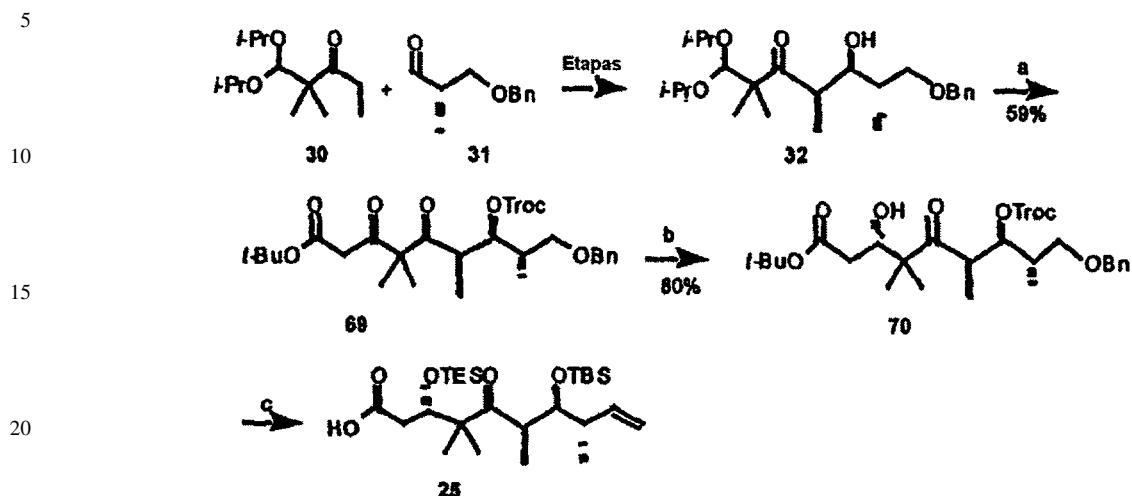
[b] Índice Terapéutico Relativo Graduado (TI) a MTD (dosis máxima tolerada):

- + supresión de crecimiento del tumor 25-50%.
- ++ supresión de crecimiento del tumor 50-100%.
- +++ Reducción del Tumor, pero sin desaparición de este
- ++++ desaparición del tumor en algunos o todos los ratones desnudos con bajo peso corporal recuperado y /o con reincidencia en algunos ratones dentro de una semana después de detener el tratamiento.
- +++++ desaparición del tumor en todos los ratones desnudos, recuperación del peso corporal rápidamente y /o sin reincidencia. El experimento terapéutico para epotilones contra xenoinjertos humanos en ratones desnudos, tales como MX-1 fueron estudiados por Chou, T. C. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, 95, 15798 y en **2001**, 98, 8113

Todos los agentes, 1-2 y 28-29, fueron inicialmente descubiertos a través de la síntesis total. Una síntesis práctica del compuesto 1 se ha descrito previamente (Rivkin *et al. J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 2899; White *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 5407; Yoshimura *et al. Angew. Chem.* **2003**, 42, 2518; Rivkin *et al. J. Org. Chem.* **2002**, 67, 7737; cada uno de los cuales ha sido incluido en esta por referencia). La primera generación descubre las rutas de 28 y 29 también han sido descritas. La reducción selectiva del doble enlace en 9,10 de 29 proporciona a 2. Los notables resultados obtenidos de los estudios con xenoinjertos descritos anteriormente, por lo cual es actualmente el compuesto 29 el más prometedor, claramente nombrado, por sus ventajas tanto para estudios toxicológicos detallados como para estudios farmacocinéticos en animales superiores y de ahí adecuadas, ventajas para pruebas clínicas en humanos. Tales prospectos, totalmente alterados por la naturaleza de la síntesis desafían desde la preparación de las muestras de prueba hasta la producción de cantidades de multigramos de estos nuevos agentes de epotilone. Se ha logrado, una mayor modernización de nuestras rutas previas, inicialmente concebidas y demostradas en una fijación del descubrimiento. En particular, nuestros nuevos protocolos logran simplificaciones principales en las elaboraciones estereoespecíficas de los carbonos 3 y 26. El Alcohol 32 se prepara según lo descrito inicialmente (Rivkin *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 2899; incluido en esta por referencia). Deberá ser anotado que en las nuevas síntesis, los estéreocentros 6, 7, y 8 son derivados de la disponible trivialmente cetona 30 y del aldehído 31. Bajo la protección del alcohol y la hidrólisis del acetal, el aldehído correspondiente se condensó con acetato de t-butilo para proporcionar un aldol como producto. Puesto que esta condensación no es diastereomericamente controlada, fue necesario y se logró tener una medida correctiva. La oxidación de esta mezcla 1:1 de éfimeros, proporciona la cetona 69. Siguiendo una altamente exitosa reducción de Noyori (Noyori *et al. J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 5856; incluido en esta por referencia) bajo las condiciones mostradas, se obtuvo el alcohol 70. La preparación del ácido 25 posteriormente se realizó en algunas etapas simples adicionales como se muestra.

Esquema 12

Síntesis del sector Acil 25

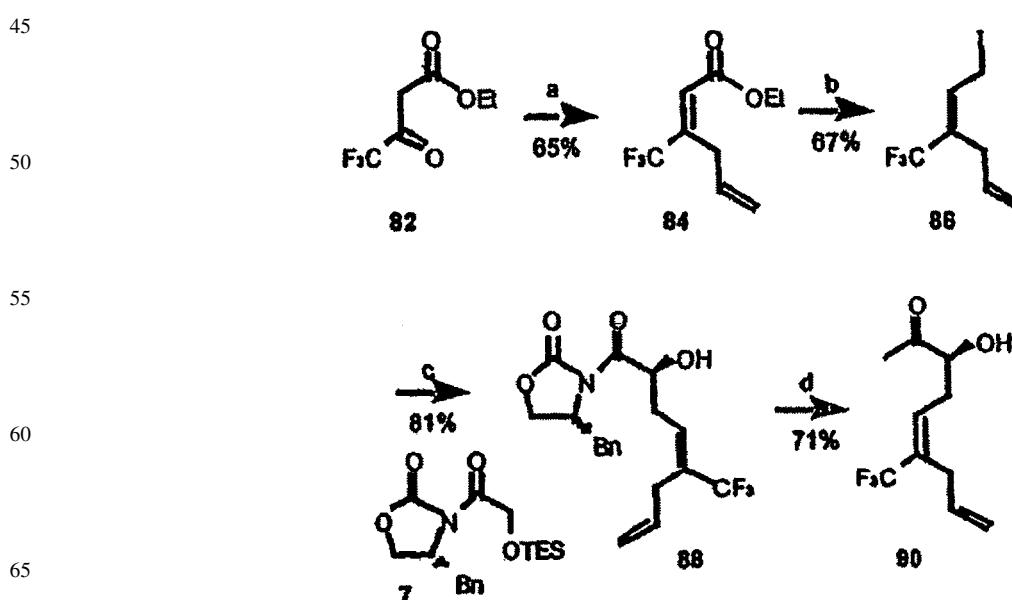


Reactivos y condiciones: (a) (i) TrocCl, pir., 92%; (ii) p-TsOH•H₂O, 76%; (iii) LDA, acetato de t-butilo, THF, 80%; (i.v.) Dess-Martin periodinano, 74%; (b) Catalizador Noyori (10 mol%), MeOH/HCl, H₂, 1200psi, 80%. (c) (i) TESCl, imidazol, 77%; (ii) Zn, AcOH, THF, 99%; (iii) TBSOTf, 2,6-lutidina, 82%; para las etapas restantes ver Rivkin *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 2899.

Una nueva, directa y escalable síntesis también ha sido desarrollada para desarrollar el 90 (Esquema 13). La síntesis inicia con reacciones comercialmente disponibles de trifluorometilcetoéster 82 con bromuro de alilo indio. La etapa clave en la síntesis es la posicionalidad específica y deshidratación estereoespecífica del alcohol terciario resultante para producir el 84 (en una producción del 65% total en dos etapas). El estereocontrol de esta reacción obedece a un “efecto dipolar” en donde el fuerte retiro del electrón de CF₃ y los grupos CO₂Et se presentan mejor como *trans* con respecto al doble enlace emergente. El yoduro 86 requerido se obtuvo en dos etapas a partir del 84. La alquilación del enolato de litio de 7 previamente reportado con yoduro 86 en THF proporciona el 88 con una producción del 81% y una alta diastereoselectividad (>25:1 de). Continuando la desprotección del alcohol secundario, el compuesto 88 fue propuesto en tres etapas para 90 como se muestra

Esquema 13

Síntesis del sector Acil 17

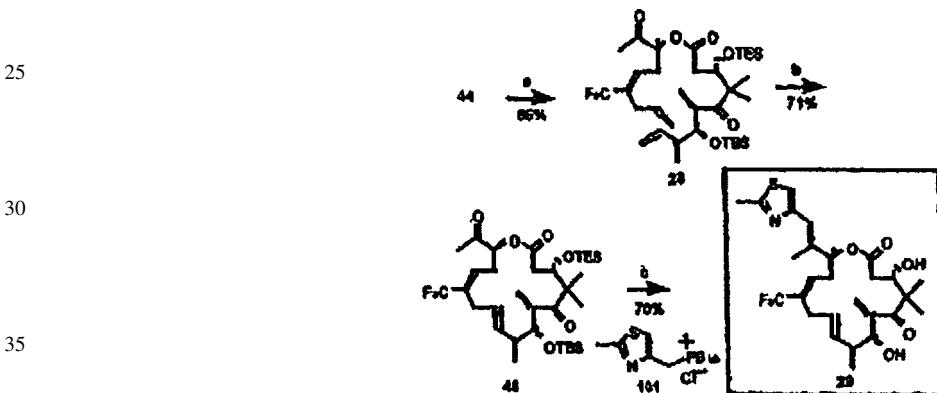


Reactivos y condiciones: (a) (i) Bromuro de Alilo In, THF-agua (3:1) 48°C, 85%; SOCl₂, pir 55°C, 77%; (b) (i) DIBAL-H, CH₂Cl₂, -78°C a r.t. 99%; (ii) I₂, PPh₃, imidazol, CH₂Cl₂, 74%; (c) (i) LHMDS, THF,-78°C a r.t.; (ii) HOAc-THF-H₂O (3:1:1), 81% por dos etapa; (d) (i) AlMe₃, MeONHMe, THF, 0°C a r.t., 97%; (ii) MeMgBr, THF, 0°C, 53% (73% borsm).

5 Con 25 y 90 a disposición por química procesable sencillamente, la ruta para 29 fue clara siguiendo los primeros protocolos desarrollados en nuestra fase de descubrimiento (A. Rivkin *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 2899; incluido en esta por referencia). La reacción clave de metátesis de cierre del anillo de 25 se llevó a cabo en tolueno usando el catalizador de Grubbs de segunda generación (Grubbs, R. H.; Miller, S. J.; Fu, G. C. *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 446; Trnka, T. M.; Grubbs, R. H. *Acc. Chem. Res.* **2001**, 34, 18; *Alkene Metathesis in Organic Chemistry* Ed.: Fürstner, A.; Springer, Berlin, (1998); Fürstner, A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, 39, 3012; Schrock, R. R. *Top. Organomet. Chem.* **1998**, 1, 1; cada uno de los cuales es incluido en esta por referencia). La reacción proporciona, exclusivamente el isómero *trans* de 48 con una producción del 71%. La instalación de la fracción del tiazol de acuerdo con el protocolo mostrado en el Esquema 14 se siguió por el retiro de los dos protectores del grupo silil con HF-piridina y de esta manera conduciendo al 29, el cual luego se convirtió vía reducción de la 9,10-olefina en el compuesto 2 con una alta producción. Cantidades del orden de gramos de epotilones novedosos estructuralmente han sido preparadas por la síntesis total en el ajuste a una escala de de un laboratorio académico

Esquema 14

20 Etapas finales de la síntesis del 26-CF₃-(E)-9,10-dihidro-dEpoB (29)



25 Reactivos y condiciones: (a) EDCI, DMAP, CH₂Cl₂, 25, 0°C a rt, 86% de éster t-butílico; (b) catalizador de Grubb, tolueno, 110°C, 20 min, 71%; (c) (i) KHMDS, 101, THF, -78°C a -20°C, 70%; (ii) HF-piridina, THF, 98%.

Parte experimental

Métodos Generales

45 Los reactivos obtenidos de proveedores comerciales se utilizaron, sin purificación adicional a menos que se indique de otra manera. El cloruro de metileno se obtuvo a partir de un sistema de secado de solvente (pasándolo a través de una columna pre-empacada de alúmina) y usándolo sin un secado adicional. Todas las reacciones sensibles al aire y agua fueron llevadas a cabo en material de vidrio secado a la llama bajo una presión positiva de gas argón pre-purificado. Los espectros NMR (¹H y ¹³C) se registraron en un Bruker AMX-400 MHz y Bruker Advance DRX-500 MHz como se registre individualmente, referido a CDCl₃ (7.27 ppm para ¹H y 77.0 ppm para ¹³C) y CD₂Cl₂ (5.32 ppm para ¹H y 53.5 ppm para ¹³C). Los espectros Infrarrojos (IR) se obtuvieron en un espectrómetro Perkin-Elmer FT-IR modelo 1600. Las rotaciones ópticas se obtuvieron en un polarímetro digital JASCO modelo DIP-370. La cromatografía analítica en capa delgada fue desarrollada sobre placas de silice gel 60 F254, referencia E. Merck. Los compuestos que no fueron activos al UV, se visualizaron sumergiendo las placas en solución de para-anisaldehído y posterior calentamiento. La cromatografía preparativa en capa delgada fue desarrollada utilizando el solvente indicado sobre placas TLC Whatman® (LK6F Silica gel 60A)

60 Químicos. Todos los epotilones se sintetizaron dentro de la organización (C. R. Harris, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 8434; D.-S. Su *et al.* *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 2093; Smart, B. E. *J. Fluorine Chem.* **2001**, 109, 3; F. Yoshimura, *et al.* *Angew. Chem.* **2003**, 42, 2518; Rivkin *et al.* *J. Org. Chem.* 2002, 67, 7737)

65 El Paclitaxel (Taxol®) y el sulfato de vinblastina (VBL), fueron adquiridos de Sigma. Estos compuestos se disolvieron en dimetilsulfoxido para los ensayos *in vitro*, (excepto el VBL en solución salina). Para los estudios *in vivo*, tanto los epotilones como el paclitaxel, se disolvieron en el vehículo Cremophor/etanol (1:1) y posteriormente se diluyeron en solución salina para la infusión i.v. para 6 horas vía la vena de la cola utilizando un mini-catéter diseñado a medida (T.-C. Chou *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2001**, 98, 8113-8118; T.-C. Chou *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1998**, 95, 15798-15802).

(T.-C. Chou *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **2001**, 98, 8113-8118; T.-C. Chou *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **1998**, 95, 15798-15802).

Líneas tumorales y celulares. Las células de leucemia linfoblástica humanas CCRF-CEM, fueron obtenidas del

5 Dr. William Beck of the University of Illinois, Chicago. El carcinoma mamario humano (MX-1) y las células de carcinoma pulmonar humano (A549) fueron obtenidas de American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD). Las células resistentes al paclitaxel A549/taxol (Resistencia de 44 veces) fueron desarrolladas con el método descrito anteriormente (T.-C. Chou *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **2001**, 98, 8113-8118).

10 *Animales.* Los ratones desnudos atípicos, que llevan el gen nu/nu se obtuvieron de NCI, Frederick, MD y se utilizaron para todos los xenoinjertos de tumor humano. Se utilizaron, ratones machos desnudos de 6 semanas o mayores con pesos aproximados de 20-22 g. Los medicamentos se administraron vía vena de la cola por 6 horas mediante infusión i.v. usando un mini-catéter de infusión hecho internamente y un tubo de contención (T.-C. Chou *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **2001**, 98, 8113-8118).

15 Una bomba de inyección Harvard PHD2000 programable con multitrack se utilizó para la infusión i.v. Un volumen de infusión típico de 6 horas por cada fármaco en Cremophor/etanol (1:1) fue de 100 ml en 2.0 ml de solución salina. El volumen del tumor fue evaluado por la medición de la longitud x ancho x altura (o amplitud), utilizando un calibrador. Para los ratones desnudos que llevan el tumor, durante el curso del experimento, el peso corporal hace referencia 20 al peso total menos el peso del tumor. Todos los estudios de animales fueron conducidos en conformidad con las directrices por el National Institute of Health Guide for the Care y Use of Animals y el protocolo aprobado por el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center's Institutional Animal Care y Use Committee.

25 *Ensayos de Citotoxicidad.* En la preparación de los ensayos de citotoxicidad *in vitro*, las células fueron cultivadas con una densidad inicial de $2-5 \times 10^4$ células por mililitro. Se mantuvieron en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂ a 37°C, en medio RPMI 1640 (GIBCO/BRL), conteniendo penicilina (100 unidades/mL), estreptomicina (100 µg/mL, GIBCO/BRL), y FBS al 5% de inactivado al calor. Para el crecimiento de células tumorales sólidas en una monocapa (tal como la A549), la citotoxicidad del fármaco fue determinada en placas microtitulación de 96-pozos utilizando el método sulforhodamina B (P. Skehan *et al.* J. Natl. Cancer. Inst. **1990**, 82, 1107-1112).

30 Para el crecimiento de células en suspensión (tales como CCRF-CEM y sus sublíneas), la citotoxicidad fue medida, por duplicado, utilizando el método de microcultivo y empleando el 2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-carboxanilida-2H-terazodium hidróxido (XTT) (D. A. Scudiero *et al.* Cancer Res. **1988**, 48, 4827-4833).

35 Placas de microtitulación de 96-pozos. Para ambos métodos, la absorbancia de cada pozo se medió con un lector de microplaca (Power Wave XS, Bio-Tek, Winooski, VT). Los datos obtenidos de la relación dosis-efecto de 6 a 7 concentraciones de cada fármaco, por duplicado, fueron analizados con el registro del efecto-medio, utilizando un programa de ordenador (T.-C. Chou, M. Hayball. *Calcusym for Windows*, Multiple-drug dose effect analyzer and manual. Biosoft, Cambridge Place, Cambridge, UK (1997).

40 *Estabilidad de los epotilones en ratón y en la fracción S9 de hígado humano.* El estudio de la estabilidad se realizó con un sistema HPLC automatizado, el cual consiste de un sistema de preparación de muestra Prospekt-2 (Spark Holland, Holanda) y un sistema cromatográfico HPLC Agilent 1100. Brevemente, el sistema Prospekt 2 recogía un cartucho de extracción C8 y lo lavaba con acetonitrilo y agua. El automuestreador Agilent, se colocó a 37°C, tomaba 20 µl de la muestra, lo cargaba en el cartucho, lavaba este con agua, y luego el Prospekt-2 desviaba la corriente de la fase móvil dejándola correr a través del cartucho de extracción sobre la columna analítica, Reliance Stable Bond, C8 4 x 80 mm con una pre columna (MacMod, Chadds Ford, PA) y el eluente se monitoreó a 250 nm. La fase móvil consistió de una mezcla 53 a 65% acetonitrilo/0.1% ácido fórmico a un flujo de 0.4 ml/min., de esta manera el tiempo de retención del compuesto de interés fue aproximadamente 6 minutos. La preparación de la muestra comprendió la adición de volúmenes de plasma iguales a PBS para asegurar un volumen total de 300-400 µl, se filtra, y se le adiciona de 0.5-2 µl del sustrato (20 mM) para lograr aproximadamente 30 - 50 mAU a 250 nm en el análisis por HPLC. Para la fracción S9 del microsoma de hígado humano combinada (Xeno Tech, Lenex, KS), 20 µl (400 µg) o la fracción S9, se mezcló con 280 µl de PBS y luego se procedió como se indicó anteriormente. El periodo de muestreo fue controlado por el automuestreador y los datos de las áreas de los picos se reunieron para comparar la velocidad de desaparición 55 del compuesto principal.

50 *Determinación del número de partición de octanol-agua (POW).* Un método HPLC fue empleado para estimar el número de partición del octanol-agua. Un sistema cromatográfico HPLC Agilent 1100, se utilizó con una columna eclipse XDB C18, 4.6 x 250 mm y con una fase móvil de acetonitrilo 60%/40% solución reguladora de fosfato de potasio 25 mM a pH 7.4, con una velocidad de flujo de 0.8 ml por min., siendo el eluente monitoreado a 250 nm. Los estándares utilizados fueron alcohol bencílico, acetofenona, benzofenona, naftaleno, difenil éter y dibenzilo con 55 valores POW conocidos de 1.1, 1.7, 3.2, 4.2, y 4.8 respectivamente. El dicromato de sodio fue utilizado para evaluar el tiempo cero, cuyo valor correspondió a 2.5 min. y los tiempos de retención para los estándares son 3.9, 5.4, 10.6, 14.18.7 y 19.8 min., respectivamente. El valor k se calculó mediante la formula, $k = (t_{rt} - t_0)/t_0$. La regresión Lineal de log k vs. log POW dio una línea recta con $r^2 = 0.966$. Esta grafica se utiliza para evaluar el valor de POW de los análogos de los epotilones.

ES 2 281 692 T3

Datos espectroscópicos para 29 (26-trifluoro-(E)-9,10-dihidro-dEpoB)

[α]_D²⁵ -54.6 (c 0.28, CHCl₃); IR (film) ν 3478, 2974, 2929, 1736, 1689; 1449, 1381, 1318, 1247, 1169, 1113, 1039, 983, 867, 736 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.05 (3H, s), 1.12 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.23 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 1.37 (3H, s), 2.04 (1H, brd, *J* = 3.8 Hz, -OH), 2.12 (3H, s), 2.25-2.33 (1H, m), 2.38 (1H, dd, *J* = 15.3 y 3.0 Hz), 2.48 (1H, dd, *J* = 15.4 y 9.8 Hz), 2.54-2.61 (1H, m), 2.66-2.76 (1H, m), 2.71 (3H, s), 2.96 (1H, dd, *J* = 16.5 y 4.5 Hz), 3.02 (1H, dd, *J* = 16.3 y 6.5 Hz), 3.11 (1H, quintet, *J* = 6.7 Hz), 3.19 (1H, brs, = OH), 3.74 (1H, brs), 4.35 (1H, brd, *J* = 9.5 Hz), 5.42 (1H, dd, *J* = 6.2 y 4.1 Hz), 5.60 (1H, ddd, *J* = 15.8, 5.6, y 4.5 Hz), 5.66 (1H, dd, *J* = 15.8 y 5.8 Hz), 6.24. (1H, t, *J* = 7.2 Hz), 6.64 (1H, s), 7.00 (1H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 15.1, 16.1, 17.7, 18.5, 19.3, 22.5, 28.8, 31.1, 39.6, 39.7, 45.0, 53.7, 71.4, 75.3, 76.8, 116.7, 120.2, 124.3 [q, 1J(C,F) = 273.4 Hz], 127.9, 130.2 [q, 3J(C,F) = 6.0 Hz], 130.6 [q, 2J(C,F) = 28.4 Hz], 132.5, 136.7, 152.0, 165.4, 170.2, 218.4; LRMS (ESI) calc. para C₂₇H₃₇F₃NO₅S [M+H⁺] 544.2, encontrado 544.1.

Ejemplo 11

Estudios in vitro

Un experimento típico involucra células de cultivo (por ejemplo, CCRF-CEM) a una densidad inicial de 2-5 x 10⁴ células por ml. Estas fueron mantenidas en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂ a 37°C, en medio RPMI 1640 (GIBCO/BRL) que contiene penicilina (100 unidades/mL), estreptomicina (100 μ g/mL, GIBCO/BRL), y 5% de suero fetal bovino inactivado al calor. Para las células que presentaron crecimiento en suspensión (tales como CCRF-CEM y sus sublíneas), la citotoxicidad se midió empleando el método de microcultivo terazodium (XTT)-2,-3-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5 carboxanilida)-2H terazodium hidróxido, por duplicado en placas microtitulación de 96-pozos. Para ambos métodos, la absorbancia de cada pozo se mide con un lector de microplaca (EL-340, Bio-Tek, Burlington, VT). Cada corrida implica seis o siete concentraciones de los fármacos evaluados. Los datos de relación dosis-efecto fueron analizados con el registro del efecto-medio.

Las células T humanas CCRF-CEM, las células leucémicas linfoblásticas agudas y sus sublíneas teniposide-resistentes (CCRFCEM/VM1) y las sublíneas resistentes a la vinblastine (CCRF-CEM/VBL₁₀₀) fueron obtenidas de W.T. Beck (University of Illinois, Chicago, II)

En un experimento típico, como se ha descrito anteriormente, ciertos de los compuestos inventivos (por ejemplo, el 9,10-dihidro-EpoD), demostraron actividad en las líneas celulares CCRF-CEM y las líneas celulares resistentes a Taxol CCRF-CEM. Algunos de estos compuestos exhibieron IC₅₀s, para las líneas celulares CCRF-CEM, en el rango de 0.0015 a 0.120. Otros ciertos compuestos mostraron IC₅₀s en el rango de 0.0015 a aproximadamente 10.5. Algunos de estos compuestos también mostraron IC₅₀s en el rango de 0.011 a aproximadamente 0.80 para las líneas celulares resistentes a CCRF-CEM/Taxol, y ciertos otros compuestos exhibieron IC₅₀s en el rango de aproximadamente 0.011 a aproximadamente 13.0 μ M. En ciertas modalidades, el 26F-EpoD exhibe actividad en el rango de 0.0015 μ M para las líneas celulares CCRF-CEM, y en el rango de 0.011 μ M para líneas celulares resistentes a CCRF-CEM/Taxol (Figura 11).

Ejemplo 12

Estudios in vivo

Los ratones desnudos atípicos, que llevan el gen nu/nu se utilizan típicamente para xenoinjertos de tumor. Outbred, Criados mediante cruces de razas, los ratones de origen suizo se obtuvieron de Charles River Laboratories. Los ratones machos de 8 semanas o mayores, con pesos de 22 g o superiores, se utilizaron para más experimentos. Los fármacos se administraron vía vena de la cola por infusión i.v.-6 h. Cada ratón individual fue confinado en un tubo de polipropileno perforado Falcon para la administración del medicamento. El volumen de tumor fue evaluado midiendo la longitud x ancho x altura (o amplitud) usando un calibrador. La bomba de inyección Harvard PHD2000 programable (Aparato Harvard) con multi-track se utilizó para infusión i.v. Todos los estudios de animales fueron conducidos de acuerdo con las directrices del National Institute of Health "Guide for the Care and Use of Animals" y el protocolo aprobado por el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center's Institutional Animal Care and Use Committee. En cumplimiento con las políticas de este comité para el tratamiento humano de animales que llevan tumores, los ratones se sometieron a eutanasia cuando los tumores alcanzaron un valor \leq 10% de su peso corporal total.

Como se describe en la Figura 8, el 9,10-dihidro-EpoB se evaluó en ratones desnudos que presentaban el carcinoma mamario humano MX-1. En general, el 9,10-dihidro-EpoB fue formulado como sigue: el 9,10-dihidro-EpoB se disolvió en etanol y Cremophor (1:1) en una concentración de 20 mg/ml. Esta solución se diluyó con solución salina para infusión i.v. La solución diluida fue utilizada para la infusión i.v. dentro de una hora. El tamaño del tumor y peso corporal luego se midieron utilizando una dosificación de 10 mg/kg, 20 mg/kg, y 30 mg/kg por más de 15 días. El tamaño del tumor y peso corporal también se midieron utilizando un régimen de dosificación de 0.4 mg/kg Q3Dx2, 0.5 mg/kg Q3Dx2, y 0.6 mg/kg Q3Dx5 (ver Figuras 33, 34, 55 y 56). El régimen de dosificación cada tercer día se utilizó para reducir la toxicidad. Otros estudios terapéuticos en 9,10-dihidro-Epo B son mostrados en las Figuras 70 y 71 (CCRF-CEM/Taxol Q3Dx5) y en las Figuras 23 y 24 (HCT-116, Q2Dx7).

El compuesto 9,10-dihidro-12,13-desoxiepotilone B (iso-490 epotilone), es tres veces más eficaz que el dEpoB. El 9,10-dihidro-12,13-desoxiepotilone D ha demostrado detener el crecimiento de tumores, después de dos o tres infusiones de 10 mg/kg o 20 mg/kg, cada una de las cuales fue administrada cada día. Se obtuvieron mejores resultados en ratones utilizando una dosis de 30 mg/kg del 9,10-dihidro-12,13-desoxiepotilone B utilizando dos infusiones i.v. 5 cada 6 horas durante cada día. El 9,10-dihidroEpoB en 5 mg/kg, Q3Dx9, infusión i.v.-6 horas, también demostró que logra el desvanecimiento el tumor en ratones desnudos que llevan el xenoinjerto MX-1, sin la muerte del ratón y con solo una moderada perdida de peso corporal (Figuras 74 y 75). Esto pareciese haber sido logrado por la administración de análogos del epotilone cada tercer día para reducir la toxicidad (ver Figuras 53 y 54). En resumen, 9,10-dihidro-10 12,13-desoxiepotilone B muestra una disminución de toxicidad con respecto a otros epotilones, mayor potencia en detener el crecimiento tumoral y gran estabilidad del suero. Otros estudios terapéuticos son mostrados en las Figuras 17 y 18 (HCT-116, Q2Dx5 y Q3Dx5); en las Figuras 19 y 20 (A549/Taxol, Q3Dx7); y en las Figuras 21 y 22 (A549/Taxol, Q2Dx7).

El 9,10-dihidro-Epo B cuando se administra cada tres días, 9 a 11 veces, infusión i.v.-6 horas a 0.4-0.6 mg/kg, 15 condujo a la disminución y el desvanecimiento del tumor en ratones desnudos con implante de xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano, (Figuras 68 y 69). La administración de 8 dosis cada día condujo a una supresión del crecimiento, pero no a la reducción del tumor. Cuando el 9,10-dihidro-Epo B se administró durante cada día por 9 dosis, el tumor implantado continuo contrayéndose moderadamente desde el segundo hasta el octavo día, pero el peso corporal se recuperó muy lentamente desde el 76% al 82% del control durante el mismo periodo. En el décimo día, un 20 cuarto del tumor había desaparecido. Cuando una dosificación de 0.6 mg/kg de 9,10-dihidro-EpoB fue administrada Q2Wx6, infusión cada 6 horas, a ratones desnudos con xenoinjertos HCT-116, cuatro de cada cuatro ratones murieron de toxicidad dentro de los tres días después de la sexta dosificación. El 9,10-dihidro-EpoB suprimió el crecimiento del tumor contra CCRF-CEM/Taxol usando 0.6 mg/kg, Q3Dx5, x 2 programado (Figuras 70 y 71).

El 26-trifluoro-9,10-dihidro-12,13-desoxi-epotilone B (F3-deH-dEpoB) como se muestra en las Figuras es curativo a 20 mg/kg y 30 mg/kg, Q2Dx6, infusiones de 6 horas, en un modelo de ratón desnudo implantado con un xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano.. Los datos también sugieren que 30 mg/kg Q2Dx6 es aproximadamente la dosis máxima tolerada. Con 20 mg/kg, Q2Dx6, infusión de 6 horas, el 26-trifluoro-9,10-dihidro-12,13-desoxi-epotilone B llevó a una reducción y desaparición del tumor en cuatro de cuatro ratones desnudos con xenoinjertos MX-1 de 30 carcinoma mamario humano. No hubo reaparición del tumor en el 20avo día después de haber detenido el tratamiento. Al día 27avo después de haber detenido el tratamiento, en 2/4 reapareció. Ninguna otra reaparición del tumor se presentó durante los días 28avo y 64avos después de detener el tratamiento. Por comparación, dEpoB a 30 mg/kg logró el desvanecimiento del tumor en el mismo modelo de ratón en siete de siete ratones; sin embargo, el tumor reapareció en dos de los cinco ratones al octavo día después de detener el tratamiento. La administración del 26-trifluoro-9,10-35 dihidro-12,13-desoxi-epotilone B a 20 mg/kg, Q2Dx6, infusión i.v. 6 horas, condujo a una transitoria caída en el peso corporal de los ratones hasta el 26%. Este descenso en el peso corporal, no condujo a la muerte sugiriendo ninguna toxicidad severa hacia los órganos vitales. Dos días después del último tratamiento, el peso corporal comenzó a recuperarse. En el día 16 después del tratamiento el peso corporal regreso al 109% del control de pre-tratamiento sugiriendo que la toxicidad, si la hay, es completamente reversible. En comparación, el dEpoB administrado a 30 40 mg/kg condujo a un 31% de disminución en el peso corporal sin letalidad.

Cuando el 26-trifluoro-9,10-dihidro-12,13-desoxi-epotilone B se administró a 30 mg/kg, Q2Dx6, infusión i.v. 6 horas, el desvanecimiento del tumor fue 2-3 días más rápido que con la dosis de 20 mg/kg. El peso corporal disminuyó al 27% en su más alta dosis y persistió 4 días sin llevar a la letalidad y sin provocar severa toxicidad en los órganos vitales. Cuatro días después del último tratamiento a 30 mg/kg, comenzó a recuperar el peso corporal. En el día 16avo después del tratamiento, el peso corporal retorno al 98% del control de pre-tratamiento confirmando también la reversibilidad de la toxicidad. El tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB a 20 mg/kg y 30 mg/kg condujo a la desaparición total del tumor, y no reincidió hasta después de 62 días lo que se vio con la dosis de 30 mg/kg. La desaparición del tumor también se logró a 10 mg/kg administrando 9 dosis con tres dosis adicionales dadas (Figura 57). Solamente, menores pérdidas de peso corporal se observaron a 10 mg/kg del 26-trifluor-9,10-dihidro-dEpoB (Figura 58). Sin posteriores pérdidas de peso corporal, se vieron con el tratamiento continuado.

La figura 59 resume el efecto del 26-F₃-9,10-deH-dEpo B (y otros epotilones) contra el xenoinjerto MX-1, A. a una dosis baja; B. contra grandes tumores; contra xenoinjerto A549 del carcinoma pulmonar, C; y contra xenoinjerto 55 A549/Taxol de carcinoma de pulmón resistente al Taxol, D.

La figura 61 enumera las potencias *in vitro* de los epotilones modificados C-21 contra CCRF-CEM, CCRF-CEM/VBL y CCRFCEM/Taxol.

La figura 62 muestra el efecto terapéutico del 26-F₃-9,10-deH-dEpoB (15 mg/kg y 30 mg/kg) y Taxol (20 mg/kg) Q2Dx8, infusión i.v. 6 horas, contra xenoinjerto CCRF-CEM de leucemia de célula-T humana. Similares disminuciones del peso corporal se observaron en los tres grupos de tratamiento (Figura 63).

El tratamiento del xenoinjerto CCRF-CEM/Taxol (Resistente al Taxol) con 26-F₃-9,10-deH-dEpo B, 15 mg/kg 65 logró 1/3 de desvanecimiento del tumor y 30 mg/kg logró 3/4 de desvanecimiento del tumor. El mismo tratamiento con Taxol, 20 mg/kg presentó solamente una supresión parcial del crecimiento del tumor y fracasó con el objetivo de reducción del tumor (Figura 64). Los cambios de peso corporal, durante este experimento se muestran en la figura 65.

El tratamiento del xenoinjerto HCT-116 de carcinoma de colon humano, con 26-F₃-9,10-deH-dEpo B (20 mg/kg) logró una eficacia similar a la del Taxol (20 mg/kg). Sin embargo, F₃-deH-dEpo B a 30 mg/kg produjo un mejor efecto terapéutico con un desvanecimiento de 2/4 del tumor, seguido de 5 dosis (Figura 66). Los cambios del peso corporal durante este experimento se muestran en la figura 67.

5

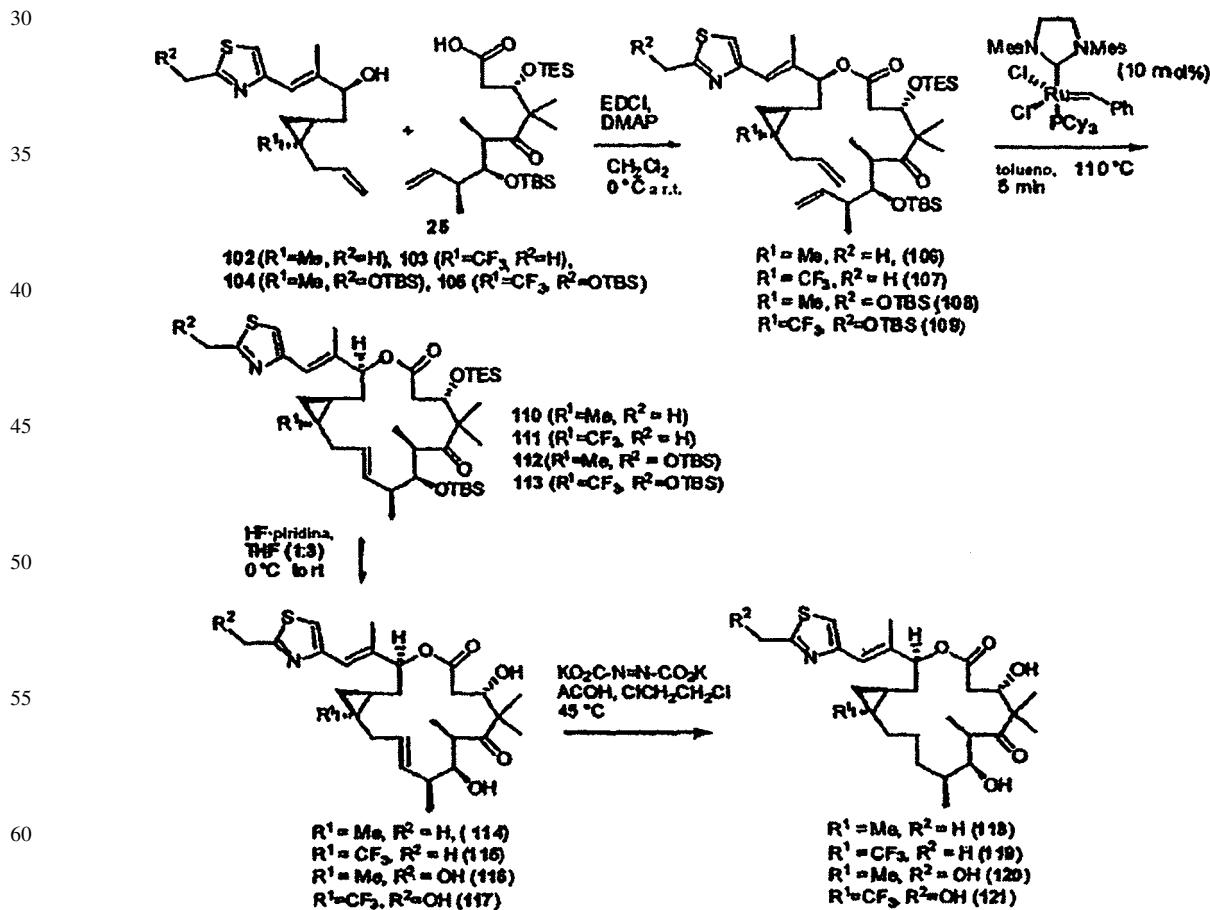
Los efectos terapéuticos de F₃-9,10-dihidro-dEpoF contra xenoinjertos MX-1 en diferentes dosis (5-30 mg/kg) con infusión i.v. por 6 horas e inyección i.v. se muestran en las Figuras 76 y 77.

Conclusión. El 9,10-dihidro, 26-trifluoro trifluoro, o ambas modificaciones para dEpoB resultaron en un incremento de 1.5- a 5- veces en la citotoxicidad *in vitro* y un incremento de 2- a 5- veces de la vida media del plasma de ratón *in vivo*. Utilizando modelos de xenoinjerto de tumores sólidos humanos en ratones desnudos y utilizando el Q2Dx5-9, infusión i.v.-6 horas usando la técnica de la vía vena de la cola en dosis máximas toleradas, fueron evaluadas la eficacia antitumor y toxicidad del 9,10-dihidro-epotilones. La capacidad para lograr una supresión del crecimiento del tumor, la disminución del tumor, y la desaparición seguida de posteriores investigaciones para determinar el índice de reincidencia y el índice de cura después de detener el tratamiento. El 9,10-dihidro-EpoB, el más potente epotilone conocido *in vitro*, aunque altamente eficaz, mostró un estrecho margen de seguridad terapéutica *in vivo*. El 9,10-dihidro-dEpoB a 4 mg/kg, 9,10-dihidro-EpoB a 0.4 mg/kg, y 21-hidroxi-9,10-dihidro-dEpoB a 3 mg/kg todos fuertemente supresores del crecimiento de tumores por un periodo sostenido de tiempo y logrando en algunos casos la reducción del tumor, y en otros casos el desvanecimiento del mismo. El dEpoB a 30 mg/kg, el 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB a 20 mg/kg, y el paclitaxel a 20 mg/kg mostraron una fuerte supresión del crecimiento del tumor y lograron la reducción del tumor y el desvanecimiento de los xenoinjertos MX-1 de carcinoma mamario humano en todos los ratones evaluados. El 26-trifluoro-9,10-dihidro-dEpoB, cuando se comparó con el dEpoB o el paclitaxel, logró una cura a largo plazo sin reincidencia tumoral y mostró una recuperación igualmente rápida del peso corporal para el nivel del control de pre-tratamiento.

25

Ejemplo Comparativo 13

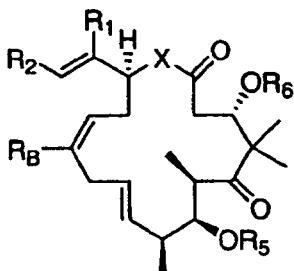
Síntesis de los Análogos de Ciclopropil-Epotilone



REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:

5



10

15

en donde R_1 es un hidrógeno o alquilo C_{1-6} inferior;20 R_2 es un arilo C_{3-14} sustituido o no sustituido, heteroarilo C_{3-14} , arilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} , o una fracción heteroarilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} ;25 R_5 y R_6 son cada uno independientemente un hidrógeno o un grupo protector;25 X es O, S, C (R_7)₂, o NR₇, en donde cada ocurrencia de R_7 es independientemente un hidrógeno o un alquilo C_{1-6} inferior;30 R_B es, independientemente para cada ocurrencia, un hidrógeno; halógeno; -OR_{B'}; -SR_{B'}; -N(R_{B'})₂; -CY₃; -CHY₂; -CH₂Y, donde Y es F, Br, Cl, I, OR_{B'}, N_BR_{B'}, N(R_{B'})₂, o SR_{B'}; -C(O)OR_{B'}; -C(O)R_{B'}; -CONHR_{B'}; -O(C=O)R_{B'}; -NR_{B'}(C=O)R_{B'}; N₃; N₂R_{B'}; un acetal cíclico; o cíclico o acíclico, alifático C_{1-20} lineal o ramificado, heteroalifático C_{1-20} , arilo C_{3-14} , o heteroarilo C_{3-14} , opcionalmente sustituido con uno o más de hidrógeno; halógeno; -ORB'; -SRB'; -N(RB')₂; -C(O)ORB'; -C(O)RB'; -CONHRB'; -O(C=O)RB'; -O(C=O)ORB'; -NRB'(C=O)RB'; N₃; N₂RB'; acetal cíclico; o alifático C_{1-20} cíclico o acíclico, lineal o ramificado sustituido o no sustituido, heteroalifático C_{1-20} , arilo C_{3-14} , o una fracción heteroarilo C_{3-14} ; en donde cada ocurrencia de R_B' es independientemente un hidrógeno; un grupo protector; un lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, cíclico o acíclico, alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} , arilo C_{3-14} , heteroarilo C_{3-14} , arilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} , arilo C_{3-14} alquenilo C_{1-20} , arilo C_{3-14} alquinilo C_{1-20} , heteroarilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} , heteroarilo C_{3-14} alquenilo C_{1-20} , o una fracción heteroarilo C_{3-14} alquinilo C_{1-20} ,35 en donde, el arilo, heteroarilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, alifático, heteroalifático, arilalquenil, arilalquinil, heteroarilalquenil o heteroarilalquinil puede ser sustituido por uno o más de alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} , arilo C_{3-14} , heteroarilo C_{3-14} , arilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} , heteroarilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} , alcoxi C_{1-20} , ariloxi C_{3-14} , heteroalcoxi C_{1-20} , heteroariloxi C_{3-14} , alquiltio C_{1-20} , ariltio C_{3-14} , heteroalquiltio C_{1-20} , heteroariltio C_{3-14} , F, Cl, Br, I, -OH, -NO₂, -CN, -CF₃, -CH₂CF₃, -CHCl₂, -CH₂OH, -CH₂CH₂OH, -CH₂NH₂, -CH₂SO₂CH₃, -C(O)Rx, -CO₂(Rx), -CON(Rx)₂, -OC(O)Rx, -OCO₂Rx, -OCON(Rx)₂, -N(Rx)₂, -S(O)₂Rx, -NRx(CO)Rx en donde cada ocurrencia de Rx es independientemente alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} , arilo C_{3-14} , heteroarilo C_{3-14} , arilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} , heteroarilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} .

45

40 en donde, el arilo, heteroarilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, alifático, heteroalifático, arilalquenil, arilalquinil, heteroarilalquenil o heteroarilalquinil puede ser sustituido por uno o más de alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} , arilo C_{3-14} , heteroarilo C_{3-14} , arilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} , heteroarilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} , alcoxi C_{1-20} , ariloxi C_{3-14} , heteroalcoxi C_{1-20} , heteroariloxi C_{3-14} , alquiltio C_{1-20} , ariltio C_{3-14} , heteroalquiltio C_{1-20} , heteroariltio C_{3-14} , F, Cl, Br, I, -OH, -NO₂, -CN, -CF₃, -CH₂CF₃, -CHCl₂, -CH₂OH, -CH₂CH₂OH, -CH₂NH₂, -CH₂SO₂CH₃, -C(O)Rx, -CO₂(Rx), -CON(Rx)₂, -OC(O)Rx, -OCO₂Rx, -OCON(Rx)₂, -N(Rx)₂, -S(O)₂Rx, -NRx(CO)Rx en donde cada ocurrencia de Rx es independientemente alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} , arilo C_{3-14} , heteroarilo C_{3-14} , arilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} , heteroarilo C_{3-14} alquilo C_{1-20} .

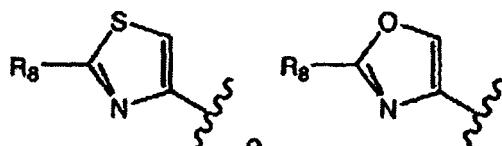
50

2. El compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, en donde R_5 es un hidrógeno; y R_6 es un hidrógeno.3. El compuesto como se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde R_B es un metilo.

55

4. El compuesto como se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde R_B es un hidrógeno.5. El compuesto como se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde R_B es -CF₃.

60

6. El compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde R_1 es un metilo.7. El compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde R_2 es

65

en donde R_8 es independientemente hidrógeno, halógeno, -OR₉, -SR₉, -N(R₉)₂, -CY₃, -CHY₂, -CH₂Y, donde Y es F, Br, Cl, I, OR_{B'}, NHR_{B'}, N(R_{B'})₂, o SR_{B'}; -(CV₂)_nOR₉, -(CV₂)_nN(R₉)₂, -(CV₂)_nSR₉, -(C=O)R₉, -O(C=O)R₉, -(C=O)OR₉, -NH(C=O)R₉, -NH(C=O)OR₉, -(C=O)NHR₉, o un alifático C_{1-20} cíclico o acíclico, lineal o ramificado.

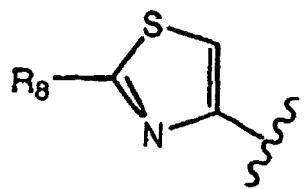
5 fijado, heteroalifático C₁₋₂₀, arilo C₃₋₁₄, heteroarilo C₃₋₁₄, arilo C₃₋₁₄ alquilo C₁₋₂₀, o fracción heteroarilo C₃₋₁₄ alquilo C₁₋₂₀ opcionalmente sustituido por una o más ocurrencias de halógeno, -OR₉, -SR₉, -N(R₉)₂, -(CV₂)_nOR₉, -(CV₂)_nN(R₉)₂, -(CV₂)_nSR₉, -(C=O)R₉, -O(C=O)R₉, -(C=O)OR₉, -O(C=O)OR₉; -NH(C=O)R₉, -NH(C=O)OR₉, -(C=O)NHR₉, o un alifático C₁₋₂₀ cíclico o acíclico, lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, heteroalifático C₁₋₂₀, arilo C₃₋₁₄, heteroarilo C₃₋₁₄, arilo C₃₋₁₄ alquilo C₁₋₂₀, o fracción heteroarilo C₃₋₁₄ alquilo C₁₋₂₀,

en donde cada ocurrencia de R₉ es independientemente un hidrógeno; un grupo protector; un alifático C₁₋₂₀ cíclico o acíclico, lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, heteroalifático C₁₋₂₀, arilo C₃₋₁₄, o fracción heteroarilo C₃₋₁₄;

10 10 en donde cada ocurrencia de V es independientemente un hidrógeno, halógeno, hidroxilo, tio, amino, alquiloamino C₁₋₂₀, o hidroxilo protegido, tio o amino; cada ocurrencia de t es independientemente 0, 1 o 2; y cada ocurrencia de n es independientemente 0-10; y sus derivados farmacéuticamente aceptables.

15 8. El compuesto como se reivindica en la reivindicación 7, en donde R₂ es

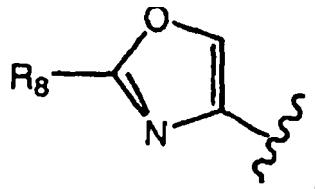
20



25

9. El compuesto como se reivindica en la reivindicación 7, en donde R₂ es

30



35

10. El compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde R₈ es un metilo.

40

11. El compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde R₈ es -CH₂OH.

12. El compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde X es O.

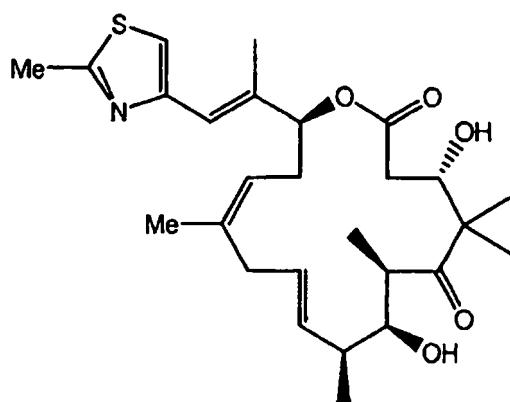
13. El compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde X es NH.

45

14. Un compuesto aislado como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.

15. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1 de fórmula:

50



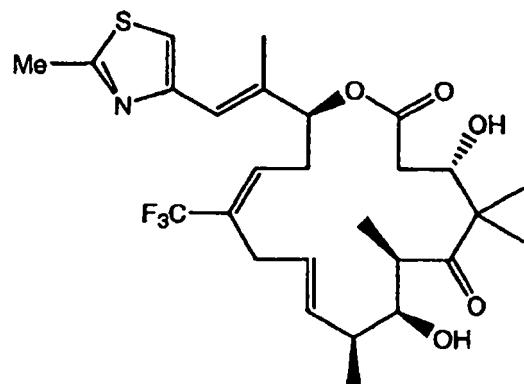
55

60

65

16. Un compuesto aislado como se reivindica en la reivindicación 15.

17. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1 de fórmula:



18. Un compuesto aislado como se reivindica en la reivindicación 17.

20 19. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

25 20. La composición farmacéutica de la reivindicación 19 que comprende además CREMOPHOR.

21. La composición farmacéutica de la reivindicación 19 o la reivindicación 20 que comprende además del etanol.

22. Un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 o una composición farmacéutica como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21 para utilizar en un medicamento.

30 23. Un compuesto o una composición farmacéutica como se reivindica en la reivindicación 22 para utilizar en la prevención y/o el tratamiento del cáncer.

35 24. Uso de un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento del cáncer.

25 25. El uso como se reivindica en la reivindicación 24 para la inhibición del crecimiento de un tumor y/o la metástasis del tumor.

40 26. El uso como se reivindica en la reivindicación 24 o 25 para tratar el cáncer que comprende células cancerígenas con resistencia a multifármacos.

45

50

55

60

65

Valores IC₅₀ para los nuevos Epotilones contra el crecimiento celular
CCRF-CEM

Compound	IC ₅₀ (μM) for		
	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol
<u>dEpoB (EpoD)</u>	<u>0.0036±0.0002</u>	<u>0.016±0.003 (1.3x)</u>	<u>0.0046±0.0002 (1.3x)</u>
<u>dEpoF</u>	<u>0.0013±0.0001</u>	<u>0.0456 (p0.4x)</u>	<u>0.0035 (1.3x)</u>
<u>EpoB</u>	<u>0.00062±0.00013</u>	<u>0.0037±0.0011 (1.3x)</u>	<u>0.0011±0.0001 (1.3x)</u>
10,11-dihydro-dEpoB (Epo-490)	0.0160	0.078 (1.3x)	0.032 (1.3x)
26-methyl-dEpoB	0.040	0.123 (1.3x)	0.077 (1.3x)
4-des-ene-EpoB	0.00081	0.0078 (1.3x)	0.017 (1.3x)
11-OH (cis)EpoD	0.0029	0.077 (1.3x)	0.0091 (1.3x)
11- <i>a</i> -F-dEpoB	0.0283	0.147 (1.3x)	0.0550 (1.3x)
11- <i>b</i> -F-dEpoB	0.0980	0.230 (1.3x)	0.138 (1.3x)
19-oxazole EpoD	0.0054	0.045 (1.3x)	0.0017 (1.3x)
19-oxazole EpoB	0.00034	0.0057 (1.3x)	0.0057 (1.3x)
19-oxazole-Epo490	0.0077	0.0227 (1.3x)	0.0130 (1.3x)
<u>9,10-deH-[16]dEpoB, (Iso-490)</u>	<u>0.0009±0.0004</u>	<u>0.0042±0.0022 (1.3x)</u>	<u>0.0012±0.0006 (1.3x)</u>
Iso-490-dEpoF	0.00051±0.00009	0.0106 (1.3x)	0.00073 (1.3x)
<u>Iso-490-EpoB</u>	<u>0.00023±0.00002</u>	<u>0.00032 (1.3x)</u>	<u>0.00042 (1.3x)</u>
12,13-epi-Iso-490-EpoB	0.0134±0.0032	0.0959 (1.3x)	0.0802 (1.3x)
12,13-epi-EpoB	0.0830±0.0001	0.4519 (1.3x)	0.1507 (1.3x)
Iso-490-dEpo-Ms-ketone	5.02	---	---
<u>26-F,9,10-deH-[16]dEpoB</u>	0.0035	0.0210 (1.3x)	0.0057 (1.3x)
26-F-dEpoB	0.0041	0.080 (1.3x)	0.018 (1.3x)
Taxol	0.0016±0.0005	2.30 (1.3x)	0.058±0.001 (1.3x)
Vinblastine	0.00043	0.418±0.076 (1.3x)	0.026±0.008 (1.3x)

FIG. 1

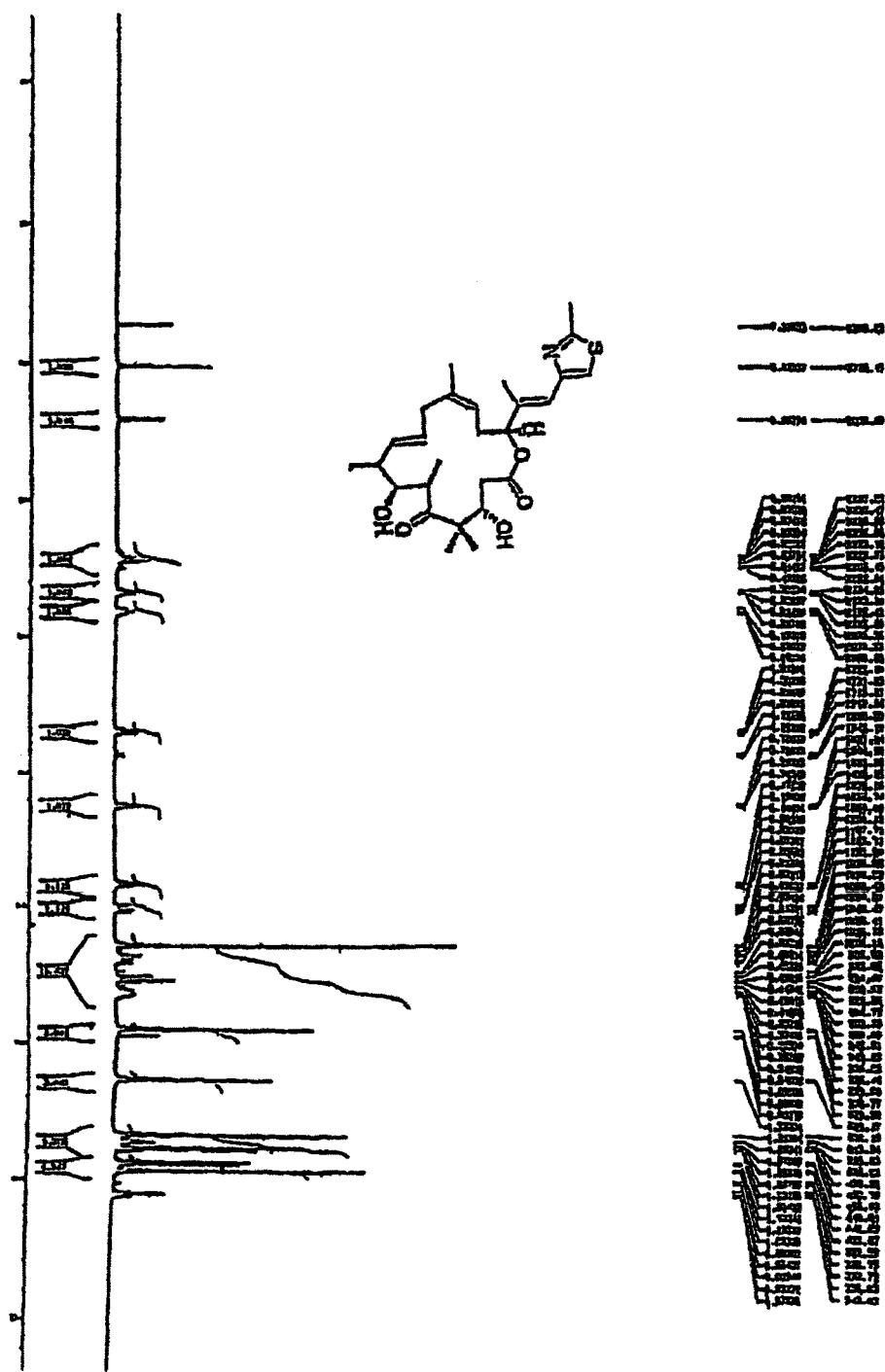


FIG. 2

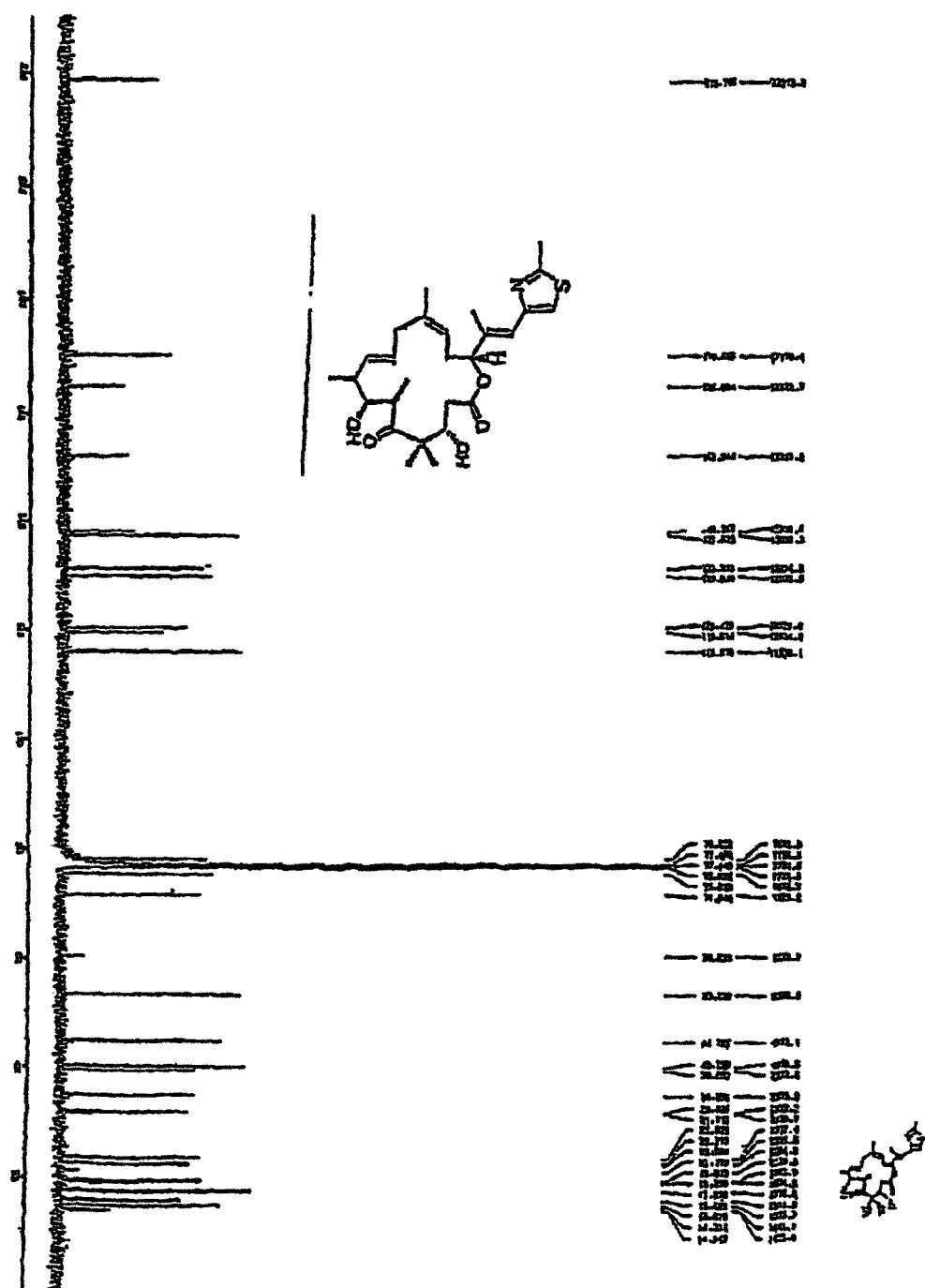


FIG. 3

Síntesis de los 14-R Epotilones – Estrategia de metátesis de cierre del anillo de olefina

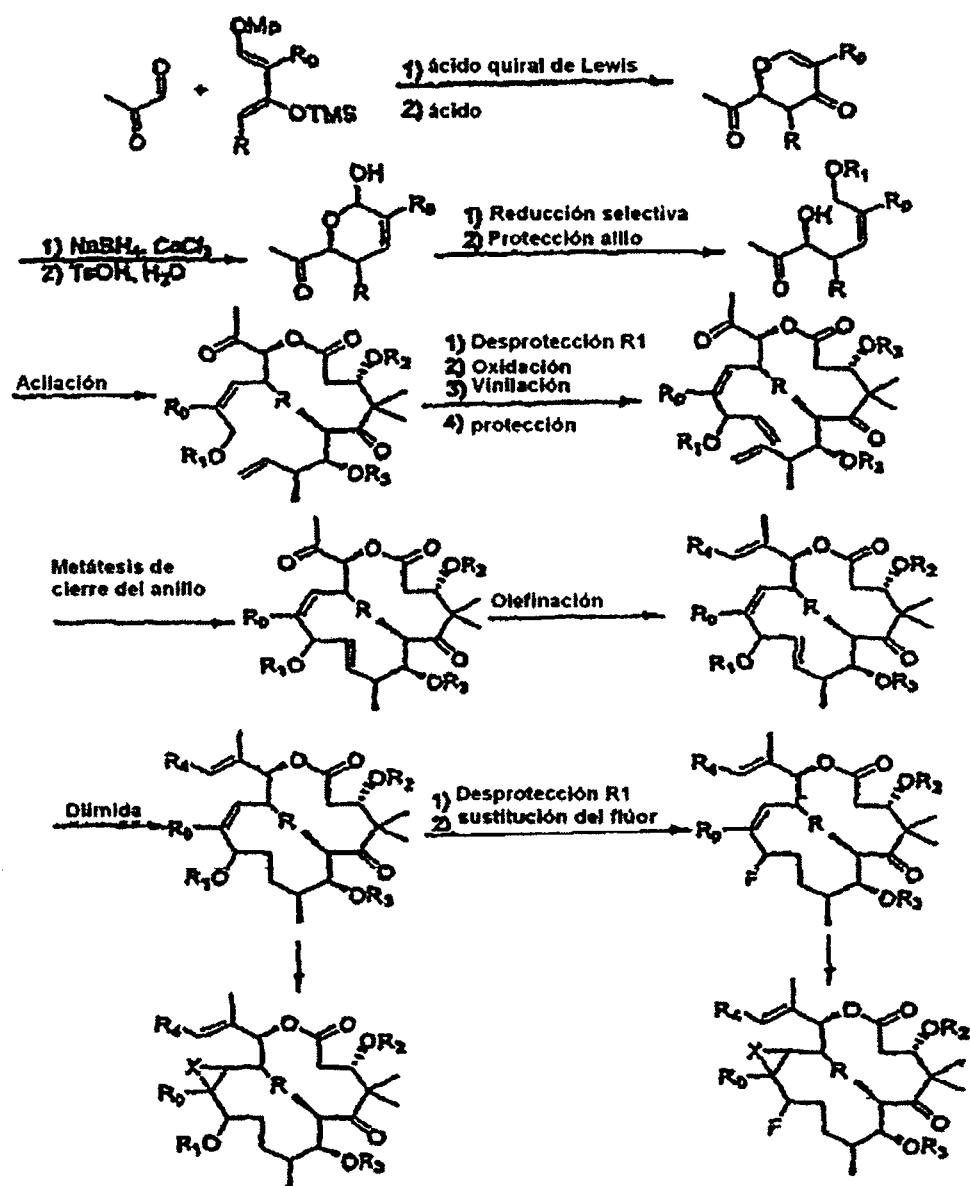


FIG. 4

**CITOTOXICIDAD RELATIVA DE LOS EPOTILONES CONTRA
CÉLULAS LEUCÉMICAS HUMANAS *in Vitro***

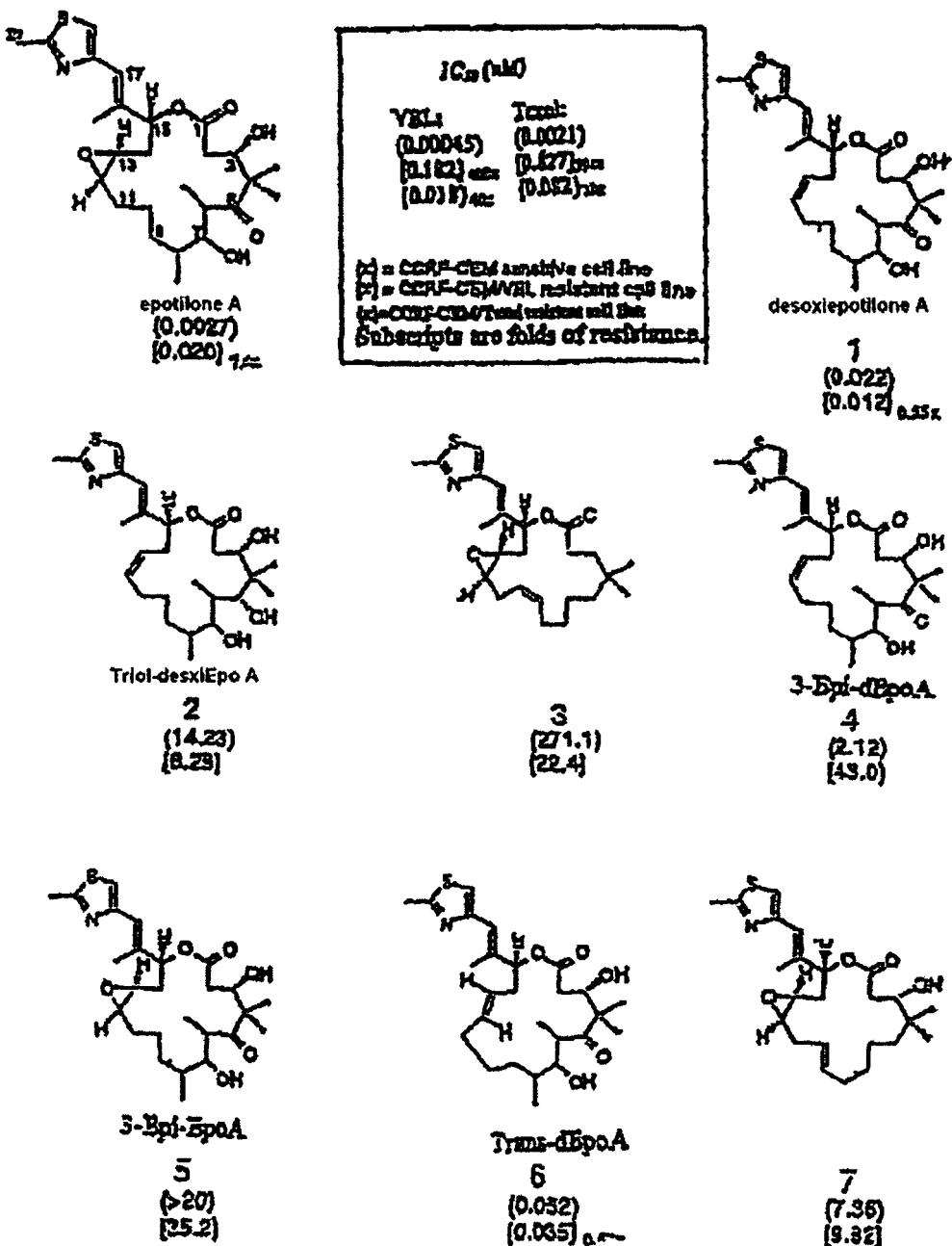


FIG. 5A

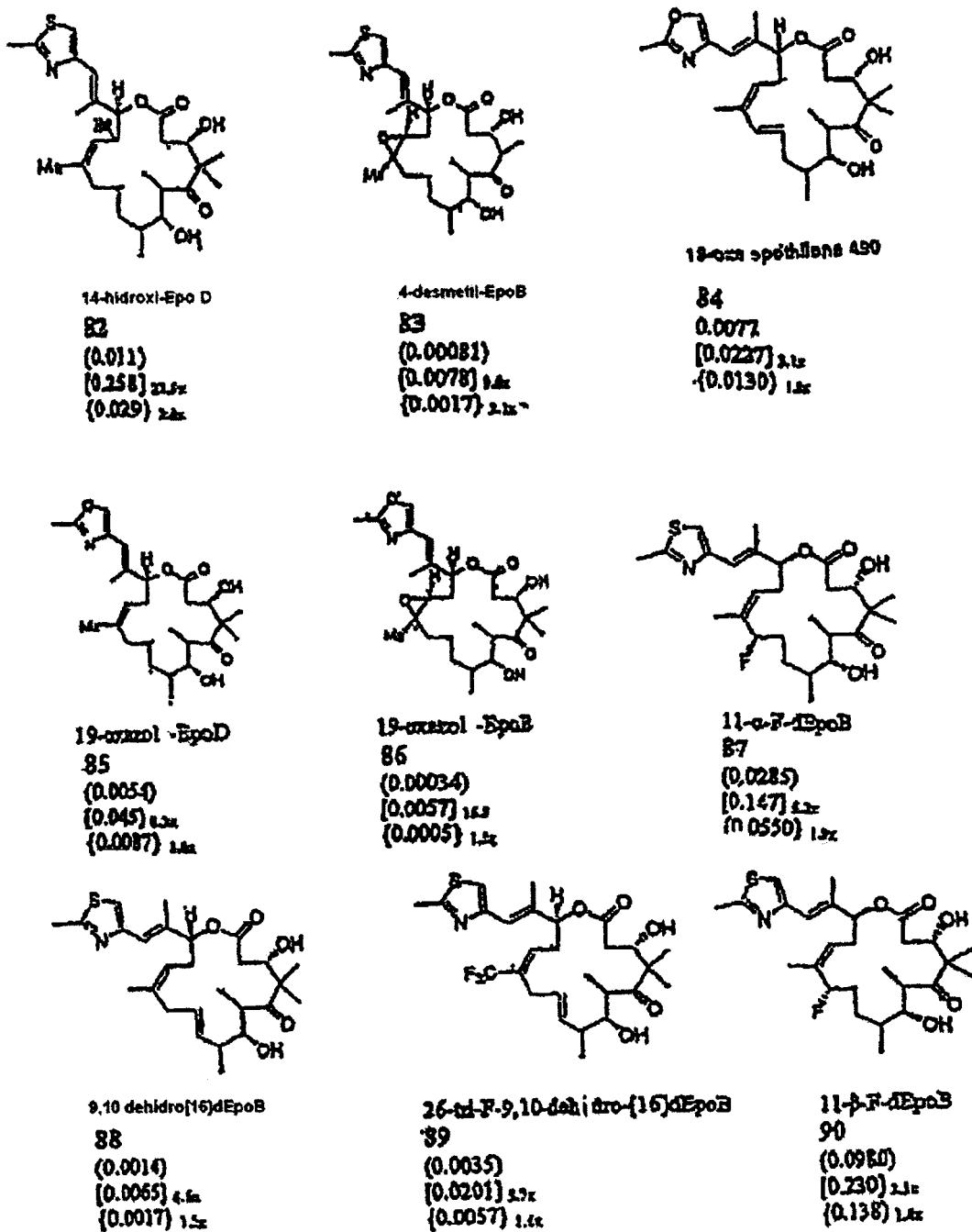
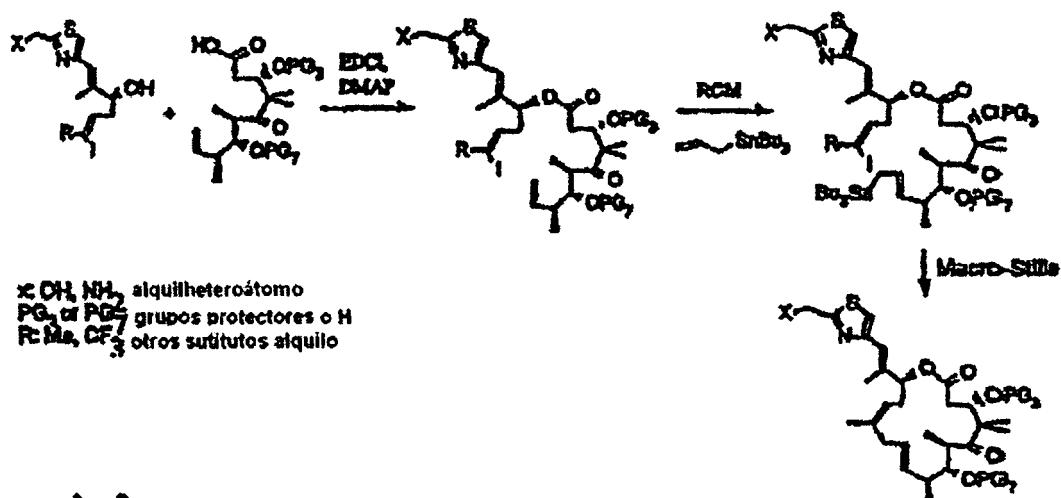


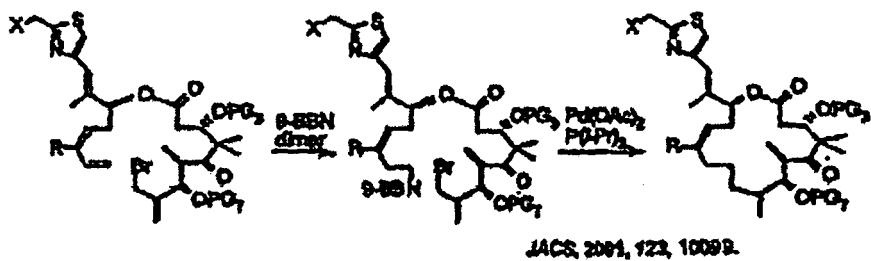
FIG. 5B

Estrategias Alternativas para la Síntesis del 9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB:

1. Estrategia Macro-Stille



2. sp³-sp³ estrategia de acoplamiento



3. Acoplamiento β Suzuki

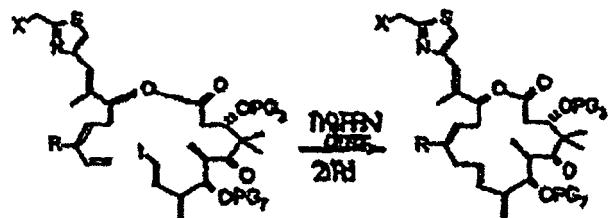
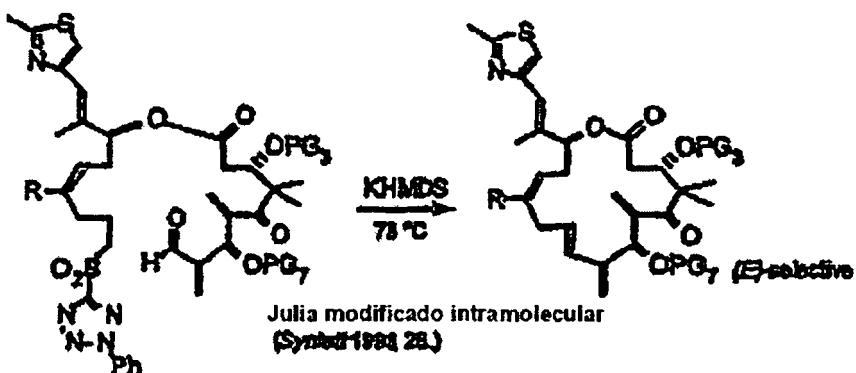
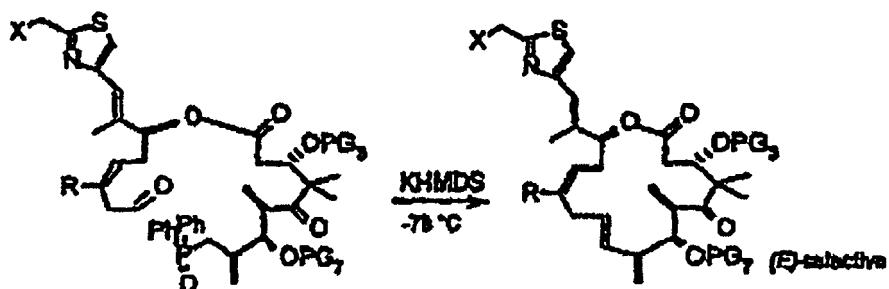


FIG. 6 A

4. Estrategia olefinación Julia



5. Estrategia Wadsworth-Emmons



6. Estrategia Macro-Reformatski

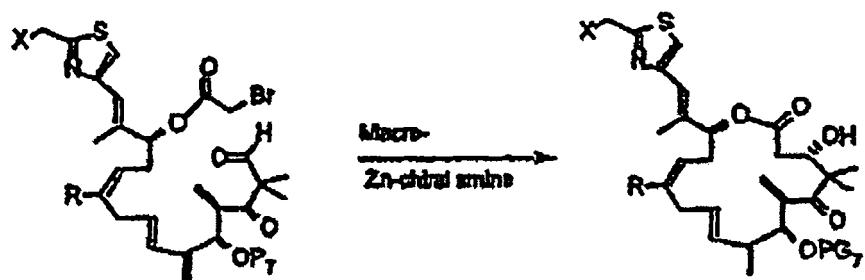


FIG. 6 B

7 Estrategia de acoplamiento McMurry

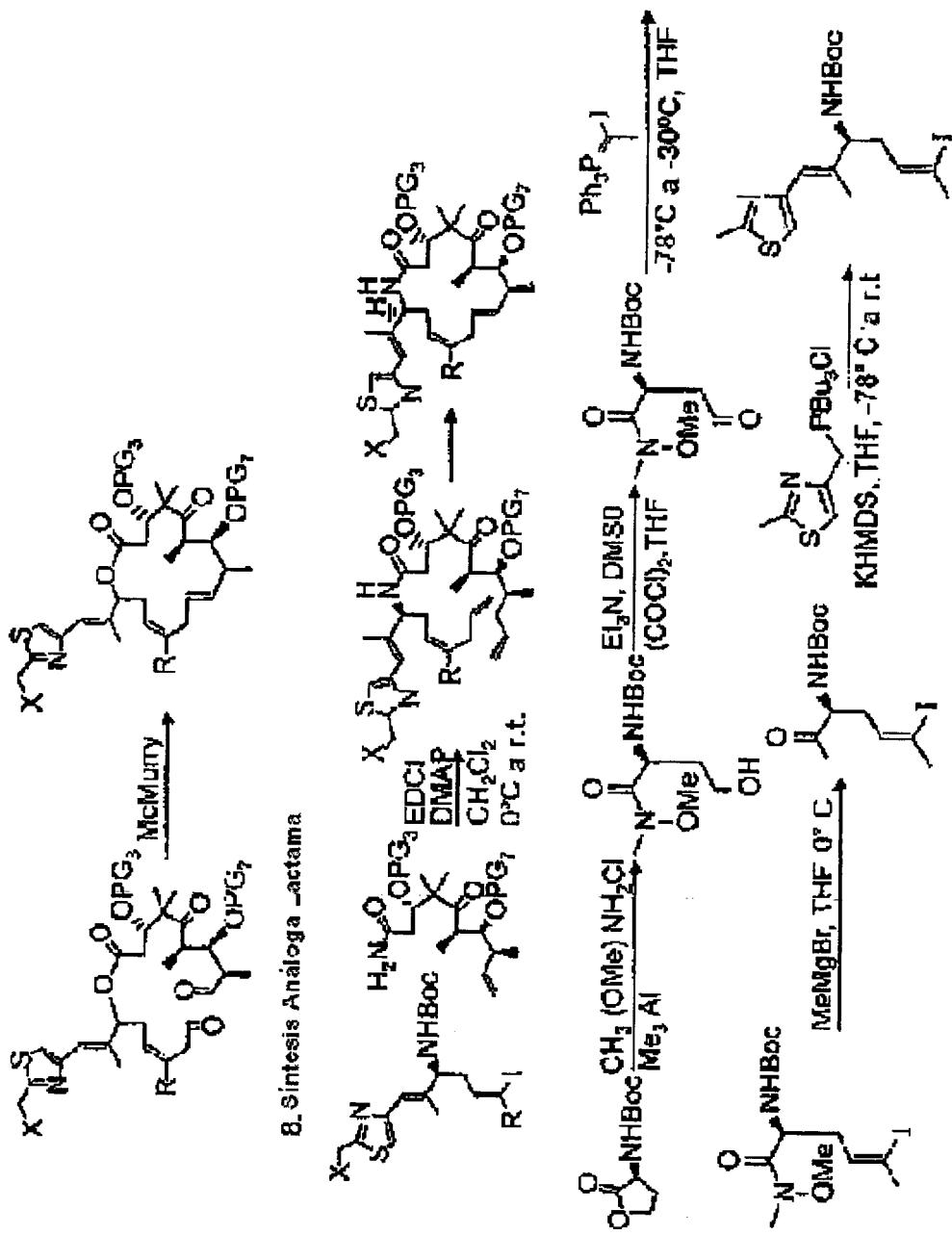


FIG. 6C

Análogos del 9,10-dehidro-12,13-dosoxiEpoB:

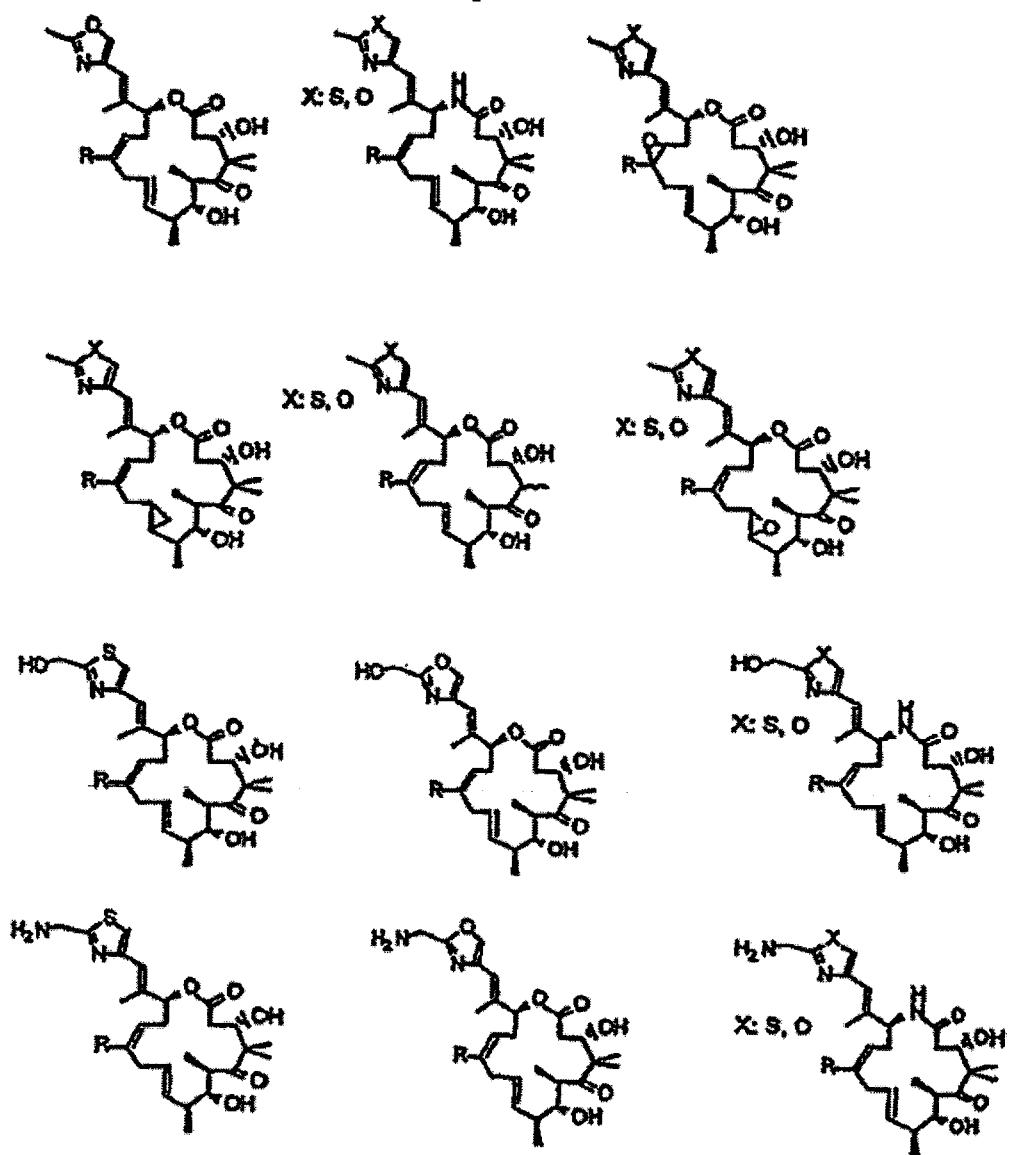
R: Metil, CF₃, otros sustituyentes alquilo

FIG. 7

Efecto terapéutico del **9,10-deH-dEpoB (#88)** y el **EpoB (#10)** en ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano (infusión i.v., Q2Dx3)

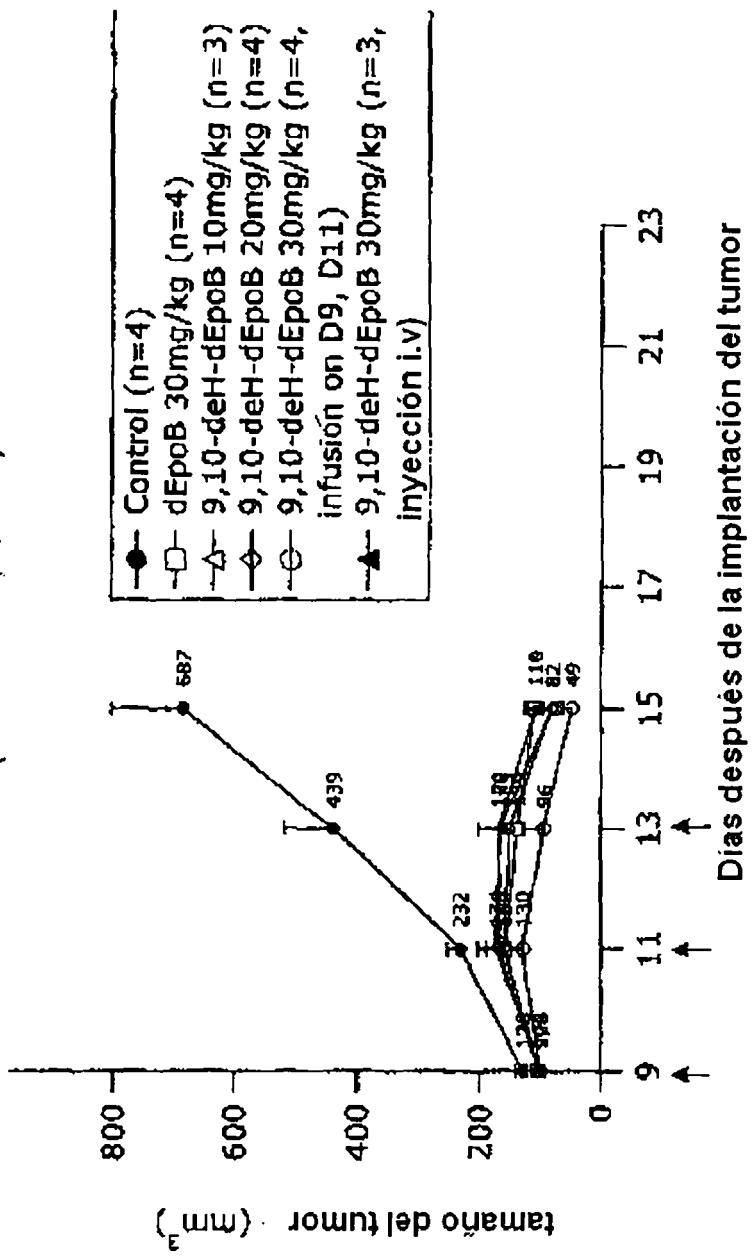


FIG. 8

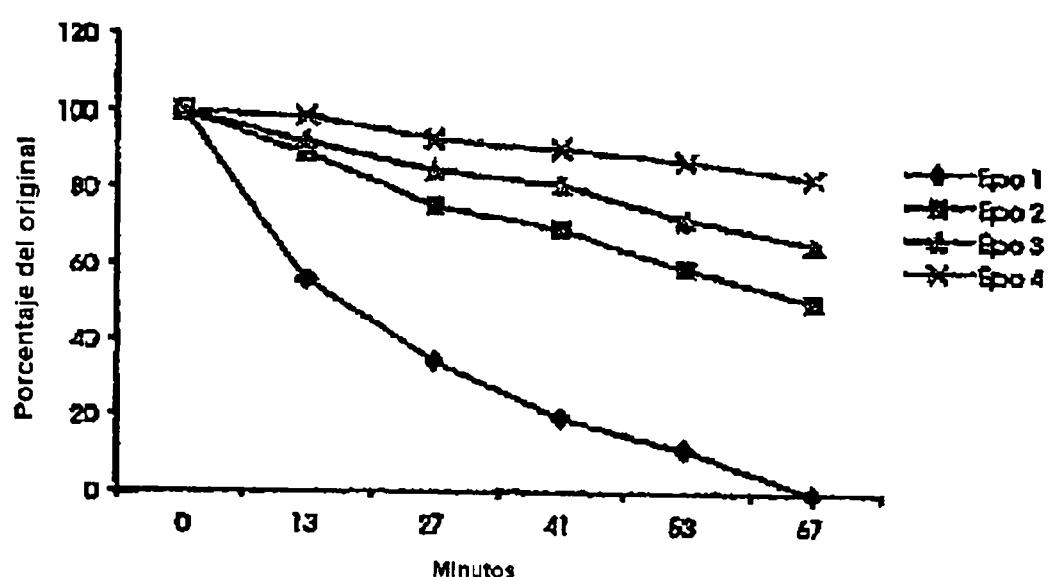


FIG. 9

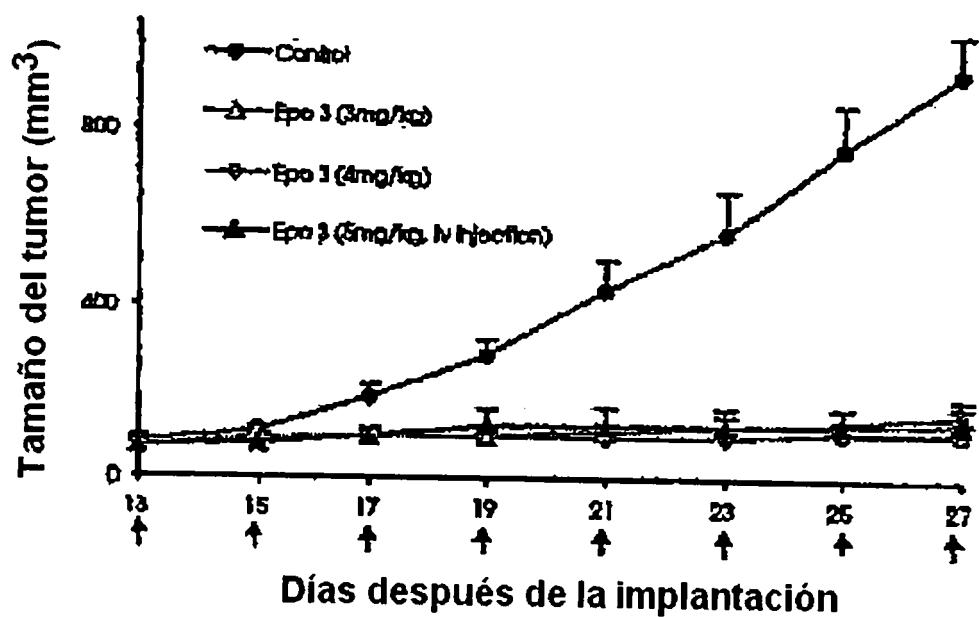


FIG. 10

Potencia de los epotilones contra el crecimiento celular del tumor *in vitro* y el índice terapéutico relativo

Compuesto	IC ₅₀ (μM) para					Índice terapéutico relativo contra xenografts en ratón en MTD %	
	Sublineras de Leucemia Linfoblástica célula-T humana		Carcinoma pulmonar humano A549	Carcinoma colon humano -HCT-116			
	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL					
dEpoB	0.0036 ±0.0028	0.016 ±0.003 (p>0.1)	0.0085 ±0.0035 (p>0.1)	0.0039 ±0.0004	0.0068 ±0.0032	++++	
dEpoF	0.0013 ±0.0001	0.055 ±0.09 (p<0.05)	0.0066 ±0.0031 (p>0.1)	0.012 ±0.004	0.0034 ±0.0006	++++	
EpoB	0.00053 ±0.00017	0.0032 ±0.0012 (p>0.1)	0.0011 ±0.00008 (p>0.1)	0.0008 ±0.0005	0.00018 ±0.00001	+++	
As ³⁵ -Aza-EpoB	0.0024 ±0.0003	2.08 (p<0.01) ±0.92 (p>0.1)	0.103 ±0.069 (p>0.1)	0.0040 ±0.0035	0.0014 ±0.0009	++	
7 ¹⁰ -dCH-dEpoB	0.0009 ±0.0004	0.0042 ±0.0022 (p>0.1)	0.0012 ±0.0006 (p>0.1)	0.00089 ±0.00064	0.00094 ±0.00055	++++	
7 ¹⁰ -dCH-dEpoF	0.00051 ±0.00009	0.021 ±0.010 (p>0.1)	0.0017 ±0.0010 (p>0.1)	0.00091 ±0.00066	0.00056 ±0.00006	+++	
7 ¹⁰ -dCH-EpoB	0.00023 ±0.00002	0.00096 ±0.00064 (p>0.1)	0.00041 ±0.00001 (p>0.1)	0.00026 ±0.00004	0.00014 ±0.00001	++++	
2 ¹⁴ -F ₃ -dCH-dEpoB	0.0032 ±0.0003	0.023 ±0.002 (p>0.1)	0.0047 ±0.0010 (p>0.1)	0.0037 ±0.0024	0.0056 ±0.0010	+++++	
2 ¹⁴ -F ₃ -dEpoB	0.0093 ±0.0057	0.083 ±0.005 (p>0.1)	0.018 ±0.001 (p>0.1)	0.015 ±0.004	0.012 ±0.001	ND ^a	
Paclitaxel	0.0018 ±0.0005	3.22 ±0.92 (p<0.01)	0.079 ±0.029 (p>0.1)	0.0029 ±0.0003	0.0026 ±0.0009	++++	
Vinblastine	0.00034 ±0.00009	0.389 ±0.074 (p>0.1)	0.0196 ±0.0111 (p>0.1)	0.0099 ±0.0018	0.0087 ±0.0007	++++	

FIG. 11

Tabla 2. Efecto terapéutico del **dl-Top B**, **Paclitaxel** y **F₁-deH-dTopB** contra cáncer epitelial de ratones dosis en términos de dosis, período recuperación del peso corporal y avance del tumor y reinfección

Farmaco	Dosisificación (mg/kg)	Cambios de peso corporal (%)		Libre del tumor después Q7Dx6	Reaparición del tumor en el 70 días después
		En el día 4 después de detener la administración	En el día 8 después de detener la administración		
dl-TopB	30	-25.3 ± 2.1	-21.1 ± 4.1	10/10	5/10
Paclitaxel	30	-23.9 ± 3.7	-8.7 ± 0.7	7/7	3/7
F ₁ -deH-dTopB	20	-22.4 ± 0.6	-23.3 ± 0.7	4/4	0/4
	30	-27.1 ± 2.7	-17.4 ± 5.5	6/6	0/4

FIG. 12

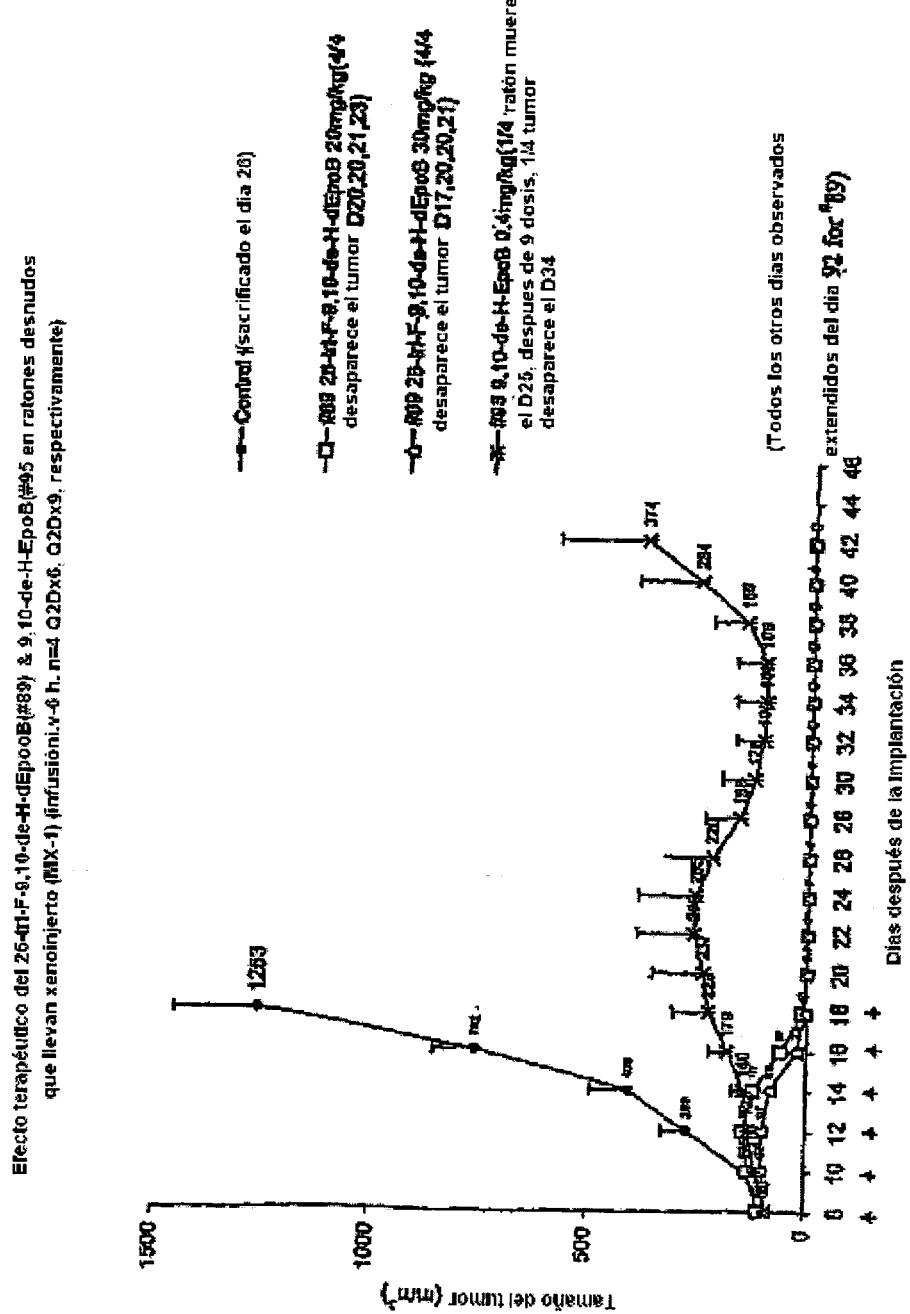


FIG. 13

Cambios de peso corporal de ratones desnutridos que llevan xenotransplante MX-1 de carcinoma mamario humano
que siguen el tratamiento con 28-tri-F-9,10-de-H-dEpoB (#89) & 9,10-de-H-dEpoB (#95) (Infusión iv 6 h. , n=4, Q2Dx6
& Q2Dx9, respectivamente)

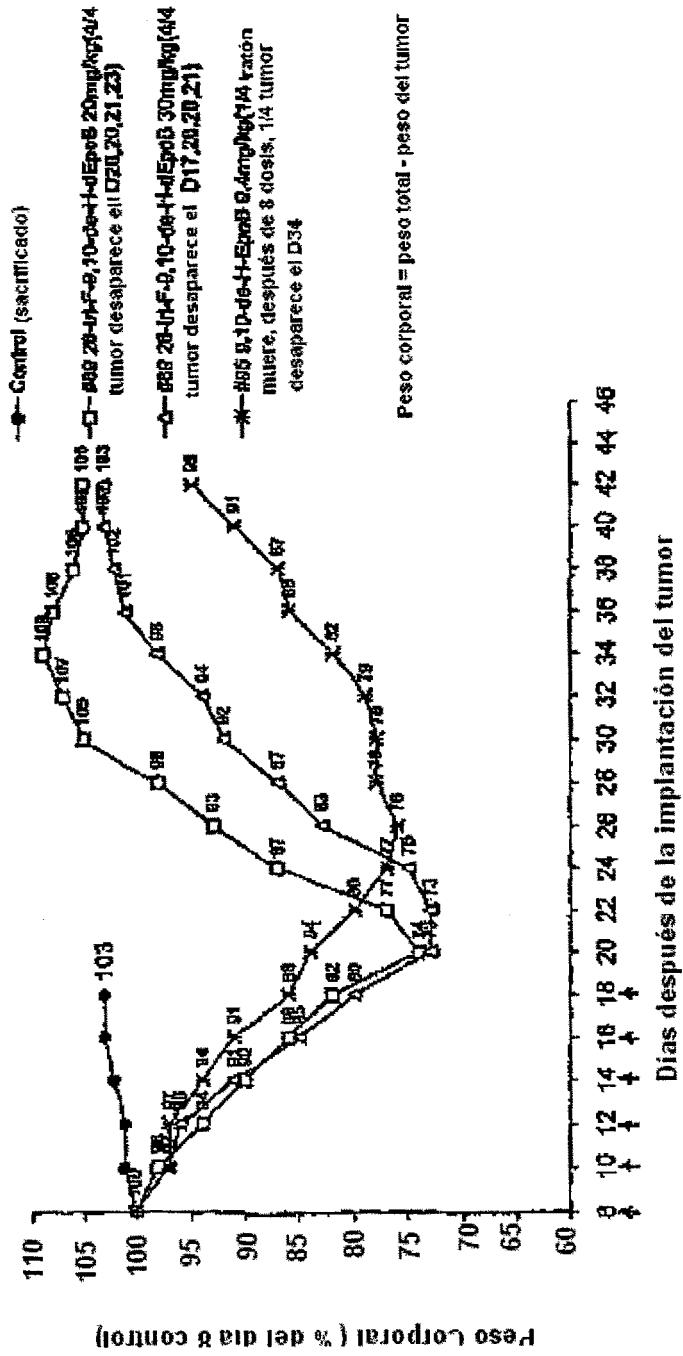


FIG. 14

Efecto terapéutico de 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB(#89) & 9,10-de-H-EpoB(#95)
en ratones desnudos que llevan xenoinjerto (MX-1) (infusión iv 6 h, n=4,
Q2Dx6 & Q2Dx9, respectivamente

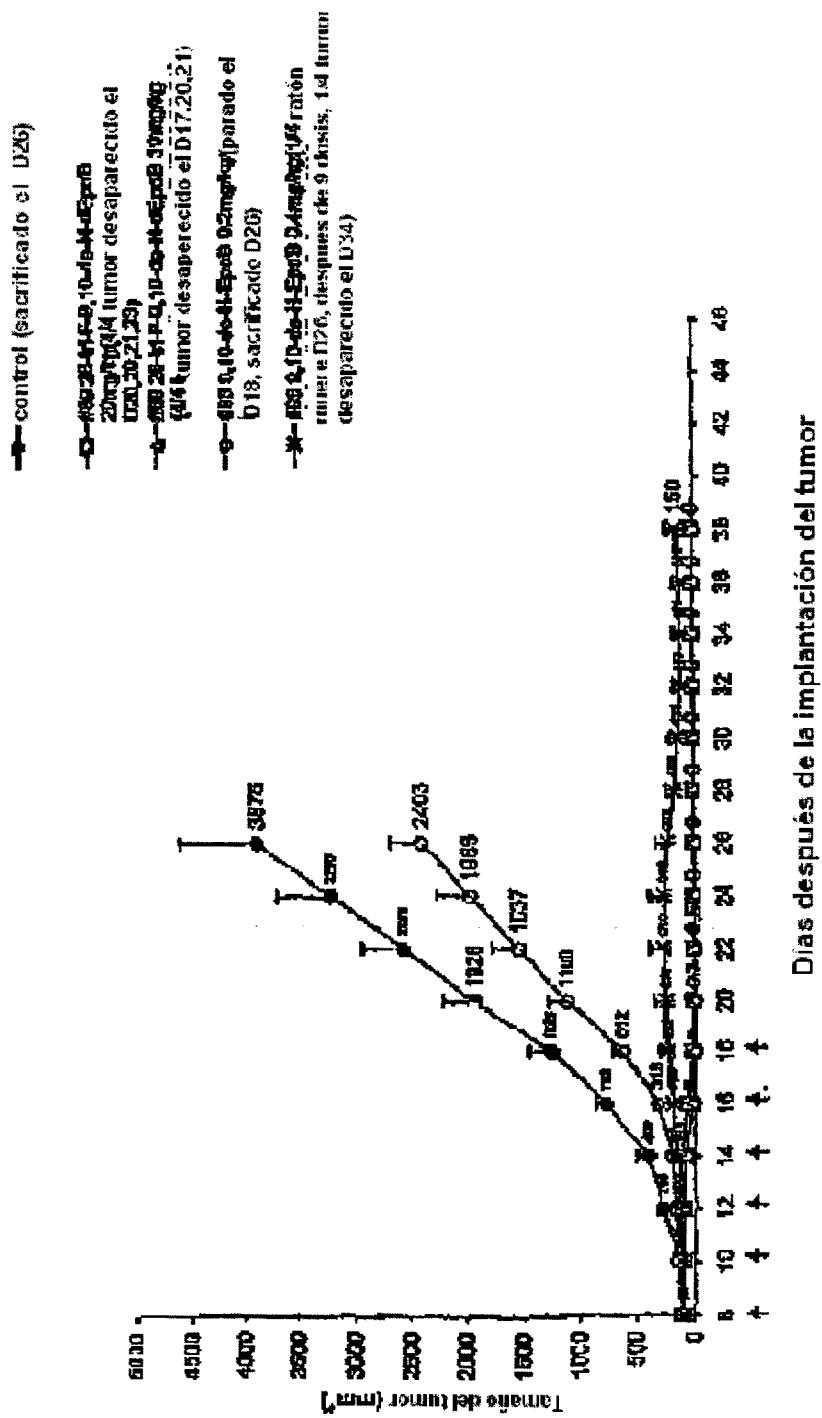


FIG. 15

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinyecto MX-1 de tumor de carcinoma mamario humano que siguen el tratamiento con 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB (# 89) & 9,10-de-H-dEpoB (infusión i.v. 6 h., n=4, Q2Dx6 & Q2Dx3 respectivamente)

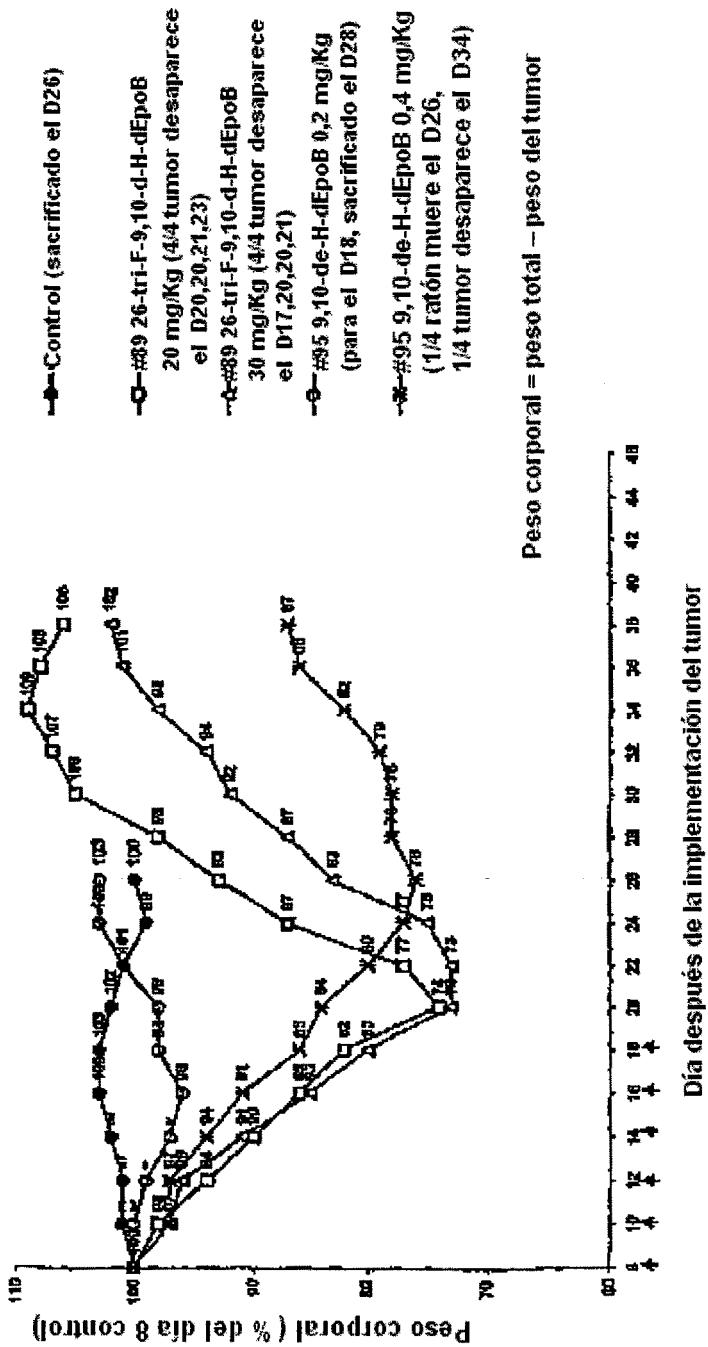


FIG. 16

Efecto terapéutico del 9,10-deH-dEpoB(#88) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto (HCT-116)de carcinoma de colon humano (infusión i.v., Q2Dx7, n=3)

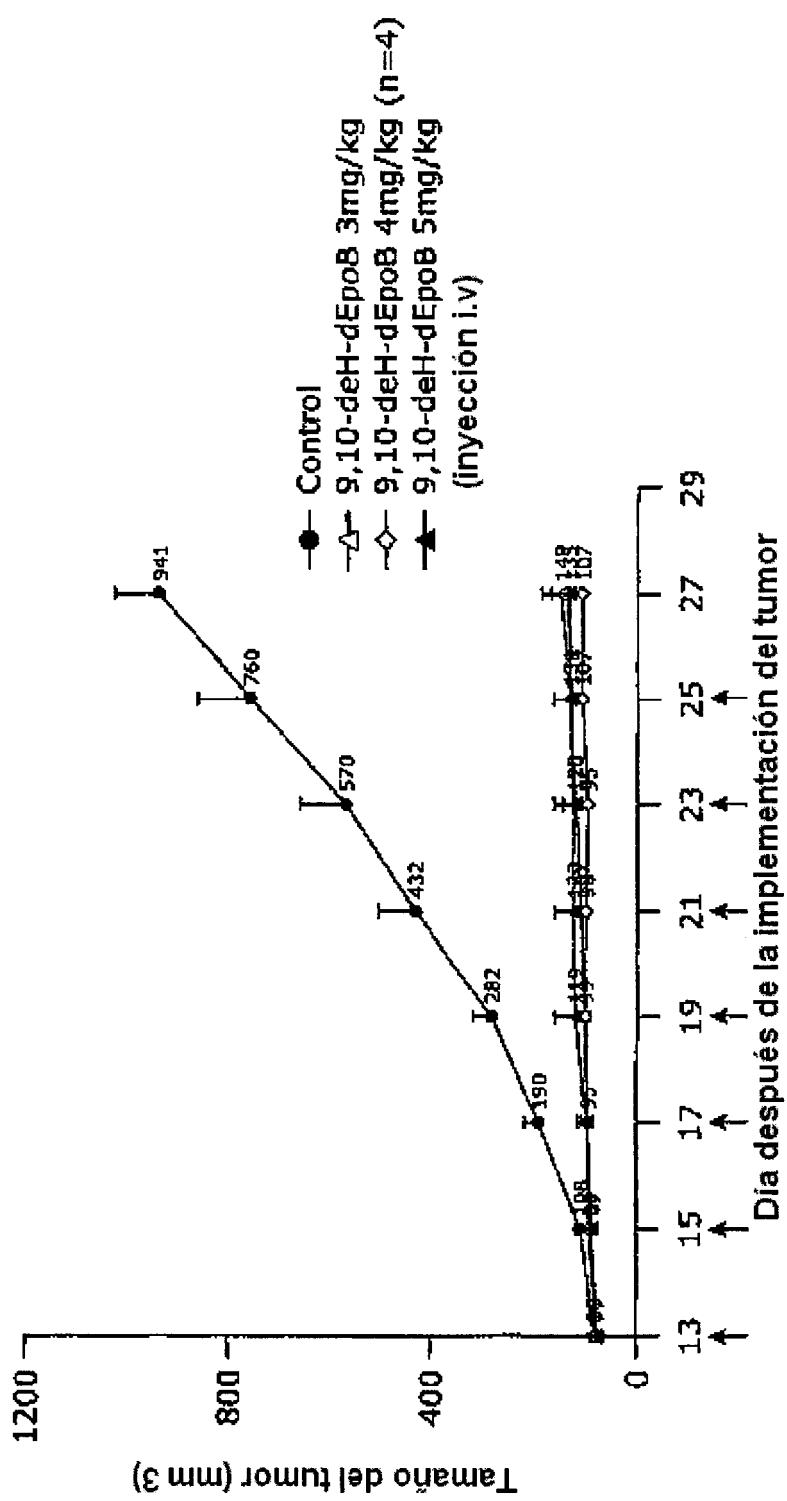


FIG. 17

Efecto terapéutico del 9,10-deH-dEpoB (#88) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto (HCT-116) de carcinoma de colon humano (infusión i.v., Q3Dx5, n=3)

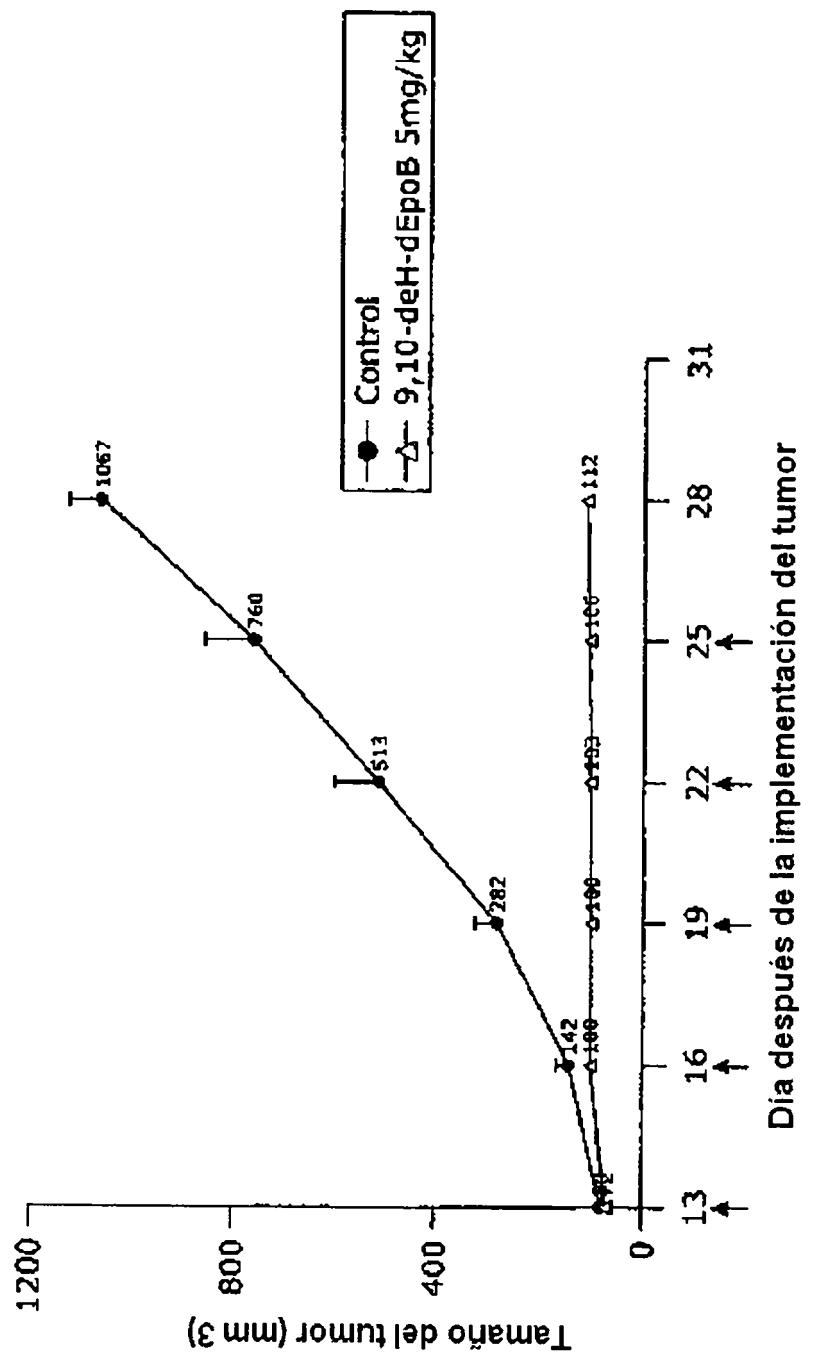


FIG. 18

Efecto terapéutico del 9,10-de-H-dEpoB (#88) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto A549/Taxol (infusión i.v. 6 h., Q3Dx7, n=4)

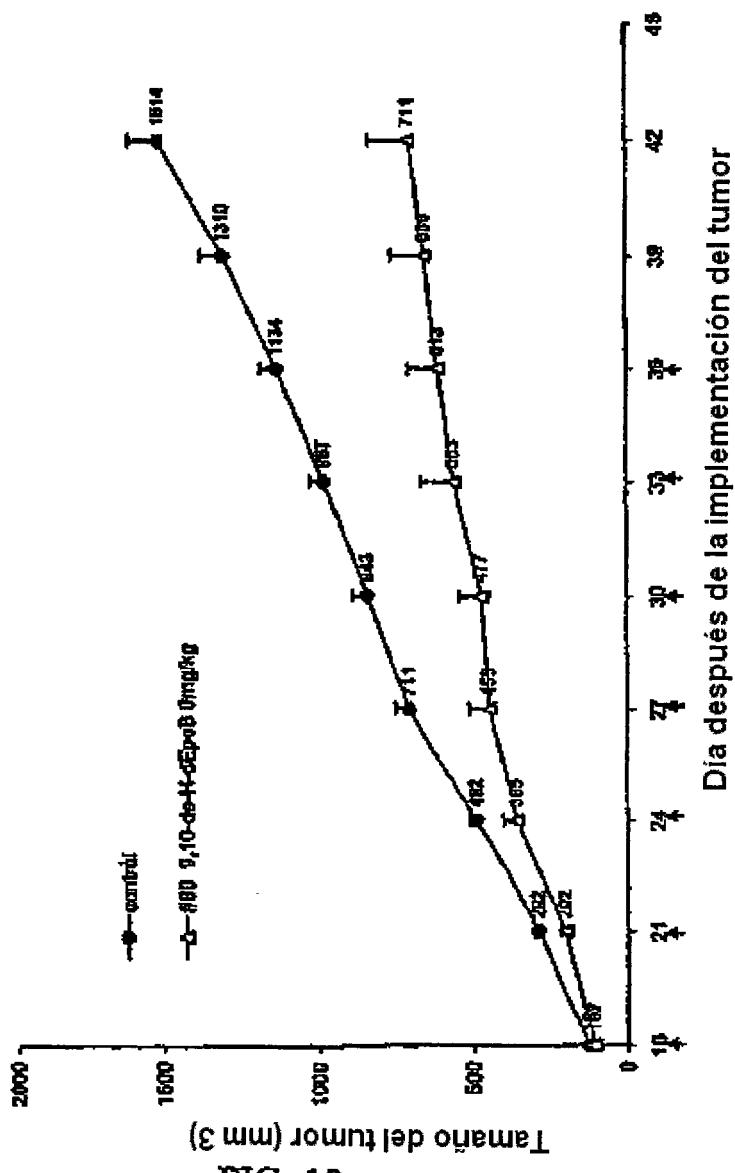


FIG. 19

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto
xenoinjerto A549/Taxol que siguen el tratamiento con
26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB(# 89) & 9,10-de-H-dEpoB (infusión i.v. 6 h.,
n=4, Q3Dx7)

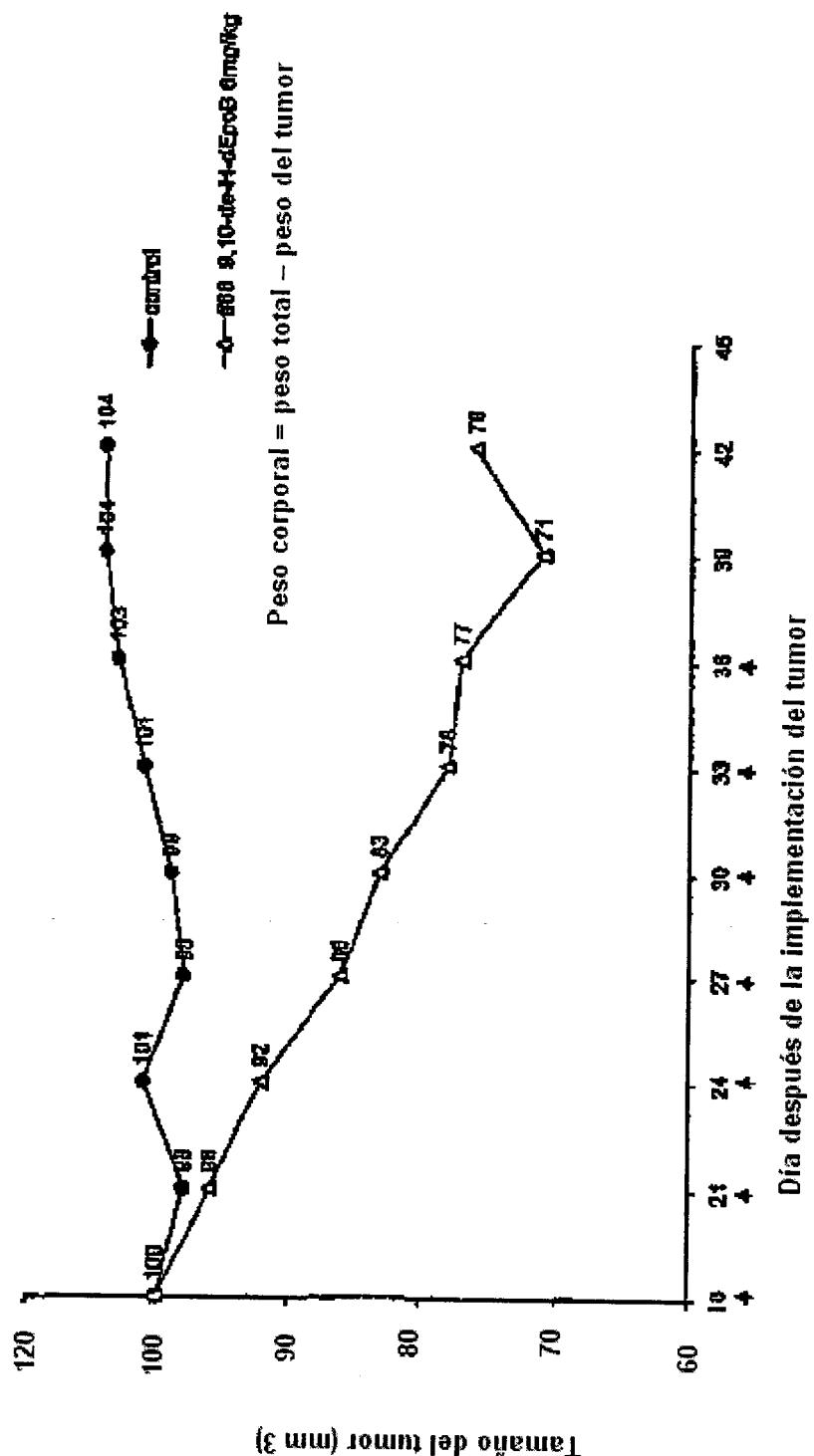


FIG. 20

Efecto terapéutico del 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB (# 89) & 9,10-de-H-dEpoB en ratones desnudos que llevan xenoinjerto (A549/Taxol) de carcinoma pulmonar humano (infusión i.v., 6 h. Q2DX7. n=4)

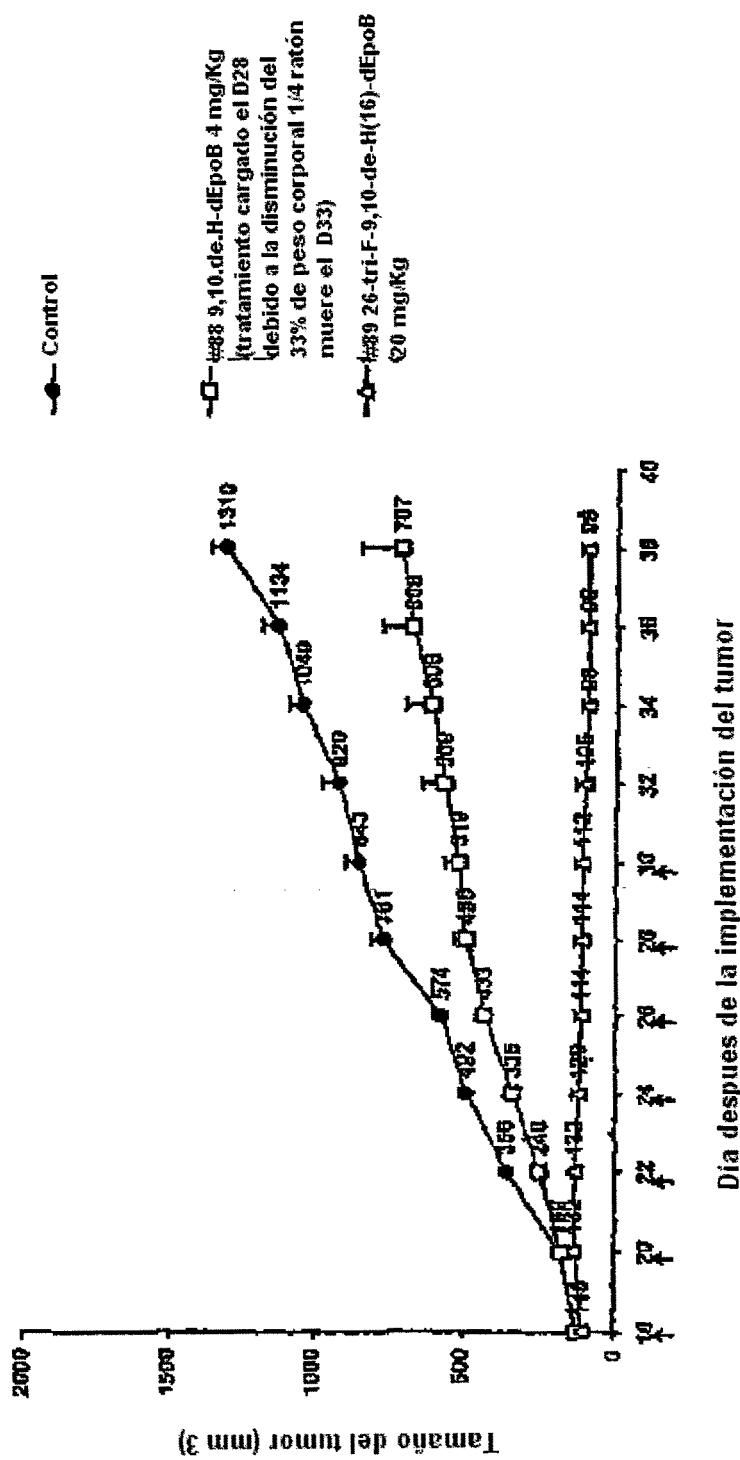
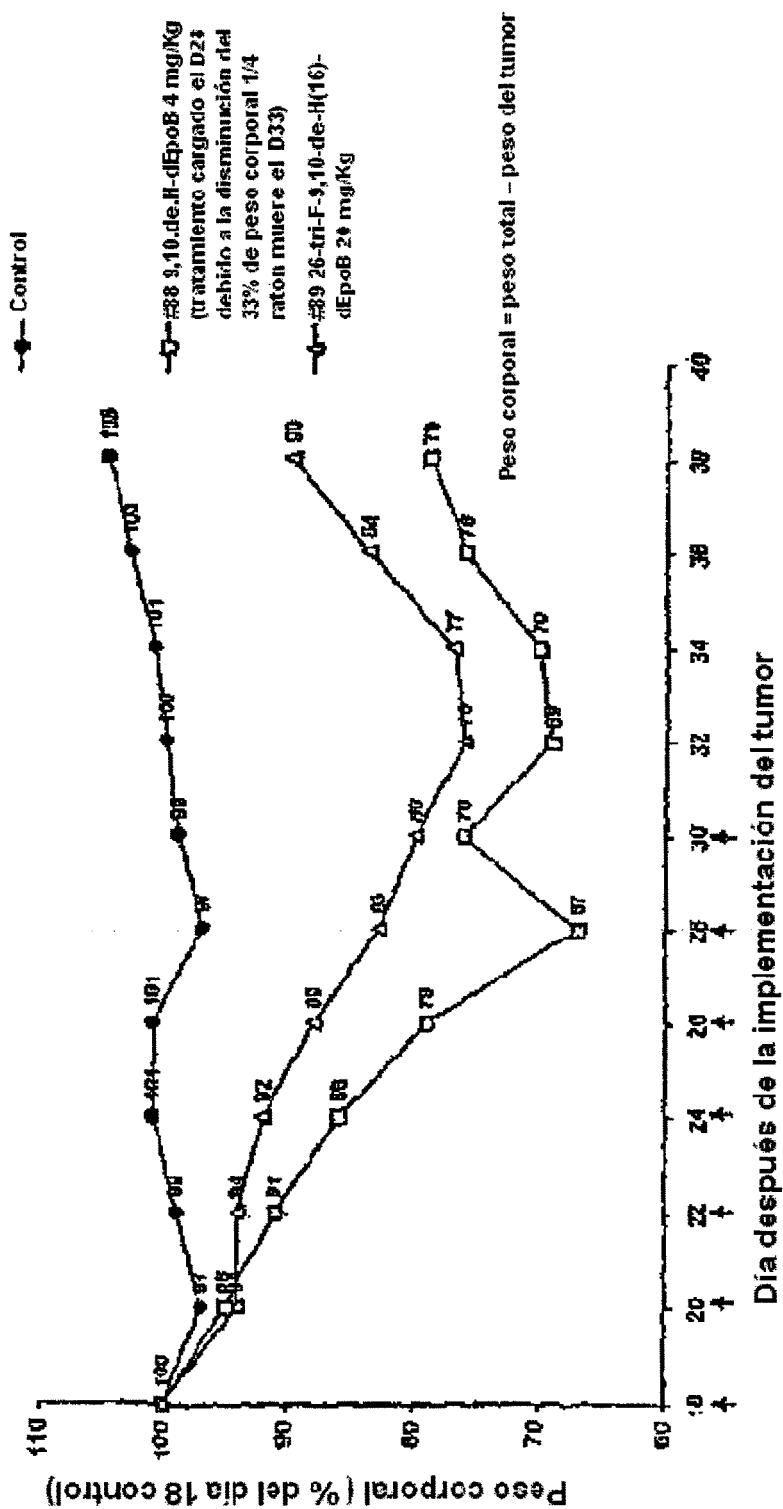


FIG. 21

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto A549/T axol de carcinoma pulmonar humano que siguen el tratamiento con 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB (# 89) & 9,10-de-H-dEpoB (infusión i.v. 6 h., n=4, Q2Dx7)



Efecto terapéutico del 9,10-de-H-EpoF(#95) en ratones desnudos que llevan xenoínjerto HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión i.v.-6 h., n=4)

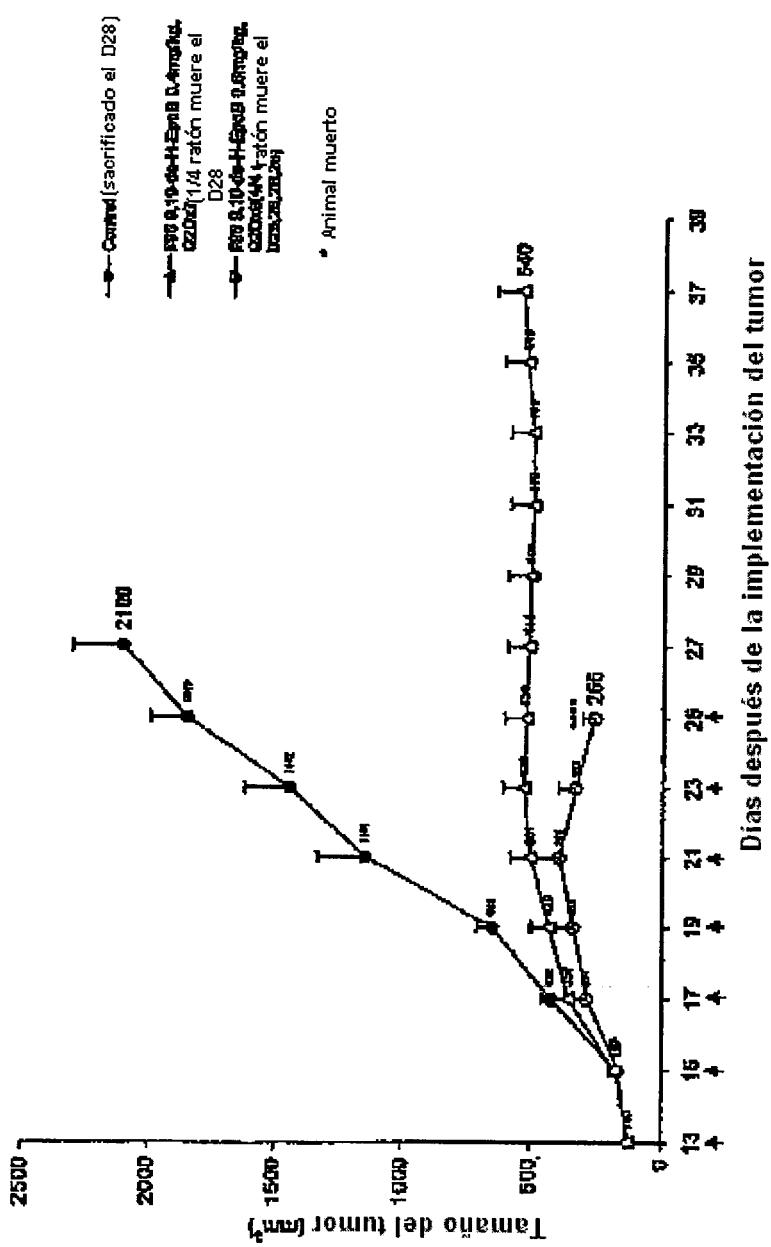


FIG. 23

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto A549/Taxol de tumor HCT-116 de carcinoma de colon humano que siguen el tratamiento con 9,10-de-H-dEpoB(95) (infusión i.v. 6 h., n=4)

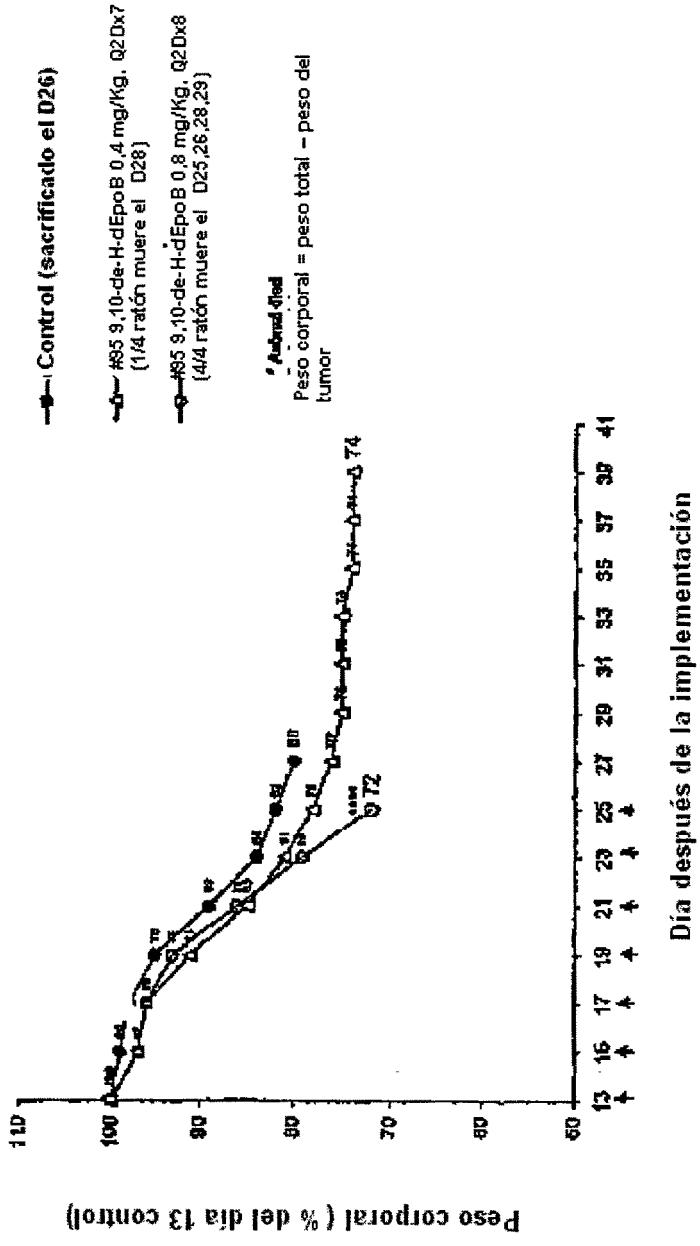


FIG. 24

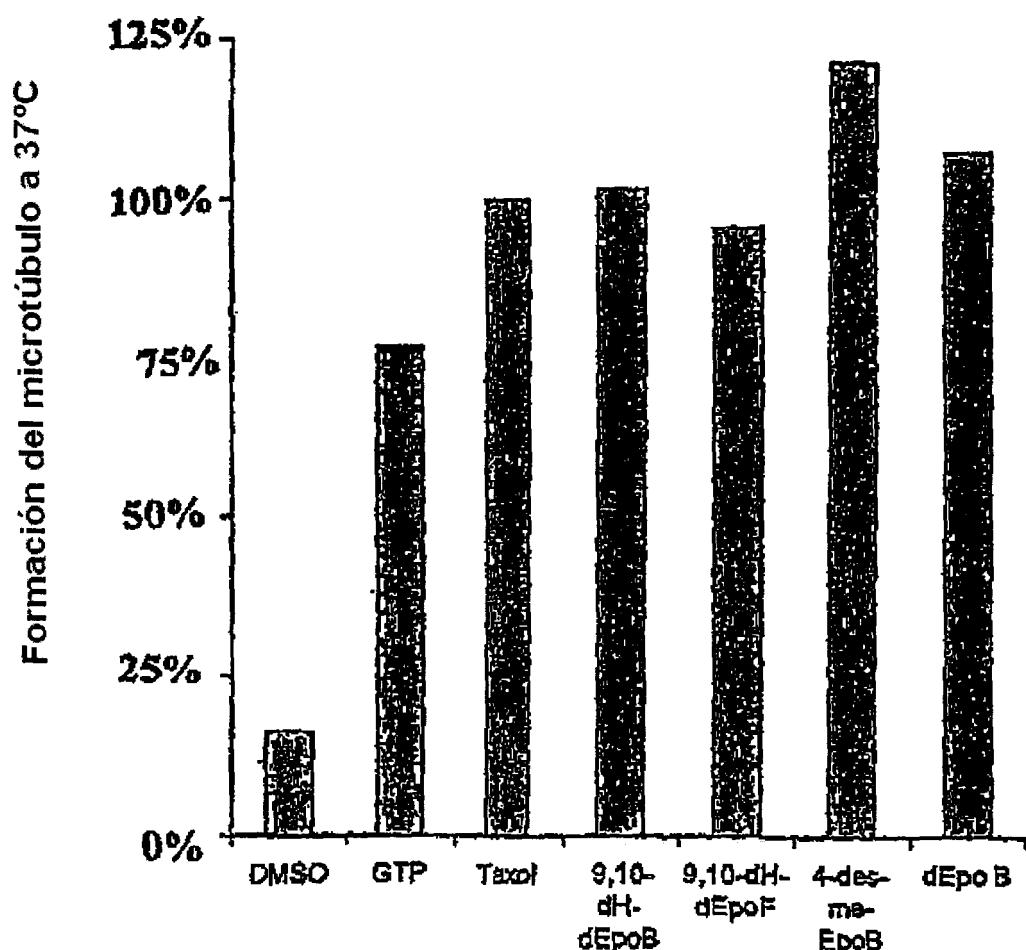


FIG. 25

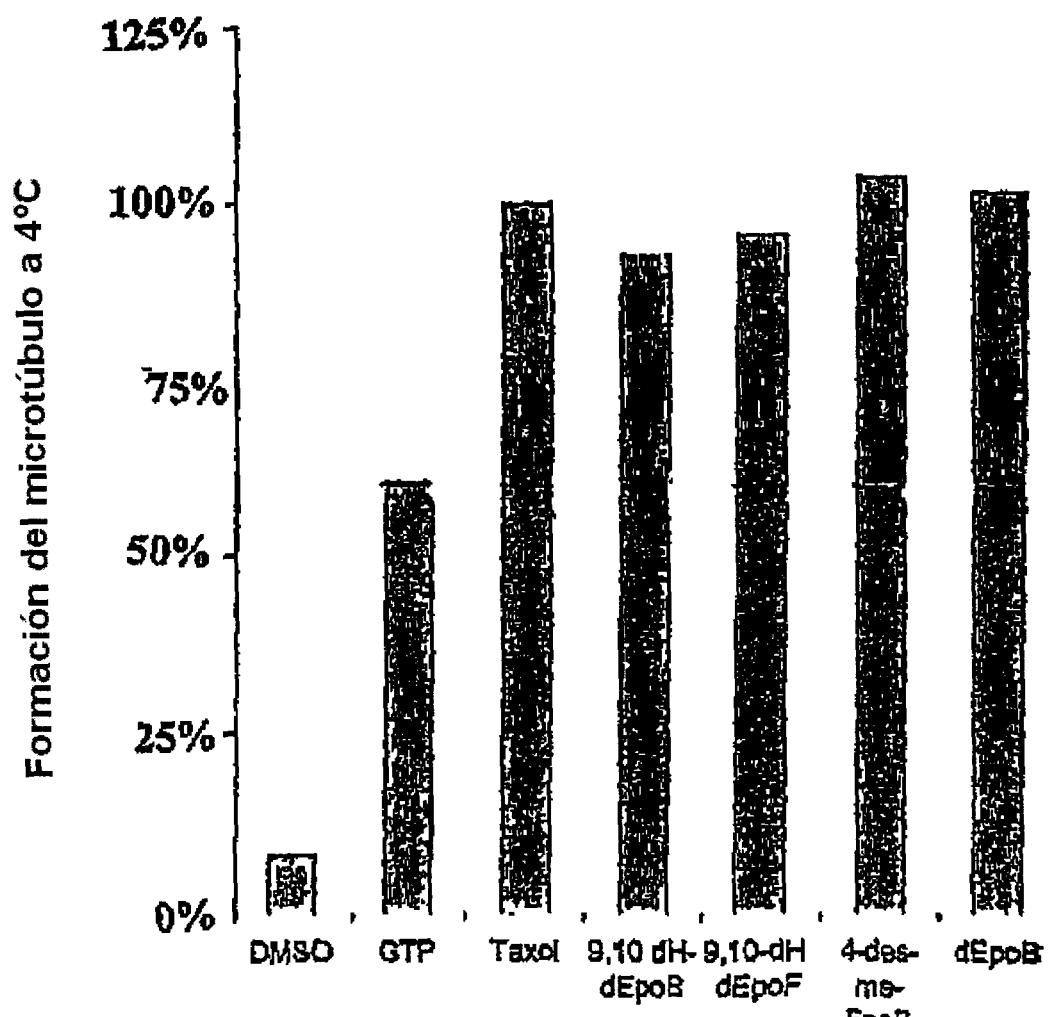
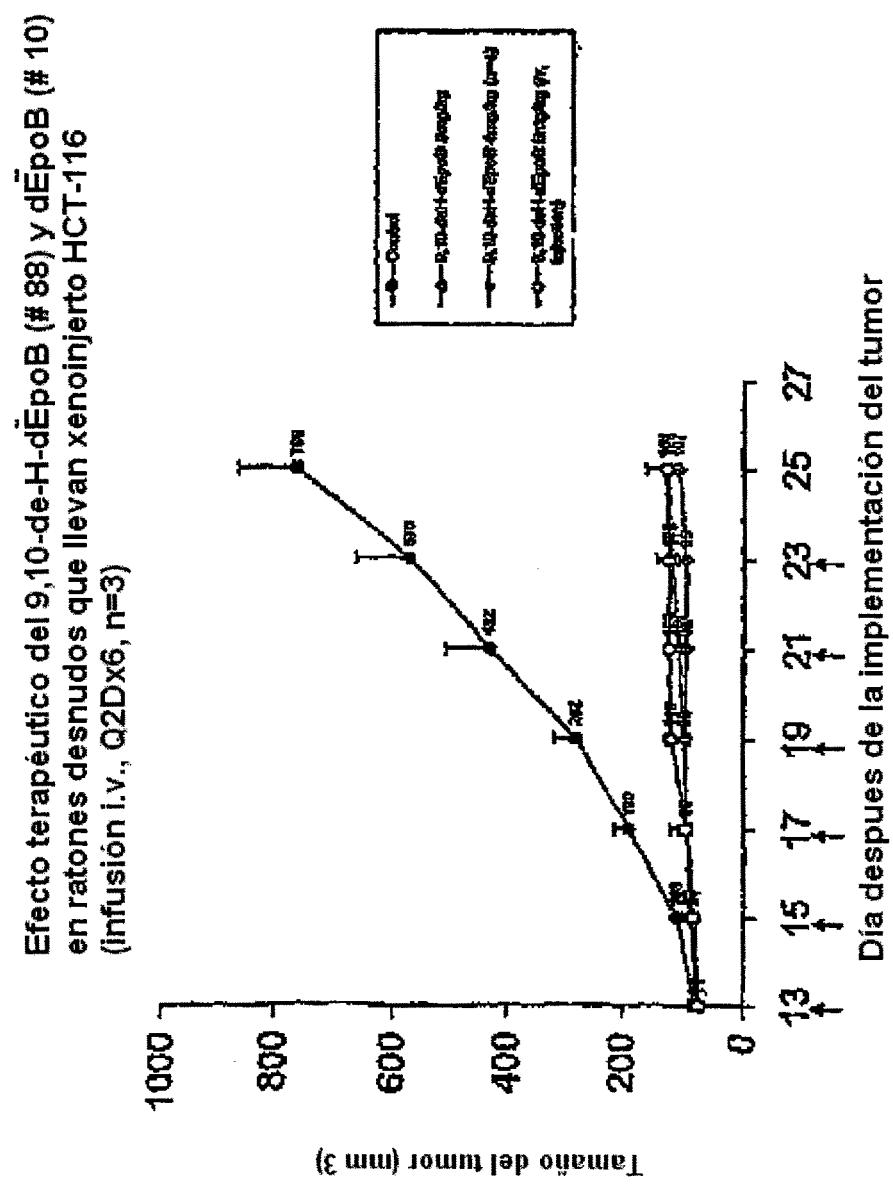


FIG. 26



Cambios del peso corporal del xenoinjerto HCT-116 que llevan ratones desnudos que siguen el tratamiento con 9,10-de-H-dEpoB (#88) y dEpoB (#10 (infusión i.v. Q2Dx6, n=4)

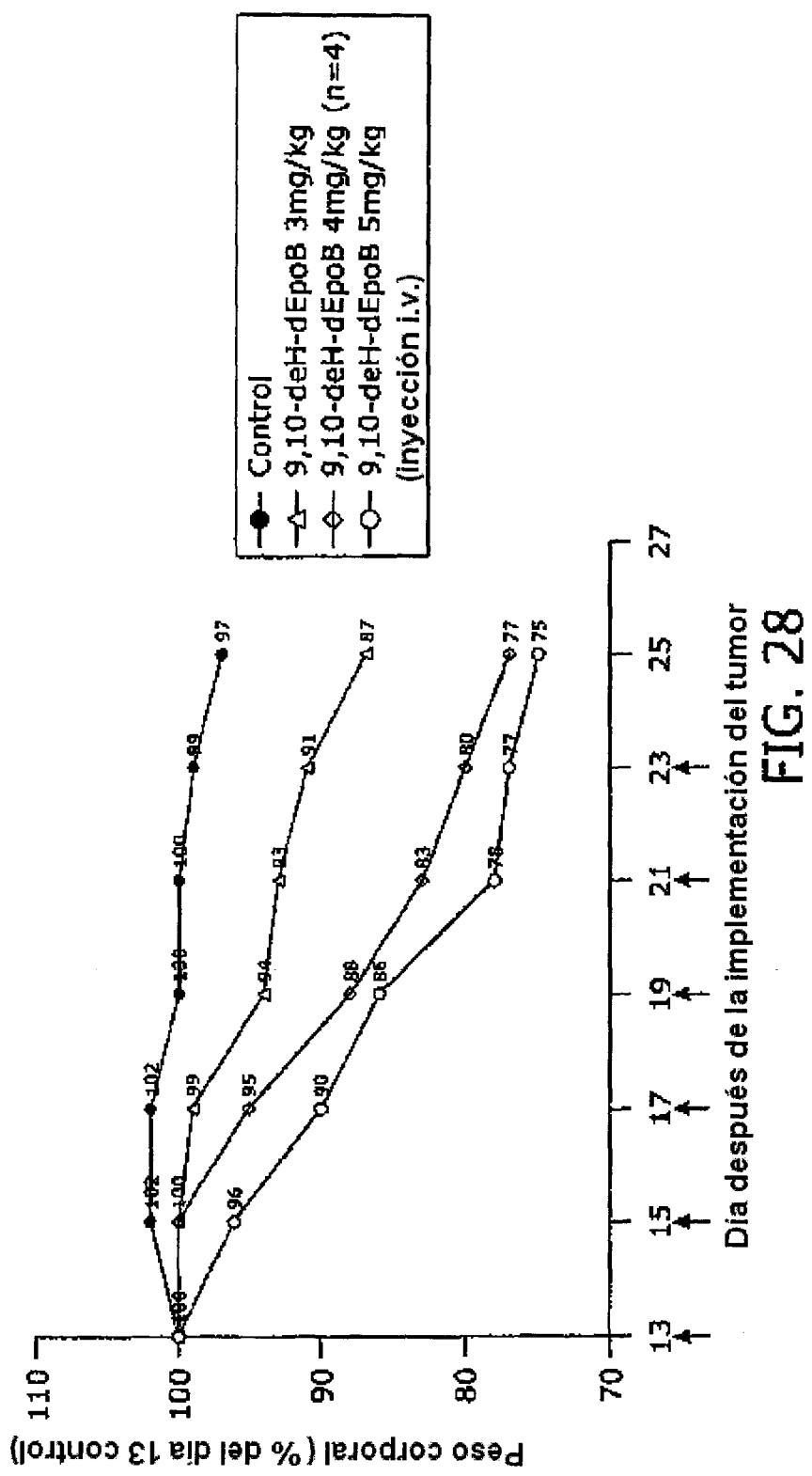


FIG. 28

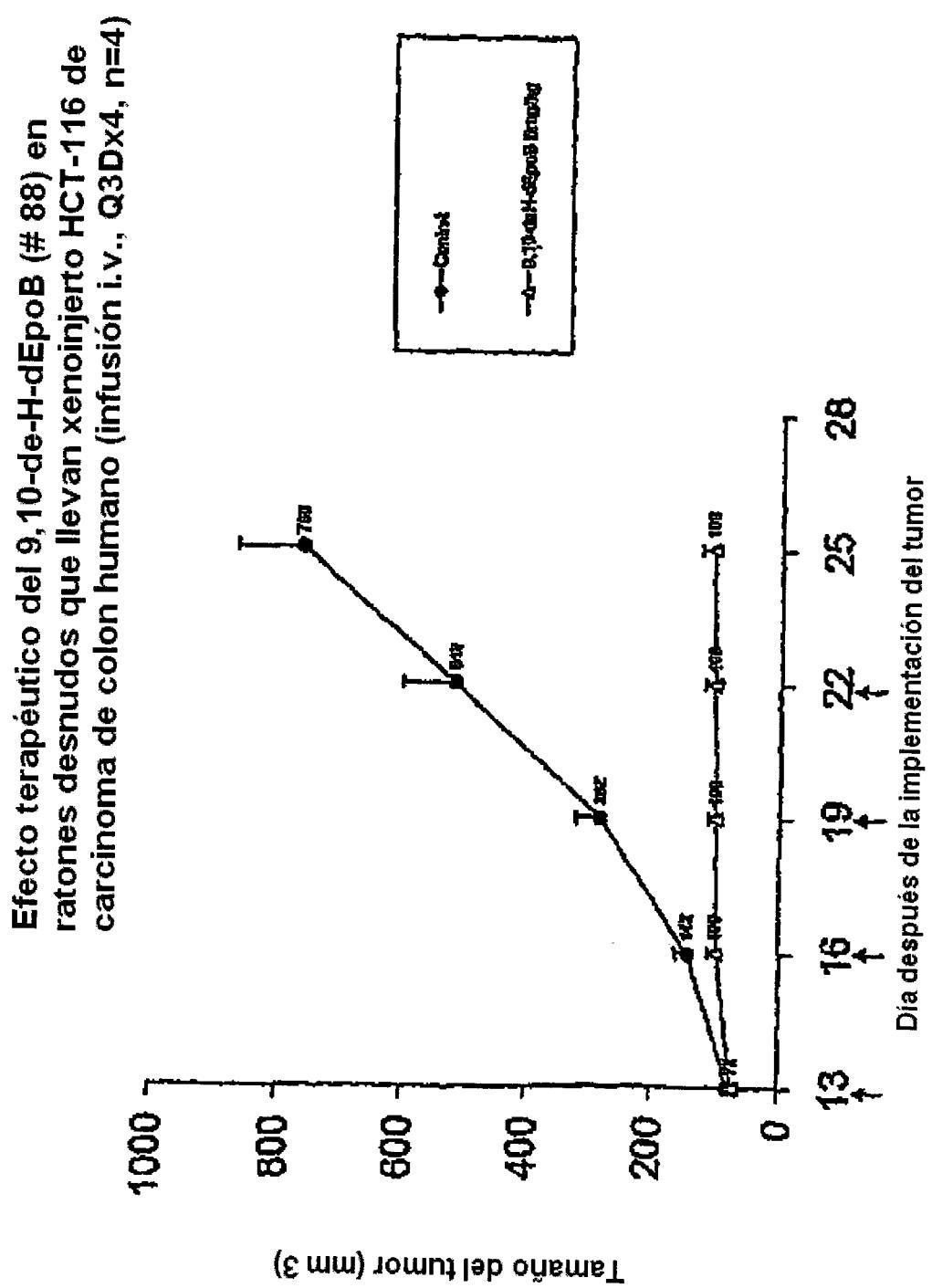


FIG. 29

Campos del peso corporal de xanoinjerto HCT-116 de carcinoma de colon humano que llevan ratones desnudos que siguen el tratamiento con 9,10-deH-dEpcB (# 88) (infusión i.v., n=4, Q3Dx4)

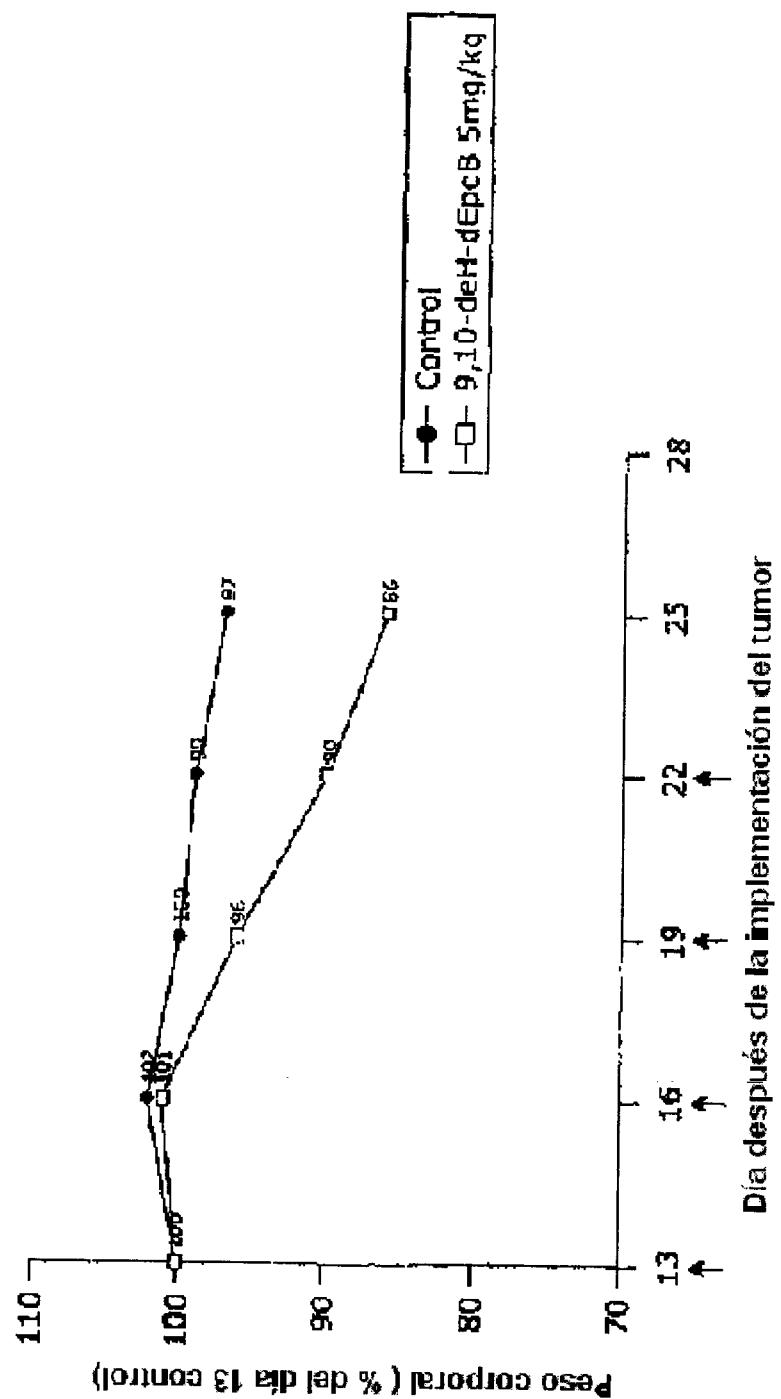


FIG. 30

Valores de IC₅₀ para los nuevos Epotilones contra el crecimiento celular CCRF-CEM

Compuesto	IC ₅₀ (μM) para		
	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Total
dEpoB (EpoD)	0.0036±0.0002	0.016±0.003 μM	0.0046±0.0002 μM
dEpoF	0.0015±0.0001	0.0456 μM	0.0035 μM
EpoB	0.00062±0.00013	0.0037±0.0011 μM	0.0011±0.0001 μM
26-metil-4dEpoB	0.040	0.123 μM	0.077 μM
11-α-F-dEpoB	0.0285	0.147 μM	0.0550 μM
11-β-F-dEpoB	0.0980	0.230 μM	0.138 μM
19-oximeto-10,11-dehidro-dEpoB	0.0077	0.0227 μM	0.0130 μM
9,10-deH-[16]dEpoB	0.0009±0.0004	0.0042±0.0022 μM	0.0012±0.0006 μM
9,10-deH-[16]dEpoF	0.00051±0.00009	0.0106 μM	0.00073 μM
9,10-deH-[16]EpoB	0.00023±0.00002	0.00032 μM	0.00042 μM
12,13-epi-9,10-deH-EpoB	0.0134±0.0032	0.0959 μM	0.0802 μM
12,13-epi-EpoB	0.0830±0.0001	0.4519 μM	0.1507 μM
9,10-deH-dEpo-M-acetona	5.02	—	—
26-R,9,10-deH-[16]dEpoB	0.0035	0.0210 μM	0.0057 μM
26-P ₂ -dEpoB	0.0041	0.030 μM	0.018 μM
Taxol	0.0016±0.0005	2.30 μM	0.058±0.001 μM
Vinblastine	0.00045	0.418±0.076 μM	0.026±0.008 μM

FIG. 31

Estabilidad Metabólica de los Epotilones

Experimentos en progreso

Compuesto	<i>In vitro t_{1/2} in</i>			
	Plasma Ratón	Plasma perro	Plasma humano	Prep. Hígado humano
dEpoB(EpoD)	31 min.	> 8 h	> 8 h	60 min
26-F3-de-H-dEpoB	150 min	—	—	180 min
26-F3-dEpoB(MDR)	68 min	—	—	105 min
26-metil-dEpoB	50 min	> 8 h	—	—
9,10-de-H-depoB	90 min	—	—	150 min

FIG. 32

ES 2 281 692 T3

Efecto terapéutico de los compuestos de epotilone contra xenoinjertos de tumor humano en ratones con 6 h-infusión i.v.

Compuesto	Dosis & horario	Modelo Xenoinjerto	Efecto terapéutico		Toxicidad	
			% Reducción volumen tumor	proporción de desvanecimiento del tumor	% de cambio de peso corporal	proporción de muerte del ratón
dEpoB (#10)	30 mg/kg, Q2Dx3 d10-18	MDX-1	99.4% (626)	4/5 (626)	(control -0.3%) +1.9% (626)	0/5 (626)
Epo-490 (#12)	40 mg/kg, Q2Dx5 50 mg/kg, Q2Dx5 d10-18	MDX-1	11.9% (626) 39.5% (626)	0/5 (626) 0/4 (626)	-8.9% (626) -4.0% (626)	0/5 (625) 0/4 (626)
14-OH-dEpoB. (#32)	40 mg/kg, Q2Dx3 d3-16	MDX-1	65.8% (624)	0/4 (624)	(control +1.6%, 624) +7.9% (624)	0/4 (624)
dEpoB (#10)	30 mg/kg, Q2Dx5x2 d8-16 hora d20-22	MDX-1	99.9% (624) 100% (628)	2/4 (624) 4/4 (628)	-14.6% (624) -0.3% (628)	0/4 (628)
4-Dca-oxo-EpoB (#83)	1.5 mg/kg, Q2Dx3,x5,x3 d8-16,d21-31,d35-39	MDX-1	67% (617) >97.5% (645)	0/4 (617) 1/4 (645)	(control -3%, d17) +13% (645)	1/4 (619)
	3 mg/kg, Q2Bx3 d11-13	MDX-1	77% (617)	0/4 (617)	-18% (617)	0/4 (617)
19-oxo-EpoB (#86)	1.5 mg/kg, Q2Dx3,x4 d15-19,d27-33 3 mg/kg, Q2Dx3x2 d15-19 5 mg/kg, Q2Dx3 d15-19	HCT-116	72.7% (627) 79.3% (627) 63.4% (619)	0/5 (639) 0/4 (639) 0/3 (619)	(control -11%, 627) -18% (617) -30% (633) -29% (627) -27% (619)	3/3 (624,34,34) 4/4 (629,21,21,22) 3/3 (619,20,20)
19-oxo-EpoD (#83)	30 mg/kg, Q2Dx3 d15-19 40 mg/kg, Q2Dx3 d15-19	HCT-116	71.5% (627) 75.1% (627)	0/4 (639) 0/3 (639)	-16% (627)* -22% (635) -20% (627) -30% (635)	0/4 (639)
Epo(17)-490 (#70)	50 mg/kg, Q2Dx3 then 80 mg/kg, Q2Dx1 then 100 mg/kg, Q2Dx1 d10-14,d16,d18	MDX-1	11.3% (622)	0/5 (622)	(control +2%, 622) +2.1% (622)	0/3 (622)
Epo(18)-490 (#70)	80 mg/kg, Q2Dx5 d10-18	MDX-1	13.2% (624)	0/3 (624)	(control +4.7%, 624) -4.4% (624)	0/3 (624)
27- <i>F</i> -EpoD(17) (#70)	60 mg/kg, Q2Dx3 then 80 mg/kg, Q2Dx2 d10-14,d15-18	MDX-1	4.8% (620)	0/4 (620)	(control -6.5%, 620) -7.4% (620)	0/4 (620)
24,25-EpoD (#23)	30 mg/kg, Q2Dx5,x1 d12-20,d24	MDX-1	65.7% (626)	0/2 (626)	(control +3.8%, 626) +1.7% (626)	0/2 (626)
14-Me-EpoD (#31)	30 mg/kg, Q2Dx3,x1 d12-20,d24	MDX-1	48.9% (626)	0/3 (628)	-1.2% (626)	0/3 (628)
17-Oxotet-Epo-490 (#84)	30 mg/kg, Q2Dx7 d22-34 40 mg/kg, Q2Dx7 d22-34	HCT-116	43.2% (644) 70.3% (644)	0/3 (644) 0/3 (644)	(control -14%, 644) +18% (644) -18% (644)	0/3 (644)

FIG. 33

Efecto terapéutico del 9,10-de-H-dEpoB (# 95) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto del tumor HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión i.v. 6 h., Q2Dx7, n=4)

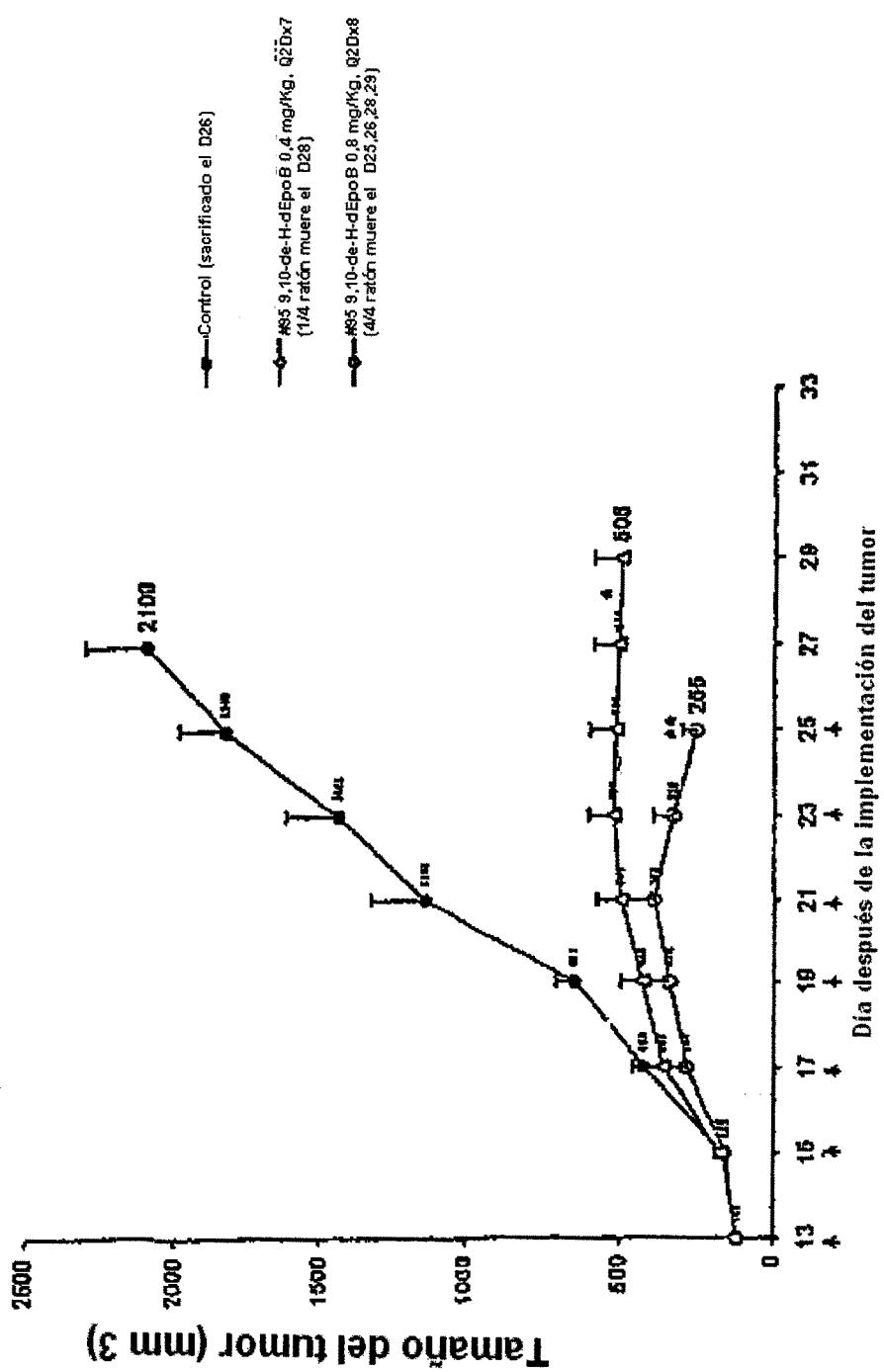


FIG. 34

Cambios del peso corporal del xenoinjerto del tumor HCT-116 de carcinoma de colon humano que llevan ratones desnudos que siguen el tratamiento con 9,10-de-H-dEpoB(#95) y oxazol-EpoD(#85) (infusión i.v. 6 h, Q2Dx7, n=4)

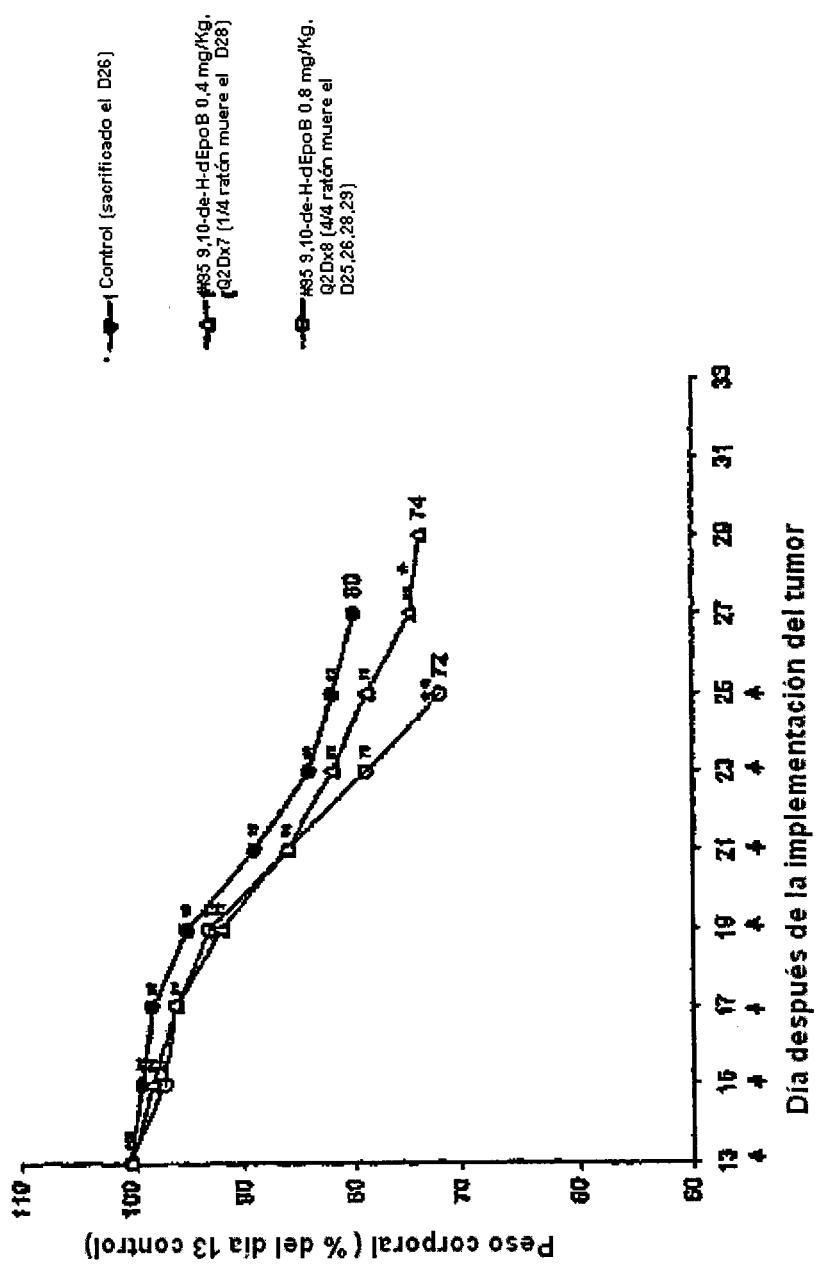


FIG. 35

Efecto terapéutico del 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB (#89) & 9,10-de-H-dEpoB (#88) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto A549/Taxol (infusión i.v. 6 h., Q2Dx4)

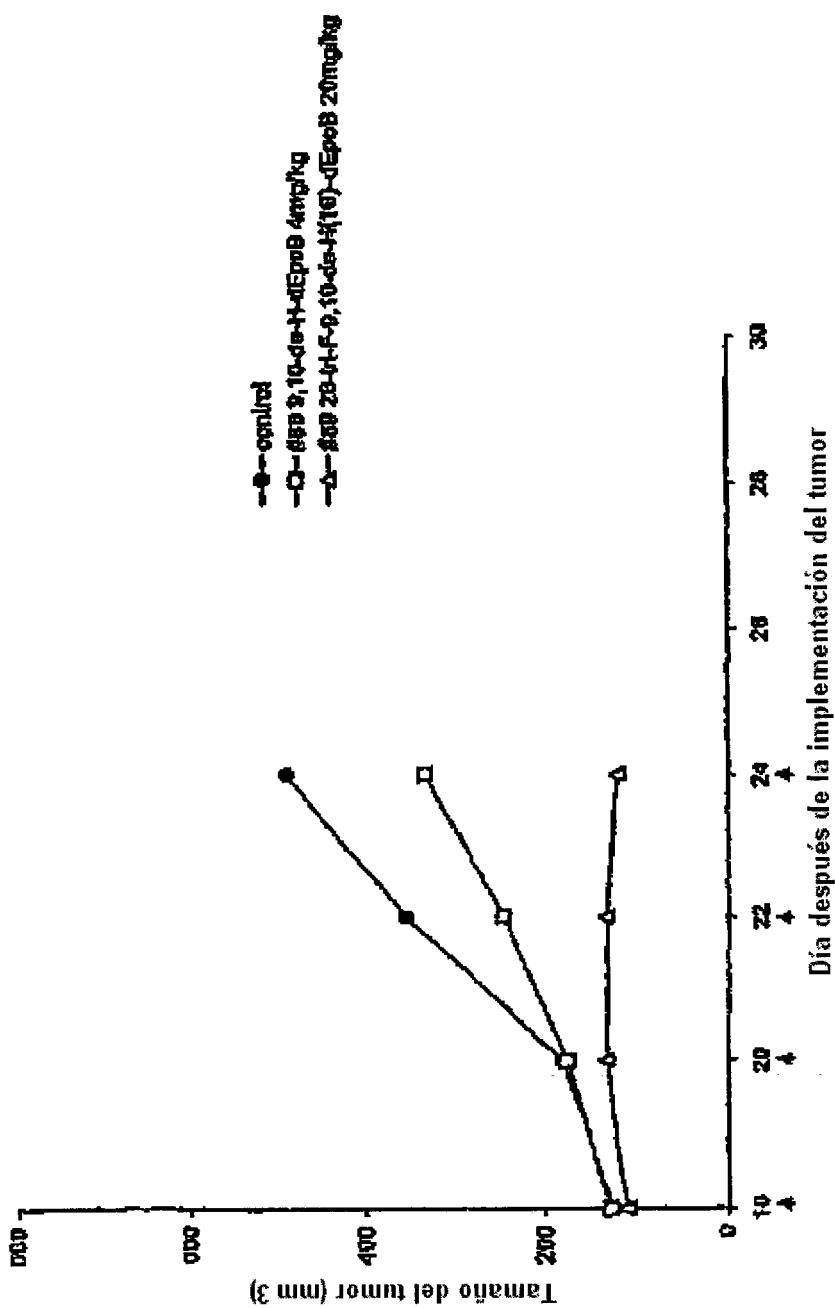


FIG. 36

Efecto terapéutico del 9,10-de-H-dEpoB (#88) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto A549/Taxol (infusión i.v. 6 h., Q2Dx3)

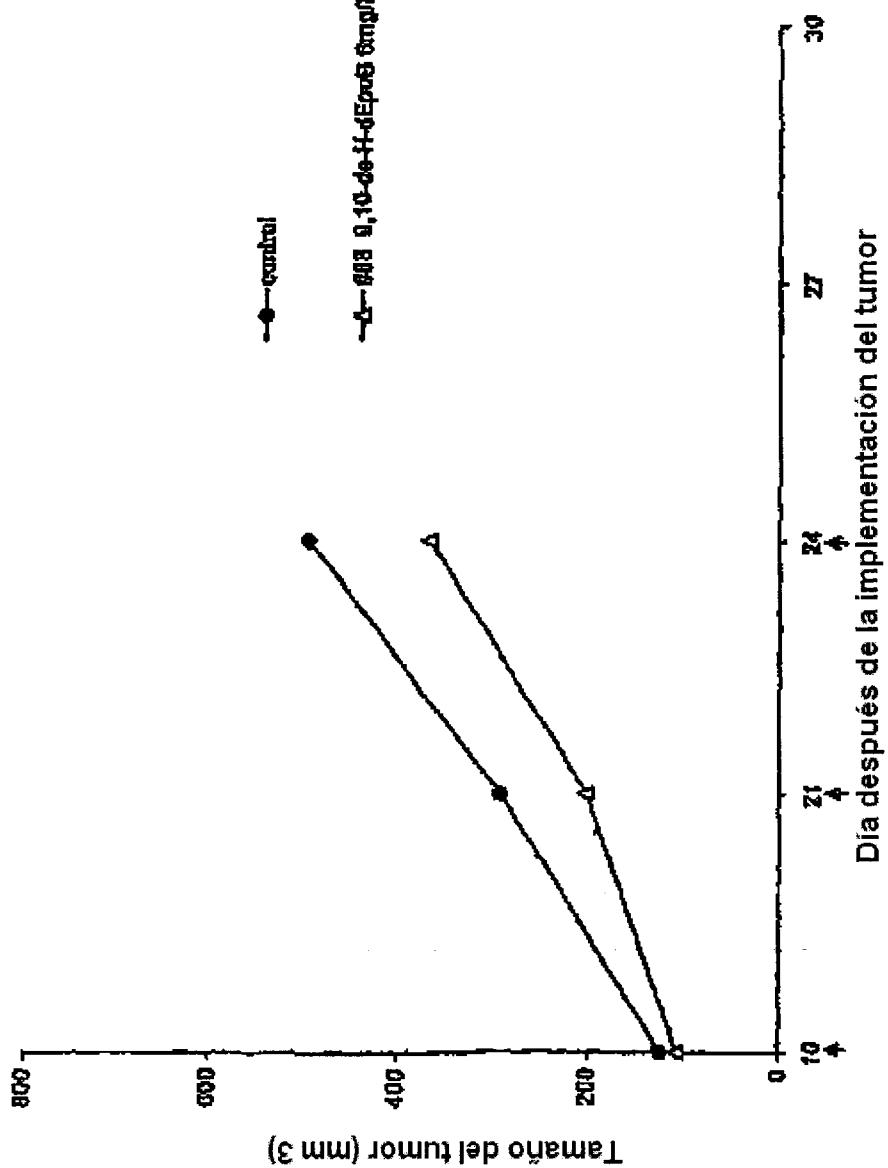


FIG. 37

**Estabilidad de los compuestos epo
20% de plasma de ratón/PBS**

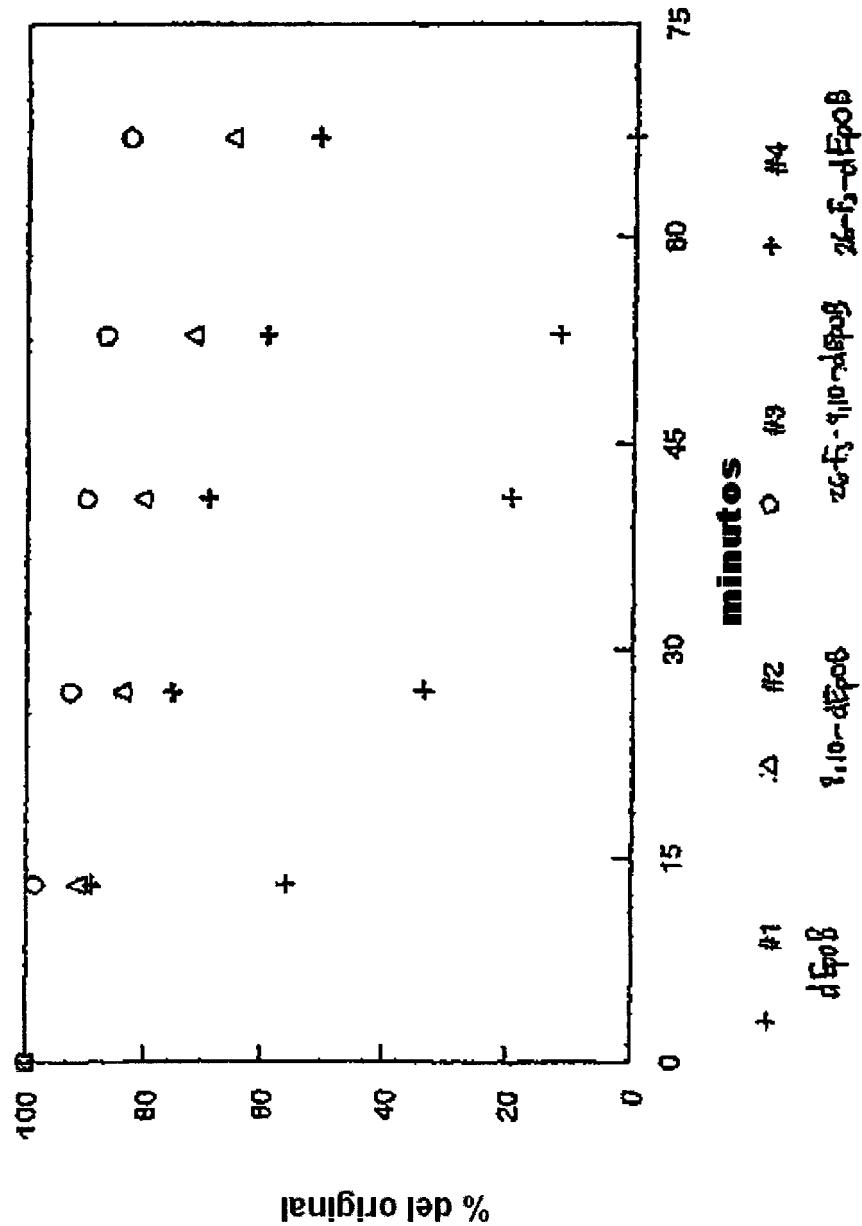


FIG. 38

**Estabilidad de los compuestos epo
10% de S9 hígado de hombre/PBS**

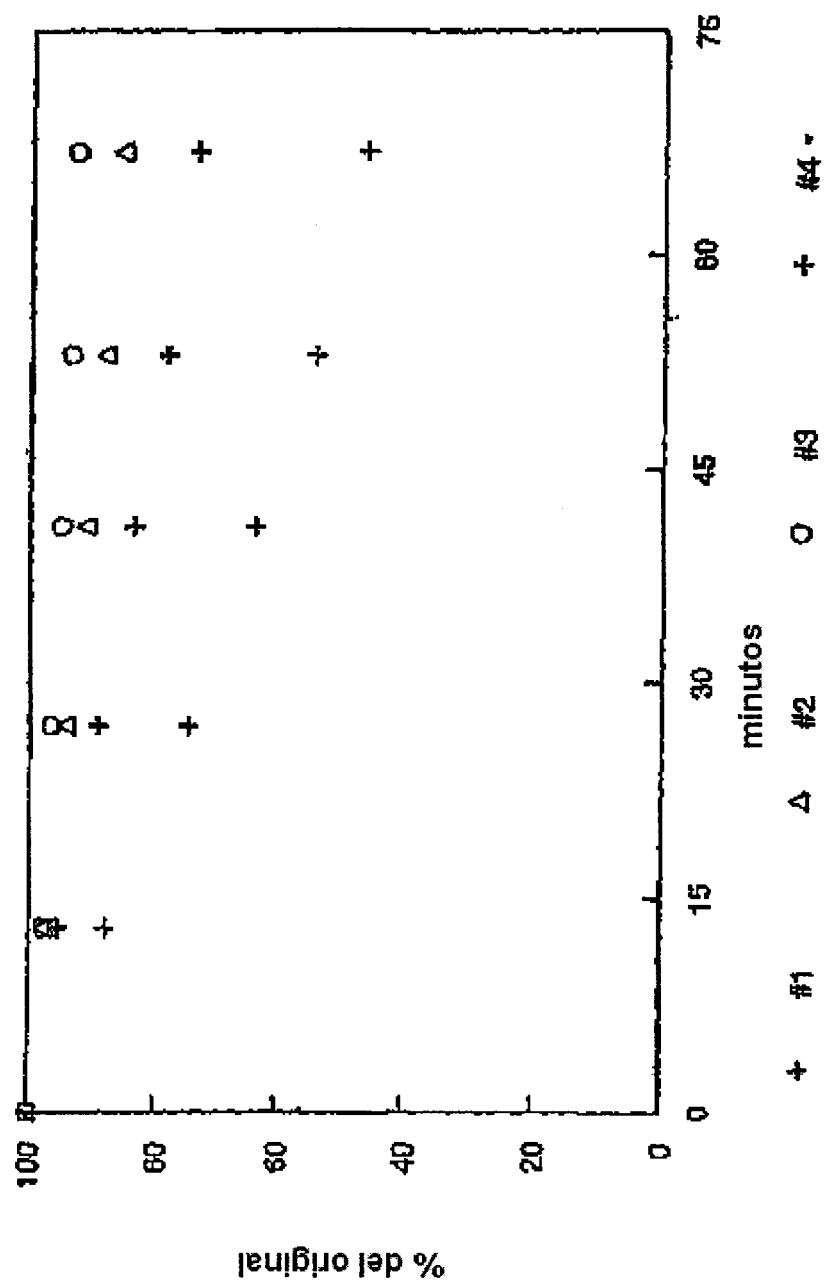


FIG. 39

**Cromatograma de la estabilidad del EpoD
10% de S9 hígado de hombre/PBS**

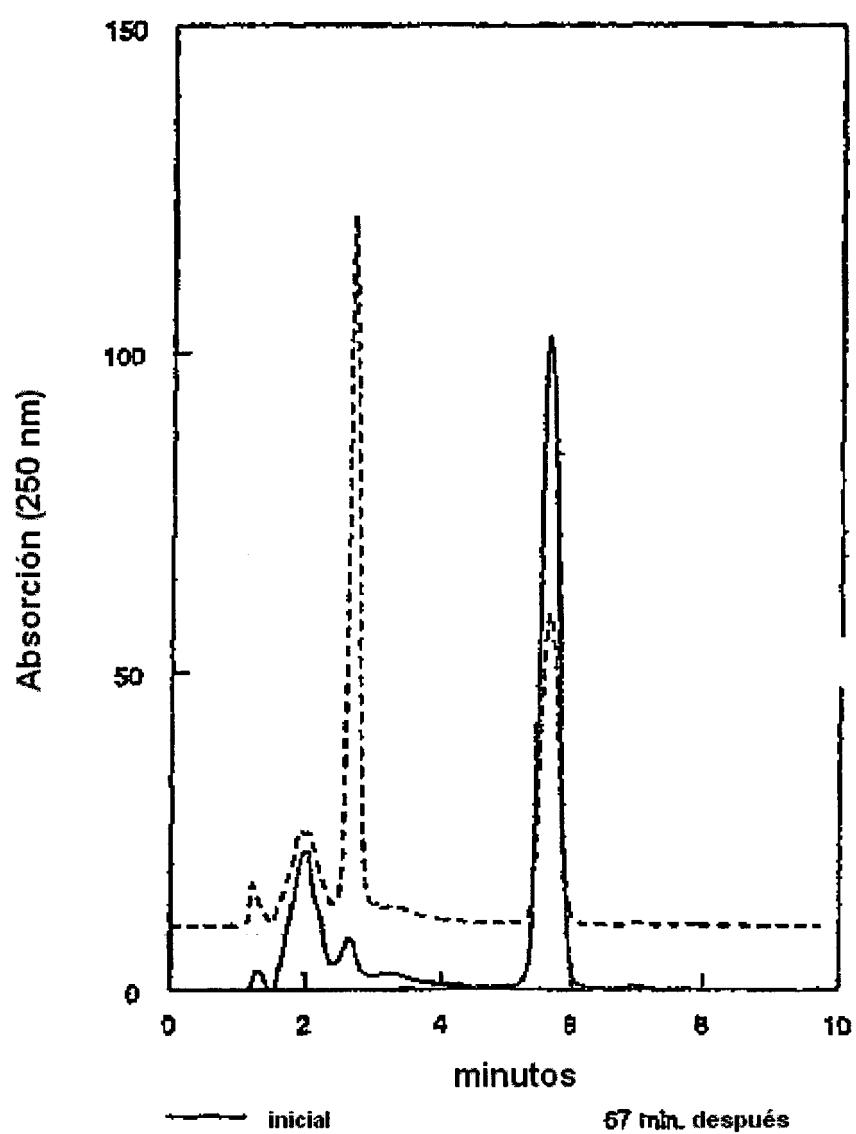


FIG. 40

Ensayo del microtúbulo in vitro

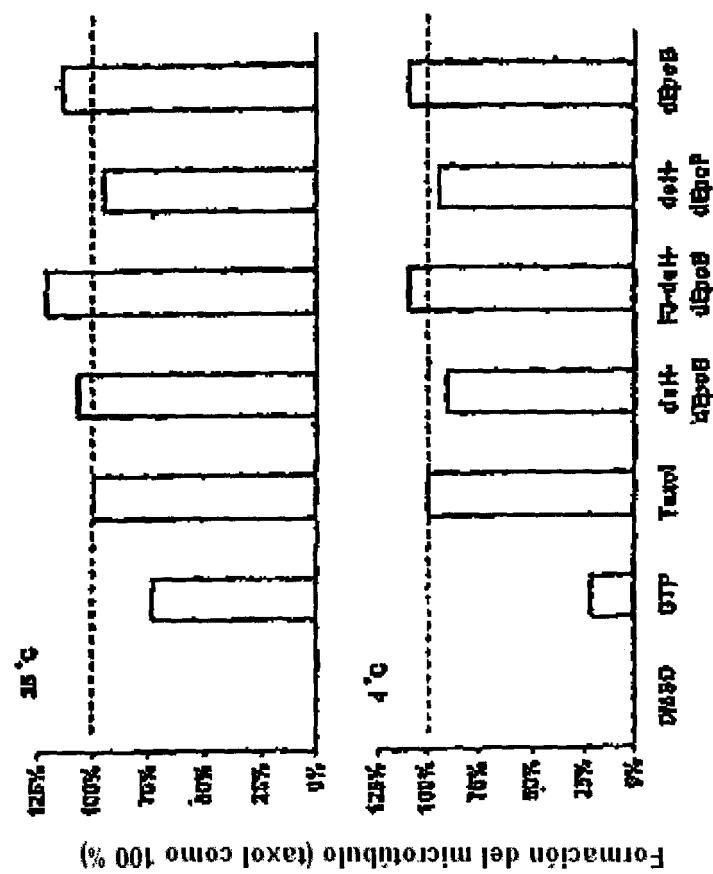
	Ensamble MT (37°C, %)
Control	0
EpoB	100
dEpoB	1:7
9,10-dehidro-[16]dEpoB	108
26-tri-F-9,10-dehidro-[16]dEpoB	106
26-tri-F-[16]dEpoB	94
21-hidro-9,10-dehidro-[16]dEpoB	88

FIG. 41A

Ensayo de citotoxicidad

	A549 (IC50, nM)	A549 EpoB40 (IC50, nM)
EpoB	1.94	55.44
dEpoB	116	>500
9,10-dehidro-[16]dEpoB	1.88	122.70
26-tri-F-9,10-dehidro-[16]dEpoB	5.98	431.50
26-tri-F-[16]dEpoB	44.2	>500
21-hidro-9,10-dehidro-[16]dEpoB	3.58	244.02

FIG. 41B



Estabilización de la formación del microtúbulo por epotilones

FIG. 42

Efecto terapéutico del 9,10-de-H-dEpoB (#88) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto (MX-1) de carcinoma mamario humano T (infusión i.v. 6 h., Q2Dx5)

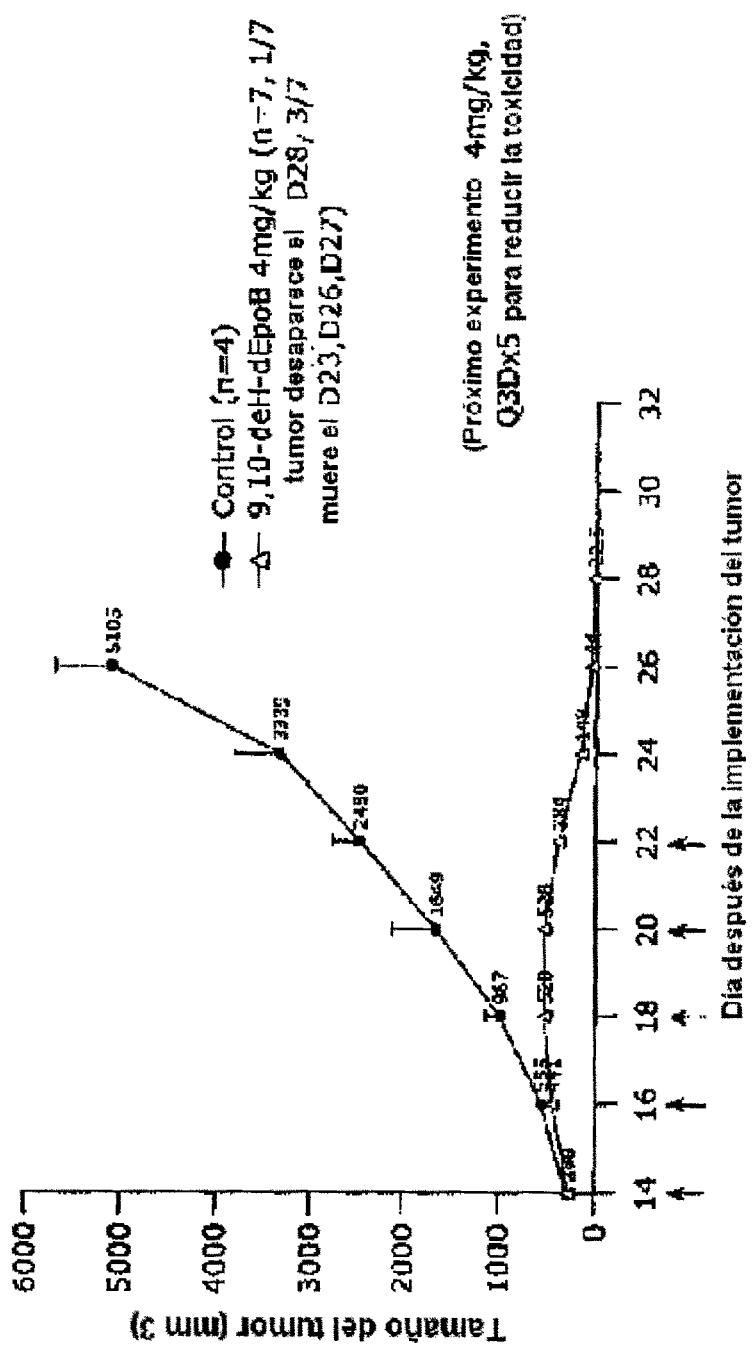


FIG. 43

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto (MX-1) de carcinoma mamario humano que siguen el tratamiento con 9,10-deH-dEpoB (# 88) (infusión i.v., 6 h., Q2Dx8, n=4)

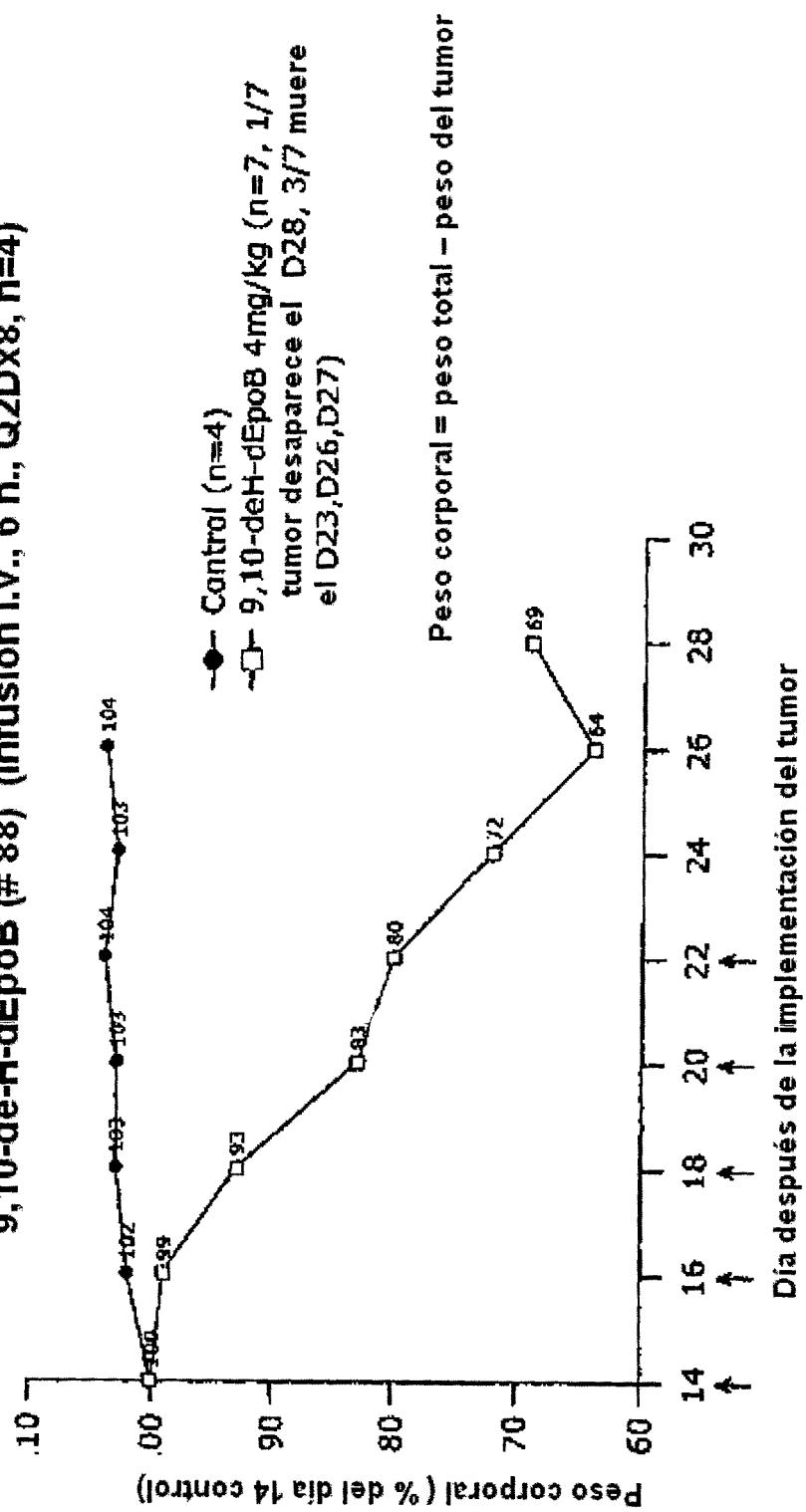


FIG. 44

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto HCT-116 que siguen el tratamiento con 9,10-deH-dEpoB (# 88) (infusión i.v., Q2Dx7, n=3)

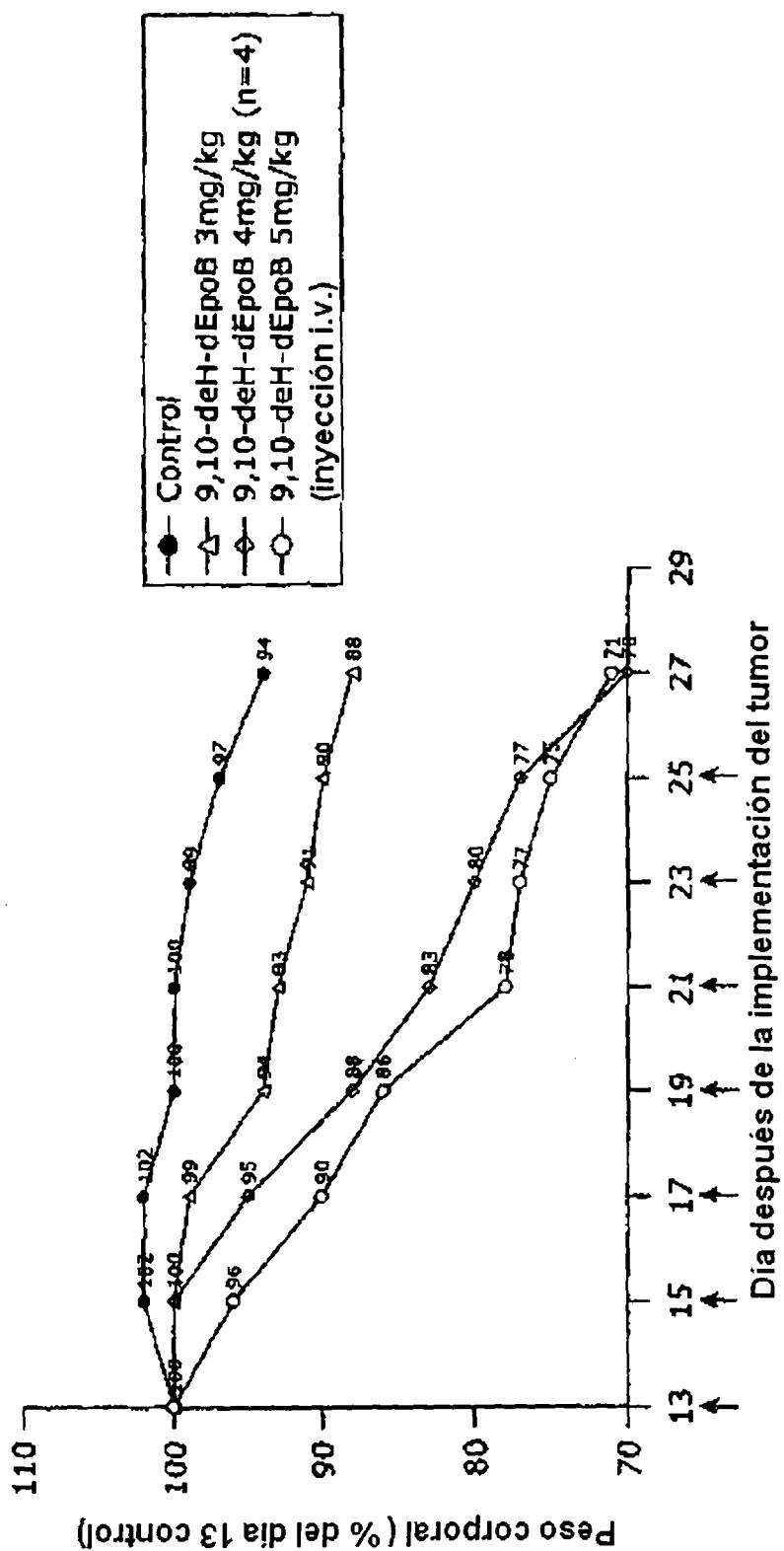


FIG. 45

Efecto terapéutico del 9,10-de-H-dEpoF, dEpoB & Taxol en ratones desnudos que llevan xenoinjerto de tumor (MX-1) de carcinoma mamario (infusión i.v., 6 h., Q2Dx6, n=5)

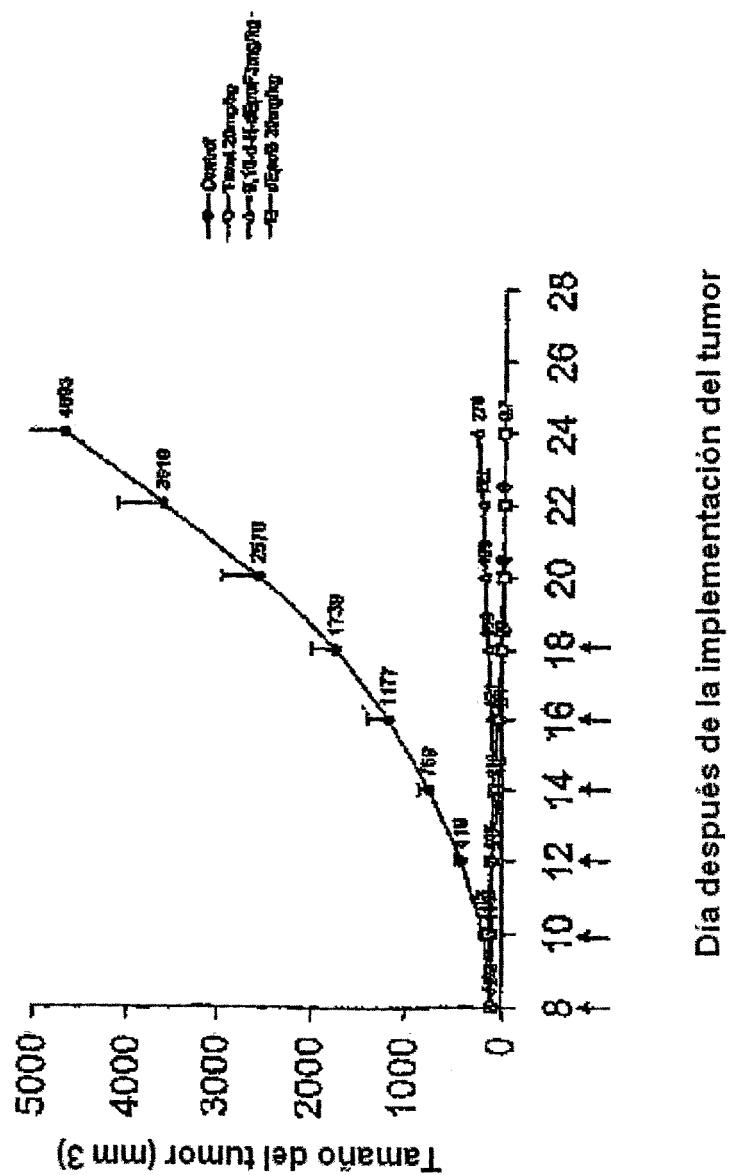


FIG. 46

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto de tumor (MX-1) de carcinoma mamario humano que siguen el tratamiento con 9,10-de-H-dEpOF, dEpOB & Taxol (infusión i.v., 6 h, Q2Dx6, n=5)

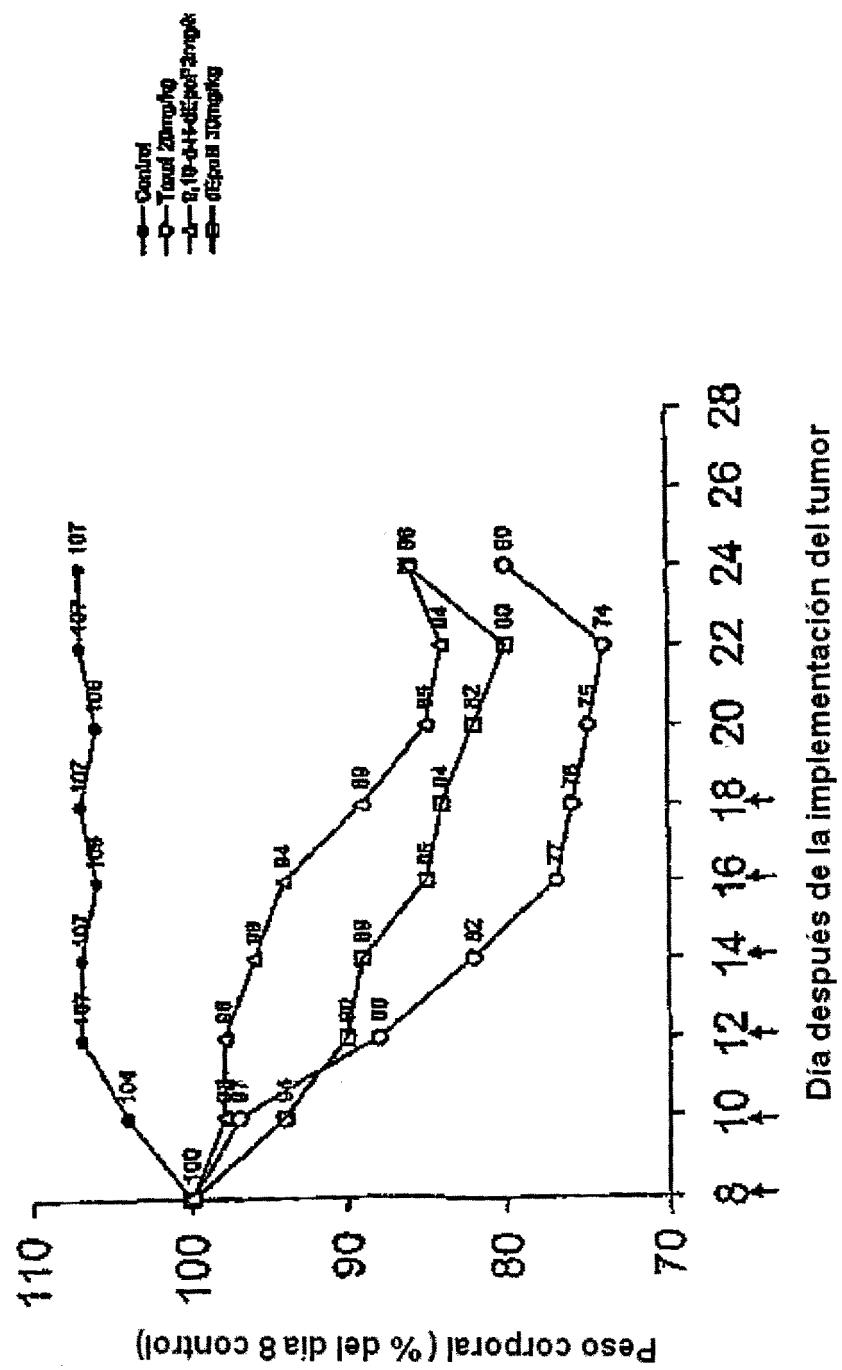


FIG. 47

Efecto terapéutico del 9,10-de-H-dEpoF (#93) y dEpoB (#10) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión i.v., 6 h., Q2DX8)

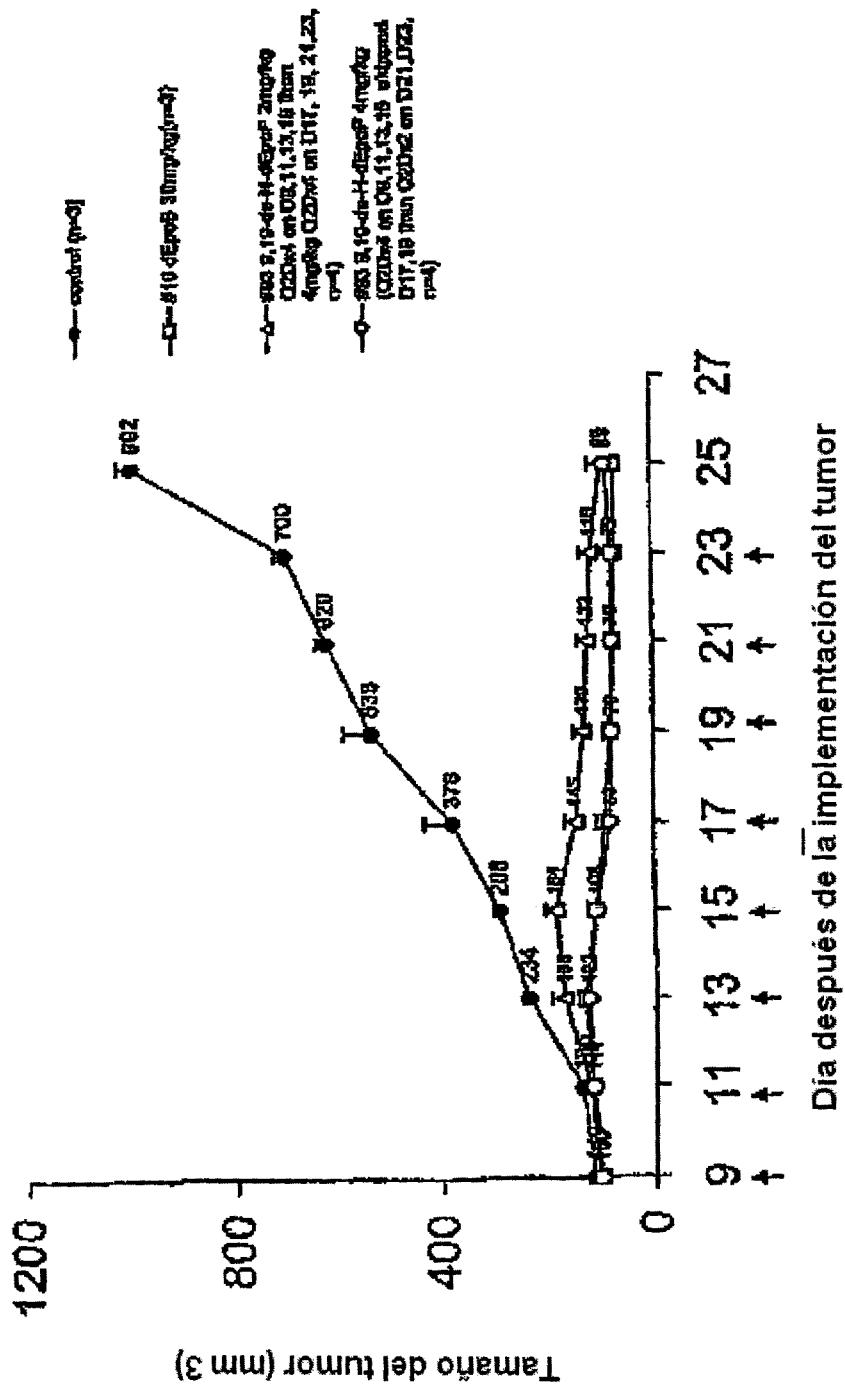


FIG. 48

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto HCT-116 que siguen el tratamiento con 9,10-de-H-dEpoF (#93) & dEpoB (#10) (infusión i.v., 6 h., Q2Dx8)

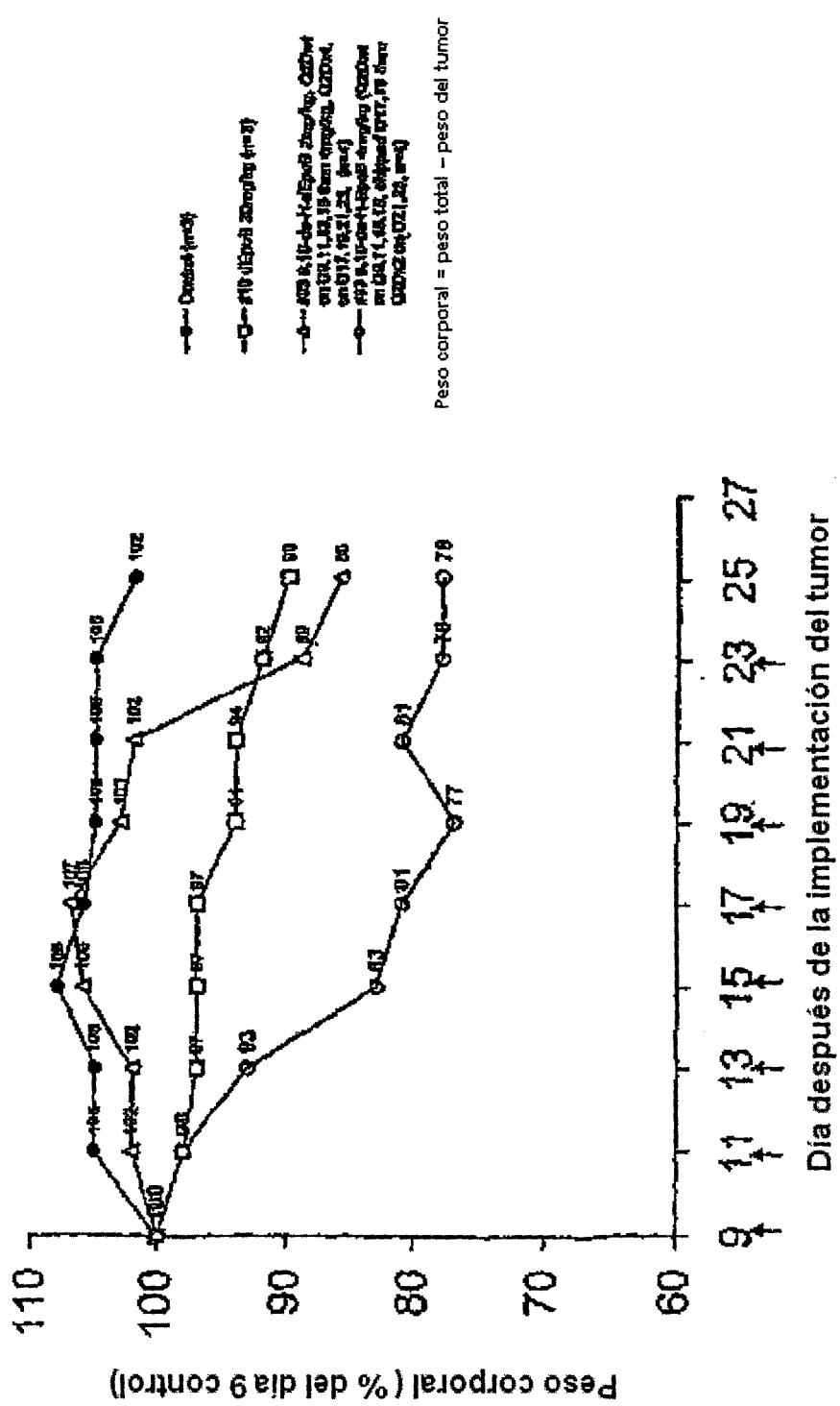


FIG. 49

Efecto terapéutico del 9,10-de-H-dEpoF (#93) y dEpoB (#10) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto (A549/Taxol) de carcinoma pulmonar humano resistente al Taxol (infusión i.v., 6 h, Q2Dx5, n=4)

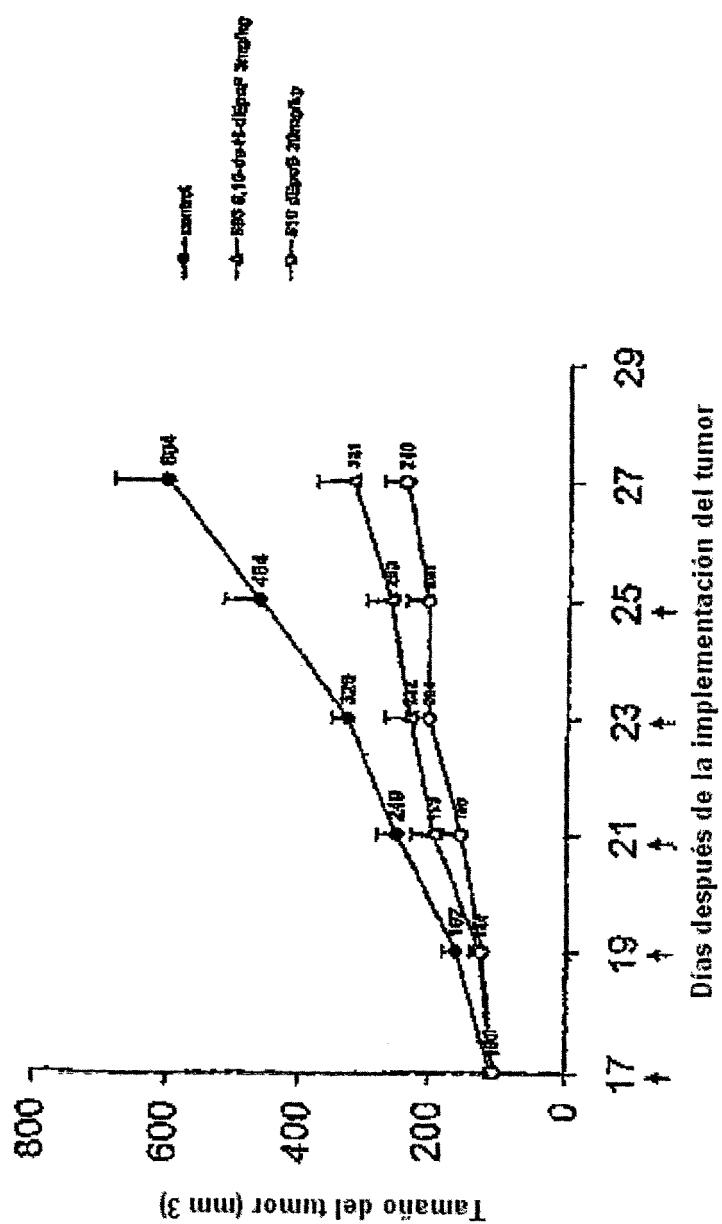


FIG. 50

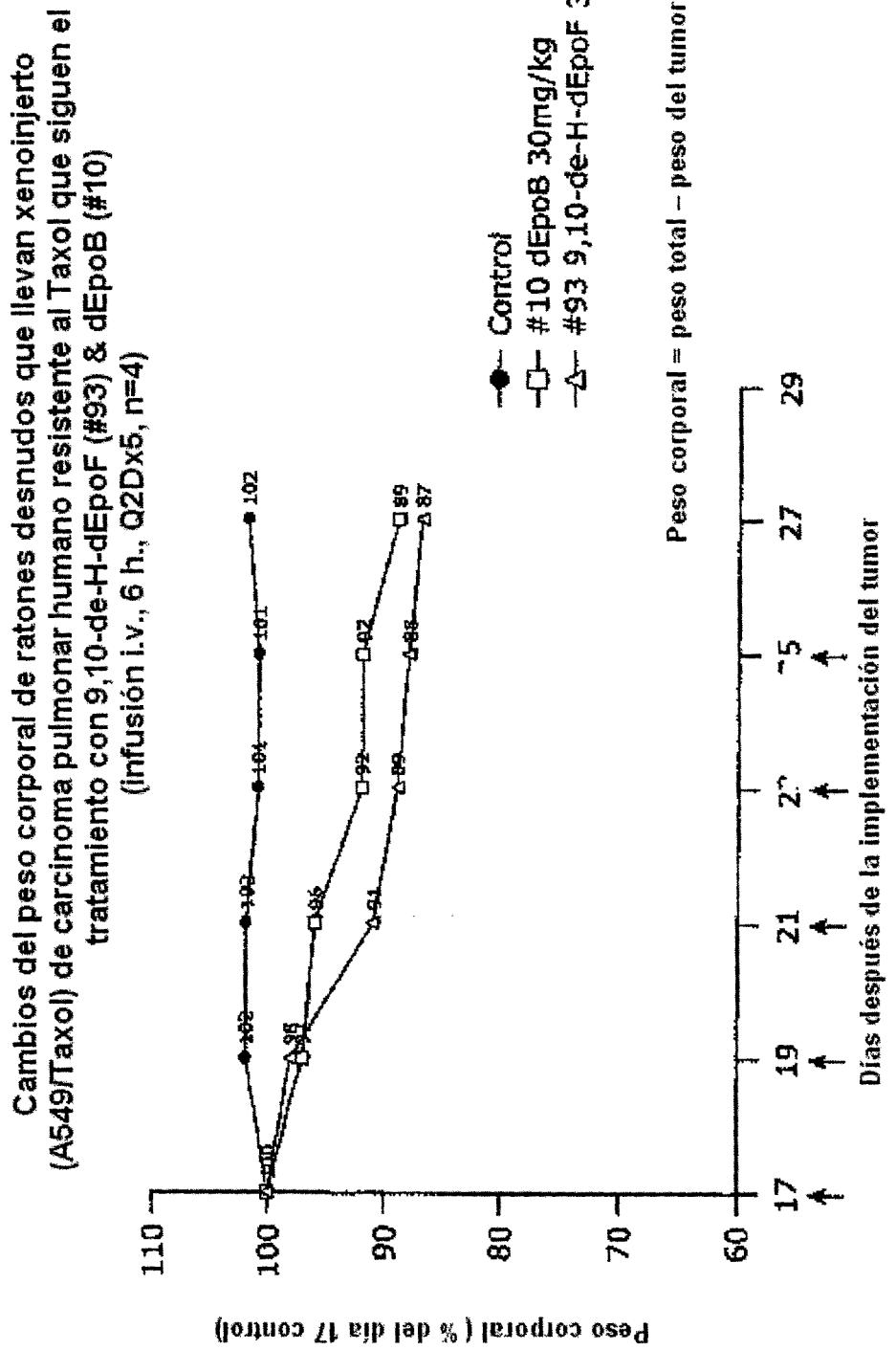


FIG. 51

Potencia para los Epotiliones Contra el Crecimiento Celular del Tumor *in vitro*(a) e Índice Terapéutico Relativo(b)

Compuesto	IC ₅₀ (μM) para		Carcinoma pulmonar humano A549	HCT-116	Índice Terapéutico relativo contra xenoinjerto en ratones a MTD			
	Sublineas							
	Leucemia Linfoblástica de Célula-T humana CCRF-CEM/ VBL	CCRF-CEM/ Taxol						
dEpoB	0.0056 ±0.0028	0.016 ±0.003 _[4.96]	0.0085 ±0.0055 _[1.55]	0.0039 ±0.004	0.0068 ±0.0032			
dEpoF	0.0015 ±0.0001	0.055 ±0.09 _[1.95]	0.0066 ±0.0031 _[4.42]	0.012 ±0.004	0.0034 ±0.0006			
EpoB	0.00053 ±0.00017	0.0032 ±0.0012 _[4.05]	0.0011 ±0.0008 _[2.16]	0.0008 ±0.0005	0.00038 ±0.00001			
Aza-EpoB	0.0024 ±0.0003	2.08 ±0.92 _[4.23] [86.71]	0.103 ±0.066 _[1.32]	0.0040 ±0.0035	0.0014 ±0.0009			
dEH-dEpoB	0.0009 ±0.0004	0.0042 ±0.0022 _[4.77]	0.0012 ±0.0006 _[1.16]	0.00089 ±0.00064	0.00094 ±0.00055			
dEH-dEpoF	0.00051 ±0.00009	0.021 ±0.010 _[1.12]	0.0017 ±0.0010 _[1.33]	0.00091 ±0.00006	0.00056 ±0.00006			
dEH-EpoB	0.00023 ±0.00002	0.0096 ±0.0064 _[4.21]	0.0041 ±0.0001 _[1.65]	0.00026 ±0.00004	0.00014 ±0.00001			

FIG. 52A

Potencia para los Epitelios Contra el Crecimiento Celular del Tumor *in vitro*(a) e Índice Terapéutico Relativo (b)

Compuesto	IC_{50} (μM) para			Índice terapéutico relativo contra xenoinjerto en ratones a MTD		
	sublineas					
	leucemia linfoblástica de célula-T humana	CCRF-CEM / VBL	CCRF-CEM / Taxol			
F_3 -dEH-dEpoB	0.0032 ±0.0003	0.023 ±0.002 _[17.2x]	0.0047 ±0.0010 _[1.8x]	0.0037 ±0.0024	0.0056 ±0.0010	++++
F_3 -dEH-dEpoF	0.00089	0.038 _[4.3x]	0.0058 _[8.5x]			
F_3 -dEpoB	0.0093 ±0.0052	0.085 ±0.005 _[9.1x]	0.019 ±0.001 _[1.5x]	0.015 ±0.004	0.012 ±0.001	ND*
Paclitaxel	0.0018 ±0.0005	3.22 ±0.92 _[17.8x]	0.079 ±0.029 _[43.9x]	0.0029 ±0.0003	0.0026 ±0.0009	+++
Vinblastine	0.00054 ±0.00009	0.389 ±0.074 _[7.0x]	0.0196 ±0.011 _[136.5x]	0.0099 ±0.0018	0.0087 ±0.0007	+++

FIG. 52B

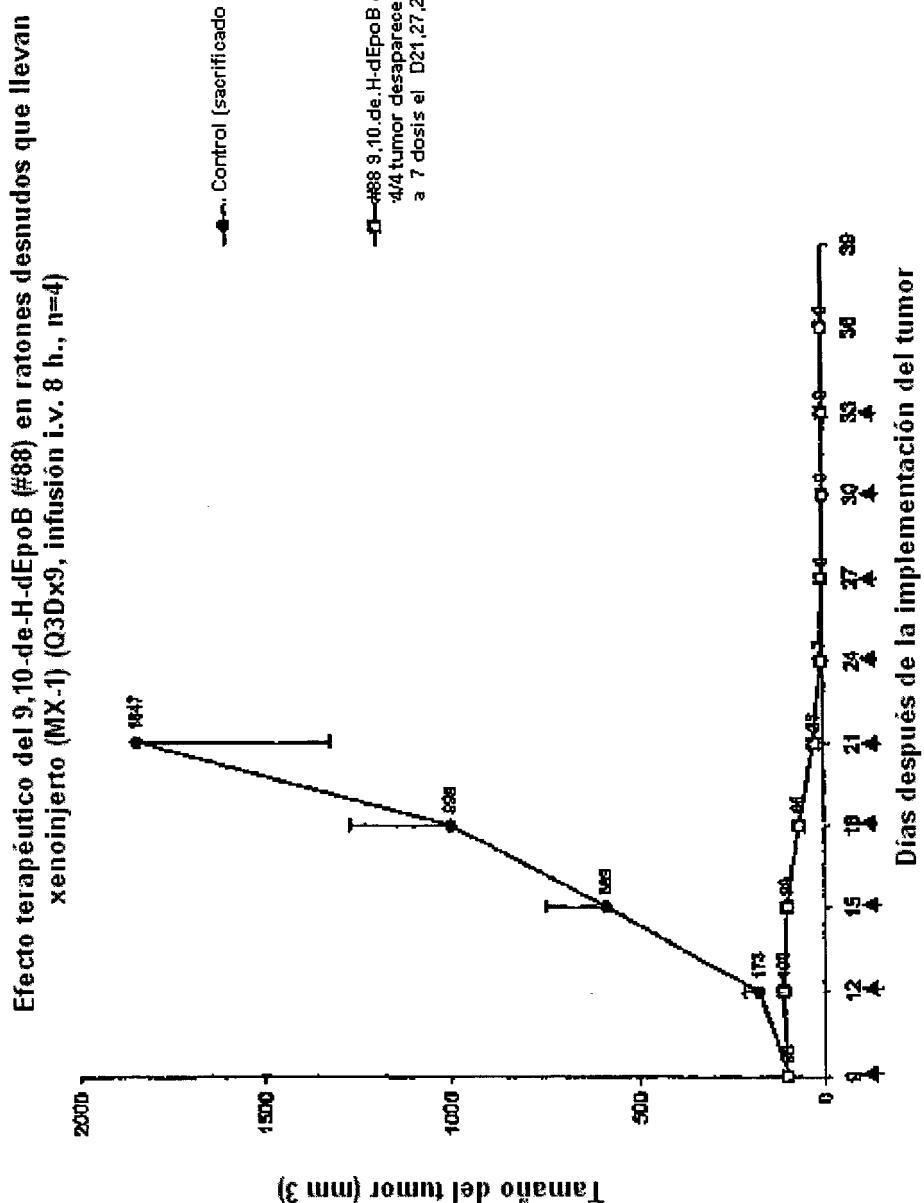


FIG. 53

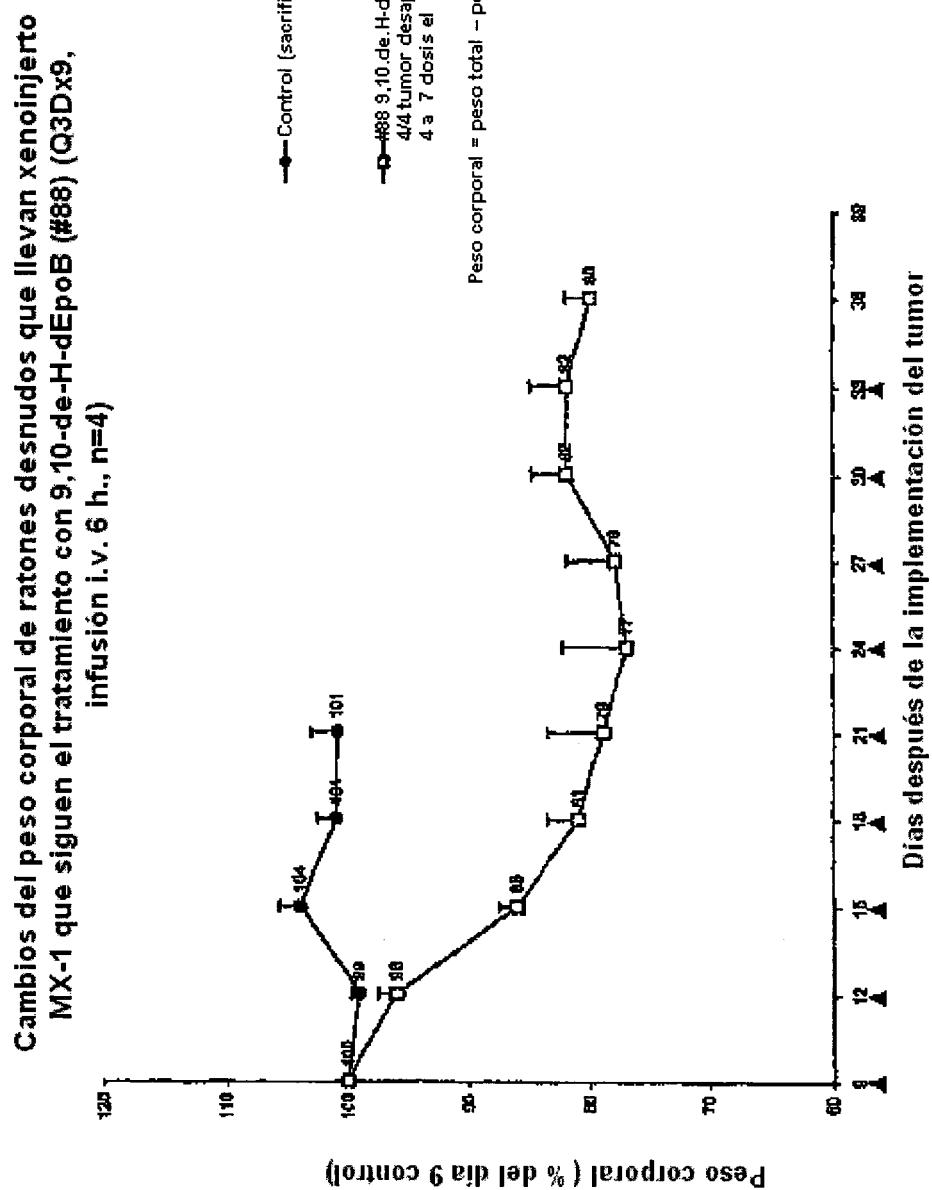


FIG. 54

Efecto terapéutico del 9,10-de-H-EpoB (#95) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto (MX-1) (Q3Dx9, infusión i.v. 6 h., n=4)

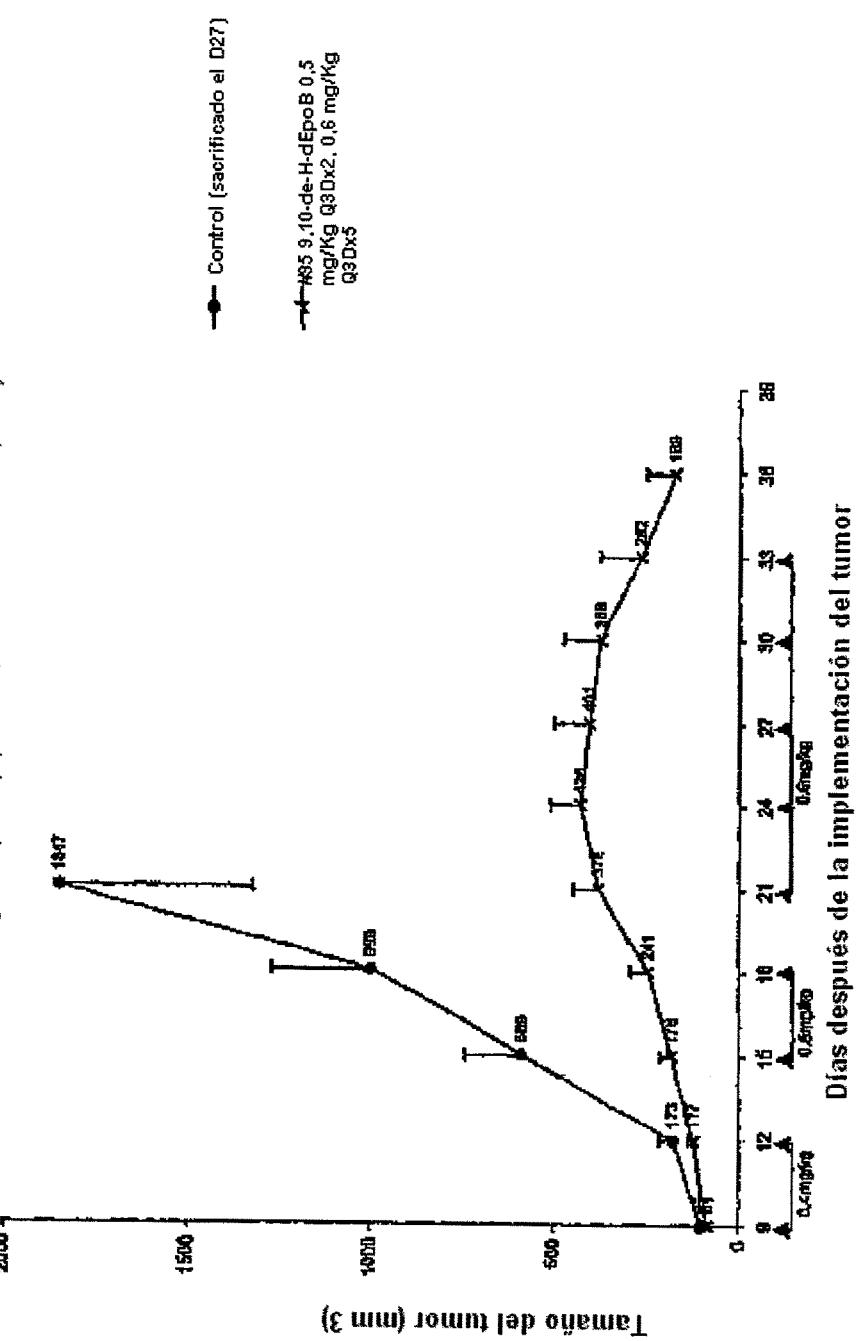


FIG. 55

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenooinjerto de tumor (MX-1) que siguen el tratamiento con 9,10-de-H-dEpoB (#95) (Q3Dx9, infusión i.v., 6 h., n=4)

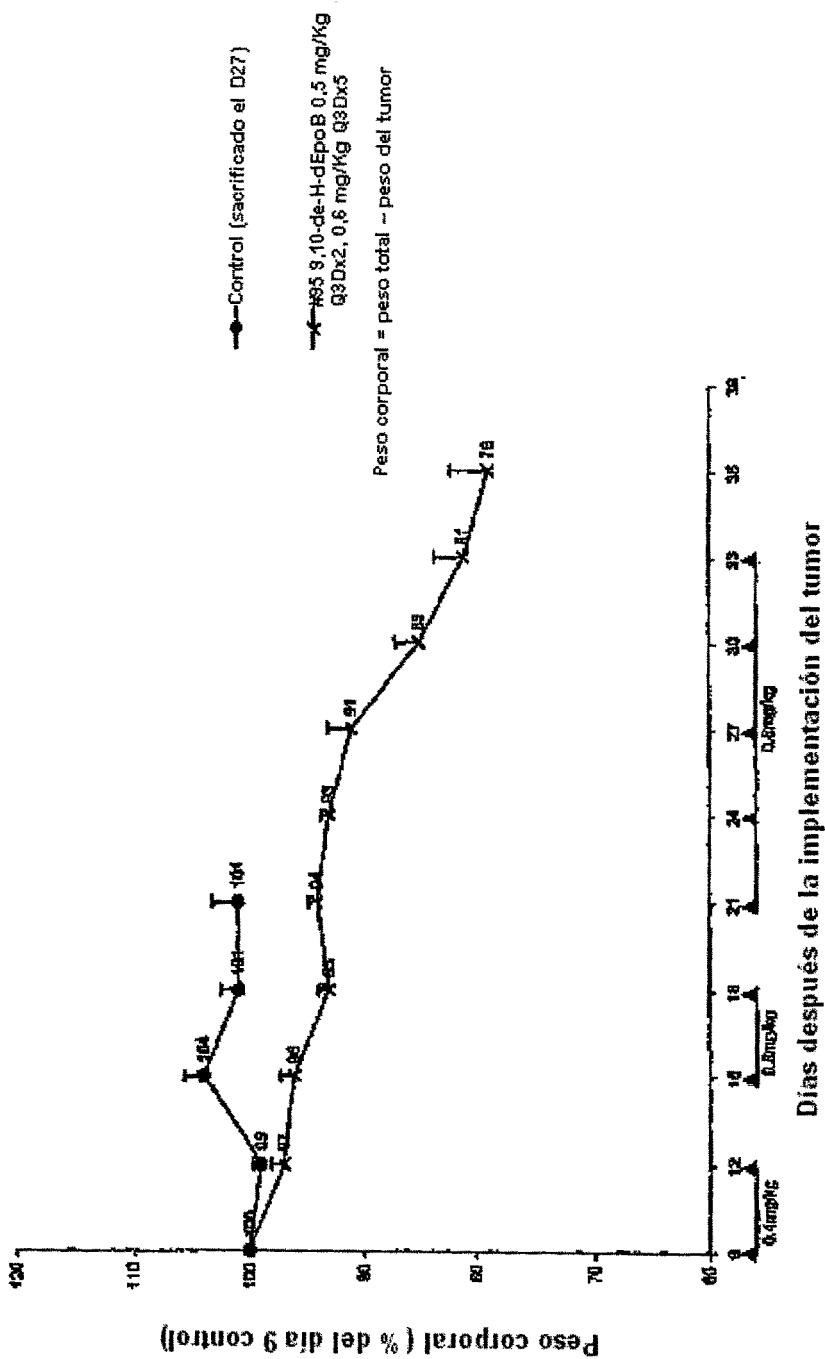


FIG. 56

Efecto terapéutico de la dosis baja del F3-9,10-deH-dEpoB (#89) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto (MX-1) (Q2Dx12 infusión i.v. 6 h., n=4)

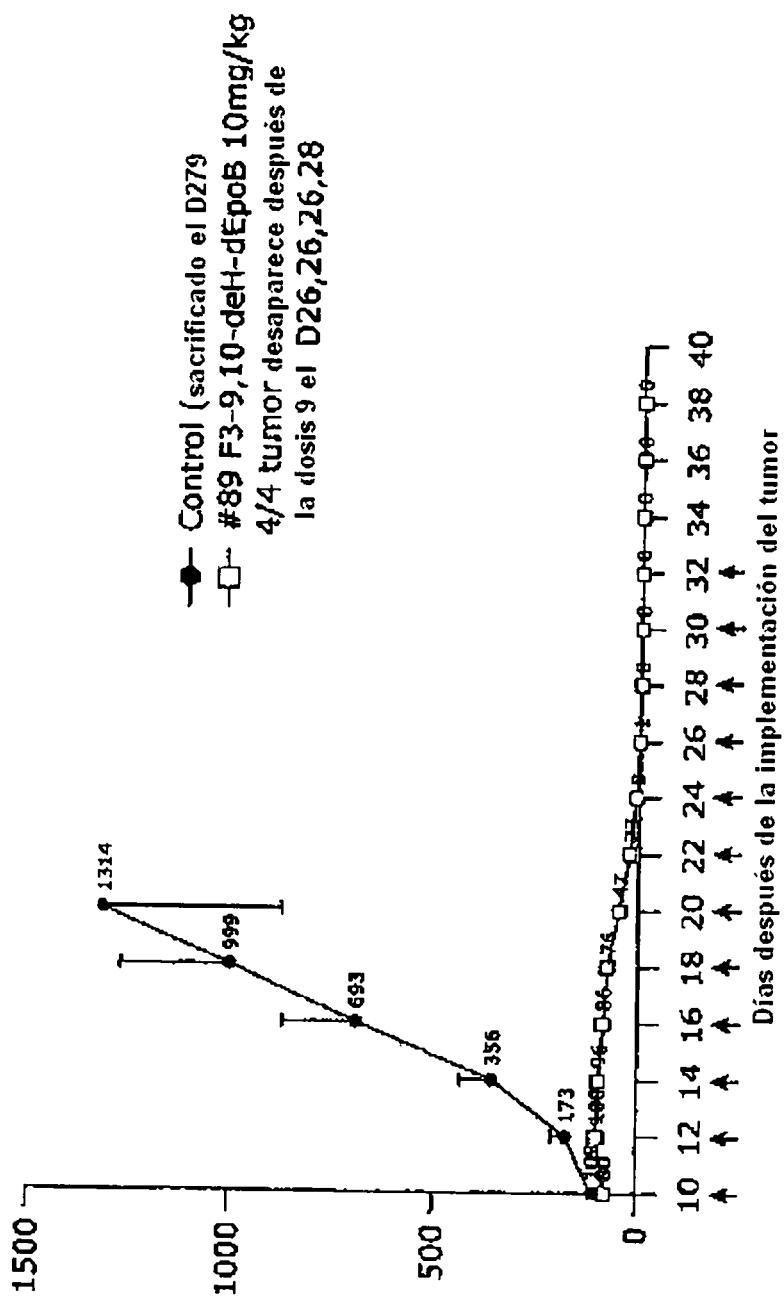
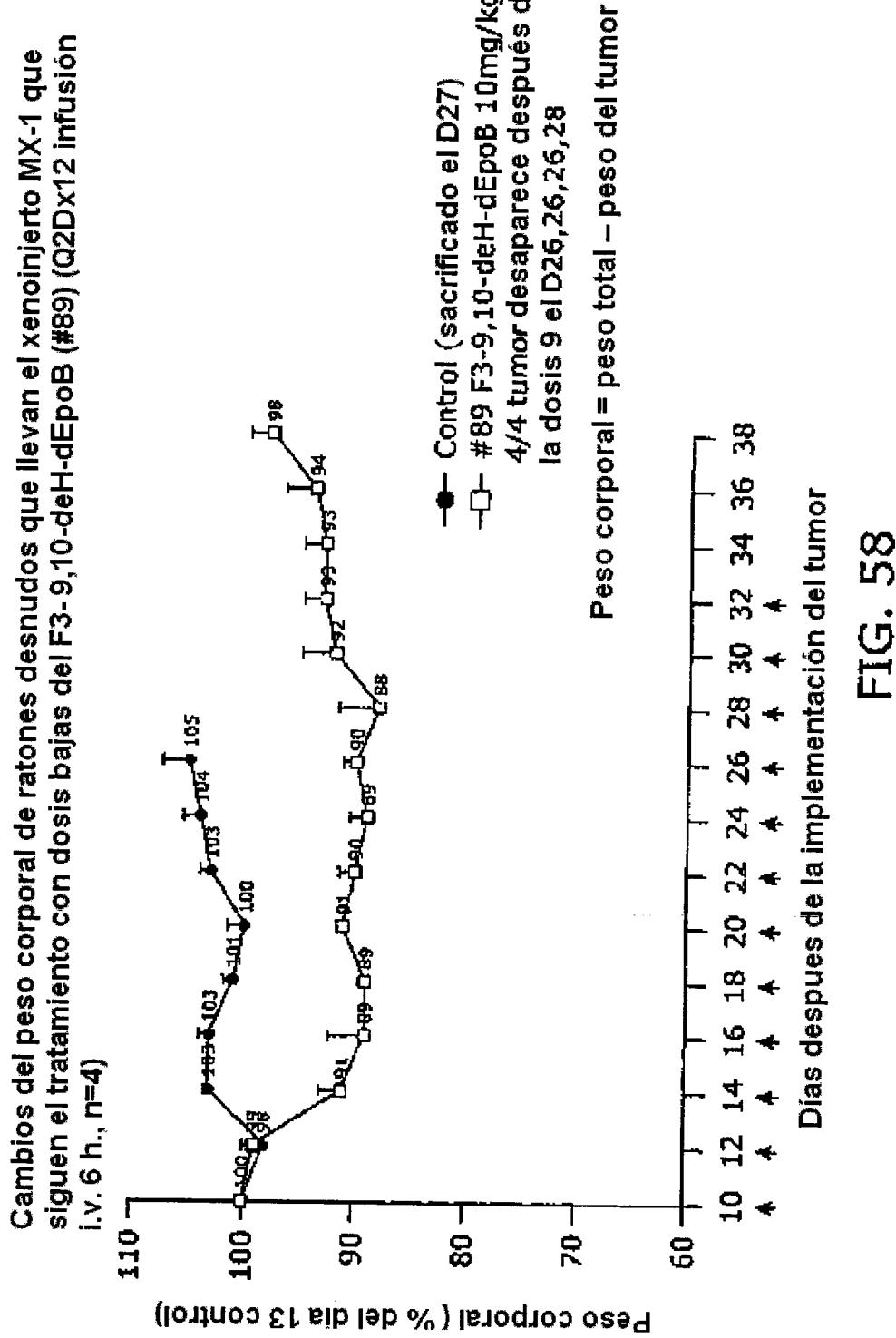


FIG. 57



ES 2 281 692 T3

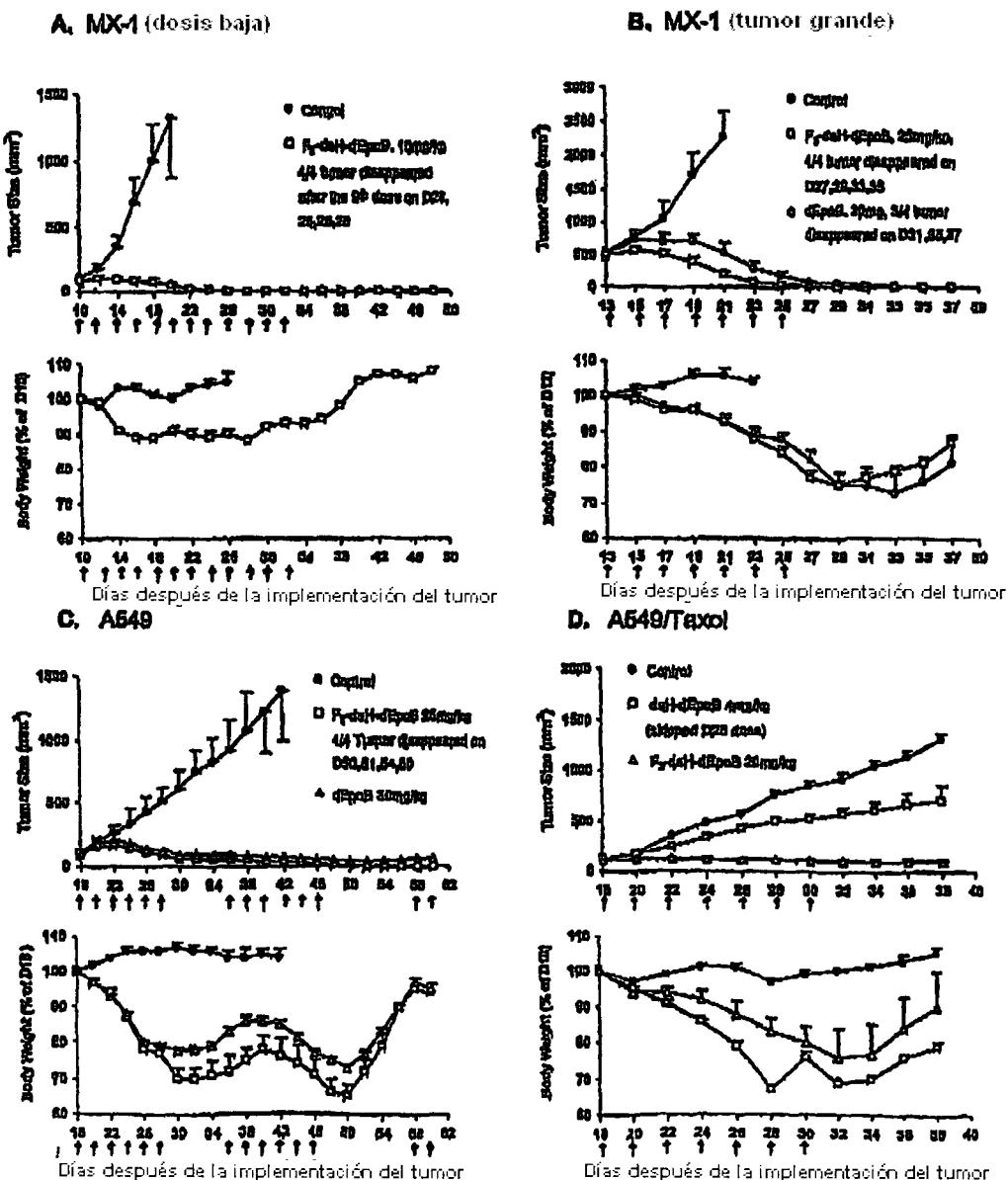


FIG 59

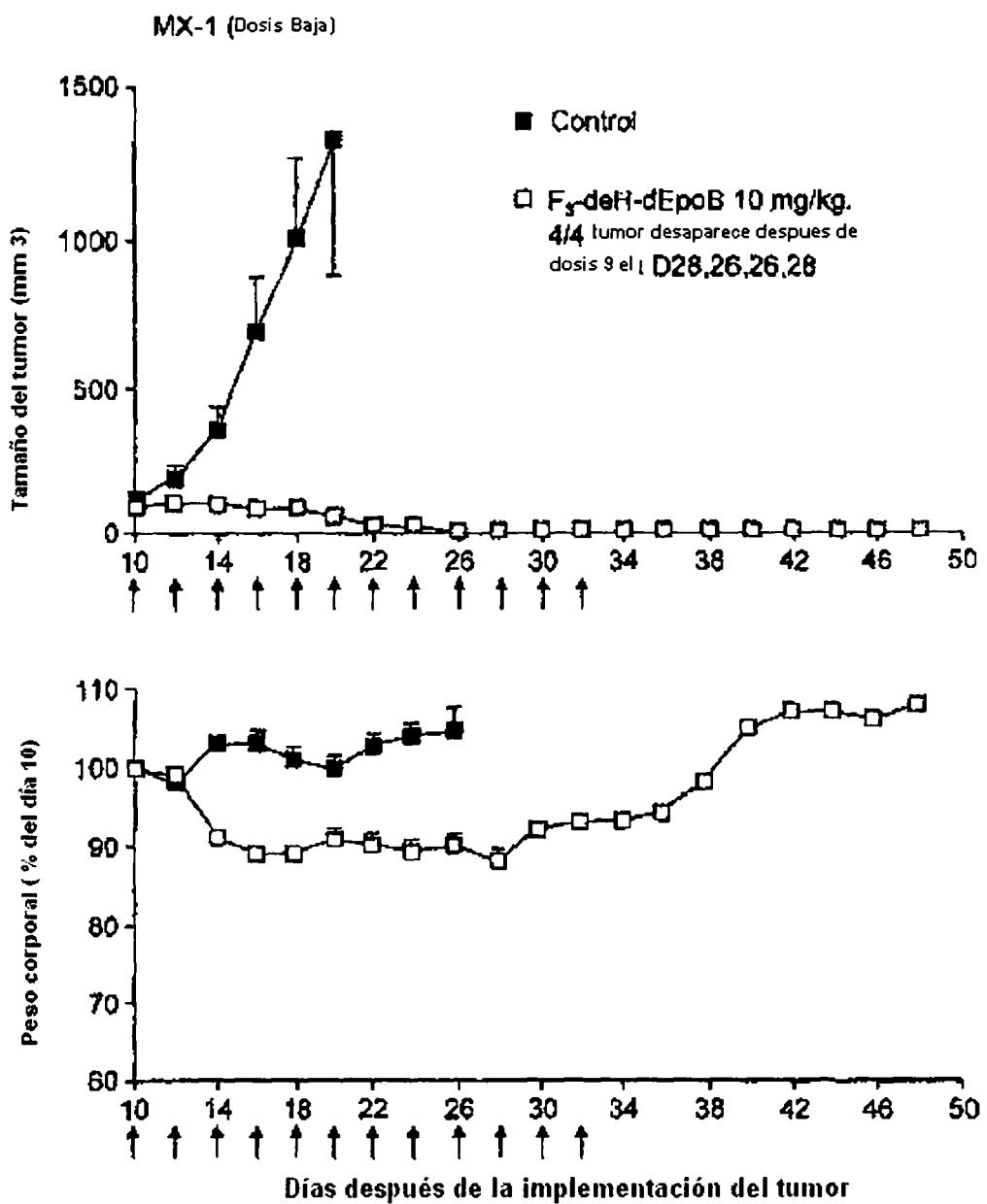


FIG. 59A

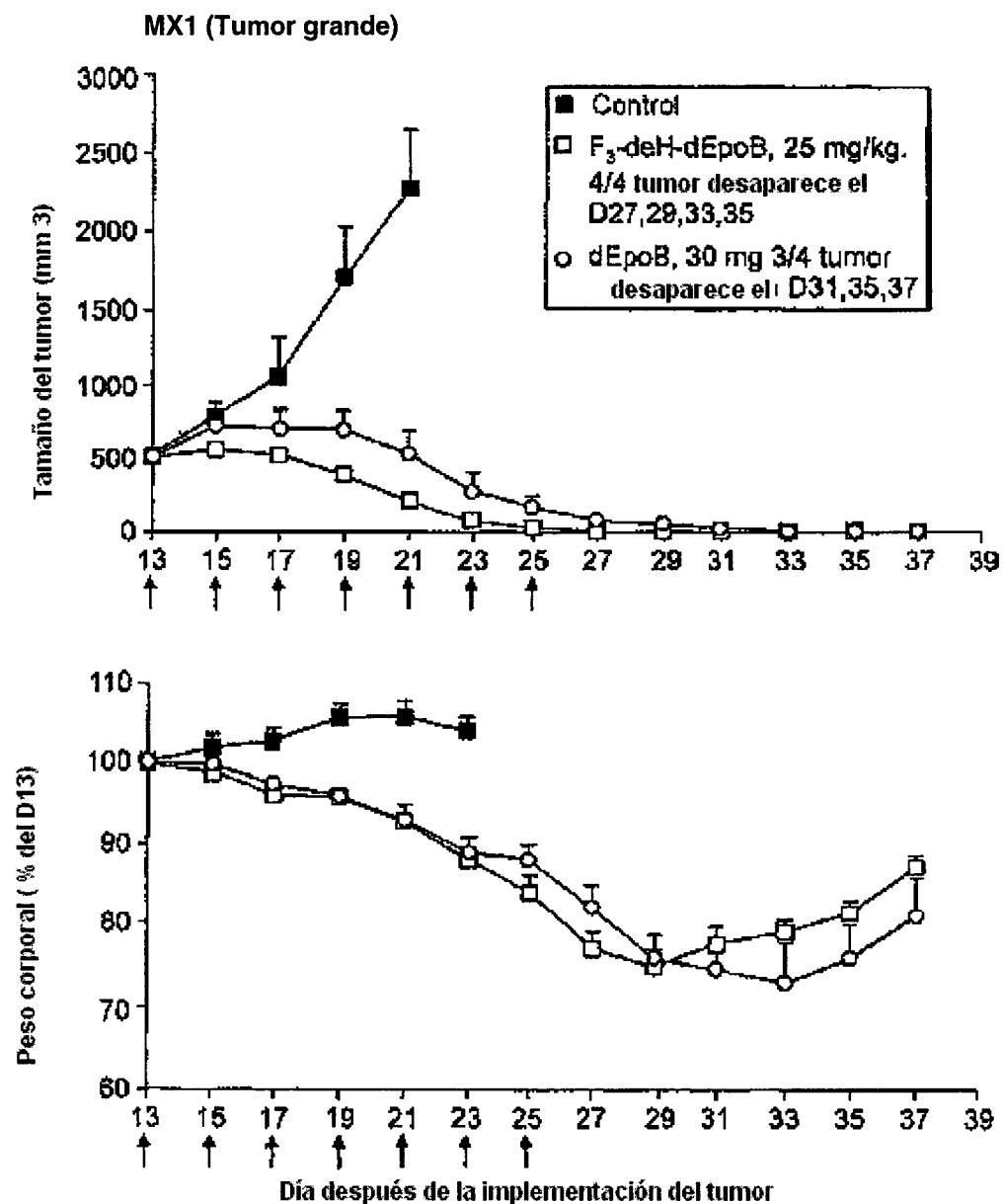


FIG. 59B

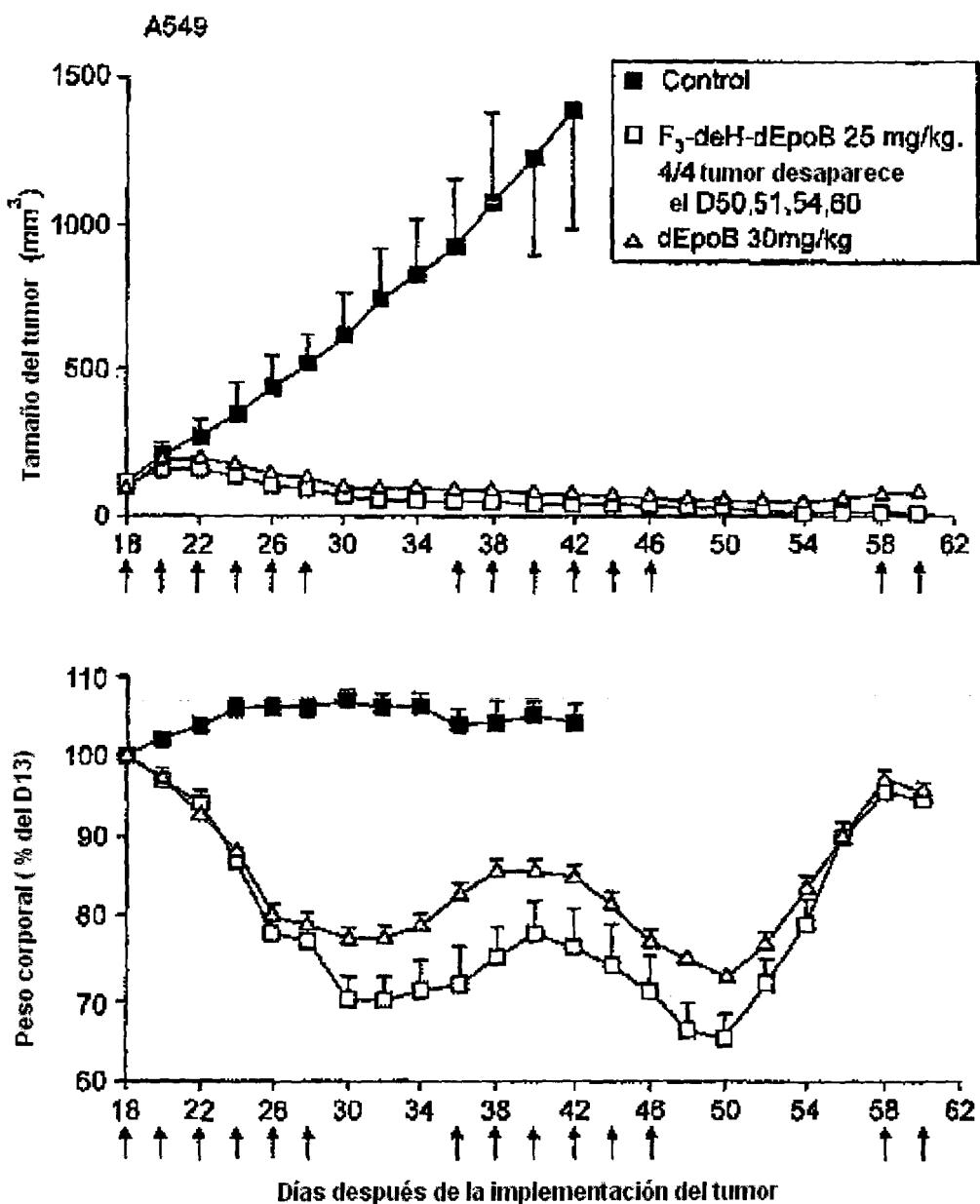


FIG. 59C

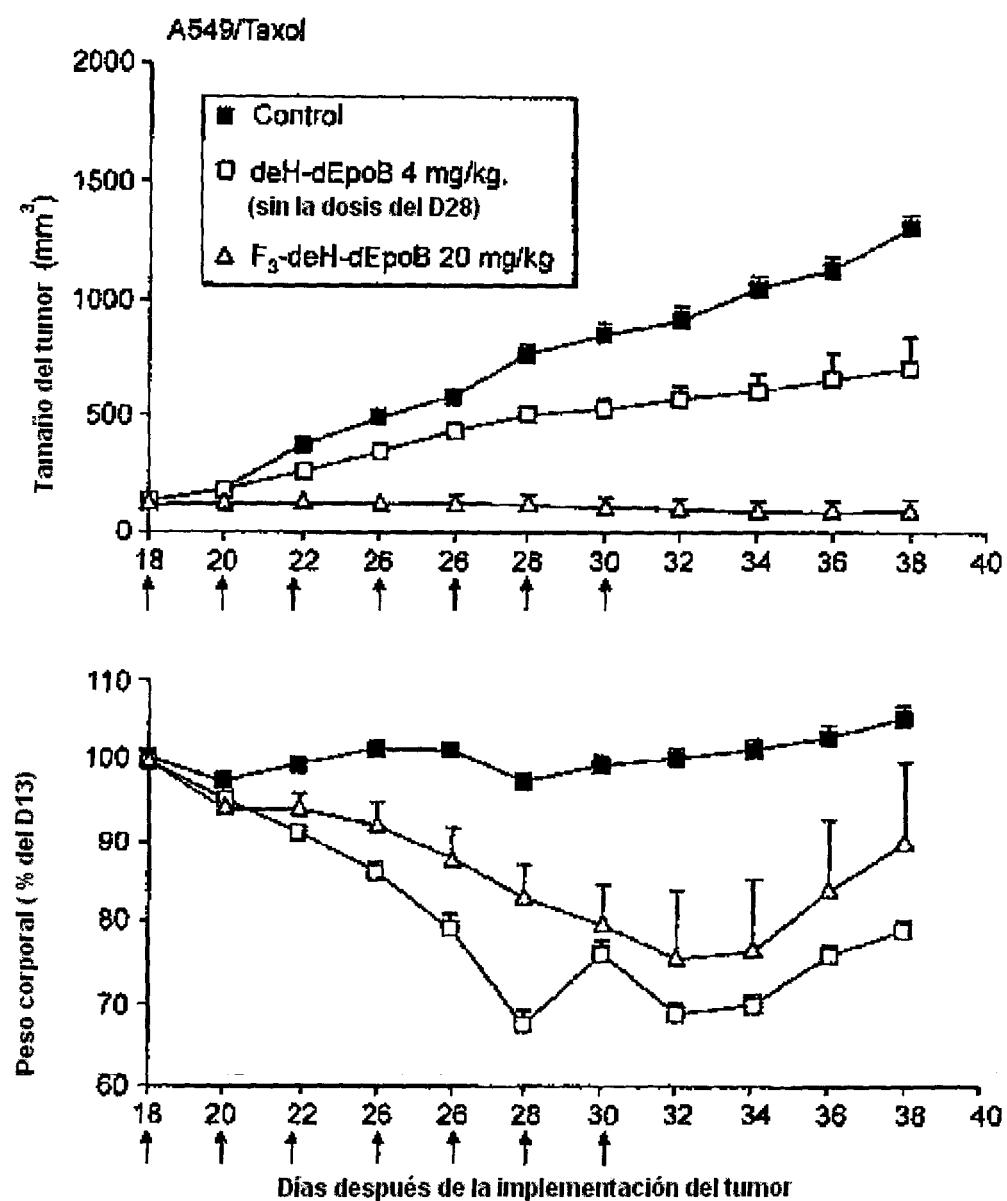


FIG. 59D

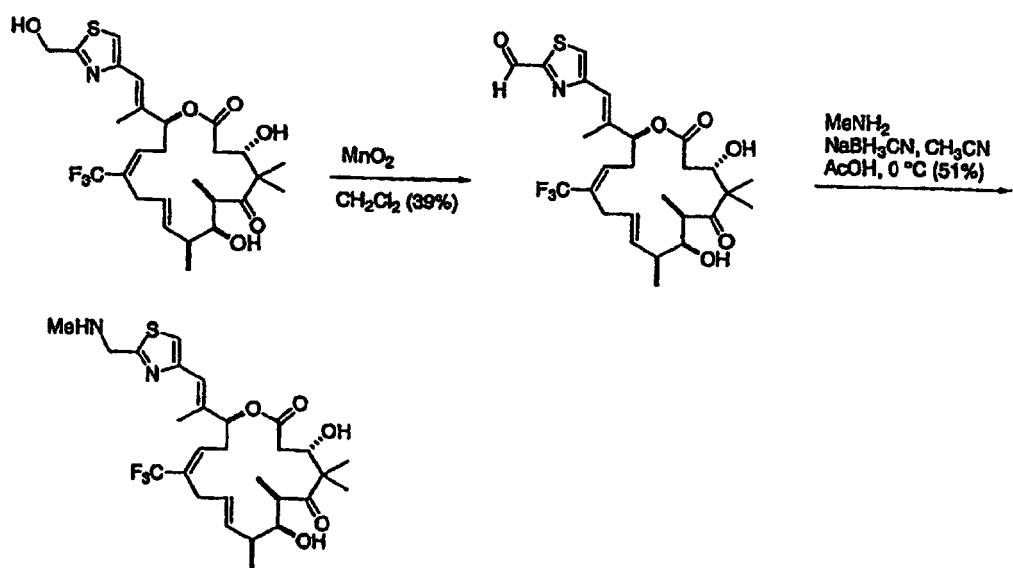


FIG. 60 A

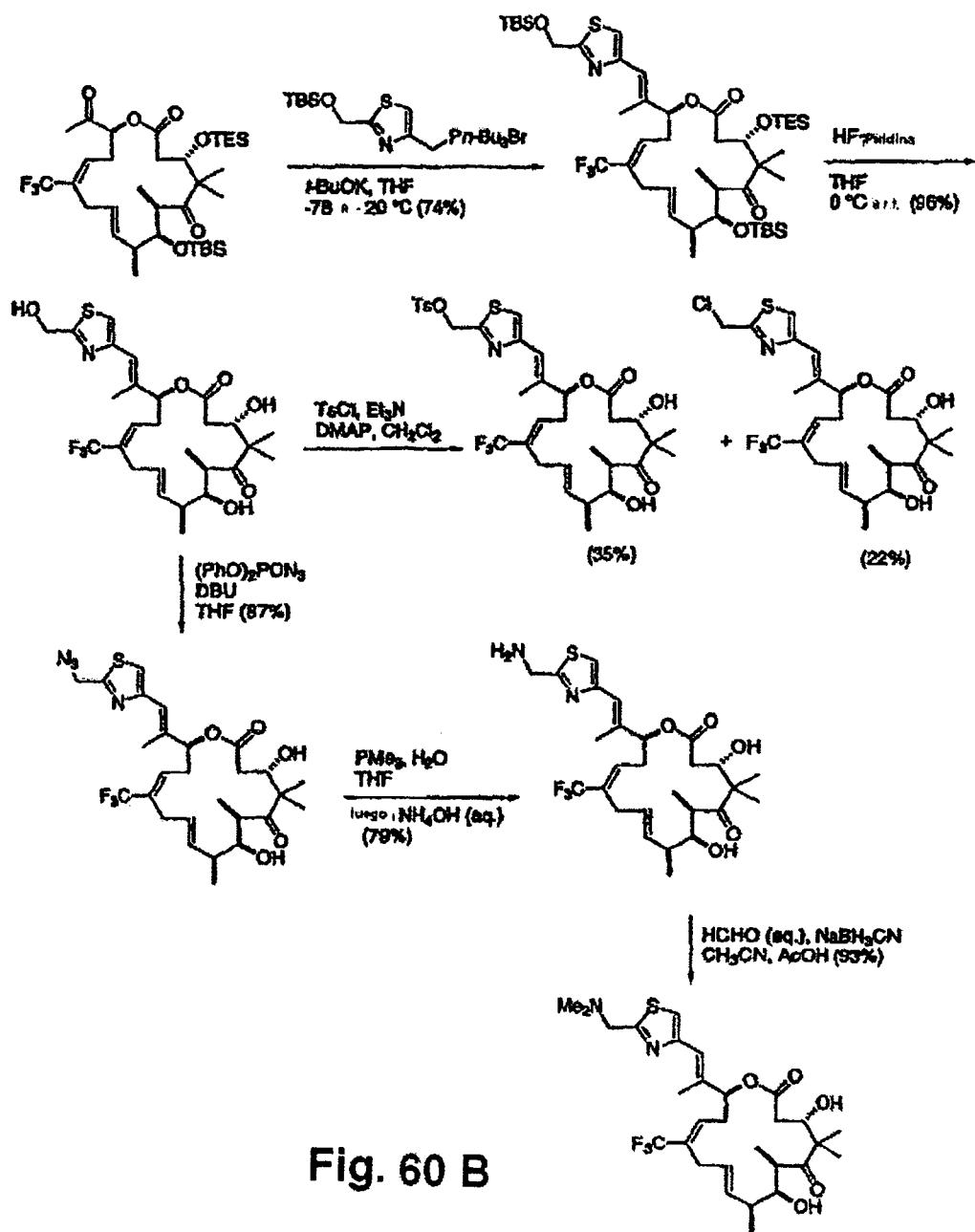


Fig. 60 B

Potencia de los Eptilones Modificados C-21 *In Vitro*

Compuesto	IC ₅₀ (μM)		
	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol
dEpoB	0.0056 ±0.0028	0.016 ±0.003 μM	0.0083 ±0.0053 μM
21-OH-dEpoB (dEpoF)	0.0013 ±0.0001	0.035 ±0.09 μM	0.0066 ±0.0031 μM
21-OH-9,10-deH-dEpoB	0.00051 ±0.00009	0.021 ±0.010 μM	0.0017 ±0.0010 μM
21-OH-9,10-deH-26-F ₃ -dEpoB	0.0013 ±0.0003	0.060 ±0.020 μM	0.0065 ±0.0007 μM
21-NH ₂ -F ₃ -deH-dEpoB	0.0023 ±0.0002	0.163 μM	0.039 μM
21-(CH ₂) ₂ N-F ₃ -deH-dEpoB	0.018	1.70 μM	0.503 μM
21-CH ₃ NH-F ₃ -deH-dEpoB	0.020	3.06 μM	0.382 μM
21-Cl-F ₃ -deH-dEpoB	0.0057 ±0.0006	0.049 μM	0.017 μM

FIG 61

Efecto terapéutico del F3 9,10-de-H-dEpoF & Taxol en ratones desnudos que llevan xenoinjerto CCRF-CEM de leucemia Linfoblástica de célula-T humana (infusión i.v., 6 h, Q2Dx8)

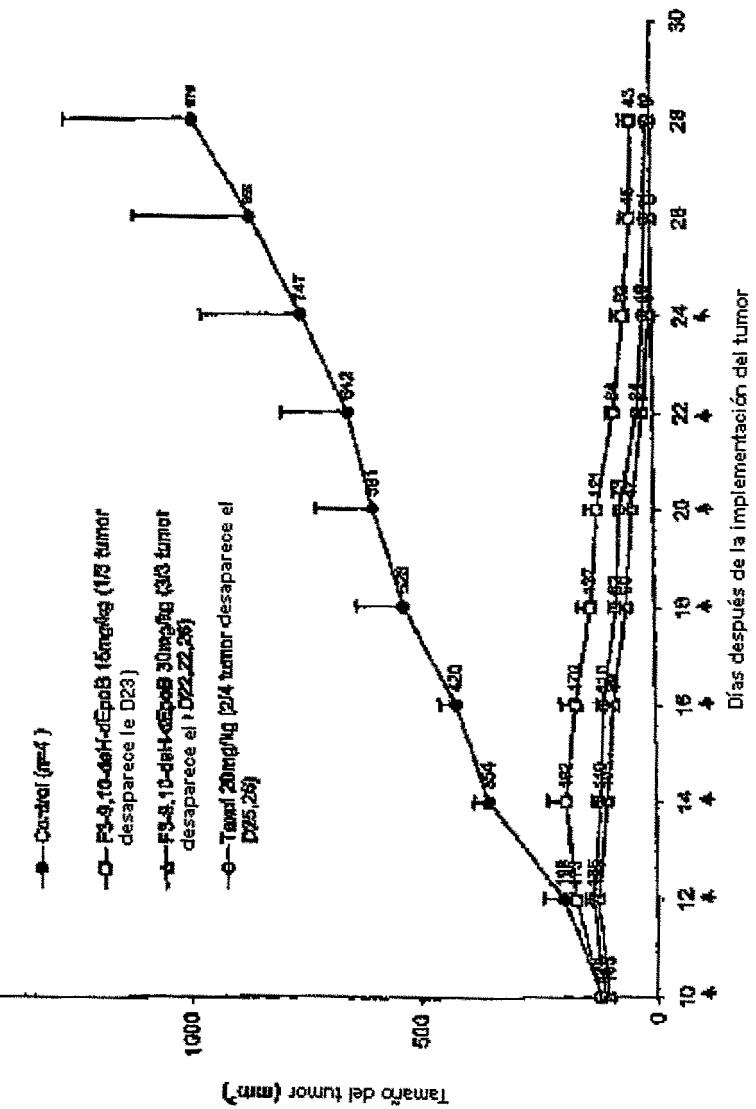


FIG. 62

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto CCRF-CEM de leucemia Linfoblástica de célula-T humana: Tratamiento con F3-9,10-de-H-dEpoF & Taxol (infusión i.v., 6 h., Q2Dx8)

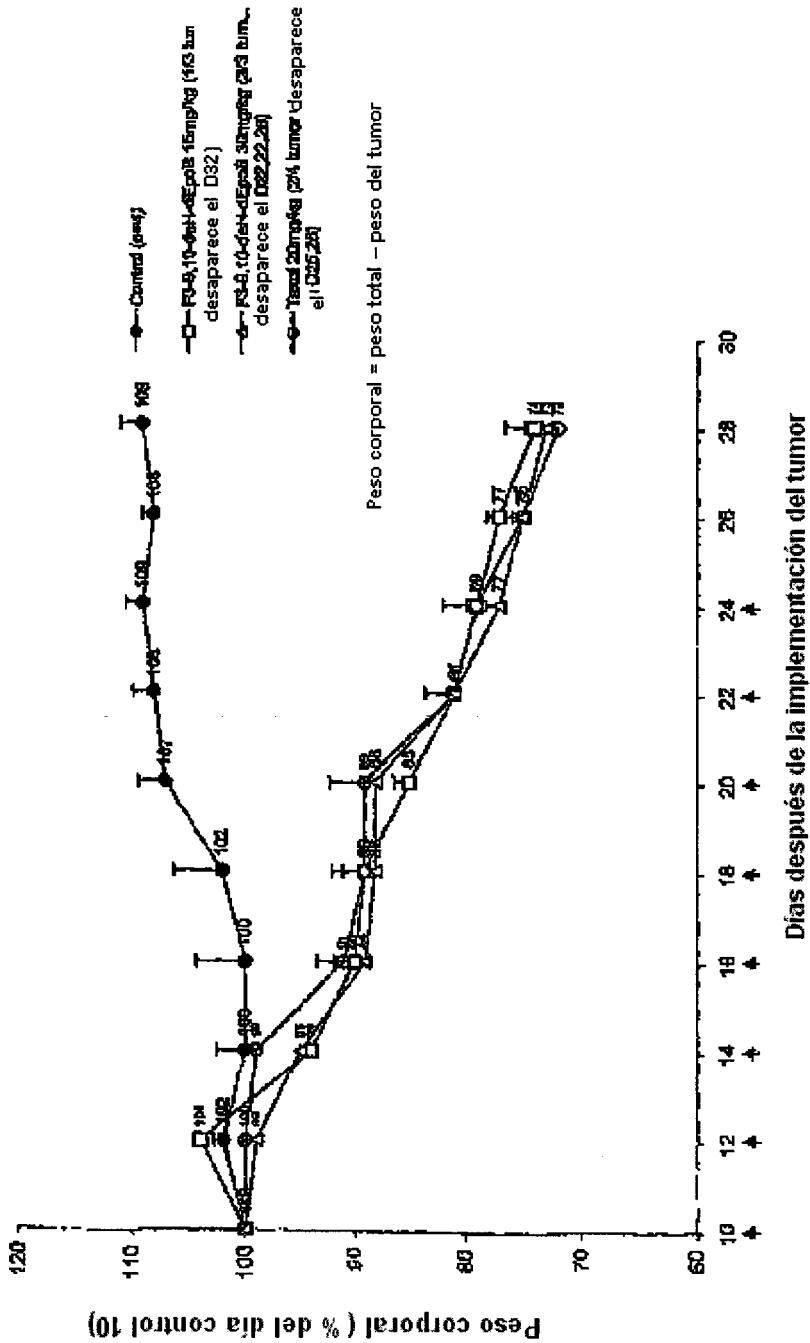


FIG. 63

Efecto terapéutico del F3-9,10-de-H-dEpoB & Taxol en ratones desnudos que llevan xenoinjerto CCRF-CEM/Tumour de leucemia Linfoblástica de célula-T humana (infusión i.v., 6 h., Q2Dx7, x5)

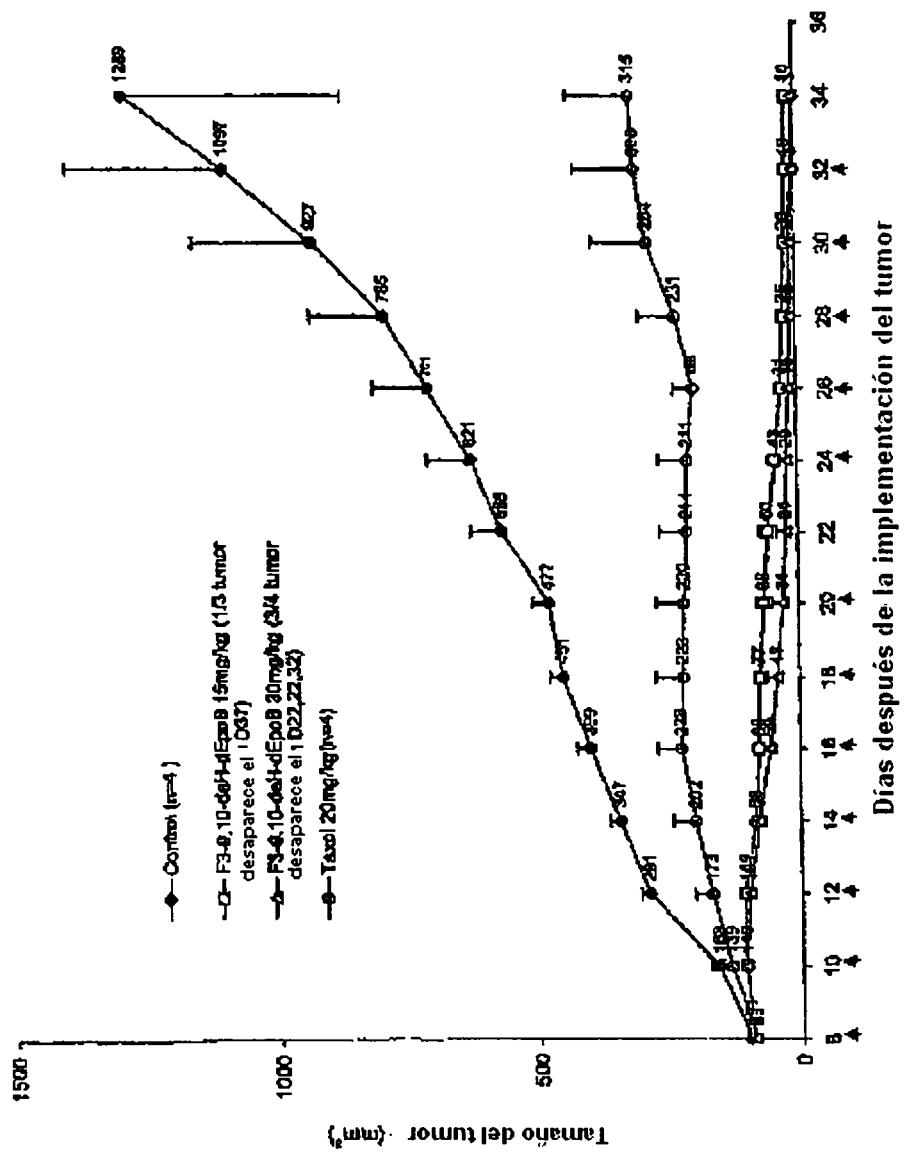


FIG. 64

• Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinyerto (Taxol resistente) CCRF-CEM/Taxol de leucemia Linfoblástica de célula-T humana: Tratamiento con F3.9,10-de-H-dEpoB & Taxol (infusión i.v., 6 h., Q2Dx7, x5)

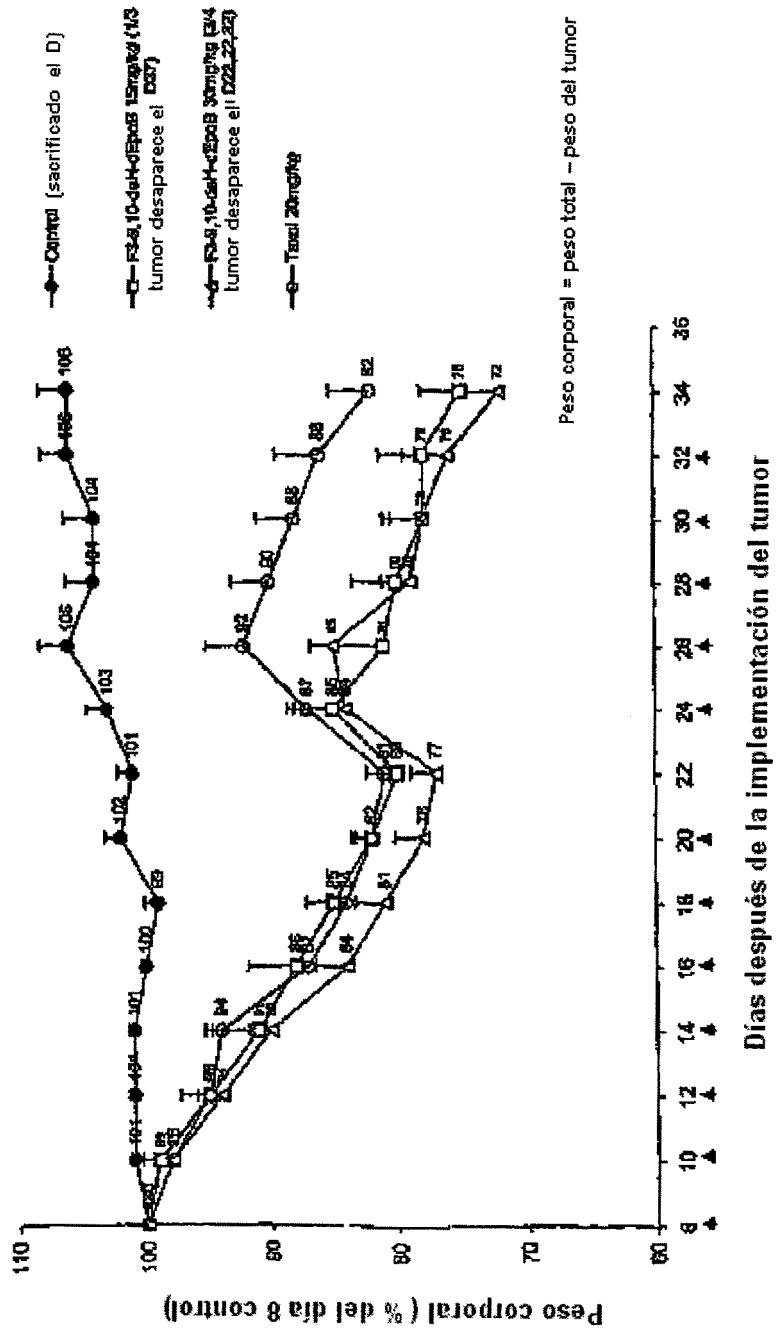


FIG. 65

Efecto terapéutico del F3-9,10-de-H-dEpoB & Taxol en ratones desnudos que llevan xenoinjerto HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión i.v., 6 h., Q2Dx4, x2, n=4)

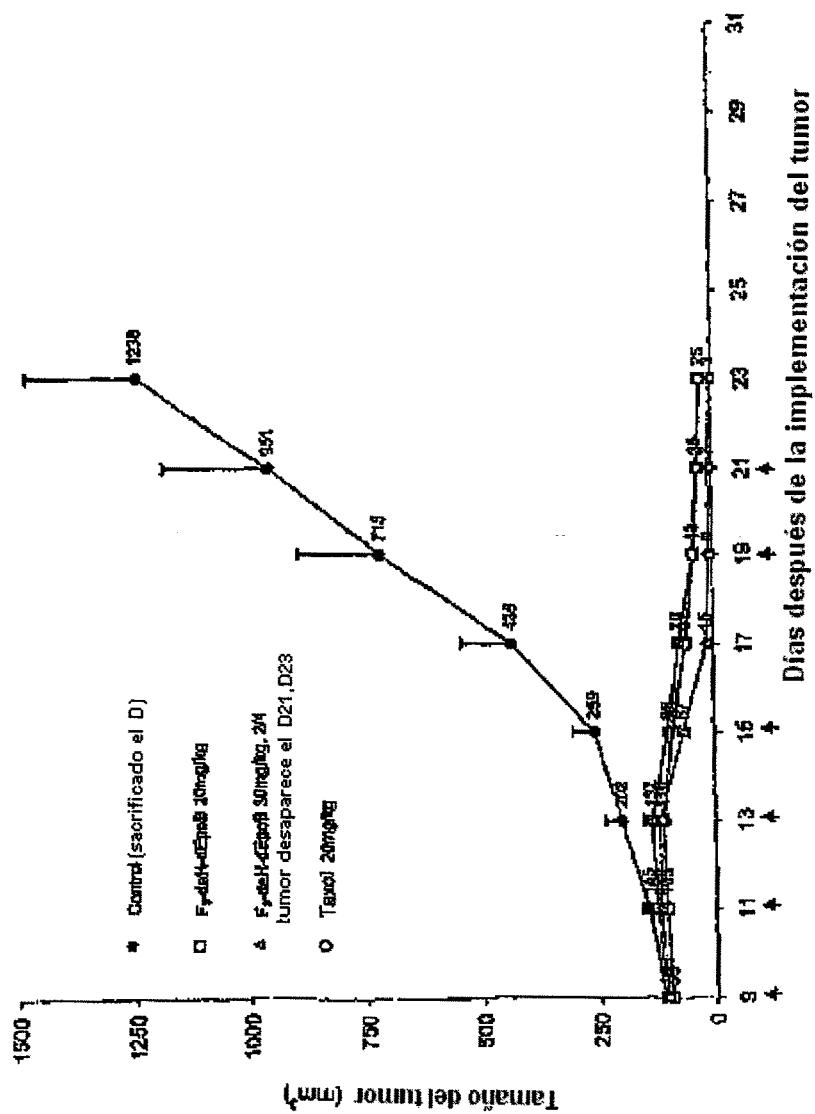


FIG. 66

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto HCT-116 de carcinoma de colon humano: Tratamiento con F3.9, 10-de-H-dEpoB & Taxol (infusión i.v., 6 h, Q2Dx4, x2, n=4)

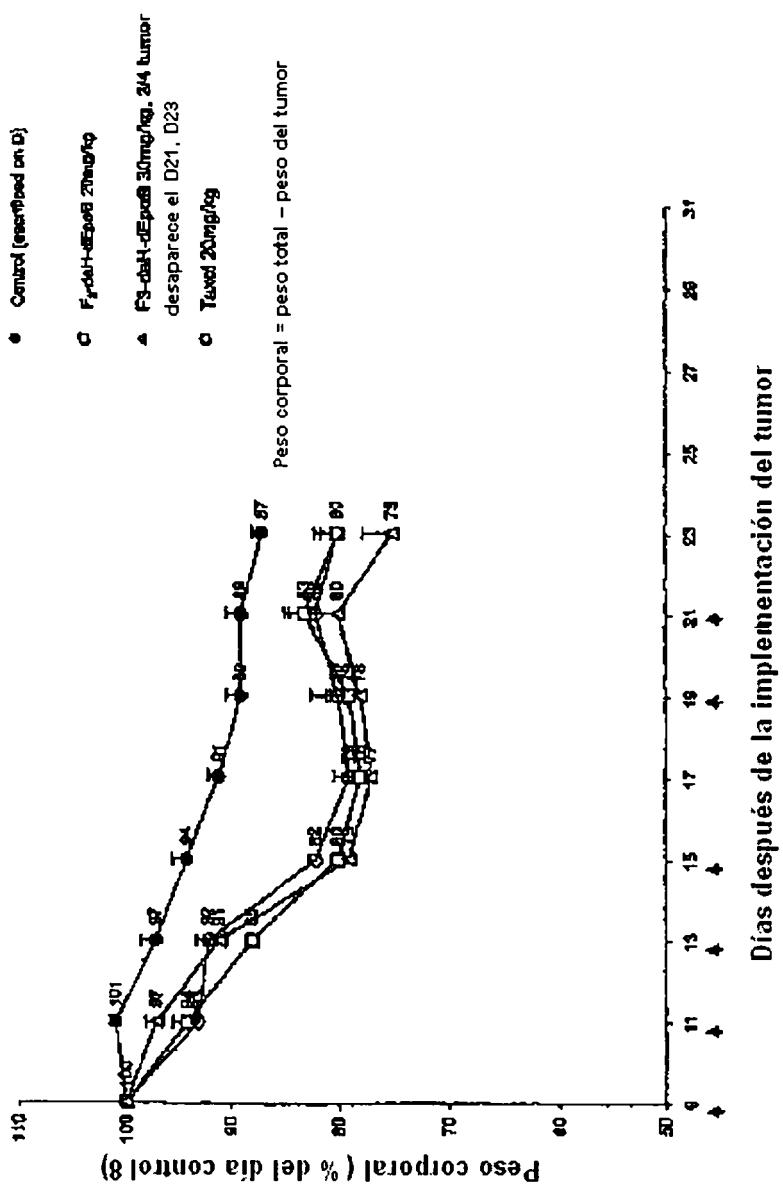


FIG. 67

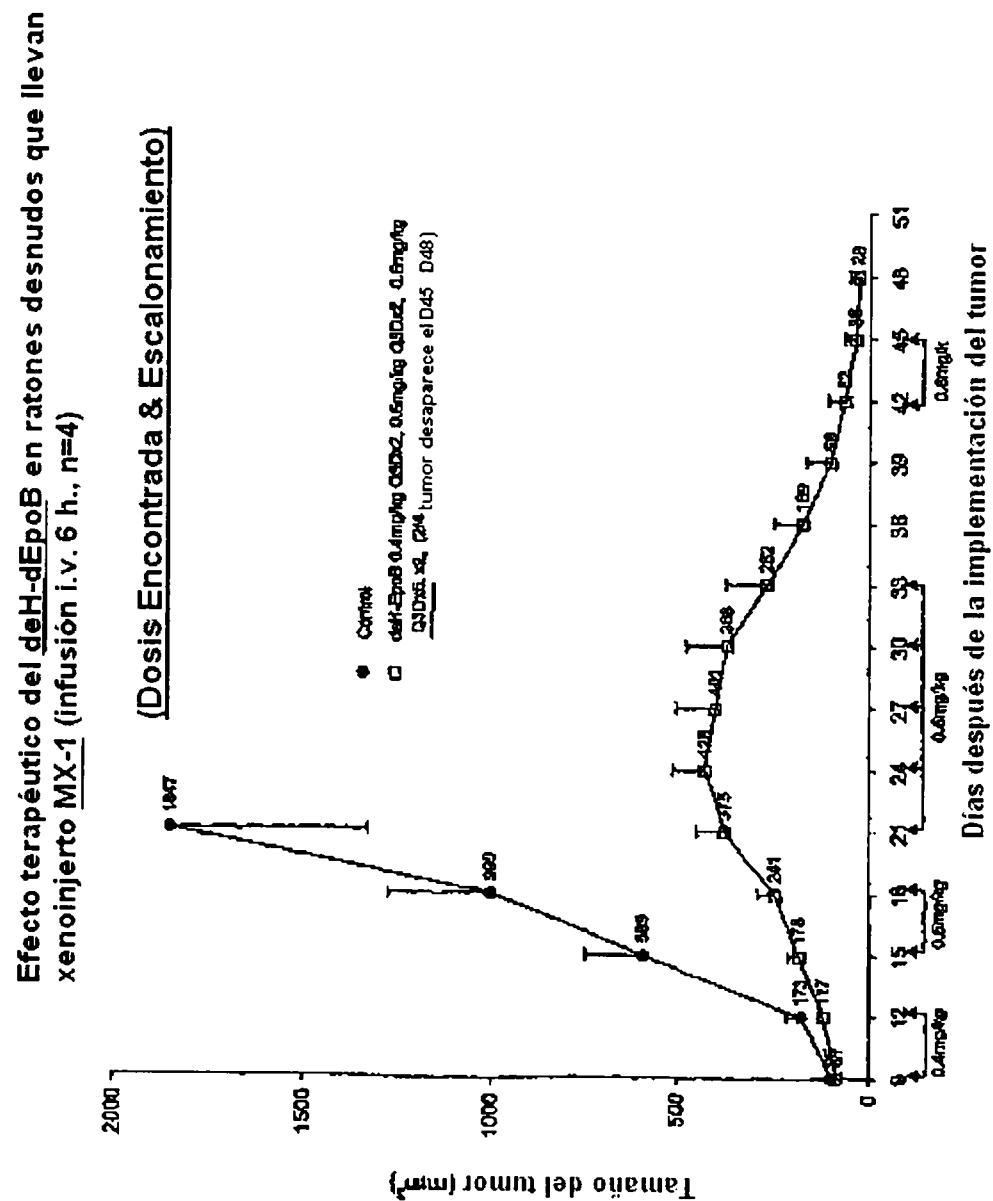


FIG. 68

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano: Tratamiento con dEH-dEpoB (infusión i.v., 6 h., n=4)

(Dosis Encotrada & Escalonamiento)

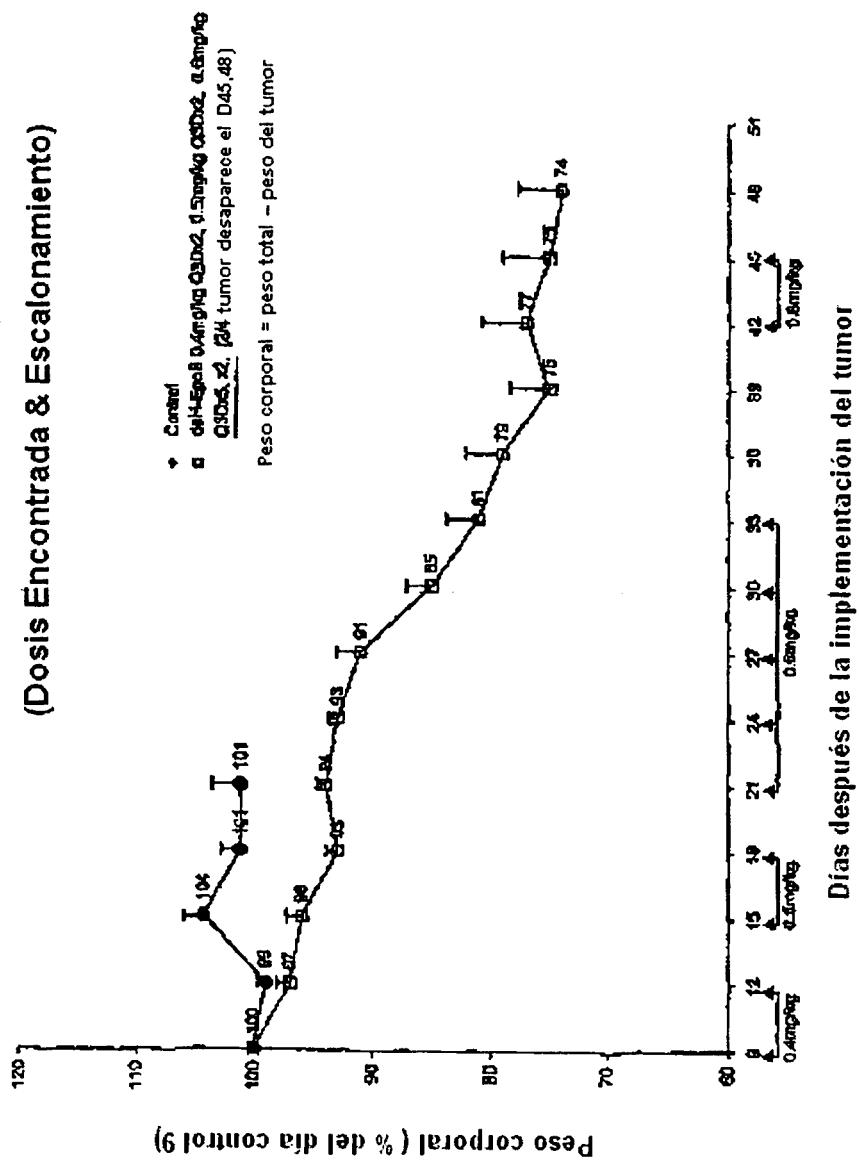


FIG. 69

Efecto terapéutico del 9,10-dih-EpoB en ratones desnudos que llevan xenoinjerto CCRF-CEM/Taxol de leucemia linfoblástica de célula-T humana (taxol resistente) (infusión i.v., 6 h., Q3Dx5, x2, n=4)

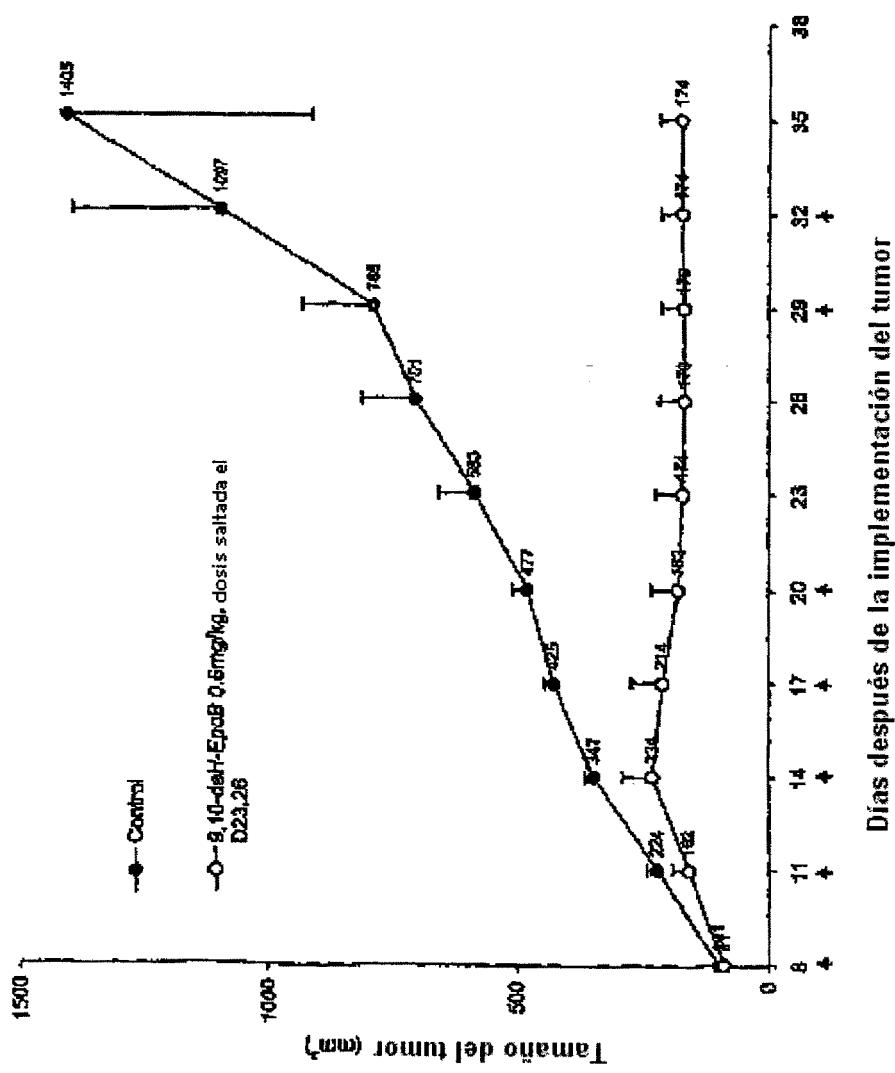


FIG. 70

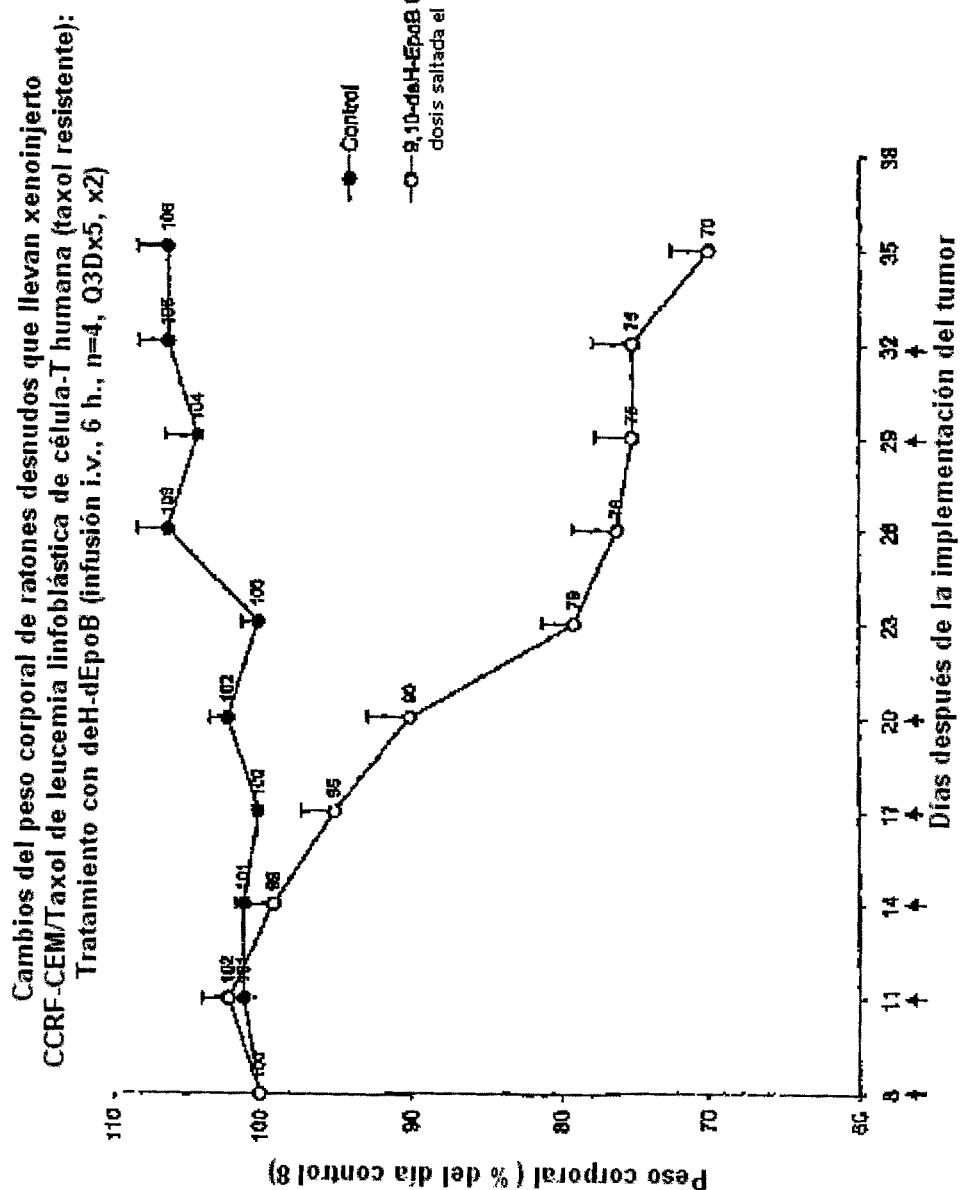


FIG. 71

Efecto terapéutico del F3,dEpoB & F3-deH-EpoF en ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano (Q2Dx11, inyección i.v., n=4)

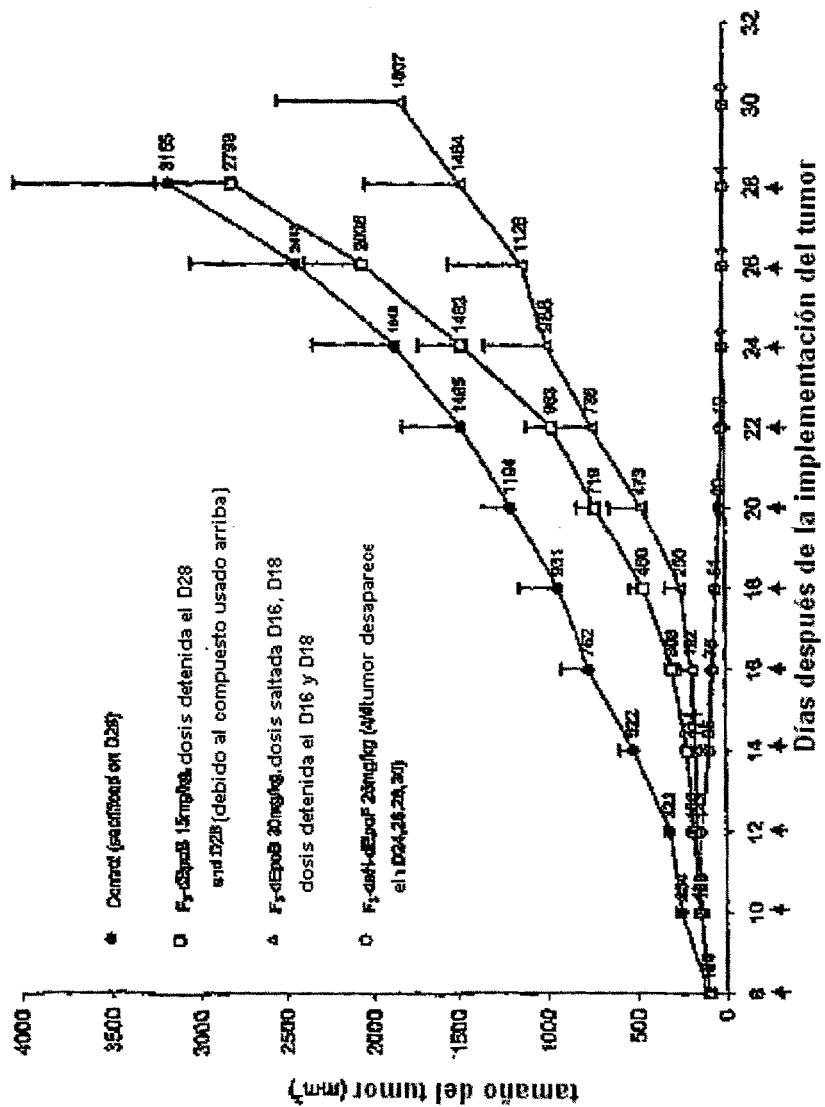


FIG. 72

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto
MX-1 de carcinoma mamario humano: Tratamiento con F3,dEpoB &
F3-deH-EpoF (Q2Dx11, inyección i.v., n=4)

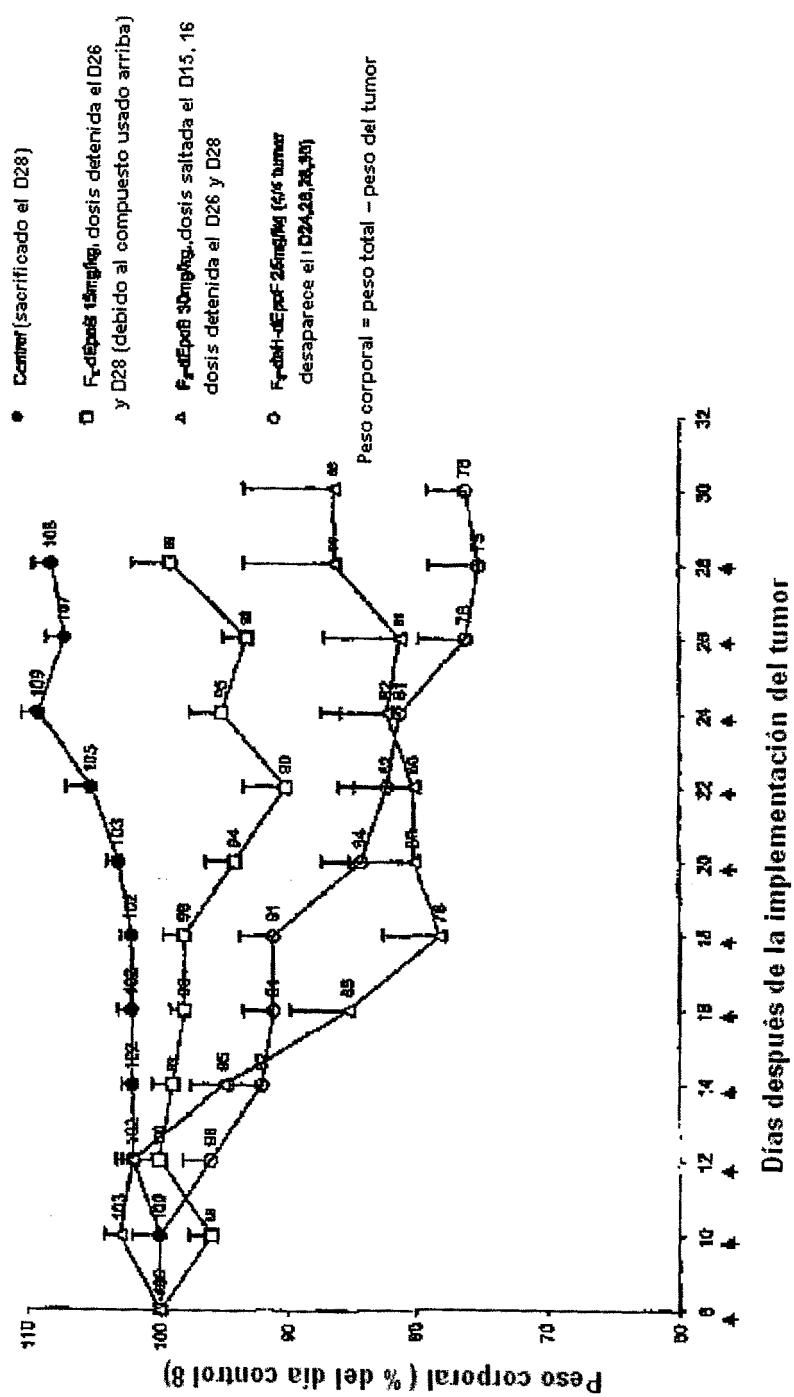


FIG. 73

Efecto terapéutico del dEpoB en ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 de carcinoma mamario humano (Q3DX9, infusión i.v.-6 h., n=4)

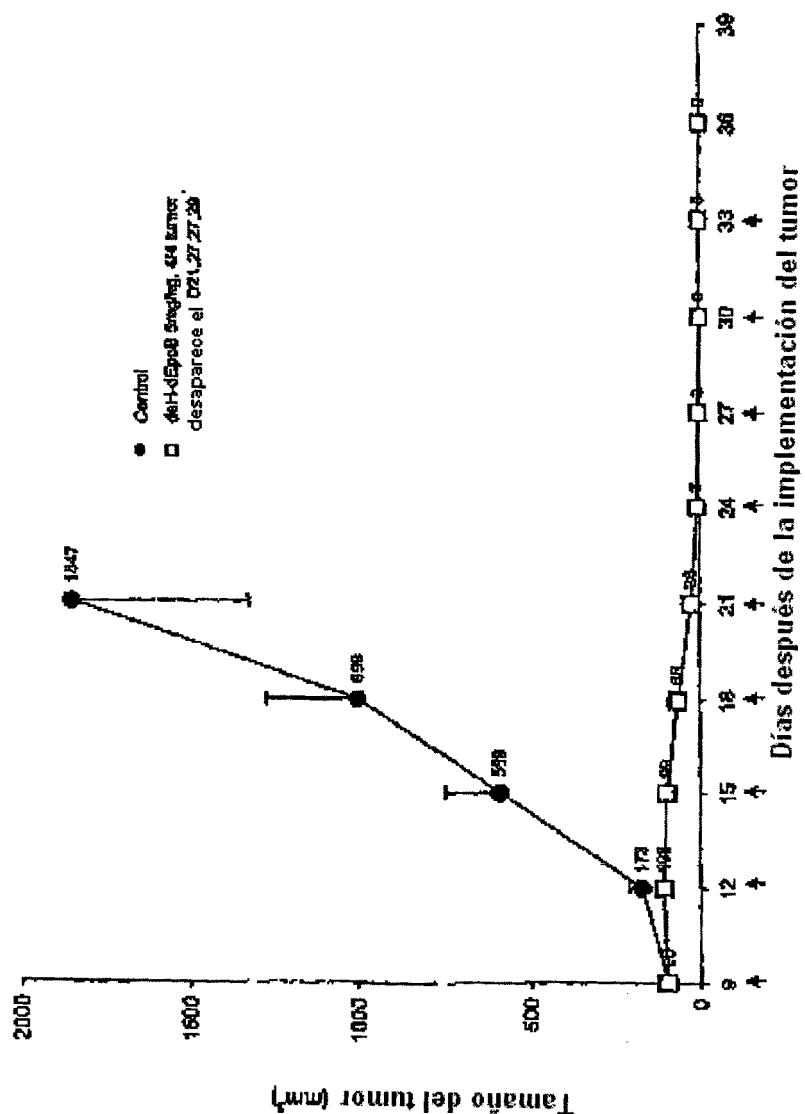


FIG. 74

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinyerto
MX-1 de carcinoma mamario humano: Tratamiento con deH-dEpoB (Q3Dx9,
infusión i.v.-6 h., n=4)

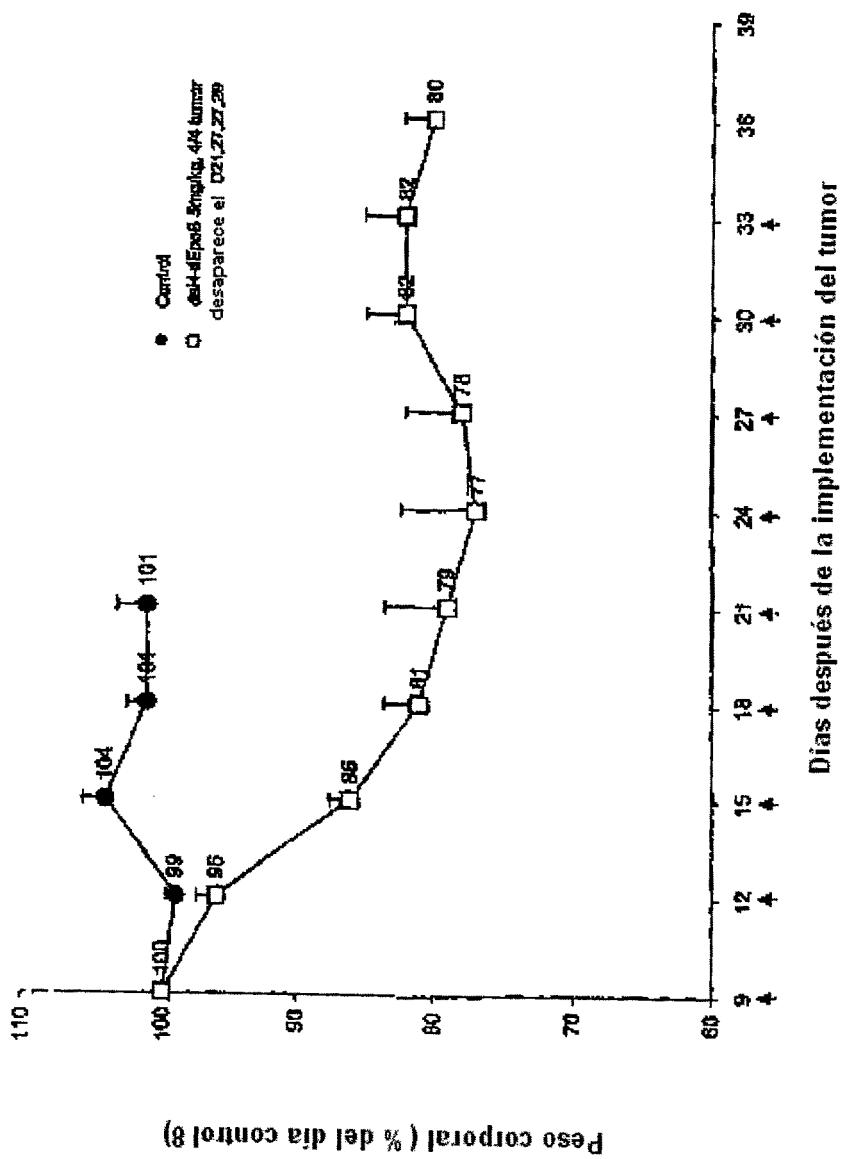


FIG. 75

Efecto terapéutico del F-9,10-deH-dEpoF (#99) en ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 de carcinoma pulmonar humano (infusión i.v.-6 h. & inyección i.v., n=4)

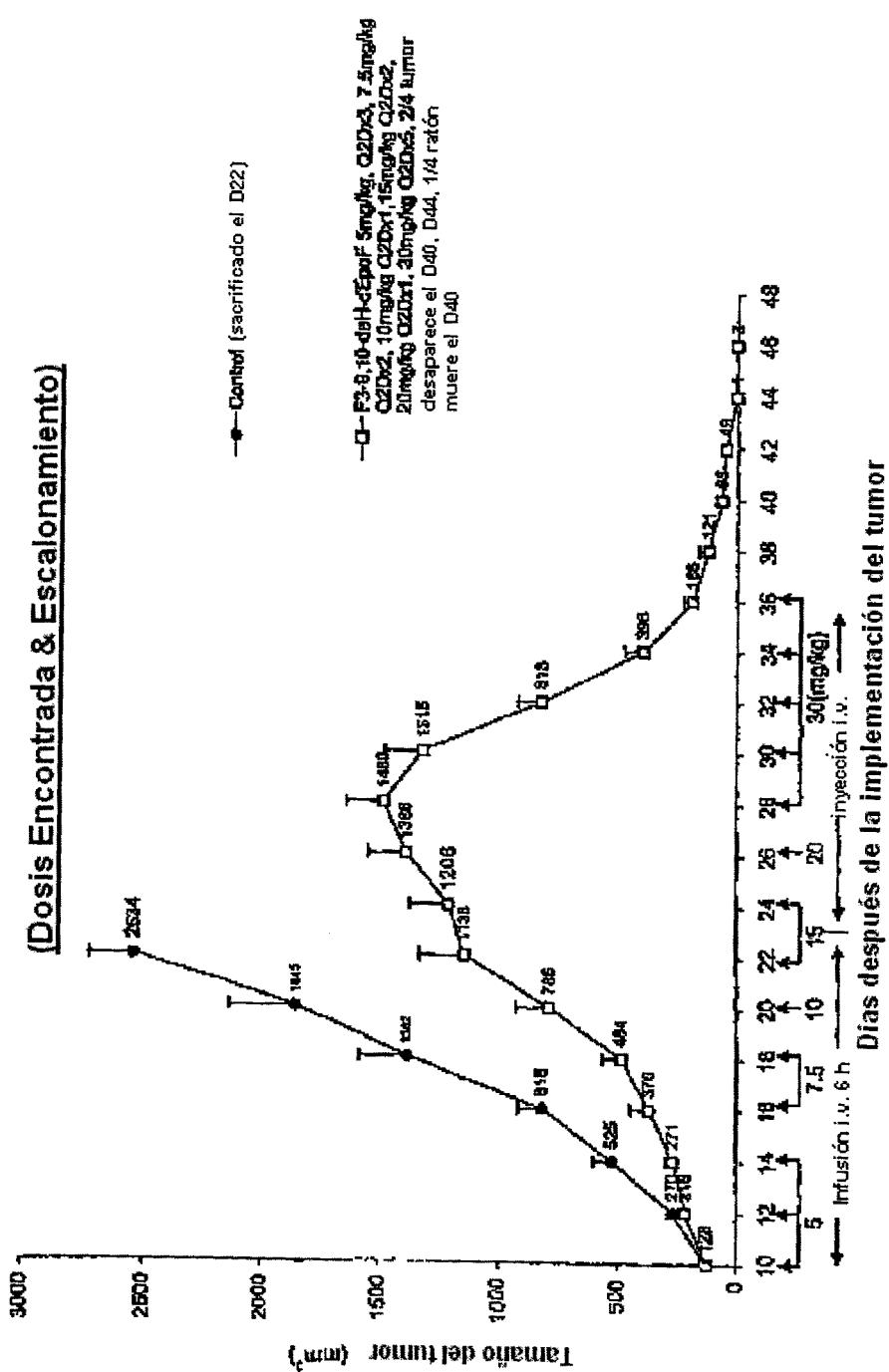


FIG. 76

Cambios del peso corporal de ratones desnudos que llevan xenoinjerto MX-1 que siguen el tratamiento con F, 9,10-deH-dEpoF (#99) (infusión i.v.-6 h. & inyección i.v., n=4)

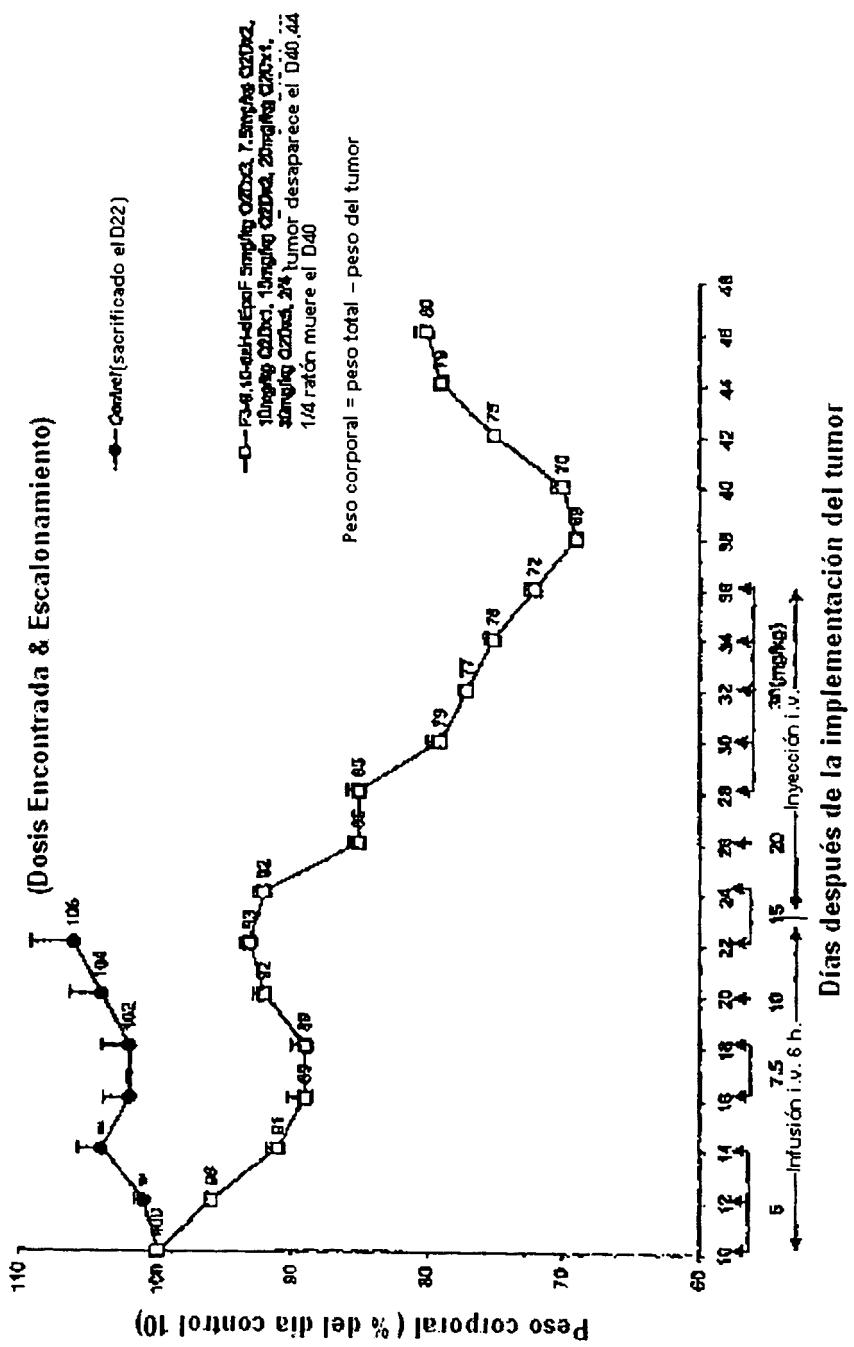


FIG. 77