



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 336 937**

51 Int. Cl.:

C07D 419/06 (2006.01) **C07D 413/06** (2006.01)

C07D 493/04 (2006.01) **A61K 31/425** (2006.01)

C07D 417/06 (2006.01) **C07D 313/00** (2006.01)

C07D 303/00 (2006.01) **C07D 277/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06026750 .7**

96 Fecha de presentación : **22.08.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1767535**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.03.2007**

54

Título: **Síntesis de epitolonas, sus intermedios, análogos y usos.**

30

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

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
19.04.2010

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
19.04.2010

73

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

72

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

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 336 937 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 epotilonas, sus intermedios, análogos y usos.

5 Antecedentes de la invención

Las epotilonas A y B (2a y 2b, Esquema 1) son macrólidos citotóxicos de origen natural aisladas de una micobacteria degradante de celulosa, *Sorangium cellulosum* (Höfle y col. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1996, 35, 1567 y *J. Antibiot.* 1996, 49, 560; cada uno de los cuales se incorpora en el presente por referencia). A pesar de sus estructuras enormemente diferentes, las epotilonas A y B comparten el mismo mecanismo de acción que el paclitaxel (Taxol®) que implica la inhibición del crecimiento de células tumorales por polimerización de la tubulina y estabilización de ensamblajes microtubulares (Bollag y col. *Cancer Res.* 1995, 55, 2325; incorporado como referencia). A pesar de su valor clínico incuestionable como un agente terapéutico de primera línea, el Taxol® está lejos de ser un fármaco ideal. Su hidrosolubilidad marginal requiere recurrir a la formulación de vehículos tales como Cremophores que plantean sus riesgos y asuntos de gestión propios (Essayan y col. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1996, 97, 42; incorporado en el presente documento por referencia). Además, el Taxol® es vulnerable a la desactivación por resistencia múltiple a fármacos (MDR) (Giannakakou y col. *J. Biol. Chem.* 1997, 272, 17118; incorporado en el presente documento por referencia). Sin embargo, también se ha demostrado que las epotilonas A y B conservan potencia notable frente a células tumorales MDR (Kowalski y col. *Mol. Biol. Cell* 1995, 6, 2137; incorporado en el presente documento por referencia). Adicionalmente, la hidrosolubilidad aumentada en comparación con paclitaxel puede ser útil para poder formular las epotilonas. Aunque el compuesto de origen natural, epotilona B (2b, EpoB, en el Esquema 1), es un potente miembro de la familia de epotilona de productos naturales, posee desafortunadamente, al menos en ratones con xenotrasplante injerto, un índice terapéutico preocupantemente estrecho (Su y col. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1997, 36,1093; Harris y col. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 8434; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia).

Esquema 1

Taxoides y Epotilonas



1a R = Ph, Paclitaxel (axol)

1b R = *t*-Bu, Docetaxol (Taxotere)

2a, R₁ = H, R₂ = CH₃ Epotilona A (EpoA)

2b, R₁ = CH₃ R₂ = CH₃, Epotilona B (EpoB)

2c, R₁ = H, R₂ = CH₂OH, Epotilona E (EpoE)

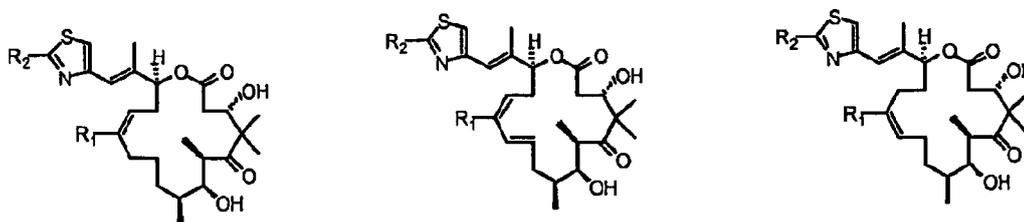
2d, R₁ = CH₃, R₂ = CH₂OH, Epotilona F (EpoF)

Dado el índice terapéutico limitado de EpoB, otros análogos de epotilona, en particular las 12,13 desoxiepotilonas, se investigaron para estudiar su capacidad para proporcionar un perfil terapéutico mejorado (véanse, las Patentes de Estados Unidos N° 6.242.469, 6.284.781, 6.300.355, 6.369.234, 6.204.388, 6.316.630; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia). Experimentos realizados *in vivo* en diversos modelos de ratón demostraron que la 12,13-desoxiepotilona B (3b, dEpoB en el Esquema 2) posee potencial terapéutico frente a diversos tumores humanos sensibles y resistentes en xenotrasplantes de ratones (Chou y col. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1998, 95, 9642 y 15798; incorporado en el presente documento por referencia). Recientemente, la superioridad terapéutica de estas desoxiepotilonas sobre otros agentes anticancerosos se ha demostrado de manera concluyente mediante estudios comparativos (Chou y col. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001, 98, 8113; incorporado en el presente documento por referencia). Debido a su impresionante perfil *in vivo*, la dEpoB se ha desarrollado a través de evaluaciones toxicológicas en perros y se encuentra actualmente en ensayos humanos como un fármaco anticanceroso.

ES 2 336 937 T3

Esquema 2

Diversos Análogos de Desoxiepotilona



3a	$R_1 = H, R_2 = CH_3,$	4a	$R_1 = H, R_2 = CH_3,$	5a	$R_1 = H, R_2 = CH_3,$ Iso-
Desoxiepotilona A (dEpoA)		Dehidro-dEpoA (ddEpoA)		dEpoA	
3b	$R_1 = CH_3, R_2 = CH_3$	4b	$R_1 = CH_2, R_2 = CH_3,$	5b	$R_1 = CH_3, R_2 = CH_3,$
Desoxiepotilona B (dEpoB)		Dehidro-dEpoB (ddEpoB)		Iso-dEpoB	
3c	$R_1 = H, R_2 = CH_2OH.$	4c	$R_1 = H, R_2 = CH_2OH,$	5c	$R_1 = H, R_2 = CH_2OH,$
Desoxiepotilona E (dEpoE)		Dehidro-dEpoE (ddEpoE)		Iso-dEpoE	
3d	$R_1 = CH_3, R_2 = CH_2OH,$	4d	$R_1 = CH_2, R_2 = CH_2OH,$	5d	$R_1 = CH_2, R_2 = CH_2OH.$
Desoxiepotilona F (dEpoF)		Dehidro-dEpoF (ddEpoF)		iso-dEpoF (ddEpoF)	
3e	$R_1 = H, R_2 = NH_2$	4e	$R_1 = H, R_2 = NH_2,$	5e	$R_1 = H, R_2 = NH_2,$
Desmetilamino-dEpoA		Desmetilamino-ddEpoA		Desmetilamino-iso-dEpoA	
(dadEpoA)		4f	$R_1 = CH_3, R_2 = NH_2,$	5f	$R_1 = CH_3, R_2 = NH_2.$
3f	$R_1 = CH_3, R_2 = NH_2,$	Desmetilamino-ddEpoB		Desmetilamino-iso-dEpoB	
Desmetilamino-dEpoB		4g	$R_1 = CH_2F, R_2 = CH_3,$		
(dadEpoB)		26-Fluoro-ddEpoB			
3g	$R_1 = CH_2F, R_2 = CH_3,$	4h	$R_1 = CF_3, R_2 = CH_3,$		
26-Fluoro-dEpoB		Trifluoro-ddEpoB			
3h	$R_1 = CF_3, R_2 = CH_2,$				
26-Trifluoro-dEpoB					

A la luz de la prometedora utilidad terapéutica de las 12,13 desoxiepotilonas, sería deseable investigar análogos adicionales así como metodologías sintéticas adicionales para la síntesis de epotilonas y desoxiepotilonas existentes y análogos de las mismas así como análogos nuevos de las mismas. En particular, dado el interés en la utilidad terapéutica de este tipo de compuestos, también sería deseable desarrollar metodologías capaces de proporcionar cantidades significativas de cualquiera de las epotilonas o desoxiepotilonas previamente descritas, o las descritas en el presente documento, para ensayos clínicos y para la preparación a gran escala.

Descripción de los dibujos

La Figura 1 es una tabla de valores de CI_{50} de epotilonas frente al crecimiento celular de CCRF-CEM, CCRF-CEM/VBL y CCRF-CEM/Taxol. La inhibición del crecimiento celular se midió por ensayo XTT tetrazonio después de 72 horas de incubación para el crecimiento celular como se ha descrito anteriormente (Scudiero y col. Cancer Res. 46: 4827-4833, 1988; incorporado en el presente documento por referencia). Los valores de CI_{50} se determinaron de la relación efecto-dosis a seis o siete concentraciones de cada fármaco, usando un programa de ordenador (Chou y col. Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55, 1984; Chou y col. *CalcuSyn* for Windows (Biosoft, Cambridge, UK), 1997; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia) como se ha descrito anteriormente (Chou y col. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 15798-15802, 1998; incorporado en el presente documento por referencia).

La Figura 2 es un espectro de RMN 1H de *trans*-9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB.

ES 2 336 937 T3

La Figura 3 es un espectro de RMN ^{13}C de *trans*-9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB.

La Figura 4 muestra un esquema para la síntesis de epotilonas 11 -R y 14-R usando metátesis de olefinas con cierre de anillo - LACDAC, e ilustra determinadas sustituciones disponibles con estrategias sintéticas que pasan a través de una 9,10-dehidro epotilona.

La Figura 5 presenta datos de citotoxicidad relativa frente a células leucémicas humanas *in vitro* para una diversidad de compuestos y derivados de epotilona que incluyen determinados compuestos 9,10-dehidro (por ejemplo, el compuesto 7 en la Figura 5A y los compuestos 88 y 89 en la Figura 5B).

La Figura 6 representa estrategias sintéticas alternativas para preparar análogos de 9,10-dehidro epotilona. La Figura 6A ilustra una estrategia Macro-Stille, una estrategia de acoplamiento $\text{sp}^3\text{-sp}^3$ y una estrategia β -Suzuki. La Figura 6B ilustra una estrategia de olefinación de Julia, una estrategia Wadsworth-Emmons y una estrategia Macro-Reformatsky. La Figura 6C ilustra una estrategia de acoplamiento McMurry y una síntesis de análogo de lactamo.

La Figura 7 muestra diversos análogos de 9,10-dehidro-12,13-desoxi EpoB.

La Figura 8 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-dEpoB y dEpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano (infusión iv, Q2Dx3).

La Figura 9 muestra la estabilidad de análogos de epotilona en plasma murino. Epo 1 es 12,13-desoxiEpoB, Epo 2 es 26-F₃-12,13-desoxiEpoB, Epo 3 es (*E*)-9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB y Epo 4 es 26-F₃-(*E*)-9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB.

La Figura 10 representa el efecto terapéutico de análogos de epotilona en ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 (infusión iv, Q2Dx7, n=3). Las flechas indican la administración del fármaco. Epo 3 es (*E*)-9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB.

La Figura 11 muestra las potencias de diversos análogos de epotilona frente al crecimiento celular tumoral *in vitro* e índice terapéutico en comparación con paclitaxel y vinblastina.

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

La Figura 13 muestra el efecto terapéutico de 26-trifloro-9,10-dehidro-dEpoB y 9,10-dehidro-EpoB sobre el tamaño del tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes MX-1 (infusión iv de 6 horas, Q2Dx6 y Q2Dx9, respectivamente).

La Figura 14 muestra cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de tumor de carcinoma mamario humano después del tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y 9,10-dehidro-EpoB (infusión de 6 horas, Q2Dx6 y Q2Dx9, respectivamente).

La Figura 15 muestra el efecto terapéutico de 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y 9,10-dehidroEpoB en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes MX1 (infusión iv de 6 horas, Q2Dx6 y Q2Dx9, respectivamente).

La Figura 16 muestra cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de tumor de carcinoma mamario humano después del tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y 9,10-dehidro-EpoB (infusión iv de 6 horas, Q2Dx6 y Q2Dx9, respectivamente).

La Figura 17 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-dEpoB en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes HCT-116 (infusión iv, Q2Dx7).

La Figura 18 muestra el efecto de 9,10-dehidro-dEpoB en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión iv, Q3Dx5).

La Figura 19 muestra el efecto de 9,10-dehidro-dEpoB en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes A549/Taxol (infusión iv de 6 horas, Q3Dx7).

La Figura 20 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante A549/Taxol tratados con 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y 9,10-dehidro-dEpoB (infusión iv de 6 horas, Q3Dx7).

La Figura 21 muestra el efecto de 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y 9,10-dehidro-dEpoB en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes A549/Taxol (infusión iv de 6 horas, Q2Dx7).

La Figura 22 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplantes A549/Taxol tratados con 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y 9,10-dehidro-dEpoB (infusión iv de 6 horas, Q2Dx7).

ES 2 336 937 T3

La Figura 23 muestra el efecto de 9,10-dehidro-EpoB en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes de HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión iv de 6 horas).

5 La Figura 24 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante de tumor HCT-116 de carcinoma de colon humano después del tratamiento con 9,10-dehidro-EpoB (infusión iv de 6 horas).

La Figura 25 muestra la formación de microtúbulos a partir de tubulina en presencia de diversos análogos de epotilona a 37°C.

10 La Figura 26 muestra la formación de microtúbulos a partir de tubulina en presencia de diversos análogos de epotilona a 4°C.

La Figura 27 muestra el efecto de 9,10-dehidro-dEpoB y dEpoB en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes HCT-116 (infusión iv, Q2Dx6).

15 La Figura 28 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplantes HCT-116 después de tratamiento con 9,10-dehidro-dEpoB y dEpoB (infusión iv, Q2Dx6).

20 La Figura 29 muestra el efecto de 9,10-dehidro-dEpoB en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión iv, Q3Dx4).

La Figura 30 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplantes de HCT-116 de tumor de carcinoma de colon humano después de tratamiento con 9,10-dehidro-dEpoB (infusión iv, 5 mg/kg, X3Dx4).

25 La Figura 31 es una tabla con valores CI_{50} para análogos de epotilona frente el crecimiento celular CCRF-CEM.

La Figura 32 muestra la estabilidad metabólica de análogos de epotilona *in vitro*.

30 La Figura 33 es una tabla que detalla los efectos terapéuticos de diversos análogos de epotilona frente a xenotrasplantes de tumor humano en ratones con infusión iv de 6 horas.

La Figura 34 muestra el efecto de 9,10-dehidro-EpoB en el tamaño del tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes de tumor HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión iv de 6 horas, Q2Dx7).

35 La Figura 35 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplantes de tumor HCT-116 de carcinoma de colon humano después de tratamiento con 9,10-dehidro-EpoB y oxazol-EpoD (infusión de 6 horas, Q2Dx7).

40 La Figura 36 muestra el efecto de 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y 9,10-dehidro-dEpoB en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes A549/Taxol (infusión iv de 6 horas, Q2Dx4).

La Figura 37 muestra el efecto de 9,10-dehidro-dEpoB en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes A549/Taxol (infusión iv de 6 horas, Q3Dx3).

45 La Figura 38 muestra la estabilidad de análogos de epotilona en PBS/plasma de ratón al 20%.

La Figura 39 muestra la estabilidad de análogos de epotilona en S9 de hígado de hombre/PBS al 10%.

50 La Figura 40 muestra un cromatograma de estabilidad EpoD en S9 de Hígado de hombre/PBS al 10%.

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

55 La Figura 42 muestra la estabilización de la formación de microtúbulos por epotilonas a 35°C y 4°C.

La Figura 43 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-dEpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante (MX-1) de carcinoma mamario humano T (infusión de 6 horas, Q2Dx5).

60 La Figura 44 muestra el cambio en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante (MX-1) de carcinoma mamario humano después del tratamiento con 9,10-dehidro-dEpoB (infusión de 6 horas, Q2Dx8).

La Figura 45 muestra el cambio en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 después del tratamiento con 9,10-dehidro-dEpoB (infusión iv, Q2Dx7).

65 La Figura 46 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-dEpoF, dEpoB y Taxol en tamaños de tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplante de tumor (MX-1) de carcinoma mamario humano (infusión iv de 6 horas, Q2Dx6).

ES 2 336 937 T3

La Figura 47 muestra los cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante de tumor (MX-1) de carcinoma mamario humano después del tratamiento con 9,10-dehidro-dEpoF, dEpoB y Taxol (infusión 6 horas, Q2Dx6).

5 La Figura 48 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-dEpoF y dEpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión 6 horas, Q2Dx8).

La Figura 49 muestra los cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 después del tratamiento con 9,10-dehidro-dEpoF y dEpoB (infusión 6 horas, Q2Dx8).

10

La Figura 50 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-dEpoF y dEpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante (A549/Taxol) de carcinoma de pulmón humano resistente a Taxol (infusión 6 horas, Q2Dx5).

15

La Figura 51 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante (A549/Taxol) de carcinoma de pulmón humano resistente a Taxol después del tratamiento con 9,10-dehidro-dEpoF y dEpoB (infusión 6 horas, Q2Dx5).

La Figura 52 es una tabla que compara la potencia de diversos análogos de epotilona con respecto a la inhibición del crecimiento tumoral *in vitro* e índice terapéutico relativo.

20

La Figura 53 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-dEpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 (Q3Dx9, infusión iv-6 horas).

25

La Figura 54 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de un xenotrasplante MX-1 después de tratamiento con 9,10-dehidro-dEpoB (Q3Dx9, infusión iv-6 horas).

La Figura 55 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-epotilona B en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 (Q3Dx9, infusión 6 horas).

30

La Figura 56 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 después del tratamiento con 9,10-dehidro-epotilona B (Q3Dx9, infusión iv-6 horas).

La Figura 57 muestra el efecto terapéutico a dosis reducidas de 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 (infusión i.v.-6 horas, Q2Dx12).

35

La Figura 58 muestra cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de un xenotrasplante MX-1 después de tratamiento con dosis reducidas de 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB (infusión i.v.-6 horas, Q2Dx12).

40

La Figura 59 muestra el efecto quimioterapéutico de análogos de epotilona frente a xenotrasplantes de tumor humano en ratones desnudos.

Se implantó tejido tumoral s.c. (40-50 mg) el Día 0. El tratamiento se inició cuando el tamaño del tumor alcanzó aproximadamente 100 mm³ o superior como se indica. Todos los tratamientos como se indica por flechas se realizaron con infusión i.v.-6 horas mediante la vena de la cola usando un mini catéter y una bomba programable como se ha descrito anteriormente (Su, D.-S. y col, *Angew. Chem. Int. Ed.* 1997, 36, 2093; Chou, T. C. y col. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998, 95, 15798; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia). Cada grupo de dosis consta de cuatro ratones o más. El peso corporal se definió como el peso corporal total menos el peso del tumor suponiendo que 1 mm³ de tumor es igual a 1 mg de tejido tumoral. A. Xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario tratado con una dosis reducida de 25-trifluoro-(*E*)-9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB (10 mg/kg) cuando se compara con los de la Tabla 1 (20 mg/kg y 30 mg/kg). B. Se trataron xenotrasplantes grandes MX-1 (500 mm³) con 25-trifluoro-(*E*)-9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB (25 mg/kg) y dEpoB (30 mg/kg). C. Xenotrasplante de carcinoma de pulmón A549 de crecimiento lento tratado con 25-trifluoro-(*E*)-9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB (25 mg/kg) y dEpoB (30 mg/kg). D. Xenotrasplante A549/Taxol (44 veces resistente a paclitaxel *in vitro*) tratado con 25-trifluoro-(*E*)-9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB (20 mg/kg) y (*E*)-9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB (4 mg/kg). El tratamiento para deH-dEpoB del día 28 no se tuvo en cuenta debido a la pronunciada y rápida disminución de peso corporal.

45

50

55

La Figura 60 representa la síntesis de 9,10-(*E*)-dehidroepotilonas modificadas C-21. La Figura 60A muestra la síntesis de 26-trifluoro-21-metilamino-9,10-(*E*)-dehidro-12,13-desoxiepotilona B. La Figura 60B es un sistema sintético para la preparación de 26-trifluoro-21-amino-9,10-(*E*)-dehidro-12,13-desoxiepotilona B como un intermedio en la síntesis de 26-trifluoro-21-dimetilamino-9,10-(*E*)-dehidro-12,13-desoxiepotilona B.

60

La Figura 61 es una tabla con valores CI₅₀ para epotilonas modificadas C-21 frente a la línea celular tumoral CCRF-CEM y sus sublíneas resistentes a fármacos.

65

La Figura 62 muestra el efecto terapéutico de 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y Taxol en ratones desnudos portadores de xenotrasplante CCRF-CEM de leucemia linfoblástica de células T humanas (infusión iv 6 horas, Q2Dx8).

ES 2 336 937 T3

La Figura 63 muestra los cambios en los cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante CCRF-CEM de leucemia linfoblástica de células T humanas después de tratamiento con 25-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y Taxol (infusión iv 6 horas, Q2Dx8).

5 La Figura 64 muestra el efecto terapéutico de 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y Taxol en ratones desnudos portadores de xenotrasplante CCRF-CEM/Taxol de leucemia linfoblástica de células T humanas (resistente a Taxol) (infusión iv 6 horas, Q2Dx7, x5).

10 La Figura 65 muestra los cambios en los cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante de CCRF-CEM/Taxol de leucemia linfoblástica de células T humanas (resistente a Taxol) después de tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y Taxol (infusión iv 6 horas, Q2Dx7, x5).

La Figura 66 muestra el efecto terapéutico de 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y Taxol en ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 de carcinoma de colon humano (Q2Dx4, x2, infusión iv 6 horas).

15 La Figura 67 muestra los cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 de carcinoma de colon humano después de tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB y Taxol (Q2Dx4, x2, infusión iv 6 horas).

20 La Figura 68 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-EpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 (infusión iv 6 horas).

La Figura 69 muestra los cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano después del tratamiento con 9,10-dehidro-EpoB (infusión iv 6 horas).

25 La Figura 70 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-EpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante CCRF-CEM/Taxol de leucemia linfoblástica de células T humanas (resistente a Taxol) (infusión iv 6 horas, Q3Dx5, x2).

30 La Figura 71 muestra los cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante CCRF-CEM/Taxol de leucemia linfoblástica de células T humana (resistencia a Taxol) después de tratamiento con 9,10-dehidro-EpoB (infusión iv 6 horas, Q3Dx5, x2).

La Figura 72 muestra el efecto terapéutico de 26-trifluoro-dEpoB y 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoF en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano (Q2Dx11, inyección iv).

35 La Figura 73 muestra los cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano seguido de tratamiento 26-trifluoro-dEpoB y 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoF (Q2Dx11, inyección iv).

40 La Figura 74 muestra el efecto terapéutico de 9,10-dehidro-dEpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano (Q3Dx9, infusión iv 6 horas).

La Figura 75 muestra los cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante de MX-1 de carcinoma mamario humano después del tratamiento con 9,10-dehidro-dEpoB (Q3Dx9, infusión iv 6 horas).

45 La Figura 76 muestra el efecto terapéutico de 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoF en ratones desnudos portadores de xenotrasplante (MX-1) de carcinoma de pulmón humano (infusión iv e inyección iv de 6 horas).

50 La Figura 77 muestra los cambios en el peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 después del tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoF (infusión iv e inyección iv 6 horas).

Definiciones

55 A continuación también se describen con más detalle determinados compuestos de la presente invención y definiciones de grupos funcionales específicos. Para los fines de esta invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75^a Ed., los grupos funcionales específicos e incluidos en el interior se definen generalmente como se describe en el presente documento. Adicionalmente, los principios generales de química orgánica así como los restos funcionales específicos y reactividad se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, cuyo
60 contenido total se incorpora en el presente documento por referencia. Además, un especialista en la técnica apreciará que los procedimientos sintéticos, como se describen en el presente documento, utilizan una diversidad de grupos protectores. Mediante la expresión "grupo protector", como se usa en el presente documento, se refiere a que un resto funcional particular, por ejemplo, O, S o N, se bloquea temporalmente para que pueda realizarse una reacción de manera selectiva en otro sitio reactivo en un compuesto multifuncional. En realizaciones preferidas, un grupo de protección
65 reacciona selectivamente a buen rendimiento para producir un sustrato protegido que es estable para las reacciones previstas; el grupo protector debe eliminarse selectivamente a buen rendimiento por reactivos preferiblemente no tóxicos fácilmente disponibles que no atacan a otros grupos funcionales; el grupo protector forma un derivado fácilmente separable (más preferiblemente sin la generación de nuevos centros estereogénicos) y el grupo protector tiene un míni-

mo de funcionalidad adicional para evitar otros sitios de reacción. Como se detalla en el presente documento, pueden utilizarse grupos de protección de, oxígeno, sulfuro, nitrógeno y carbón. En el presente documento se detallan grupos de protección ejemplares, sin embargo, se apreciará que la presente invención no pretende limitar estos grupos protectores; en cambio, pueden identificarse fácilmente otros grupos protectores equivalentes usando los criterios anteriores y utilizarse en el procedimiento de la presente invención. Adicionalmente, se describe una diversidad de grupos protectores en "Protective Groups in Organic Synthesis" Tercera Edición Greene, T.W. y Wuts, P.G., Eds., John Wiley & Sons, Nueva York: 1999, cuyo contenido total se incorpora en el presente documento por referencia.

Se apreciará que los compuestos, como se describen en el presente documento, pueden estar sustituidos con cualquier número de sustituyentes o restos funcionales. En general, el término "sustituido" si está precedido por el término "opcionalmente" o no, y los sustituyentes incluidos en las fórmulas de esta invención, se refieren al reemplazo de radicales hidrógeno en una estructura determinada por el radical de un sustituyente especificado. Cuando más de una posición en cualquier estructura determinada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado entre un grupo especificado, el sustituyente puede ser igual o diferente en cada posición. Como se usa en el presente documento, el término "sustituido" se considera que incluye todos los sustituyentes que se permiten de compuestos orgánicos. En un aspecto más amplio, los sustituyentes que se permiten incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos y aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Para los fines de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente que se permita de compuestos orgánicos que se describen en el presente documento que satisfagan las valencias de los heteroátomos. Además, esta invención no pretende limitarse de ningún modo por los sustituyentes que se permiten de compuestos orgánicos. Las combinaciones de sustituyentes y variables que se prevén por esta invención son preferiblemente aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables útiles en el tratamiento, por ejemplo de trastorno proliferativos, incluyendo, pero sin limitación, cáncer. El término "estable", como se usa en el presente documento, preferiblemente se refiere a compuestos que poseen suficiente estabilidad para permitir la preparación y que mantienen la integridad del compuesto durante un periodo de tiempo suficiente para detectarse y preferiblemente durante un periodo de tiempo suficiente para ser útiles para los fines que se detallan en el presente documento.

El término "alifático", como se usa en el presente documento, incluye hidrocarburos alifáticos cíclicos o policíclicos saturados e insaturados, de cadena lineal (es decir, sin ramificar) o ramificada, que están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales. Como se apreciará por un especialista en la técnica, "alifático" en el presente documento pretende incluir, pero sin limitación, restos alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenilo y cicloalquinilo. Por tanto, como se usa en el presente documento, el término "alquilo" incluye grupos alquilo lineales o ramificados y cíclicos. Se emplea una convención análoga para otros términos genéricos tales como "alquenilo", "alquinilo" y similares. Además, como se usa en el presente documento, los términos "alquilo", "alquenilo", "alquinilo" y similares incluyen grupos tanto sustituidos como no sustituidos. En ciertas realizaciones, como se usa en el presente documento, "alquilo inferior" se usa para indicar aquellos grupos alquilo (cíclicos, acíclicos, sustituidos, no sustituidos, ramificados o no ramificados) que tienen 1-6 átomos de carbono.

En ciertas realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo que se emplean en la invención contienen 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertas realizaciones adicionales, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo que se emplean en la invención contienen 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo que se emplean en la invención contienen 1-8 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo que se emplean en la invención contienen 1-6 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo que se emplean en la invención contienen 1-4 átomos de carbono. Por tanto, los grupos alifáticos ilustrativos incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, restos metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, -CH₂-ciclopropilo, alilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, ciclobutilo, -CH₂-ciclobutilo, n-pentilo, sec-pentilo, isopentilo, terc-pentilo, ciclopentilo, -CH₂-ciclopentilo, n-hexilo, sec-hexilo, ciclohexilo, -CH₂-ciclohexilo y similares, que de nuevo, pueden tener uno o más sustituyentes. Los grupos alquenilo incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, etenilo, propenilo, butenilo, 1-metil-2-buten-1-ilo y similares. Los grupos alquinilo representativos incluyen, pero sin limitación, etinilo, 2-propinilo (propargilo), 1-propinilo y similares.

El término "alcoxi" o "tioalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido previamente, unido al resto molecular de partida a través de un átomo de oxígeno o a través de un átomo de azufre. En ciertas realizaciones, el grupo alquilo contiene 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertas realizaciones adicionales, el grupo alquilo contiene 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo que se emplean en la invención contienen 1-8 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones adicionales, el grupo alquilo contiene 1-6 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones adicionales, el grupo alquilo contiene 1-4 átomos de carbono alifáticos. Los ejemplos de alcoxi, incluyen pero sin limitación, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, terc-butoxi, neopentoxi y n-hexoxi. Los ejemplos de tioalquilo incluyen, pero sin limitación, metiltio, etiltio, propiltio, isopropiltio, n-butiltio y similares.

El término "alquilamino" se refiere a un grupo que tiene la estructura -NHR' en la que R' es alquilo, como se define en el presente documento. En ciertas realizaciones, el grupo alquilo contiene 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertas realizaciones adicionales, el grupo contiene 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo que se emplean en la invención contienen 1-8 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones adicionales, el grupo alquilo contiene 1-6 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, el grupo alquilo contiene 1-4 átomos de carbono alifáticos. Los ejemplos de alquilamino incluyen, pero sin limitación, metilamino, etilamino, iso-propilamino y similares.

Algunos ejemplos de sustituyentes de los restos alifáticos (y otros) de compuestos de la invención que se han descrito anteriormente incluyen, pero sin limitación 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)R_x; -CO₂(R_x); -CON(R_x)₂; -OC(O)R_x; -OCO₂R_x; -OCON(R_x)₂; -N(R_x)₂; -S(O)₂R_x; -NR_x(CO)R_x donde cada vez que aparece R_x incluye independientemente, pero sin limitación, alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, arilalquilo o heteroarilalquilo, donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, heteroalifáticos, arilalquilo o heteroarilalquilo que se han descrito anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o sin sustituir, ramificados o sin ramificar, ser cíclicos o acíclicos, y donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo que se han descrito anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o sin sustituir. Los ejemplos adicionales de sustituyentes que se emplean generalmente se ilustran mediante las realizaciones específicas que se muestran en los Ejemplos que se describen en el presente documento.

En general, los términos “arilo” y “heteroarilo”, como se usan en el presente documento, se refieren a restos estables mono- o policíclicos, heterocíclicos, policíclicos y poliheterocíclicos insaturados que tienen preferiblemente 3-14 átomos de carbono, cada uno de los cuales puede estar sustituido o sin sustituir. Los sustituyentes incluyen, pero sin limitación, cualquiera de los sustituyentes que se han mencionado anteriormente, es decir, los sustituyentes que se han enumerado para los restos alifáticos o para otros restos que se describen en el presente documento, dando como resultado la formación de un compuesto estable. En ciertas realizaciones de la presente invención, “arilo” se refiere a un sistema de anillo carbocíclico mono- o bicíclico que tiene uno o dos anillos aromáticos incluyendo, pero sin limitación, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, indenilo y similares. En ciertas realizaciones de la presente invención, el término “heteroarilo”, como se usa en el presente documento, se refiere a un radical aromático cíclico que tiene de cinco a diez átomos en el anillo del que un átomo en el anillo se selecciona entre S, O y N; cero, uno o dos átomos en el anillo son heteroátomos adicionales seleccionados independientemente entre S, O y N; y los átomos restantes en el anillo son carbono, estando el radical unido al resto de la molécula por cualquiera de los átomos en el anillo, tales como, por ejemplo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isooxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, quinolinilo, isoquinolinilo y similares.

Se apreciará que los grupos arilo y heteroarilo (incluyendo grupos arilo bicíclicos) pueden estar sin sustituir o sustituidos, donde la sustitución incluye el reemplazo de uno, dos o tres de sus átomos de hidrógeno independientemente con uno cualquiera o más de los siguientes restos incluyendo, pero sin limitación: alifáticos; heteroalifáticos; 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)R_x; -CO₂(R_x); -CON(R_x)₂; -OC(O)R_x; -OCO₂R_x; -OCON(R_x)₂; -N(R_x)₂; -S(O)₂R_x; -NR_x(CO)R_x donde cada vez que aparece R_x independientemente incluye, pero sin limitación, alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo, donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, heteroalifáticos, arilalquilo o heteroarilalquilo que se han descrito anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos, ramificados o sin ramificar y ser cíclicos o acíclicos, y donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo que se han descrito anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o sin sustituir. Se ilustran ejemplos adicionales de sustituyentes que se emplean generalmente mediante las realizaciones específicas que se muestran en los Ejemplos que se describen en el presente documento.

El término “cicloalquilo”, como se usa en el presente documento, se refiere específicamente a grupos que tienen de tres a siete, preferiblemente de tres a diez átomos de carbono. Los cicloalquilos adecuados incluyen, pero sin limitación ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares, que, como en el caso de otros restos alifáticos, heteroalifáticos o heterocíclicos, pueden estar opcionalmente sustituidos con sustituyentes que incluyen, pero sin limitación alifáticos; heteroalifáticos; 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)R_x; -CO₂(R_x); -CON(R_x)₂; -OC(O)R_x; -OCO₂R_x; -OCON(R_x)₂; -N(R_x)₂; -S(O)₂R_x; -NR_x(CO)R_x donde cada vez que aparece R_x independientemente incluye, pero sin limitación, alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo, donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, heteroalifáticos, arilalquilo o heteroarilalquilo que se han descrito anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos, ramificados o sin ramificar y ser cíclicos o acíclicos, y donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo que se han descrito anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o sin sustituir. Se ilustran ejemplos adicionales de sustituyentes que se aplican generalmente mediante las realizaciones específicas que se muestran en los Ejemplos que se describen en el presente documento.

El término “heteroalifático”, como se usa en el presente documento, se refiere a restos alifáticos que contienen uno o más átomos de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio, por ejemplo, en lugar de átomos de carbono. Los restos heteroalifáticos pueden ser ramificados, no ramificados, cíclicos o acíclicos e incluyen heterociclos saturados e insaturados tales como morfolino, pirrolidinilo, etc. En ciertas realizaciones, los restos heteroalifáticos están sustituidos por reemplazo independiente de uno o más de los átomos de hidrógeno en el mismo con uno o más restos que incluyen, pero sin limitación alifáticos; heteroalifáticos; 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)R_x; -CO₂(R_x); -CON(R_x)₂; -OC(O)R_x; -OCO₂R_x; -OCON(R_x)₂; -N(R_x)₂; -S(O)₂R_x; -NR_x(CO)R_x donde cada vez que aparece R_x independientemente incluye, pero sin limitación, alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, arilalquilo o heteroarilalquilo, donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, heteroalifáticos, arilalquilo o heteroarilalquilo que se han descrito anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos, ramificados o sin ramificar y ser cíclicos o acíclicos, y

donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo que se han descrito anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o sin sustituir. Se ilustran ejemplos adicionales de sustituyentes que se aplican generalmente mediante las realizaciones específicas que se muestran en los Ejemplos que se describen en el presente documento.

5 Las expresiones “halo” y “halógeno” como se usan en el presente documento se refieren a un átomo seleccionado entre flúor, cloro, bromo y yodo.

10 El término “haloalquilo” representa un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, que tiene uno, dos o tres átomos de halógeno unidos al mismo y se ilustra por grupos tales como clorometilo, bromoetilo, trifluorometilo y similares.

15 El término “heterocicloalquilo” o “heterociclo”, como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo no aromático de 5, 6 ó 7 miembros o un grupo policíclico, que incluye, pero sin limitación un grupo bi- o tri-cíclico que comprende anillos condensados de seis miembros que tienen entre uno y tres heteroátomos seleccionados independientemente entre oxígeno, azufre y nitrógeno, donde (i) cada anillo de 5 miembros tiene de 0 a 1 doble enlace y cada anillo de 6 miembros tiene de 0 a 2 dobles enlaces, (ii) los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden oxidarse opcionalmente, (iii) el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado, y (iv) cualquiera de los anteriores anillos heterocíclicos puede estar condensado a un anillo benceno. Los heterociclos representativos incluyen, pero sin limitación, pirrolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo y tetrahidrofurilo. En ciertas realizaciones, se utiliza un grupo “heterocicloalquilo sustituido o heterociclo” y como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heterocicloalquilo o heterociclo, como se ha definido anteriormente, sustituido por el reemplazo independiente de uno, dos o tres de los átomos de hidrógeno en el mismo con, pero sin limitación, 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)R_x; -CO₂(R_x); -CON(R_x)₂; -OC(O)R_x; -OCO₂R_x; -OCON(R_x)₂; -N(R_x)₂; -S(O)₂R_x; -NR_x(CO)R_x donde cada vez que aparece R_x independientemente incluye, pero sin limitación, alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo, donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, heteroalifáticos, arilalquilo o heteroarilalquilo que se han descrito anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o no sustituidos, ramificados o sin ramificar y ser cíclicos o acíclicos, y donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo que se han descrito anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o sin sustituir. Se ilustran ejemplos adicionales de sustituyentes que se aplican generalmente por las realizaciones específicas que se muestran en los Ejemplos que se describen en el presente documento.

35 “Marcado”: Como se usa en el presente documento, el término “marcado” pretende indicar que un compuesto tiene al menos un elemento, isótopo o compuesto químico unido para permitir la detección del compuesto. En general, los marcadores se dividen en tres clases: a) marcadores isotópicos, que pueden ser isótopos radioactivos o pesados, incluyendo, pero sin limitación, ²H, ³H, ³²P, ³⁵S, ⁶⁷Ga, ^{99m}Tc (Tc-99m), ¹¹¹In, ¹²³I, ¹²⁵I, ¹⁶⁹Yb y ¹⁸⁶Re; b) marcadores inmunes, que pueden ser anticuerpos o antígenos; y c) tintes de color o fluorescentes. Se apreciará que los marcadores pueden incorporarse en el compuesto en cualquier posición que no interfiera con la actividad biológica o características del compuesto que se va a detectar. En ciertas realizaciones de la invención, se utiliza la marcación por fotoafinidad para la elucidación directa de interacciones intramoleculares en sistemas biológicos (por ejemplo, para probar el sitio de unión a epotilona en un dímero de tubulina). Puede emplearse una diversidad de fotóforos conocidos, la mayoría de los cuales se basan en la fotoconversión de compuestos diazo, azidas o diazirinas en nitrénos o carbenos (Véase, Bayley, H., *Photogenerated Reagents in Biochemistry and Molecular Biology* (1983), Elsevier, Ámsterdam.), cuyos contenidos se incorporan por completo en el presente documento por referencia. En ciertas realizaciones de la invención, los marcadores de fotoafinidad que se emplean son o-, m- y p-azidobenzosílos, sustituidos con uno o más restos de halógeno, incluyendo, pero sin limitación ácido 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobenzoico.

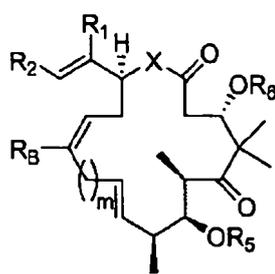
50 “Polímero”: El término “polímero”, como se usa en el presente documento, se refiere a una composición que comprende cadenas que pueden estar abiertas, cerradas, ser lineales, ramificadas o reticuladas de unidades de repetición (monómeros) que pueden ser iguales o diferentes. Se apreciará que en ciertas realizaciones el término polímero se refiere a biopolímeros, que, como se usa en el presente documento, pretenden hacer referencia a materiales poliméricos que se encuentran en la naturaleza o que se basan en los materiales encontrados en la naturaleza, incluyendo, pero sin limitación ácidos nucleicos, péptidos y miméticos de los mismos. En ciertas realizaciones adicionales, el término polímero se refiere a polímeros sintéticos, tales como polímeros biodegradables u otros materiales poliméricos. Se apreciará que los soportes poliméricos sólidos también se incluyen en los polímeros de la presente invención. Los compuestos de la invención pueden estar unidos a soportes poliméricos y, por tanto, ciertas modificaciones sintéticas pueden realizarse en la fase sólida. Como se usa en el presente documento, el término “soporte sólido” se refiere a que incluye, pero sin limitación, gránulos, discos, capilares, fibras huecas, agujas, alfileres, fibras sólidas, perlas de celulosa, perlas de vidrio poroso, geles de sílice, perlas de poliestireno opcionalmente reticuladas con divinilbenceno, perlas co-poli injertadas, perlas de poli-acrilamida, perlas de látex, perlas de dimetilacrilamida opcionalmente reticuladas con N-N'-bis-acriloletilendiamina y partículas de vidrio revestidas con un polímero hidrófobo. Un especialista en la técnica se dará cuenta de que la elección de un soporte sólido en particular estará limitada por la compatibilidad del soporte con la reacción química que se va a utilizar. Un soporte sólido ejemplar es una resina de amino Tentagel, un compuesto de 1) una perla de poliestireno reticulada con divinilbenceno y 2) PEG (polietilenglicol). Tentagel es un soporte sólido particularmente útil ya que proporciona un soporte versátil para uso en ensayos con o sin perlas, y también experimenta un hinchado excelente en disolventes que varían de tolueno a agua.

Descripción de ciertas realizaciones de la invención

En reconocimiento de la necesidad de descubrir nuevas y eficaces terapias de cáncer, la presente invención proporciona nuevas metodologías sintéticas que posibilitan el acceso a macrociclos que tienen un amplio intervalo de actividad biológica y farmacológica.

En ciertas realizaciones, los compuestos son útiles en el tratamiento del cáncer. Ciertos compuestos muestran efectos citotóxicos o inhibidores crecientes sobre líneas celulares cancerosas, muestran una capacidad para polimerizar tubulina y estabilizar conjuntos de microtúbulos, y/o conducen a la pérdida y desaparición de tumores en modelos de xenotrasplante celular de cáncer. Los compuestos pueden tener efectos secundarios reducidos o mínimos incluyendo toxicidad a órganos vitales, náuseas, vómitos, diarrea, alopecia, pérdida de peso, ganancia de peso, toxicidad hepática, trastornos de la piel, etc. Los compuestos también pueden formularse fácilmente debido a una solubilidad en agua mejorada, a una toxicidad reducida, a una disminución del intervalo terapéutico, y a un aumento de la eficacia, etc.

La presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula:



en la que

R_1 es hidrógeno o alquilo inferior;

R_2 es un resto arilo, heteroarilo, arilalquilo o heteroarilalquilo sustituido o sin sustituir;

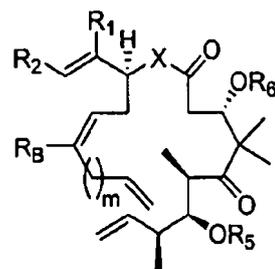
cada uno de R_5 y R_6 es independientemente hidrógeno o un grupo protector;

X es O, S, $C(R_7)_2$ o NR_7 , donde cada vez que aparece R_7 es independientemente hidrógeno o alquilo inferior;

R_B es, independientemente para cada caso, hidrógeno; halógeno; $-OR_{B'}$; $-SR_{B'}$; $-N(R_{B'})_2$; $-CY_3$, $-CHY_2$, $-CH_2Y$, donde Y es F, Br, Cl, I, $OR_{B'}$, $NHR_{B'}$, $N(R_{B'})_2$ o $SR_{B'}$; $-C(O)OR_{B'}$; $-C(O)R_{B'}$; $-CONHR_{B'}$; $-O(C=O)R_{B'}$; $-O(C=O)OR_{B'}$; $-NR_{B'}$ ($C=O)R_{B'}$; N_3 ; $N_2R_{B'}$; acetal cíclico; o arilo o heteroarilo alifático, heteroalifático, cíclico o acíclico, lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más de hidrógeno; halógeno; $-OR_{B'}$; $-SR_{B'}$; $-N(R_{B'})_2$; $-C(O)OR_{B'}$; $-C(O)R_{B'}$; $-CON-HR_{B'}$; $-O(C=O)R_{B'}$; $-O(C=O)OR_{B'}$; $NR_{B'}$ ($C=O)R_{B'}$; N_3 ; $N_2R_{B'}$; acetal cíclico; o resto arilo o heteroarilo alifático, heteroalifático, cíclico o acíclico, lineal o ramificado sustituido o sin sustituir; o es una epotilona, desoxiepotilona o análogos de las mismas; o es un polímero; carbohidrato; marcador de poliafinidad; o radiomarcador; donde cada vez que aparece $R_{B'}$ es independientemente hidrógeno; a grupo protector; un resto arilo, heteroarilo, arilalquilo, arilalqueno, arilalquino, heteroarilalquilo, heteroarilalqueno o heteroarilalquino alifático, heteroalifático, lineal o ramificado, sustituido o sin sustituir, cíclico o acíclico; y

m es 1, 2, 3 ó 4, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

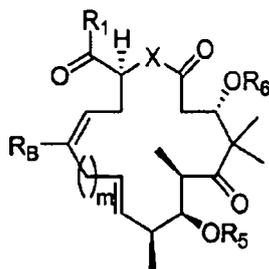
someter un compuesto de la fórmula:



a condiciones de una reacción de metátesis con cierre de anillo.

ES 2 336 937 T3

La presente invención también proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula:



5

10

15

en la que

R₁ es hidrógeno o alquilo inferior;

R₂ es un resto arilo, heteroarilo, arilalquilo o heteroarilalquilo sustituido o sin sustituir;

20

cada uno de R₅ y R₆ es independientemente hidrógeno o un grupo protector;

X es O, S, C(R₇)₂ o NR₇, donde cada vez que aparece R₇ es independientemente hidrógeno o alquilo inferior;

25

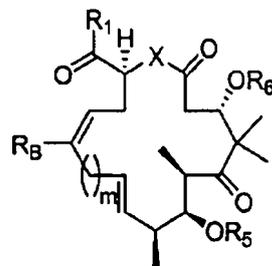
R_B es, independientemente para cada caso, hidrógeno; halógeno; -OR_B; -SR_B; -N(R_B)₂; -CY₃, -CH₂Y, donde Y es F, Br, Cl, I, OR_B, NHR_B, N(R_B)₂ o SR_B; -C(O)OR_B; -C(O)R_B; -CONHR_B; -O(C=O)R_B; -O(C=O)OR_B; -NR_B; (C=O)R_B; N₃; N₂R_B; acetal cíclico; o arilo o heteroarilo alifático, heteroalifático, cíclico o acíclico, lineal o ramificado, 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; -CON-HR_B; -O(C=O)R_B; -O(C=O)OR_B; NR_B(C=O)R_B; N₃; N₂R_B; acetal cíclico; o resto arilo o heteroarilo alifático, heteroalifático, cíclico o acíclico, lineal o ramificado sustituido o sin sustituir; o es una epotilona, desoxiepotilona o análogos de los mismas; o es un polímero; carbohidrato; marcador de poliafinidad; o radiomarcador; donde cada vez que aparece R_B es independientemente hidrógeno; a grupo protector; un resto arilo, heteroarilo, arilalquilo, arilalqueno, arilalquino, heteroarilalquilo, heteroarilalqueno o heteroarilalquino alifático, heteroalifático, lineal o ramificado, sustituido o sin sustituir, cíclico o acíclico; y

30

m es 1, 2, 3 ó 4, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

35

someter un compuesto de la fórmula:



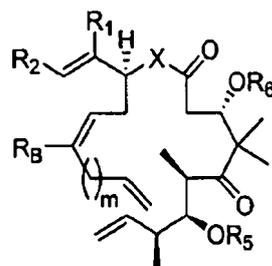
40

45

a condiciones de una reacción de metátesis con cierre de anillo.

50

La presente invención también proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula:



55

60

65

en la que

R₁ es hidrógeno o alquilo inferior;

ES 2 336 937 T3

R_2 es un resto arilo, heteroarilo, arilalquilo o heteroarilalquilo sustituido o sin sustituir;

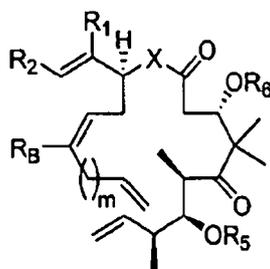
cada uno de R_5 y R_6 es independientemente hidrógeno o un grupo protector;

X es O, S, $C(R_7)_2$ o NR_7 , donde cada vez que aparece R_7 es independientemente hidrógeno o alquilo inferior;

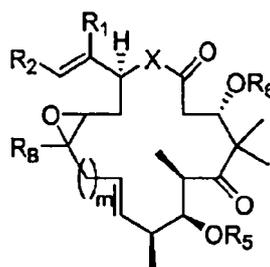
R_B es, independientemente para cada caso, hidrógeno; halógeno; $-OR_B$; $-SR_B$; $-N(R_B)_2$; $-CY_3$, $-CHY_2$, $-CH_2Y$, donde Y es F, Br, Cl, I, OR_B , NHR_B , $N(R_B)_2$ o SR_B ; $-C(O)OR_B$; $-C(O)R_B$; $-CONHR_B$; $-O(C=O)R_B$; $-O(C=O)OR_B$; $-NR_B$ ($C=O)R_B$; N_3 ; N_2R_B ; acetal cíclico; o arilo o heteroarilo alifático, heteroalifático, cíclico o acíclico, lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más de hidrógeno; halógeno; $-OR_B$; $-SR_B$; $-N(R_B)_2$; $-C(O)OR_B$; $-C(O)R_B$; $-CON-HR_B$; $-O(C=O)R_B$; $-O(C=O)OR_B$; NR_B ($C=O)R_B$; N_3 ; N_2R_B ; acetal cíclico; o resto arilo o heteroarilo alifático, heteroalifático, cíclico o acíclico, lineal o ramificado sustituido o sin sustituir; o es una epotilona, desoxiepotilona o análogos de las mismas; o es un polímero; carbohidrato; marcador de poliafinidad; o radiomarcador; donde cada vez que aparece R_B es independientemente hidrógeno; a grupo protector; un resto arilo, heteroarilo, arilalquilo, arilalqueno, arilalquinilo, heteroarilalquilo, heteroarilalqueno o heteroarilalquinilo alifático, heteroalifático, lineal o ramificado, sustituido o sin sustituir, cíclico o acíclico; y

m es 1, 2, 3 ó 4, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

reducir un compuesto de la fórmula:



La presente invención también proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula:



en la que

R_1 es hidrógeno o alquilo inferior;

R_2 es un resto arilo, heteroarilo, arilalquilo o heteroarilalquilo sustituido o sin sustituir;

cada uno de R_5 y R_6 es independientemente hidrógeno o un grupo protector;

X es O, S, $C(R_7)_2$ o NR_7 , donde cada vez que aparece R_7 es independientemente hidrógeno o alquilo inferior;

R_B es, independientemente para cada caso, hidrógeno; halógeno; $-OR_B$; $-SR_B$; $-N(R_B)_2$; $-CY_3$, $-CHY_2$, $-CH_2Y$, donde Y es F, Br, Cl, I, OR_B , NHR_B , $N(R_B)_2$ o SR_B ; $-C(O)OR_B$; $-C(O)R_B$; $-CONHR_B$; $-O(C=O)R_B$; $-O(C=O)OR_B$; $-NR_B$ ($C=O)R_B$; N_3 ; N_2R_B ; acetal cíclico; o arilo o heteroarilo alifático, heteroalifático, cíclico o acíclico, lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más de hidrógeno; halógeno; $-OR_B$; $-SR_B$; $-N$

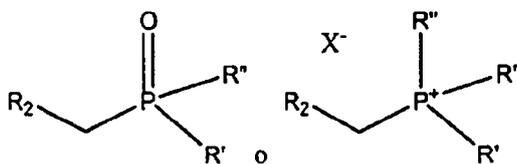
ES 2 336 937 T3

m es 1, 2, 3 ó 4, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

condensar un óxido de fosfina o un reactivo de Wittig que tiene la estructura:

5

10



15

en la que

R' y R'' son independientemente alquilo C₁₋₈ de cadena lineal o ramificada, o un fenilo, arilo, alcoxi o ariloxi sustituido o sin sustituir; y

20

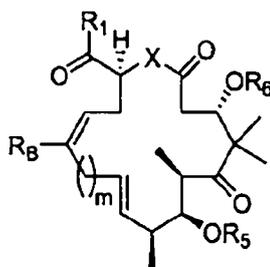
X es un contra anión tal como cloruro o bromuro;

con una cetona que tiene la estructura:

25

30

35



Descripción general de los compuestos de la invención

40

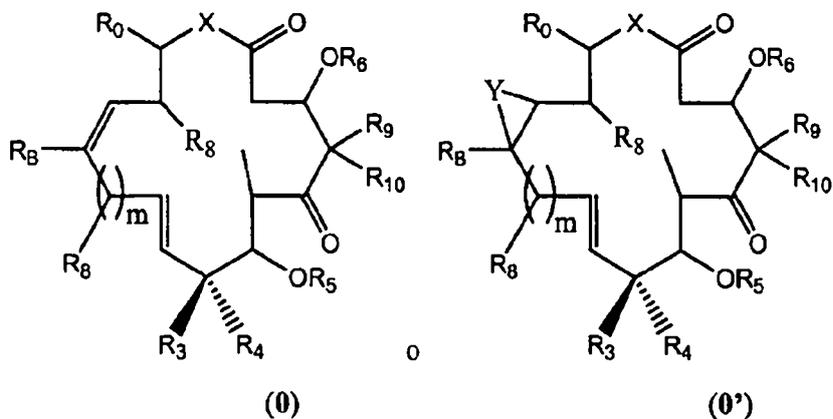
Los compuestos que se preparan por los procedimientos de la invención incluyen los compuestos de la fórmula general (0) y (0') como se define adicionalmente a continuación:

45

50

55

60



65

en las que R₀ es un resto arilo, heteroarilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, heteroarilalquilo, heteroarilalquenilo o heteroarilalquinilo sustituido o sin sustituir; en ciertas realizaciones, R₀ es un resto arilalquilo, arilalquenilo, heteroarilalquilo o heteroarilalquenilo; en otras realizaciones, R₀ es un resto heteroarilalquenilo; en ciertas realizaciones, R₀ es un resto heteroarilalquilo; en otras realizaciones, R₀ es un resto arilo o heteroarilo de 5-7 miembros; en otras realizaciones, R₀ es un resto arilo o heteroarilo bicíclico de 8-12 miembros; en otras

ES 2 336 937 T3

realizaciones, R_0 es un resto bicíclico en el que un anillo fenilo está condensado a un resto heteroarilo o arilo; en otras realizaciones, R_0 es un resto bicíclico en el que un anillo fenilo está condensado a un resto tiazol, oxazol o imidazol; en otras realizaciones, R_0 es un resto fenilo sustituido o sin sustituir;

5 cada uno de R_3 y R_4 es independientemente hidrógeno; o un resto arilo, heteroarilo, arilalquilo o heteroarilalquilo alifático, heteroalifático, sustituido o sin sustituir, lineal o ramificado, cíclico o acíclico, opcionalmente sustituido con uno o más de hidroxilo, hidroxilo protegido, alcoxi, carboxi, carboxaldehído, alquilo lineal o ramificado o acetal cíclico, flúor, amino, amino protegido, amino sustituido con uno o dos restos alquilo o arilo, N-hidroximino o N-alcoxiimino; en ciertas realizaciones, cada uno de R_3 y R_4 es independientemente hidrógeno, flúor o alquilo inferior; en otras realizaciones, cada uno de R_3 y R_4 es independientemente hidrógeno o metilo; en otras realizaciones adicionales, R_3 es metilo, y R_4 es hidrógeno;

10 cada uno de R_5 y R_6 es independientemente hidrógeno o un grupo protector; en ciertas realizaciones, R_5 y R_6 son los dos hidrógeno;

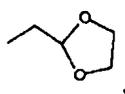
15 X es O, S, $C(R_7)_2$ o NR_7 , donde cada vez que aparece R_7 es independientemente hidrógeno o alquilo inferior; en ciertas realizaciones, X es O; en otras realizaciones, X es NH;

20 Y es O, S, NH, $C(R_7)_2$, CH_2 , $N(R_7)$ o NH, donde cada vez que aparece R_7 es independientemente hidrógeno o alquilo inferior; en ciertas realizaciones, Y es O; en otras realizaciones, Y es NH; en otras realizaciones, Y es CH_2 ;

25 cada R_8 es independientemente hidrógeno; halógeno, hidroxilo, alcoxi, amino, dialquilamino, alquilamino, fluoro, ciano o un resto alifático, heteroalifático, arilo, heteroarilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo o heteroarilalquilo, heteroarilalquenilo, heteroarilalquinilo sustituido o sin sustituir, lineal o ramificado, cíclico o acíclico, opcionalmente sustituido con uno o más de hidroxilo, hidroxilo protegido, alcoxi, carboxi, carboxaldehído, alquilo lineal o ramificado o acetal cíclico, flúor, amino, amino protegido, amino sustituido con uno o dos restos alquilo o arilo, N-hidroximino, o N-alcoxiimino; en ciertas realizaciones, R_8 es hidrógeno; en otras realizaciones, R_8 es hidroxilo; en otras realizaciones, R_8 es flúor; en otras realizaciones adicionales, R_8 es alquilo inferior tal como metilo; en otras realizaciones R_8 es $-CF_3$, $-CF_2H$ o $-CFH_2$; en otras realizaciones, R_8 es un grupo alquilo perfluorado o fluorado; en otras realizaciones, R_8 es un grupo alquilo halogenado o perhalogenado;

30 cada uno de R_9 y R_{10} es independientemente hidrógeno; o un resto arilo, heteroarilo, arilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, heteroarilalquilo, heteroarilalquenilo o heteroarilalquinilo alifático, heteroalifático, sustituido o sin sustituir, lineal o ramificado, cíclico o acíclico, opcionalmente sustituido con uno o más de hidroxilo, hidroxilo protegido, alcoxi, carboxi, carboxaldehído, alquilo lineal o ramificado o acetal cíclico, flúor, amino, amino protegido, amino sustituido con uno o dos restos alquilo o arilo, N-hidroximino o N-alcoxiimino; en ciertas realizaciones, uno de R_9 y R_{10} es metilo; en otras realizaciones, R_9 y R_{10} son metilo; en otras realizaciones, uno de R_9 y R_{10} es metilo, y el otro es hidrógeno; en otras realizaciones, R_9 y R_{10} son hidrógeno;

35 R_B es, independientemente en cada caso, hidrógeno; halógeno; $-OR_{B'}$; $-SR_{B'}$; $-N(R_{B'})_2$; $-C(O)OR_{B'}$; $-C(O)R_{B'}$; $-CON-HR_{B'}$; $-O(C=O)R_{B'}$; $-O(C=O)OR_{B'}$; $-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$; N_3 ; $N_2R_{B'}$; acetal cíclico; o arilo o heteroarilo cíclico o acíclico, lineal o ramificado alifático, heteroalifático, opcionalmente sustituido con uno o más de hidrógeno; halógeno; $-OR_{B'}$; $-SR_{B'}$; $-N(R_{B'})_2$; $-C(O)OR_{B'}$; $-C(O)R_{B'}$; $-CONHR_{B'}$; $-O(C=O)R_{B'}$; $-O(C=O)OR_{B'}$; $-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$; N_3 ; $N_2R_{B'}$; acetal cíclico; o un resto arilo o heteroarilo alifático, heteroalifático, cíclico o acíclico, lineal o ramificado, sustituido o sin sustituir; o es una epotilona, desoxiepotilona o análogos de las mismas; o es un polímero; carbohidrato; marcador de fotoafinidad; o radiomarcador; en ciertas realizaciones, R_B es hidrógeno,



55 metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo, cada uno sin sustituir u opcionalmente sustituido con uno o más de halógeno, $-OH$, $-OR_{B'}$, NH_2 o $N(R_{B'})_2$, o cualquier combinación de los mismos, donde cada vez que aparece $R_{B'}$ es independientemente hidrógeno, alquilo, arilo, o un grupo protector, en otras realizaciones, R_B es hidrógeno, metilo o etilo, en otras realizaciones adicionales, R_B es metilo, en otras realizaciones, $-CY_3$, $-CHY_2$, $-CH_2Y$, donde Y es F, Br, Cl, I, $OR_{B'}$, $NHR_{B'}$, $N(R_{B'})_2$ o $SR_{B'}$, en otras realizaciones, R_B es $-CF_3$, $-CH_2F$ o CHF_2 ; en otras realizaciones, R_B es un grupo alquilo perfluorado o fluorado; en otras realizaciones, R_B es un grupo alquilo halogenado o perhalogenado;

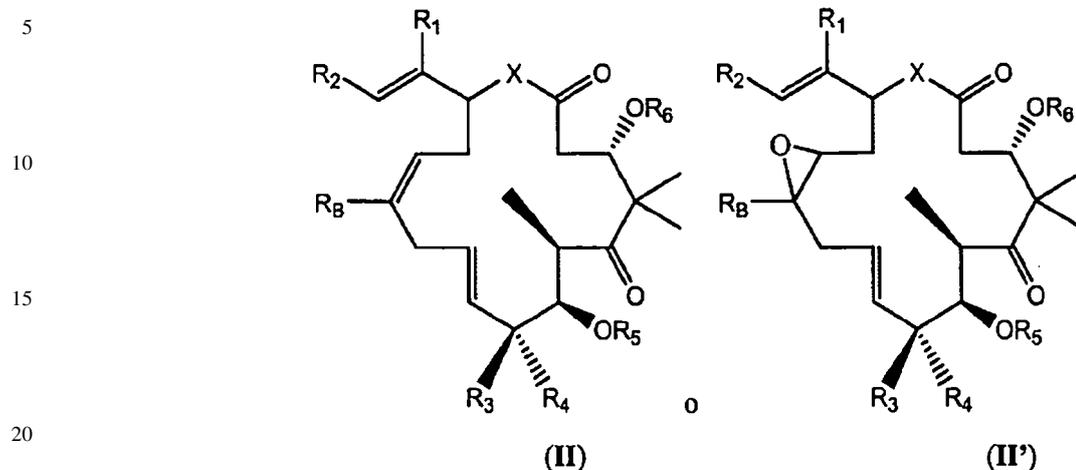
60 cada caso de $R_{B'}$ es independientemente hidrógeno; un grupo protector; un resto arilo, heteroarilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, heteroarilalquilo, heteroarilalquenilo o heteroarilalquinilo alifático, heteroalifático, lineal o ramificado, sustituido o sin sustituir, cíclico o acíclico;

65 m es 1, 2, 3 ó 4, m es 1 ó 2 en ciertas realizaciones, m es 1 en otras realizaciones; y

derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos.

ES 2 336 937 T3

En ciertas realizaciones, los compuestos que se preparan por los procedimientos de la invención incluyen compuestos de la fórmula general (II) o (II') con la estereoquímica definida como se muestra:



25 en las que X, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R_B y X son como se han definido anteriormente.

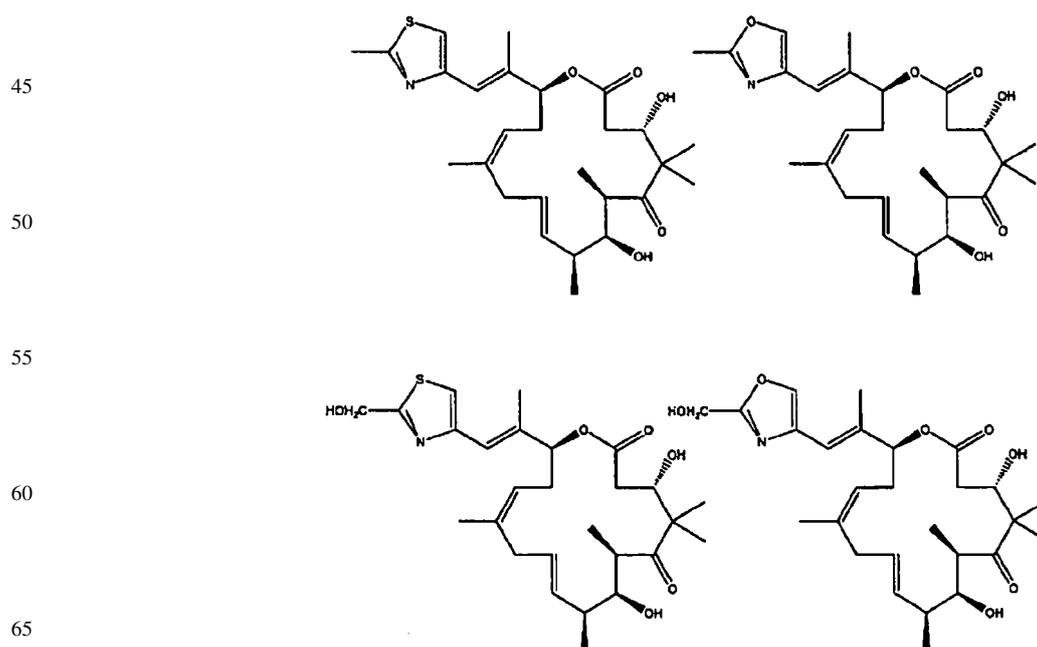
En ciertas realizaciones, X es O. En otras realizaciones, X es NH. En otras realizaciones, X es CH₂.

30 En algunas realizaciones, R₂ es un tiazol sustituido o sin sustituir. En ciertas realizaciones, R₂ es 2-metil-tiazo-4-ilo. En otras realizaciones, R₂ es 2-hidroximetil-tiazo-4-ilo. En otras realizaciones, R₂ es 2-aminometil-tiazo-4-ilo. En otras realizaciones, R₂ es 2-tiolmetil-tiazo-4-ilo.

35 En ciertas realizaciones R₂ es un oxazol sustituido o sin sustituir. En ciertas realizaciones, R₂ es 2-metil-oxazo-4-ilo. En otras realizaciones, R₂ es 2-hidroximetil-oxazo-4-ilo. En otras realizaciones, R₂ es 2-aminometil-oxazo-4-ilo. En otras realizaciones, R₂ es 2-tiolmetil-oxazo-4-ilo.

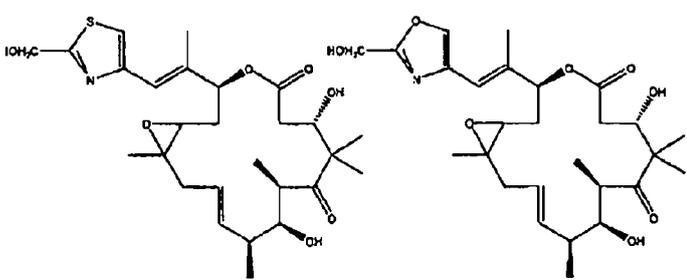
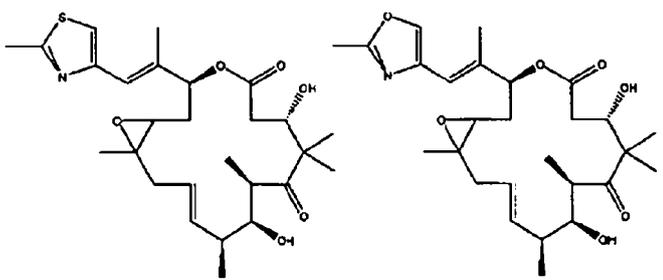
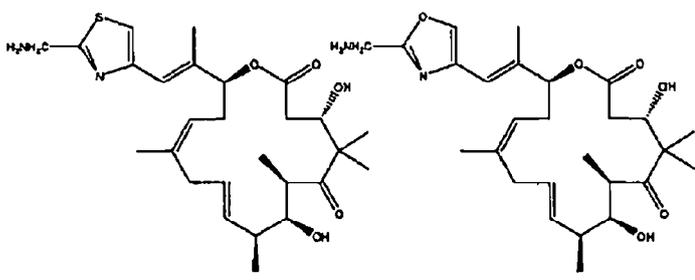
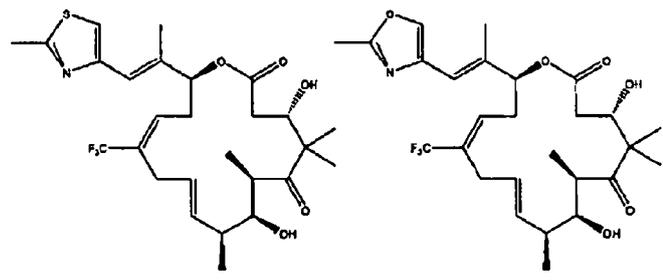
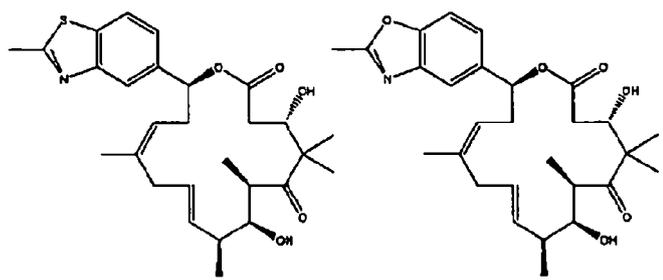
40 En ciertas realizaciones, R_B es hidrógeno, metilo, etilo, -CF₃, -CH₂F, -CF₂H. En ciertas realizaciones, R_B es metilo. En otras realizaciones, R_B es -CF₃. En ciertas realizaciones, R_B es hidrógeno. En otras realizaciones, R_B es etilo.

Ciertos compuestos preferidos que se preparan por los procedimientos de la invención incluyen, por ejemplo:



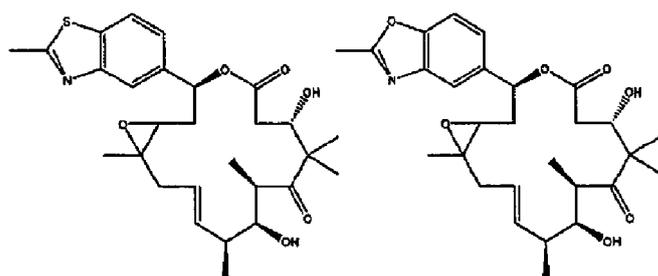
ES 2 336 937 T3

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



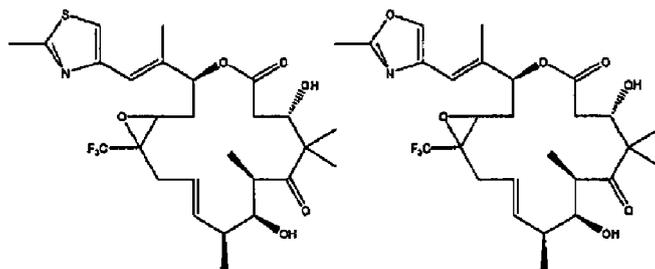
ES 2 336 937 T3

5



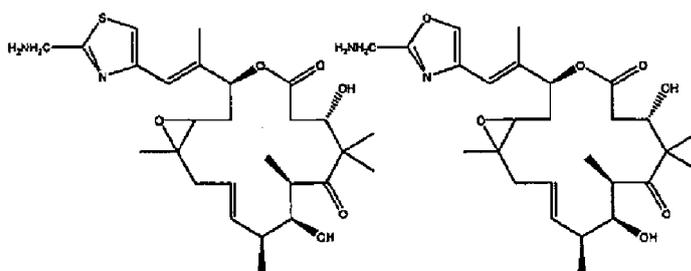
10

15



20

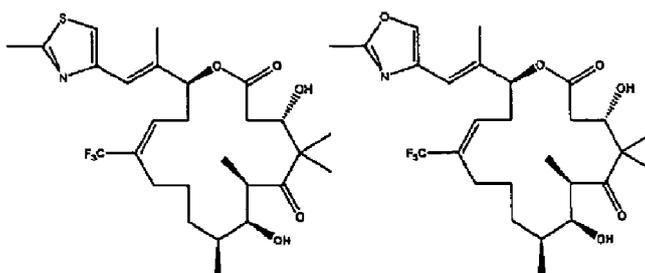
25



30

35

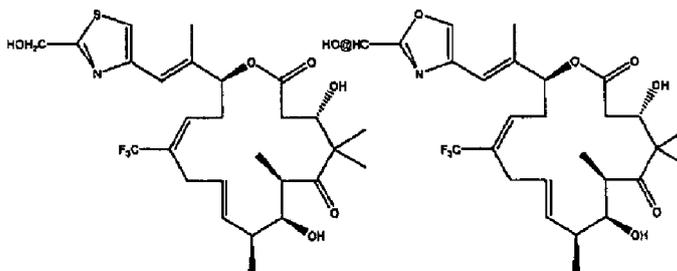
40



45

50

55

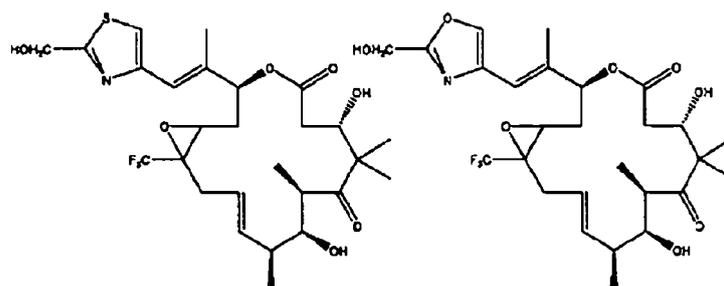


60

65

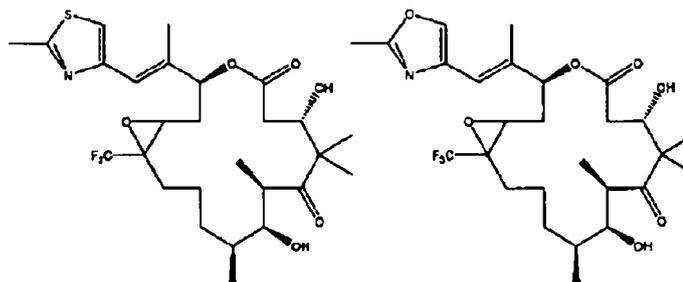
ES 2 336 937 T3

5



10

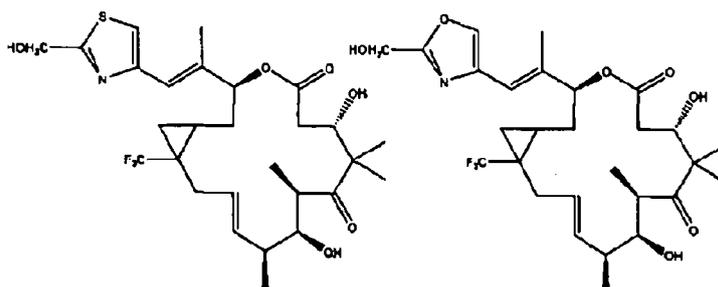
15



20

25

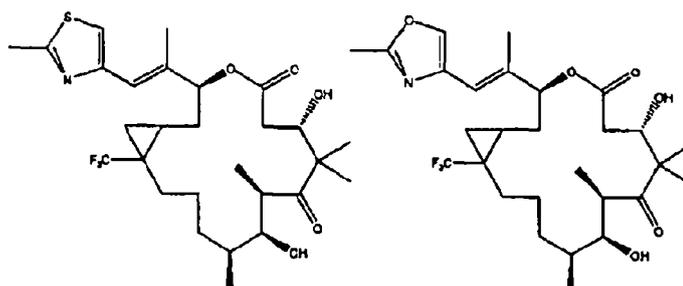
30



35

40

45



50

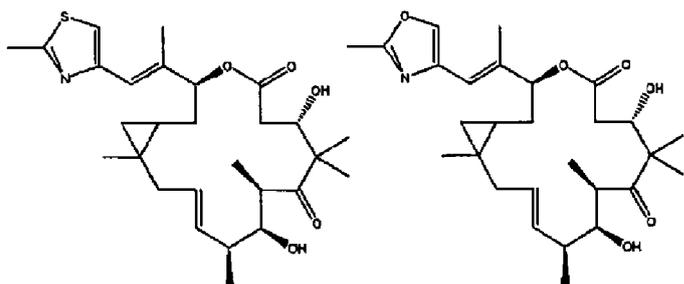
55

60

65

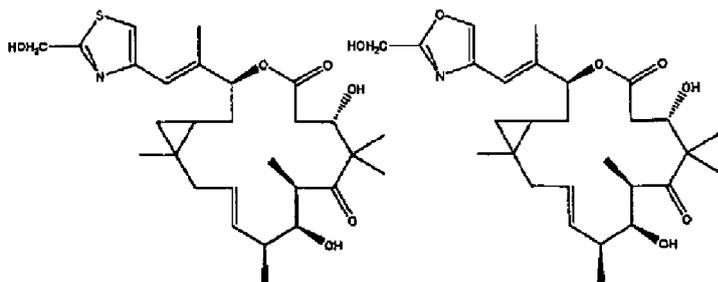
ES 2 336 937 T3

5



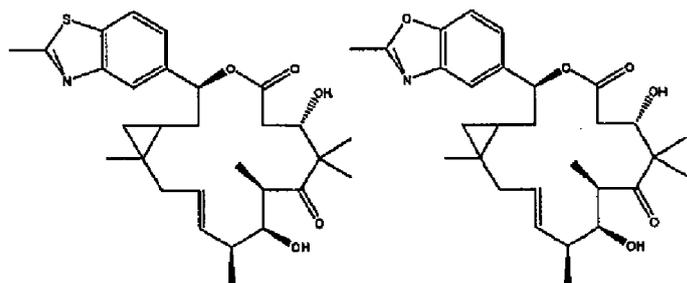
10

15



20

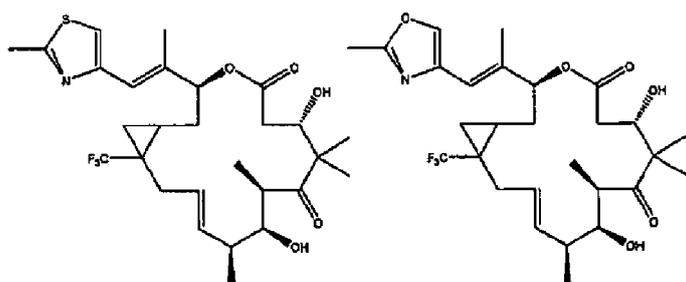
25



30

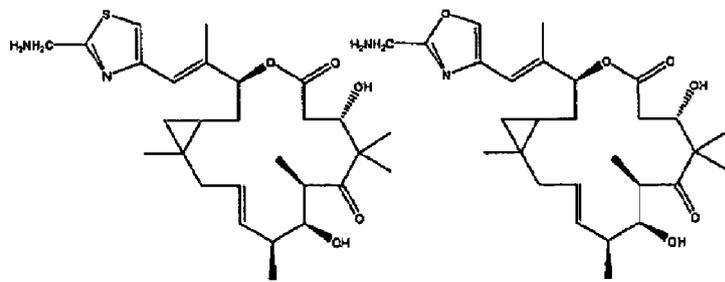
35

40



45

50



55

60

Los compuestos preparados mediante los procedimientos de esta invención incluyen los que se explican y se describen específicamente anteriormente en el presente documento, y se ilustran en partes por las diversas clases, subgéneros y especies que se describen en otras partes de en el presente documento.

ES 2 336 937 T3

Se apreciará por un especialista en la técnica que pueden existir centros asimétricos en los compuestos que se preparan por los procedimientos de la presente invención. Por lo tanto, los compuestos de la invención y composiciones farmacéuticas de los mismos pueden estar en forma de un enantiómero individual, diastereómero o isómero geométrico, o pueden estar en forma de una mezcla de estereoisómeros. En ciertas realizaciones, los compuestos que se preparan por los procedimientos de la invención son compuestos de enantioméricamente puros. En otras realizaciones adicionales, se proporcionan mezclas de estereoisómeros o diastereómeros.

Se apreciará que algunas de las clases y subclases de compuestos anteriores pueden existir en diversas formas isoméricas. Los compuestos pueden ser isómeros individuales sustancialmente libres de otros isómeros y como alternativa, pueden estar en forma de mezclas de diversos isómeros, por ejemplo, mezclas de estereoisómeros racémicos. Además, la invención incluyen isómeros de doble enlace (Z) y (E) a menos que se indique otra cosa. Por lo tanto, los compuestos que se preparan por los procedimientos de la invención que se representan generalmente con la estructura (O), (O'), (I), (I'), (II) y (II') incluyen aquellas estructuras en las que los dobles enlaces son (Z) o (E). En ciertas realizaciones preferidas, el doble enlace en la posición C12-C13 tiene la configuración cis o Z. En algunas realizaciones, el doble enlace en la posición C9-C10 tiene la configuración trans o E. En otras realizaciones adicionales, el doble enlace en la posición C12-C13 tiene la configuración cis o Z, y el doble enlace en la posición C9-C10 tiene la configuración trans o E. Los compuestos también incluyen tautómeros de compuestos específicos como se ha descrito anteriormente.

Los compuestos pueden proporcionarse en forma de derivados farmacéuticamente aceptables y usarse en procedimientos para tratar un sujeto usando estos compuestos, composiciones farmacéuticas de los mismos o cualquiera de estos junto con uno o más agentes terapéuticos adicionales. La expresión "derivado farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, representa cualquiera sal, éster o sal de dicho éster farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto, o cualquier otro aducto o derivado que, después de la administración a un paciente, es capaz de proporcionar (directamente o indirectamente) un compuesto como se describe de otro modo en el presente documento, o un metabolito o residuo del mismo. Por tanto, se incluyen derivados farmacéuticamente aceptables entre otros pro-fármacos. Un profármaco es un derivado de un compuesto, normalmente con una actividad farmacológica significativamente reducida, que contiene un resto adicional que es susceptible de eliminación *in vivo* produciendo la molécula de partida como la especie farmacológicamente activa. Un ejemplo de un pro-fármaco es un éster que se escinde *in vivo* para producir un compuesto de interés. Se conocen y pueden adaptarse a la presente invención pro-fármacos de una diversidad de compuestos y materiales y procedimientos para modificar los compuestos parentales para crear los pro-fármacos. A continuación, en el presente documento se analizarán con más detalle ciertas composiciones farmacéuticas ejemplares y derivados farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos que son de interés particular incluyen aquellos que:

- muestran efecto citotóxico o inhibidor del crecimiento en líneas celulares cancerígenas mantenidas *in vitro* en estudios animales usando un modelo de xenotrasplante de célula cancerígena científicamente aceptable;
- muestran una capacidad para polimerizar tubulina y estabilizar ensamblajes de microtúbulos;
- muestran niveles mínimos de citotoxicidad para órganos vitales;
- conducen a la desaparición del tumor en modelos de xenotrasplante de célula cancerígena científicamente aceptables;
- conducen a la disminución del tumor en modelos de xenotrasplante de célula cancerígena científicamente aceptables;
- conducen a la desaparición del tumor en modelos de xenotrasplante de célula cancerígena científicamente aceptables y al retraso o no recurrencia del tumor después de suspender el tratamiento;
- muestran disminuciones de peso corporal transitorias y reversibles y muestran efectos terapéuticos en modelos de xenotrasplantes de células cancerígena científicamente aceptables;
- muestran hidrosolubilidad potenciada sobre las epotilonas A, B, C o D o paclitaxel o adicionalmente o alternativamente muestran suficiente solubilidad para formularse en un medio acuoso usando proporciones reducidas de Cremophor; y/o
- muestran un perfil terapéutico (por ejemplo, seguridad óptima y efecto curativo), superior al de la epotilona B o epotilona D o paclitaxel.

Como se ejemplifica en el presente documento, se han preparado, caracterizado y ensayado una diversidad de análogos de epotilona como se ha descrito anteriormente. Se ha descubierto que los análogos de 9,10-dehidro-epotilona son útiles en el tratamiento del cáncer, y en particular los compuestos que se han preparado y se han descubierto poseen una o más de las características deseadas indicadas anteriormente.

ES 2 336 937 T3

Metodología Sintética

Anteriormente se ha descrito la síntesis de determinadas epotilonas, desoxiepotilonas y análogos de las mismas (véanse, las Patentes de Estados Unidos 6.242.469, 6.284.781, 6.300.355, 6.204.388, 6.316.630 y 6.369.234; Solicitudes de Patente de Estados Unidos 09/797.027, 09/796.959 y 10/236.135; y las Publicaciones PCT N° WO 99/01124, WO 99/43653 y WO 01/64650, cuyo contenido total se incorporan en el presente documento por referencia). En reconocimiento de la necesidad para metodologías sintéticas mejoradas o adicionales para generar epotilonas, desoxiepotilonas y análogos de las mismas de manera eficaz en grandes cantidades, la presente invención proporciona una ruta eficiente y modular para la síntesis de epotilonas, desoxiepotilonas y análogos de las mismas. Aunque la síntesis de determinados compuestos ejemplares se describe en la Ejemplificación en el presente documento, se apreciará que esta metodología es generalmente aplicable a la generación de análogos y conjugados como se describe anteriormente para cada una de las clases o subclases descritas en el presente documento.

En particular, los compuestos 9,10-dehidroepotilona de la presente invención pueden prepararse en una diversidad de modos usando metodologías sintéticas útiles en la síntesis de epotilonas. En determinadas realizaciones, los compuestos se preparan usando una ruta sintética convergente. Por ejemplo, la epotilona puede sintetizarse preparando dos o tres intermedios que se ponen en contacto para producir el compuesto deseado. En una realización, uno de los intermedios es una parte acilo que contiene 1-9 carbonos y otro intermedio contiene 10-15 carbonos y también puede contener la cadena lateral tiazol. Estas dos partes aproximadamente iguales de la epotilona pueden ponerse en contacto usando primero una reacción de esterificación entre C-1 y un oxígeno de C-15. El macrociclo puede cerrarse después usando una reacción de acoplamiento carbono-carbono tal como un acoplamiento Suzuki o reacción de metátesis de cierre de anillo. En una realización, la tapa de cierre de anillo final se consigue usando una reacción de metátesis de cierre de anillo para formar el enlace doble 9,10 y cerrar el macrociclo. La reacción de metátesis de cierre de anillo se consigue usando un catalizador organometálico tal como el catalizador de Grubbs como se muestra en el Esquema 8 a continuación. En determinadas realizaciones, el enlace doble 9,10 se reduce o se oxida o el enlace doble 9,10 puede funcionarizarse además para preparar derivados de epotilona adicionales.

En otras realizaciones, la etapa de cierre de anillo final se consigue usando una reacción de metátesis de cierre de anillo para formar el enlace doble 12,13 y cerrar en el macrociclo. En determinadas realizaciones, el enlace doble 12,13 se reduce o se oxida. En otras realizaciones, se usa la reacción de macroaldonización o macrolactonización para formar el macrociclo.

Determinadas síntesis ejemplares de los compuestos de la invención se proporcionan en las Figuras y en los Ejemplos. Como podrá apreciar un especialista en la técnica, pueden prepararse una diversidad de análogos y derivados usando los procedimientos sintéticos como se describe en el presente documento. Por ejemplo, pueden conseguirse muchas de las etapas sintéticas con diferentes grupos protectores o sustituyentes diferentes en el anillo de 16 miembros.

Composiciones farmacéuticas

También se describe en el presente documento una preparación farmacéutica que comprende al menos uno de los compuestos como se ha descrito anteriormente y en el presente documento o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, cuyos compuestos son capaces de inhibir el crecimiento o destruir células cancerígenas y son capaces de inhibir el crecimiento o destruir células cancerígenas con resistencia múltiple a fármacos. La preparación farmacéutica también puede comprender como agentes solubilizante o emulsificante tal como Cremophor (aceite de ricino polioxil 35) o Solutol (polietilenglicol 660 12-hidroxiestrearato).

Como se ha descrito anteriormente, los compuestos novedosos que se proporcionan tienen actividad antitumoral y antiproliferativa y por tanto son útiles para el tratamiento del cáncer. Por consiguiente, en otro aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas, en las que estas composiciones comprenden cualquiera de los compuestos como se describe en el presente documento y opcionalmente comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones comprenden opcionalmente además uno o más agentes terapéuticos adicionales. El agente terapéutico adicional puede ser un agente anticanceroso, como se describe con más detalle en el presente documento.

También se apreciará que algunos de los compuestos preparados por los métodos de la presente invención puede existir en forma libre para tratamiento, o cuando sea apropiado, como un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo. Un derivado farmacéuticamente aceptable incluye, pero sin limitación, sales, ésteres, sales de dichos ésteres farmacéuticamente aceptables o cualquier otro aducto o derivado que después de la administración a un paciente que lo necesita es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto como se describe en el presente documento de otra manera, o un metabolito o resto del mismo, por ejemplo, un profármaco.

Como se usa en el presente documento, la expresión “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas sales que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuadas para usar en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin la indebida toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares y son adecuadas en una proporción riesgo/beneficio razonable. Las sales farmacéuticamente aceptables se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge, y col. describen sales farmacéuticamente aceptables con detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 66: 1 -19 (1977), incorporado en el presente documento por referencia. Las sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y purificación final de los compuestos de la invención o por separado haciendo reaccionar la función

de base libre con ácido orgánico adecuado. Son ejemplos de sales de adición ácidas no tóxicas, farmacéuticamente aceptables, las sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o usando otros procedimientos usados en la técnica tales como intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenesulfonato, 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. Las sales de metal alcalinotérricas o alcalinas representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando es apropiado, amonio no tóxico, amonio cuaternario y cationes de amina formados usando contraiones tales como haluros, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquilo inferior y aril sulfonato.

Adicionalmente, como se usa en el presente documento, la expresión “éster farmacéuticamente aceptable” se refiere a ésteres que hidrolizan *in vivo* e incluyen aquellos que se degradan rápidamente en el cuerpo humano para dejar el precursor o una sal del mismo. Los grupos éster adecuados incluyen, por ejemplo, aquellos derivados de ácidos carboxílicos alifáticos farmacéuticamente aceptables, particularmente ácidos alcanóicos, alquenoicos, cicloalcanóicos y alcanodioicos, en los que ventajosamente cada resto alquilo o alqueniilo no tiene más de 6 átomos de carbono. Los ejemplos de ésteres particulares, incluyen formatos, acetatos, propionatos, butiratos, acrilatos y etil succinatos.

Además, la expresión “profármacos farmacéuticamente aceptables”, como se usa en el presente documento, se refiere a aquellos profármacos de los compuestos preparados por los procedimientos de la presente invención que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuados para usar en contacto con los tejidos de los seres humanos y animales inferiores sin la indebida toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, adecuados en una proporción riesgo/beneficio razonable y eficaces para su uso pretendido, así como a las formas zwitteriónicas, cuando son posibles, de los compuestos de la invención. El término “profármaco” se refiere a compuestos que se transforman rápidamente *in vivo* para producir el precursor de la fórmula anterior, por ejemplo por hidrólisis en la sangre. Se proporciona una minuciosa discusión en T. Higuchi y V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series y Edward B. Roche, ed., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, ambas incorporadas en el presente documento por referencia.

Como se describe anteriormente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención adicionalmente comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable que, como se usa en el presente documento, incluye todos y cada uno de los disolventes, diluyentes, u otros vehículos líquidos, ayudantes de la dispersión o de la suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsificantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, como adecuados para la forma de dosificación particular deseada. Remington's Pharmaceutical Sciences, Fifteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1975) describe diversos vehículos usados en composiciones de formulación farmacéutica y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto en la medida en que cualquier medio de vehículo convencional sea incompatible con los compuestos anticancerosos de la invención, tal como para producir algún efecto biológico no deseado u otra interacción de algún otro modo de manera perjudicial con cualquier otro compuesto (o compuestos) de la composición farmacéutica, su uso se contempla dentro del alcance de esta invención. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables, incluyen, pero sin limitación, azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa, almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como carboximetil celulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; Cremophor; Solutol; excipientes tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo; aceite de sésamo, aceite de oliva; aceite de maíz y/o aceite de soja; glicoles; tal como propilenglicol; ésteres tal como etil oleato y etil laurato; agar; agentes tamponantes tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua sin pirógeno; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y soluciones de tampón fosfato así como otros lubricantes compatibles no tóxicos tales como lauril sulfato sódico y estearato de magnesio, así como agentes de colorantes, agentes liberadores, agentes de revestimiento, edulcorantes, saporíferos y agentes perfumantes, de acuerdo con el criterio del formulador también pueden estar presentes en la composición conservantes y antioxidantes.

Usos de Compuestos y Composiciones Farmacéuticas

Los compuestos producidos por los procedimientos de la invención pueden usarse en un procedimiento para inhibir el crecimiento tumoral y o metástasis tumoral. Se proporciona un procedimiento para el tratamiento de cánceres mediante la inhibición del crecimiento tumoral y/o metástasis tumoral para células cancerígenas resistentes a múltiples fármacos tumorales. El procedimiento implica la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo a un sujeto (incluyendo, pero sin limitación un ser humano o un animal) que lo necesite. Específicamente para el tratamiento de cánceres que comprenden células cancerígenas resistentes a múltiples fármacos, la cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad suficiente para destruir o inhibir el crecimiento de las líneas celulares cancerígenas resistentes a múltiples fármacos. Los compuestos pueden ser útiles para el tratamiento de tumores sólidos.

ES 2 336 937 T3

Los compuestos y composiciones farmacéuticas preparados por los procedimientos de la presente invención pueden usarse en el tratamiento o prevención de cualquier enfermedad o afección incluyendo enfermedades proliferativas (por ejemplo, cáncer), enfermedades autoinmunes (por ejemplo, artritis reumatoide) e infecciones (por ejemplo, bacterianas, fúngicas, etc.). Los compuestos y composiciones farmacéuticas pueden administrarse a animales, preferiblemente mamíferos (por ejemplo, animales domésticos, gatos, perros, ratones, ratas), y más preferiblemente a seres humanos. Puede usarse cualquier procedimiento de administración para suministrar al animal el compuesto de las composiciones farmacéuticas en el animal. El compuesto o composición farmacéutica puede administrarse por vía parenteral.

De acuerdo con los procedimientos de tratamiento, las células tumorales se destruyen o se inhibe su crecimiento poniendo en contacto en las células tumorales con un compuesto o composición como se describe en el presente documento. De esta manera, se describe un procedimiento para el tratamiento del cáncer que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o una composición farmacéutica que comprende un compuesto a un sujeto que lo necesita, en cantidades y tiempos tales como sea necesario para conseguir el resultado deseado. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto o composición farmacéutica de la invención es esa cantidad eficaz para destruir o inhibir el crecimiento de las células tumorales. El compuesto y composiciones preparadas de acuerdo con el procedimiento de la presente invención, puede administrarse usando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para la destrucción o inhibición del crecimiento de las células tumorales. De esta manera, la expresión "cantidad eficaz para destruir o inhibir el crecimiento de las células tumorales", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad de agente suficiente para destruir o inhibir el crecimiento de las células tumorales. La cantidad exacta necesaria variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, edad y estado general del sujeto, la gravedad de la infección, el agente anticancerígeno particular, su modo de administración y similares. Los compuestos anticancerígenos de la invención se formulan preferiblemente en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La expresión "forma de dosificación unitaria", como se usa en el presente documento se refiere a una unidad físicamente separada de agente anticancerígeno apropiada para el paciente a tratar. Se entenderá, sin embargo, que el médico tratante decidirá el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención dentro del alcance del buen criterio médico. El nivel específico de dosis terapéuticamente eficaz para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen el trastorno a tratar y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado, la composición específica empleada; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración y la velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o coincidentes con el compuesto específico empleado y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

Además, después de la formulación con un vehículo apropiado farmacéuticamente aceptable en una dosificación deseada, las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse a seres humanos u otros animales por vía oral, vía rectal, vía parenteral, vía intracisternal, vía intravaginal, vía intraperitoneal, vía tópica (así como por polvos, cremas o gotas), vía bucal, como una pulverización oral o nasal, o similar, dependiendo de la gravedad de la infección a tratar. Los compuestos como se describen en el presente documento pueden formularse por conjugación con quelantes hidrosolubles o polímeros hidrosolubles tales como polietilenglicol como poli (1-ácido glutámico), o poli (1-ácido aspártico), como se describe en la Patente de Estados Unidos 5.977.163, cuyo contenido completo se incorpora en el presente documento por referencia. En determinadas realizaciones, los compuestos de la invención pueden administrarse por vía oral o vía parenteral a suficientes niveles de dosificación para suministrar de aproximadamente 0,001 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, y más preferiblemente de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg del peso corporal del sujeto por día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado. La dosificación deseada puede suministrarse cada dos días, cada tres días, cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas, o cada cuatro semanas. En determinadas realizaciones, la dosificación deseada puede suministrarse usando administraciones múltiples (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez administraciones).

Las formas de dosificación líquida para la administración oral, incluyen, pero sin limitación, emulsiones, micro-emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquida pueden contener diluyentes inertes comúnmente usados en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsificantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, etil carbonato, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurilo, polietilen glicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsificantes, y de suspensión, edulcorantes, agentes saporíferos y perfumantes.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas inyectables u oleaginosas estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, con una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer, U.S.P.

ES 2 336 937 T3

y solución de cloruro sódico isotónico. Además, como un medio de suspensión o disolvente se emplean de manera convencional aceites estériles, no volátiles. Para este fin puede emplearse cualquier aceite volátil suave incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables se usan ácidos grasos tal como ácido oleico.

5

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes del uso.

10

Para prolongar el efecto de un fármaco, a menudo es deseable desacelerar la absorción del fármaco de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede conseguirse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo, con escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, depende del tamaño del cristal y de la forma del cristalina. De manera alternativa, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se consigue disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso. Las formulaciones de liberación prolongada inyectables se preparan formando matrices micro encapsuladas del fármaco en polímeros biodegradables tales como poliláctico-poliglicólido. Dependiendo de la proporción de fármaco con respecto a polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli (anhídridos). Las formulaciones de liberación prolongada inyectables también pueden prepararse atrapando el fármaco en liposomas o en microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

15

20

Las composiciones para administración por vía rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de esta invención con excipientes no irritantes o vehículos adecuados tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera para supositorio que es sólida a temperatura ambiente pero líquida a temperatura corporal y por lo tanto se funde en el recto o en la cavidad vaginal y se libera el compuesto activo.

25

Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas de dosificación sólida, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable, inerte tal como citrato sódico o fosfato dicálcico y/o a) cargas o expansores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidina, sacarosa y acacia, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, algunos silicatos y carbonato sódico, e) agentes retardantes de solución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y glicerol monoestearato, h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita e i) lubricantes tales como talco, estearato cálcico, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato sódico y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponantes.

30

35

40

También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina de carga dura y blanda usando dichos excipientes como lactosa o azúcar lácteo así como polietilenglicoles de elevado peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólida de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con revestimientos y carcassas tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden estar en una composición en la que liberan el ingrediente (o ingredientes) activo únicamente o preferencialmente en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Ejemplos de composiciones incluidas que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden emplearse como cargas en cápsulas de gelatina de carga dura y blanda usando dichos excipientes tales como lactosa o azúcares lácteos así como polietilenglicoles de elevado peso molecular y similares.

45

50

Los compuestos activos también pueden estar en una forma micro-encapsulada con uno o más excipientes como se ha indicado anteriormente. Las formas de dosificación sólida de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con revestimientos y carcassas tales como revestimientos entéricos, revestimientos de liberación controlada y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. En las formas de dosificación sólida el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa, o almidón. Dichas formas de dosificación también pueden comprender, como es normal en la práctica, sustancias adicionales diferentes de diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes para preparar comprimidos y otros ayudantes para preparar comprimidos tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tamponantes. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden estar en una composición en la que liberan el ingrediente (o ingredientes) activo únicamente o preferencialmente en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Ejemplos de composiciones incluidas que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

55

60

65

Las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizadores, inhaladores o parches. El componente activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario si se requiere. La formulación oftálmica, gotas óticas y gotas oculares también se contemplan que están

dentro del alcance de esta invención. Adicionalmente, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja añadida de proporcionar la administración controlada de un compuesto en el cuerpo. Dichas formas de dosificación pueden prepararse disolviendo o dispersando el compuesto en el medio apropiado. También pueden usarse potenciadores de absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana que controla la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

Como se ha descrito anteriormente, los compuestos preparados por los procedimientos de la presente invención son útiles como agentes anticancerosos, y por tanto pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer, produciendo la muerte celular del tumor o inhibiendo el crecimiento de las células tumorales. En general, los agentes anticancerosos son útiles en el tratamiento de cánceres y otros trastornos proliferativos, que incluyen, pero sin limitación cáncer de mama, cáncer cerebral, cáncer de piel, cáncer cervical, cáncer de colon y recto, leucemia, cáncer de pulmón, melanoma, mieloma múltiple, linfoma no-Hodgkin, cáncer de ovario, cáncer pancreático, cáncer de próstata, cáncer gástrico por nombrar algunos. En determinadas realizaciones, los agentes anticancerosos son activos frente a células de leucemia y células de melanoma y por tanto son útiles para el tratamiento de leucemias (por ejemplo, mieloides, linfocítica, promielocítica, mielocítica y leucemias linfoblásticas, tanto formas agudas como crónicas) y melanomas malignos. Los agentes anticancerosos de la invención son activos frente a tumores sólidos y también destruyen y/o inhiben el crecimiento de células con resistencia múltiple a fármacos (células MDR). Los agentes anticancerosos de la invención son activos frente a cánceres que son resistentes a otros agentes anti-neoplásicos conocidos o que se ha demostrado que clínicamente no responden a otros agentes antineoplásicos conocidos. Los agentes anticancerosos de la invención son activos frente a cánceres que son resistentes a otros agentes estabilizantes de microtúbulos anti-neoplásicos (por ejemplo, paclitaxel).

Se apreciará también que los compuestos y composiciones farmacéuticas preparados por los procedimientos de la presente invención pueden emplearse en terapias de combinación, es decir, los compuestos y las composiciones farmacéuticas pueden administrarse al mismo tiempo, antes, o después, con uno o más procedimientos terapéuticos o médicos deseados. La combinación de terapias particulares (terapéuticas o procedimientos) para emplear en un régimen de combinación tendrá en cuenta la compatibilidad de terapéuticas y/o procedimientos deseados y el efecto terapéutico deseado a conseguir. También se apreciará que las terapias empleadas pueden conseguir un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, un compuesto puede administrarse simultáneamente con otro agente anticancerígeno), o pueden conseguirse efectos diferentes (por ejemplo, control de cualquier efecto adverso).

Por ejemplo, otras terapias o agentes anticancerosos que pueden usarse en combinación con los agentes anticancerosos incluyen cirugía, radioterapia (en sólo unos pocos ejemplos, γ -radiación, radioterapia por haz de neutrones, radioterapia por haz de electrones, terapia de protones, braquiterapia e isótopos radioactivos sistémicos por nombrar unos pocos), terapia endocrina, modificadores de respuesta biológica (interferones, interleuquinas y factor de necrosis tumoral (TNF) por nombrar unos pocos), hipertermia y crioterapia, agentes para atenuar cualquier efecto adverso (por ejemplo, antieméticos) y otros fármacos quimioterapéuticos aprobados, que incluyen, pero sin limitación, fármacos alquilantes (mecloretamina, clorambucil, Ciclofosfamida, Melfalan, Ifosfamida), antimetabólicos (Metotrexato), antagonistas de purina y antagonistas de pirimidina (6-Mercaptopurina, 5-Fluorouracil, Citarabina, Gemcitabina), venenos del uso mitótico (Vinblastina, Vincristina, Vinorelbina, Paclitaxel, Docetaxel), podofilotoxinas (Etopósido, Irinotecan, Topotecan), antibióticos (Doxorubicina, Bleomicina, Mitomicina), nitrosoureas (Carmustina, Lomustina), iones inorgánicos (Cisplatino, Carboplatino), enzimas (Asparaginasa) y hormonas (Tamoxifen, Leuprolide, Flutamida y Megestrol), por nombrar unas pocas. Para una presentación más exhaustiva sobre las terapias de cáncer actuales, véase <http://www.nci.nih.gov/>, una lista de fármacos oncológicos aprobados por la FDA en la <http://www.fda.gov/cder/cancer/druglistframe.htm> y en el Merck Manual, decimoséptima Ed. 1999, cuyo contenido completo se incorpora en el presente documento por referencia.

Se describe adicionalmente un envase o kit farmacéutico que comprende uno o más recipientes cargados con uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas y puede incluir un agente terapéutico adicional aprobado para usar como una terapia de combinación. Opcionalmente asociado a dicho recipiente o (recipientes) puede existir una información sobre la forma prescrita por la agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos, que notifican las indicaciones aprobadas por la agencia de fabricación, uso o venta para la administración en seres humanos.

Equivalentes

Los ejemplos representativos que se indican a continuación pretenden ayudar a ilustrar la invención, y no pretenden limitar, ni debe interpretarse que limitan, el alcance de la invención. De hecho, diversas modificaciones de la invención y algunas realizaciones adicionales de la misma, además de las mostradas y descritas en el presente documento, serán evidentes por los especialistas en la técnica a partir del contenido completo de el presente documento, incluyendo los siguientes ejemplos y las referencias de la bibliografía científica y de patentes citadas en el presente documento. Debe apreciarse además que los contenidos de esas referencias citadas se incorporan en el presente documento por referencia para ayudar a ilustrar el estado de la técnica. Los siguientes ejemplos contienen información adicional importante, ejemplos y orientaciones que pueden adaptarse a la práctica de esta invención en sus diversas realizaciones y equivalentes de la misma.

Ejemplos

Ejemplo 1

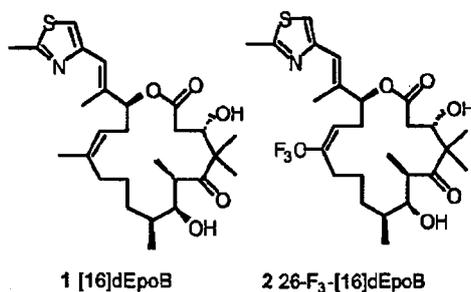
5 Síntesis de 9,10-deshidro-12,13-desoxi-epotilonas

Este Ejemplo describe la síntesis de *trans*-9,10-deshidro-12,13-desoxiepotilona B, 26-trifluoro-*trans*-9,10-deshidro-12,13-desoxiepotilona B, 26-trifluoro-12,13-desoxiepotilona B y 12,13-desoxiepotilona B y ensayos biológicos de estos compuestos.

10

Se prepararon derivados fluorados de epotilonas y se ensayaron dados los índices farmacocinéticos y quimioterapéuticos mejorados 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; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia).

15



20

25

30

35

Para conseguir el compuesto 2, se buscó sacar partido de una ruta altamente convergente presentada recientemente en nuestro laboratorio para la síntesis de epotilona 490 (6, deshidrodesoxi Epo B) en la ruta hacia 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; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia). En esta síntesis, se introdujo un grupo vinilo flanqueante al compuesto 4 por un acoplamiento de Stille estereoespecífico de un precursor de yoduro de vinilo 3 con tri-*n*-butilvinilestannano. La metátesis con cierre de anillo seguido de desprotección condujo a 6, que después se transformó en dEpoB (1) por una reducción de diimida regioselectiva.

40

Esquema 3

Síntesis de la Epotilona 490

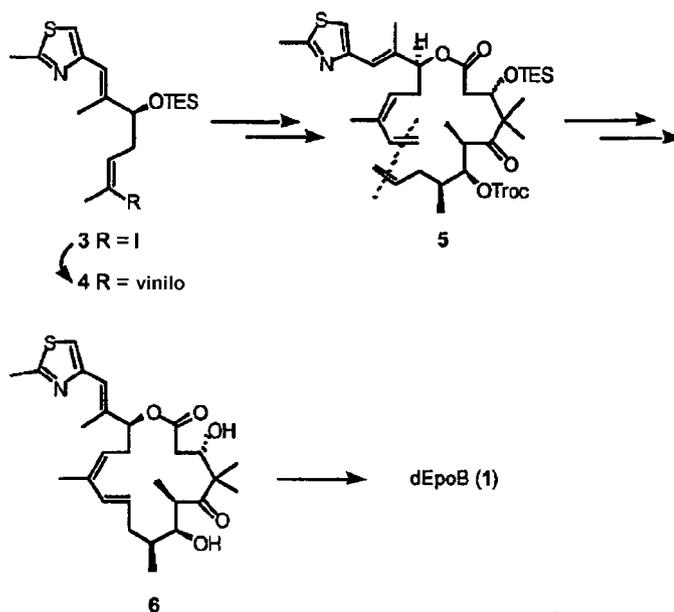
45

50

55

60

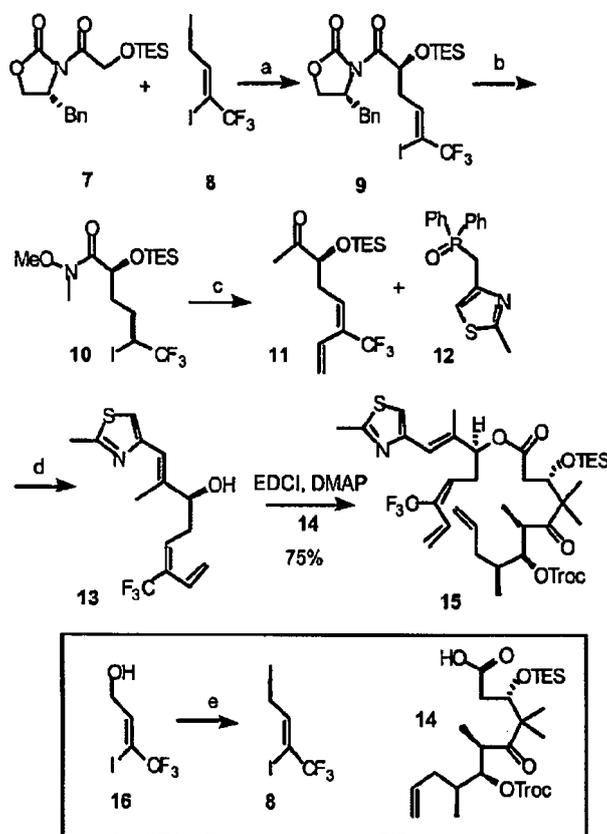
65



En primer lugar, la atención se dirige a la síntesis de 15 (Esquema 4). La alquilación del enolato de litio de 7 que se ha indicado anteriormente (Chappell, M. D.; Stachel, S. J.; Lee, C. B.; Danishefsky, S. J. *Org. Lett.* 2000,2 (11), 1633-1636; incorporado en el presente documento por referencia) con yoduro 8 (sintetizado a partir del alcohol 16 conocido usando TMSI en cloruro de metileno) produjo 9 con un rendimiento del 78% y alta diastereoselectividad (>25:1 de). El compuesto 9 se hizo avanzar en tres etapas para dar 10 como se muestra. Los intentos de realizar la adición de bromuro de metilmagnesio en el enlace de amida de Weinreb de 10 fracasaron. El fracaso de esta reacción se atribuyó a la presencia del enlace de yodoalqueno. Sin embargo, pudo conseguirse el objetivo cambiando el orden de estas dos etapas de formación del enlace C-C. Por lo tanto, la reacción de 10 con viniltributilestaño en condiciones de Stille pudo continuarse después por la adición de reactivo de Grignard de metilo para dar la cetona 11 deseada. La condensación de la cetona 11 con el óxido de fosfina 12 seguido de la desprotección del trietilsilil éter, produjo el fragmento 13 con un buen rendimiento. La esterificación del material 13 resultante con el fragmento de 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; incorporados en el presente documento por referencia), proporcionó el material 15 deseado, con un rendimiento del 75% (Esquema 4).

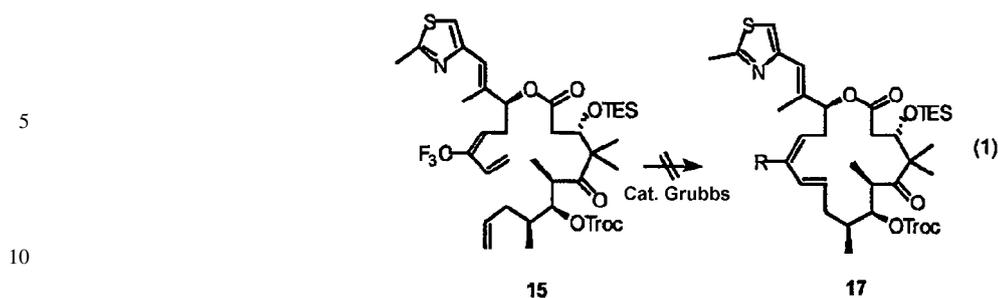
Esquema 4

Síntesis del precursor de RCM 15

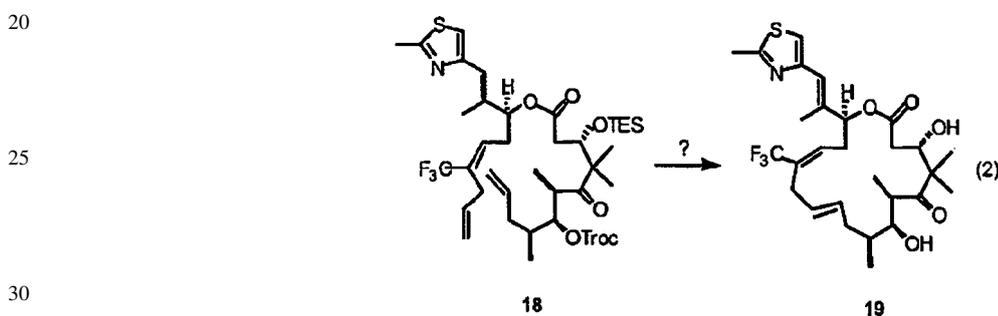


(a) LHMDS, -78°C , 78%; (b) i) HOAc:THF:H₂O (3:1:1); ii) CH₃ONHCH₃, AlMe₃; iii) TESCl, imidazol, DMF, global al 79%; (c) i) Viniltributilestaño, Pd(dba), DMF, 80°C , 3 h 43%; ii) MeMgBr, 0°C , 94%; (d) i) *n*-BuLi, THF, -78°C , 30 min., ii) 12, de -78°C a ta, 81%; iii) HOAc:THF:H₂O (3:1:1), 94%; (e) TMSI, CH₂C₂, 0°C , 92%

Desafortunadamente, los intentos de realizar la reacción de metátesis con cierre de anillo de 15 usando el catalizador de Grubbs de segunda generación (Revisiones: Grubbs, R. H.; Miller, S. J.; Fu, G. C. *Ace. Chem. Res.* 1995, 28, 446; Trnka, T. M.; Grubbs, R. H. *Ace. 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 se incorpora en el presente documento por referencia) en cloruro de metileno condujo esencialmente a la dimerización aparente del material de partida (Ecuación 1). Dado el hecho de que la RCM funciona bastante bien en el entorno relacionado de 5 \rightarrow 6, naturalmente se atribuyó el fracaso en el caso de 15 a la presencia del grupo trifluorometilo en el C₁₂.



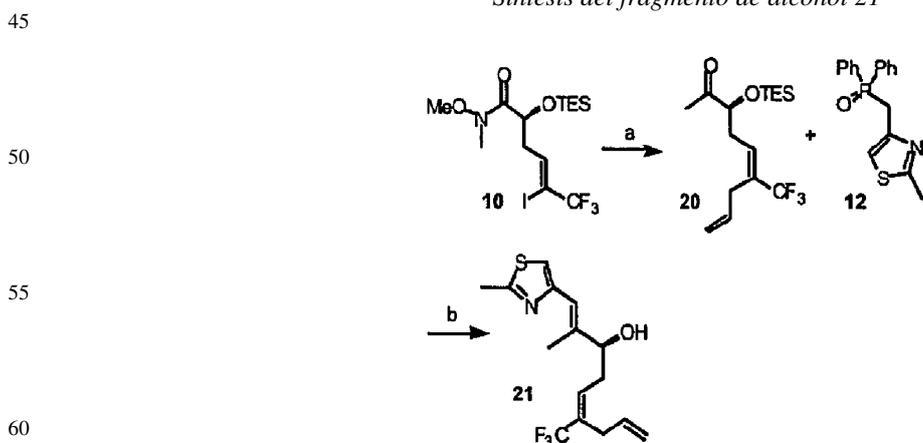
15 Se conjeturó que el impacto perjudicial del sustituyente de 26-trifluoro residente sobre la reacción deseada, podía mitigarse añadiendo un espaciador de carbono entre en el centro de la reacción de RCM y el grupo trifluorometilo. Por consiguiente, se emprendió una síntesis de 19 (Ecuación 2) mediante la metátesis con cierre de anillo de 18, que presentaría el grupo trifluorometilo en el contexto de un anillo de 17 miembros que contiene un (1,4)-dieno transportado.



35 El programa de síntesis dirigido a 19 comenzó con la preparación del compuesto 21, que corresponde al sector O-alquilo del sustrato de RCM propuesto por los presentes solicitantes (Esquema 5). Se empezó con la alilación de 10, esta vez en condiciones de reacción radicales como se muestra (Keck, G. E.; Yates, J. B. J. Am. Chem. Soc. 1982, 104, 5829; revisión: Curran, D. P. Synthesis 1988, Parte 1, págs. 417-439; Parte 2, págs. 489; cada uno de los cuales que se incorpora en el presente documento por referencia). Esta conversión se continuó por la reacción del producto alquilado con bromuro de metil magnesio, produciéndose de este modo la cetona 20 requerida. La condensación de este compuesto con el óxido de fosfina 12, seguido de la desprotección de la función de trietilsilil éter, proporcionó 21 con un buen rendimiento.

Esquema 5

Síntesis del fragmento de alcohol 21



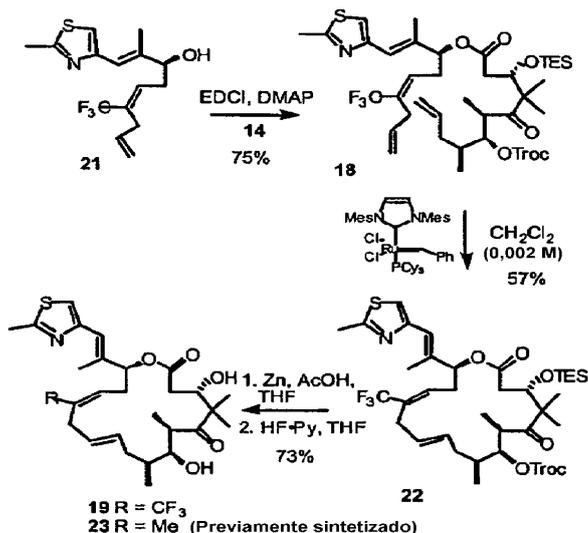
65 (a) i) Aliitributilestaño, AlBn, Benceno, 80 °C, 3h 74%; ii) MeMgBr, 0 °C, 93%; (b) i) 12, *n*-BuLi, THF, -78 °C, 30 min., ii) 20, -78 °C to rt, 85%; iii) HOAc:THF:H₂O (3:1:1), 98%; (c) TMSI, CH₂Cl₂, 0 °C, 92%

ES 2 336 937 T3

La esterificación de 21 con el fragmento de ácido de C1-C10 14, proporcionó el precursor de RCM 18 propuesto con un rendimiento del 75% (Esquema 6). Afortunadamente en este caso, la reacción de metátesis con cierre de anillo de 18 puede realizarse usando el catalizador de Grubbs de segunda generación en cloruro de metileno. Como en el caso de la conversión de 5 → 6, la reacción proporcionó exclusivamente el isómero *trans* 22 con un rendimiento del 57%. Finalmente, la escisión reductora del grupo protector de tricloro etoxicarbonilo con cinc y ácido acético, seguido de la desprotección del TES éter con HF-piridina, proporcionó el material 19 deseado que contenía una función trifluorometilo en C₁₂, aunque en el contexto de la serie del anillo de 17 miembros.

Esquema 6

Síntesis de 27-F₃-ddEpoB (19)



El material sintético 19 se evaluó en cuanto a su actividad citotóxica. Como se muestra en la Tabla 1-1 a continuación, la comparación directa del [17]ddEpoB (23) que se ha indicado anteriormente con el 27-F₃-[17]ddEpoB (19) indicó que el nuevo compuesto perfluorado poseía una potencia citotóxica comparablemente alta.

TABLA 1-1

Citotoxicidades in vitro (CI₅₀) con líneas celulares de tumor^a

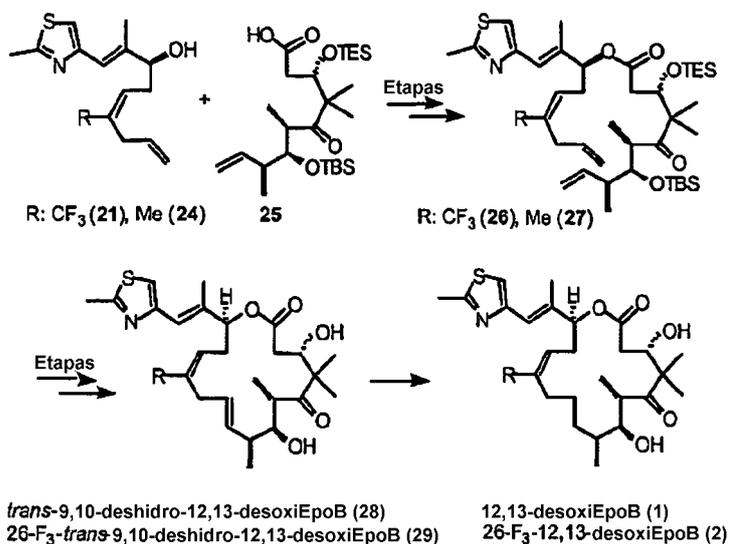
Compuesto	CCRF-CEM (IC ₅₀) (μM) ^a	CCRF-CEM/VBL (IC ₅₀) (μM) ^a
27-F ₃ -[17]ddEpoB (19)	0,068	0,191
[17]ddEpoB (23)	0,040	0,126
[16]ddEpoB (6)	0,020	0,068

^aEnsayo XTT después de 72 h de inhibición. CCRF-CEM es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda de células T humanas. Las líneas celulares de CCRF-CEM/VBL₁₀₀, CCRF-CEM/V_{M1} y CCRF-CEM/Taxol sobre-expresan glicoproteína P y muestran un fenotipo de multirresistencia a oncolíticos asociados con 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; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia).

Aunque la sustitución isotérica de trifluorometilo tuvo poco efecto sobre la actividad citotóxica general, los datos preliminares de los estudios de degradación metabólica en plasma de ratón demostraron que 19 era notablemente más estable que el precursor 23. La exposición de las epotilonas 19 y 23 a plasma de ratones desnudos y de seres humanos condujo a la degradación de 23 en 30 minutos, mientras que la epotilona 19 permaneció en su mayor parte intacta. Como probablemente los problemas farmacocinéticos son críticos en el uso real de cualquier agente de epotilona como un fármaco, consideramos este hallazgo bastante alentador.

La síntesis de 26-F₃-dEpoB (2) puede realizarse a partir de una estrategia altamente convergente, relacionada con la que se emplea en la síntesis de 27-F₃-[17]ddEpoB (19). Por consiguiente, fragmentos de complejidad similares servirían como componentes básicos clave (Esquema 7). Se previó que el sector acilo 25 podría servir como dominio de polipropionato y el sector alquilo 21 ó 24 se prepararía como se ha descrito anteriormente en la introducción. La unión de los dos fragmentos 21 (24) y 25 se iniciaría por medio de una esterificación y se consumaría por medio de una metátesis con cierre de anillo posterior. Finalmente, la escisión de los grupos protectores proporcionaría los análogos 28 y 29 deseados. La reducción quimioselectiva de la 9,10-olefina de 28 y 29 produciría dEpoB (1) y el 26-F₃-12,13-desoxiEpoB (2) deseado.

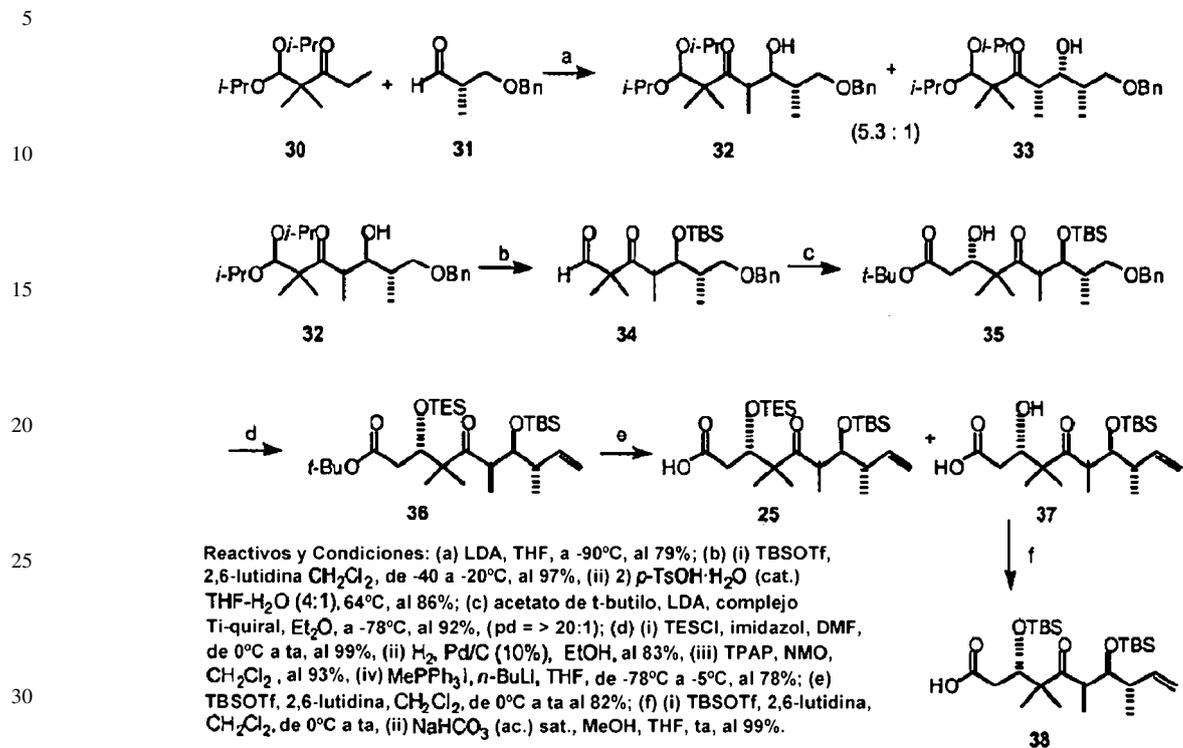
Esquema 7



La síntesis de 1 y 2 comenzó con la preparación del sector acilo 25. La cetona 30, indicada anteriormente, se sometió a una reacción de aldol con el aldehído 31 fácilmente adquirible. Tras la desprotonación y la reacción del "litio" 30 con 31, la condensación fluida dio lugar a una mezcla 5,3:1 de los productos aldol 32 y 33. El diastereoisómero 32 principal se separó fácilmente por cromatografía ultrarrápida y se protegió como un TBS silil éter. La hidrólisis del grupo diisopropil acetal en condiciones de catálisis ácida dio el ceto aldehído 34, ajustando la etapa para la segunda reacción de aldol. Siguiendo el procedimiento de éster terc-butílico de "titano" que se ha puesto en práctica anteriormente, con el nuevo aldehído 34 como compañero de acoplamiento, se obtuvo el producto de aldol 35 deseado con alta diastereoselectividad (pd > 20:1) y rendimiento (86%). La protección del alcohol C3 de 35 con un grupo TES sililo se continuó por la desprotección del éter bencílico. La oxidación del hidroxilo primario resultante proporcionó el aldehído correspondiente, que después se convirtió en una olefina terminal por una reacción de Wittig para proporcionar 36 con alto rendimiento. Finalmente, la hidrólisis del éster t-butílico de 36 con TESOTf proporcionó el sector acilo 25 (82%) junto con el subproducto 37 (14%), que se convirtió en el sector acilo 38 con alto rendimiento. Las propiedades espectrales y cromatográficas de 38 fueron idénticas al material obtenido anteriormente de otros programas en los laboratorios del Dr. Sinha (Scripps).

ES 2 336 937 T3

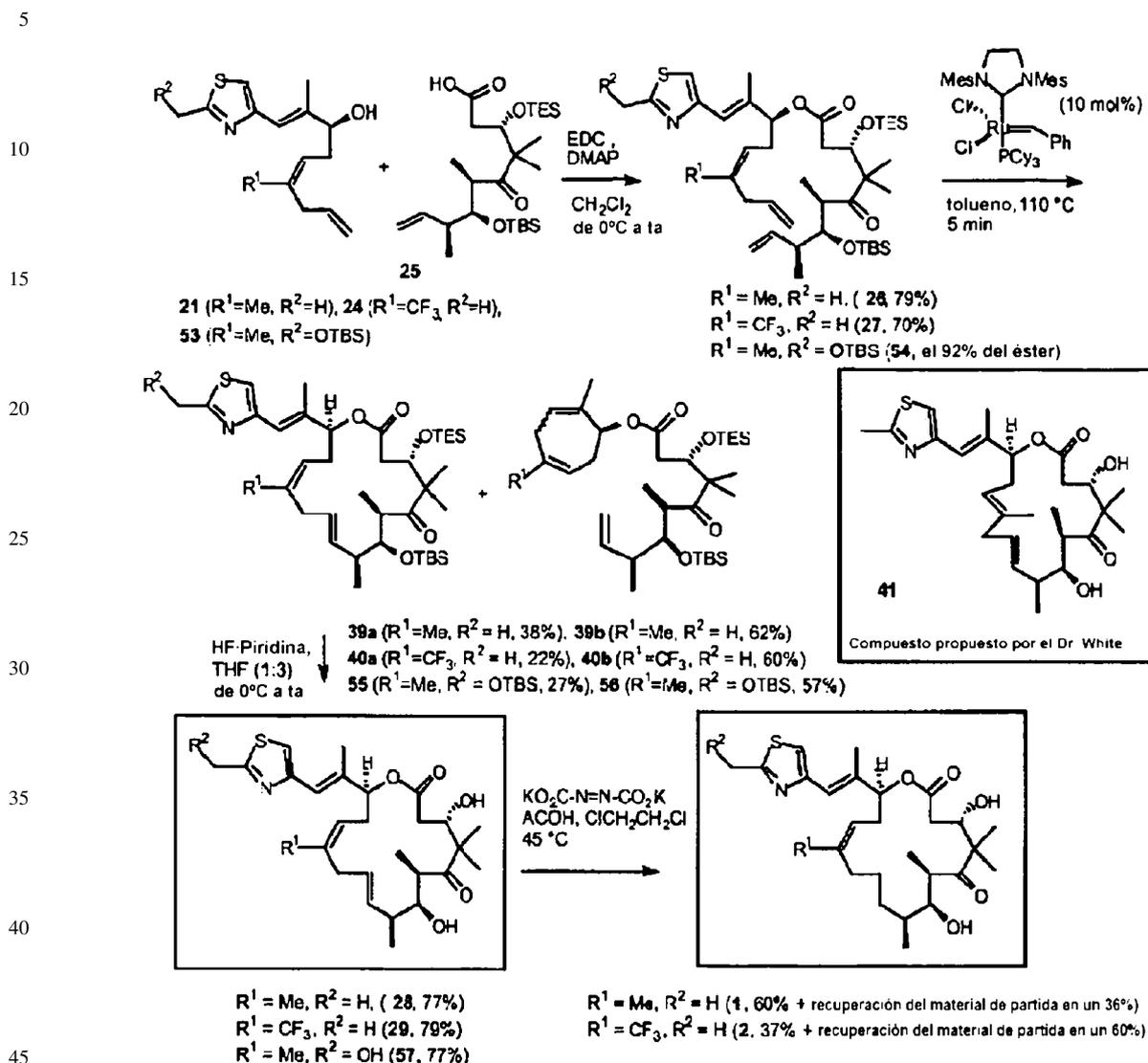
Esquema 8



La esterificación de los alcoholes alílicos 21 y 24 con el fragmento de ácido $\text{C}_1\text{-C}_9$ 25 proporcionó los precursores de ciclación de RCM 26 y 27 correspondientes, respectivamente (Esquema 9).

(Esquema pasa a página siguiente)

Esquema 9



Después, las reacciones de metátesis con cierre de anillo 26, 27 y 54 se realizaron usando el catalizador de Grubbs de segunda generación en tolueno, que proporcionó, como en el estudio anterior de los presentes solicitantes, exclusivamente el isómero *trans* 39a, 40a y 55 junto con los subproductos correspondientes 39b, 40b y 56. Finalmente, la desprotección de ésteres de sililo con HF-piridina condujo a los compuestos 28, 29 y 57 deseados. Las propiedades espectrales y cromatográficas de 28 no eran idénticas a las del material obtenido anteriormente del programa de epitolona en los laboratorios del Dr. James D. White (Universidad del Estado de Oregon). El Dr. James D. White pensó que había sintetizado 28, sin embargo, de forma involuntaria, en su lugar preparó el isómero 12,13E 41, lo que explicaría la pobre actividad biológica que observó. Por consiguiente, los presentes solicitantes son los primeros que han sintetizado 28 y ensayado este compuesto con respecto a su actividad antitumoral.

Los materiales 28, 29 y 2 completamente sintéticos se han evaluado frente a una diversidad de tipos celulares para determinar su potencial antitumoral. Como se muestra en la Tabla 1-2, los tres compuestos mostraron una elevada actividad citotóxica frente a una diversidad de líneas celulares de tumor sensibles y resistentes. La comparación directa de 28 con el dEpoB (1) que se ha indicado anteriormente indica que el nuevo compuesto posee casi tres veces más potencia.

ES 2 336 937 T3

TABLA 1-2

Citotoxicidades in vitro (CI₅₀) con líneas celulares de tumor^a

	CI ₅₀ (μM) ^a			
Líneas celulares de tumor	28	29	dEpoB (1)	57
CCRF-CEM	0,0014	0,0035	0,0036	0,00051
CCRF-CEM/VBL ₁₀₀	0,0065	0,0210	0,014	0,0106
CCRF-CEM/Taxol	0,00177	0,0057	0,0057	0,00073

^aEnsayo XTT después de 72 h de inhibición. CCRF-CEM es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda de células T humanas. Todas las líneas celulares de CCRF-CEM/VBL₁₀₀, CCRF-CEM/V_{M1} y CCRF-CEM/Taxol sobre-expresan la glicoproteína P y muestran un fenotipo de multirresistencia a oncolíticos asociados con MDR (Prié, G.; Thibonnet, J.; Abarbri, M.; Duchene, A.; Parrain, J. *Synlett* **1998**, 839; que se incorporan en el presente documento por referencia).

Para mejorar el rendimiento global de la síntesis de 28, 29 y 2, se decidió realizar la reacción de RCM en ausencia de la olefina sustituida con tiazol y así evitar la formación del subproducto 39b y 40b indeseado. La desprotección del éter de sililo del material 42 y 20 que se ha indicado anteriormente proporcionó las hidroxicetonas 43 y 44. La esterificación de las hidroxicetonas 43 y 44 resultantes con el fragmento de ácido C₁-C₉ 25 proporcionó los correspondientes precursores de ciclación por RCM 45 y 46, respectivamente (Esquema 10). Después, la reacción de metátesis con cierre de anillo de 45 y 46 se realizó usando el catalizador de Grubbs de segunda generación en tolueno, que proporcionó, como en el estudio anterior de los presentes solicitantes, exclusivamente el isómero *trans* 47 y 48 con alto rendimiento. La instalación del resto tiazol dio 39a, 40a y 55 con alto rendimiento. La desprotección de los dos éteres de sililo con HF-piridina condujo a 28 y 29. Finalmente, la reducción selectiva de la olefina C₉-C₁₀ produjo las epitolonas 1 y 2 correspondientes. La estructura de 28 se corroboró rigurosamente por su conversión de alto rendimiento en 1. La síntesis total de 1 se ha simplificado muy sustancialmente en relación con las rutas que se han puesto en práctica. Por lo tanto, el uso del material 31 fácilmente adquirible, que se obtiene de la combinación quirral, es sin duda una gran mejora con relación a la dependencia de (S)-2-metil-4-pentenal, cuya síntesis requiere la intervención de auxiliares quirales.

(Esquema pasa a página siguiente)

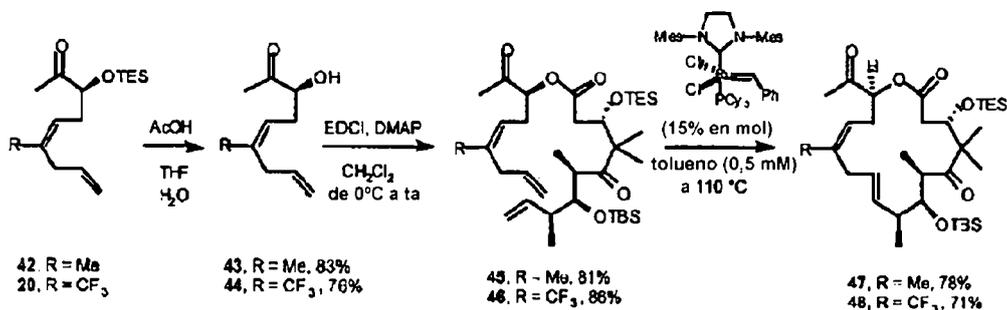
ES 2 336 937 T3

Esquema 10

5

10

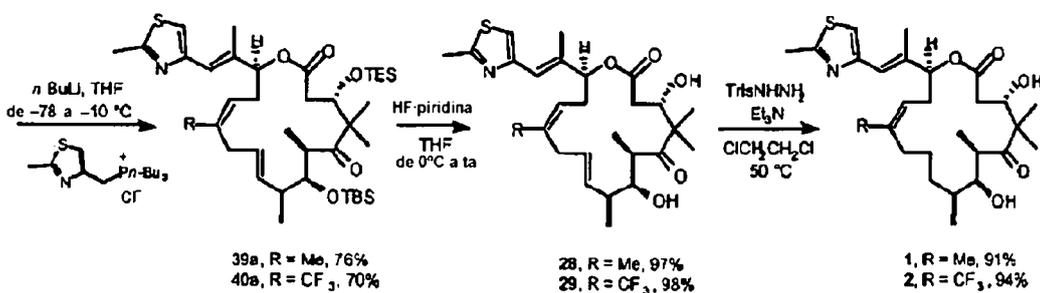
15



20

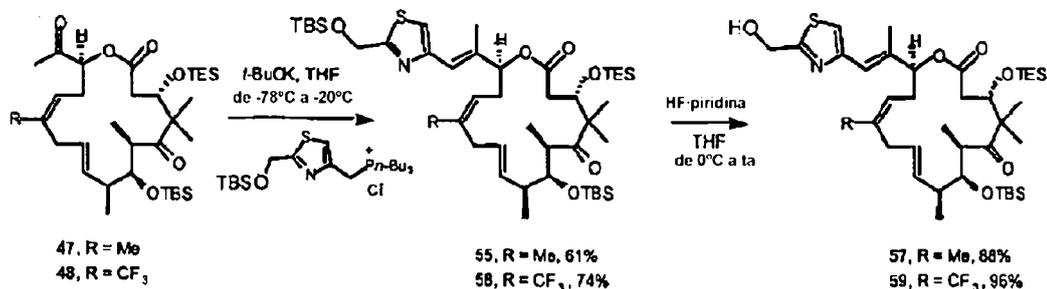
25

30



35

40



45

50

Con el compuesto 28 de la estructura probada rigurosamente disponible, a los presentes solicitantes les sorprendió descubrir que sus propiedades espectrales no eran congruentes con las que se han indicado anteriormente para un compuesto que se suponía que tenía la misma entidad. Sin embargo, retrospectivamente es evidente que 28 no se había preparado anteriormente y, de hecho, la familia entera de (E)-9,10-deshidroepotilonas que se han indicado aquí es una nueva clase de compuestos.

55

El examen de los análogos sintéticos (2, 28 y 29) en entornos de cultivo celular reveló efectos inhibitorios más fuertes sobre diversas líneas celulares de tumor sensibles y MDR que se muestran por nuestro registro clínico de dEpoB (1) (Tabla 1-3). Se indicó que Epo 3 (28) es el primer compuesto de 12,13-desoxiepotilona que posee una citotoxicidad sustancialmente mejorada con relación a la de dEpoB(1).

60

65

ES 2 336 937 T3

TABLA 1-3

Citotoxicidades *in vitro* (CI₅₀) con Líneas Celulares de Tumor^a

Compuesto	CCRF-CEM (C) (μM)	C/VBL ₁₀₀ (μM)	C/Taxol (μM)
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

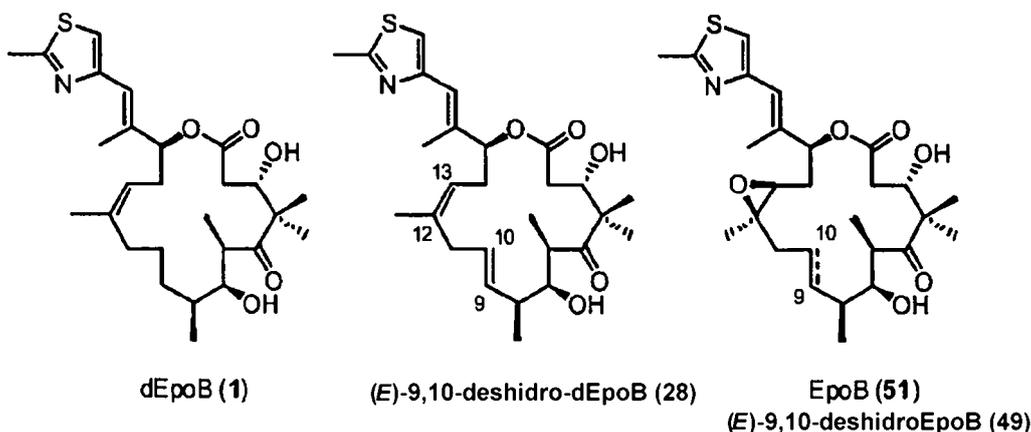
^aEnsayo XTT después de 72 h de inhibición. CCRF-CEM es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda de células T humanas. La línea celular CCRF-CEM/VBL₁₀₀ es resistente a vinblastina y CCRF-CEM/Taxol a taxol.

La impresionante inhibición de crecimiento celular mostrada por las epotilonas 2, 28 y 29 (Epo 2-4) a través de un intervalo de diversos tumores resistentes a fármaco produjeron la determinación de la estabilidad de plasma en sangre de estos nuevos congéneres (E)-9,10. Por ejemplo la recientemente descrita (E)-10,11-deshidro-dEpoB (en caso de 1 con un grupo CH₃ en C-12) muestra escasa estabilidad en plasma con respecto a la apertura de la lactona. Es esta inestabilidad en plasma la que ha suprimido el avance de (E)-10,11-deshidro-dEpoB. Por el contrario, exponiendo 2, 28 y 29 (Epo 2-4) a plasma murino, se observó una degradación del fármaco mucho más lenta comparada con dEpoB (1) por un factor de siete. Esta estabilidad constituye un avance sustancial a partir de una perspectiva de disponibilidad del fármaco con respecto a dEpoB (véase Figura 9).

La combinación de los datos de citotoxicidad y estabilidad en plasma lleva a realizar la síntesis sustancial de cantidades de 28 (Epo 3) para determinar su eficacia *in vivo*, en ratones desnudos portadores de xenotrasplantes de tumor humano. La epotilona 28 (Epo 3) demuestra una notable potencia mejorada inhibiendo el crecimiento de tumores implantados, con respecto a dEpoB (véase Figura 10). La potencia mejorada y la estabilidad en plasma permiten una reducción muy sustancial de la dosificación del fármaco (un orden de magnitud) en el contexto de xenotrasplantes de 28 (Epo 3).

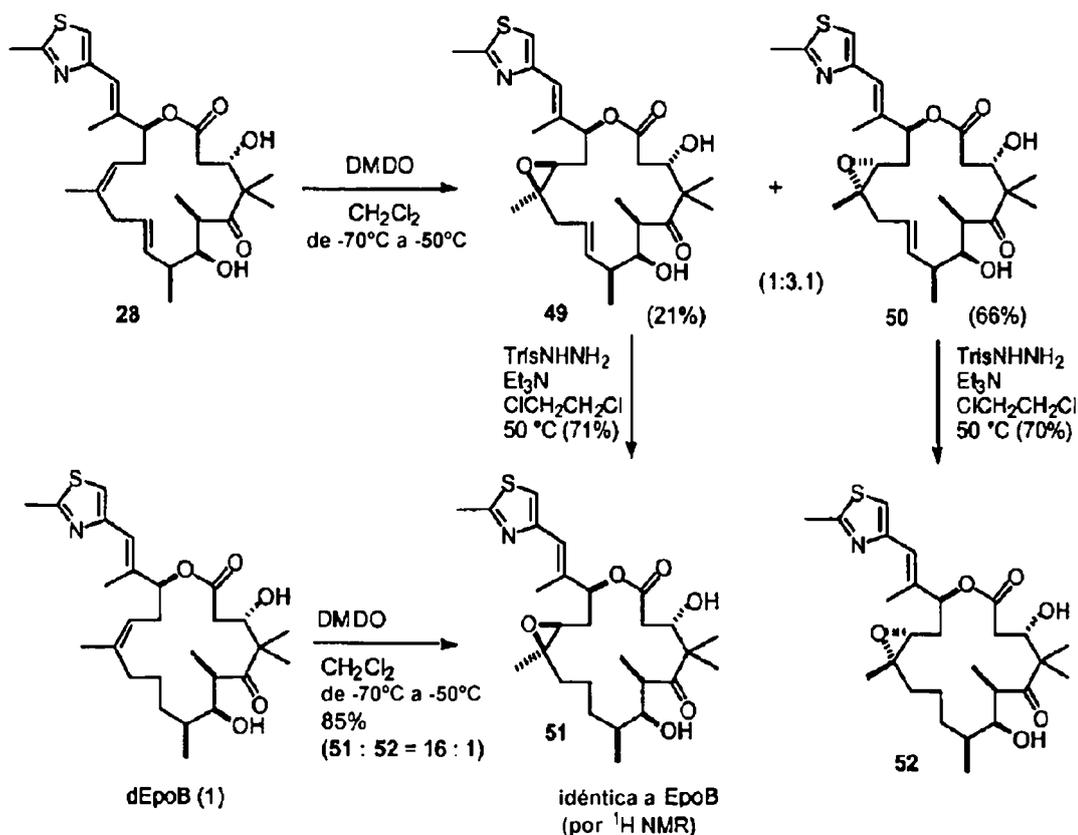
En recipientes estudios se ha demostrado que la epotilona B, por medio del 12,13 epóxido, es significativamente más citotóxica que su análogo 12,13-desoxi (dEpoB). Sin embargo, a partir de la perspectiva del índice terapéutico, el compuesto desoxi parece ser mucho más prometedor. Más recientemente, se describió la síntesis total de (E)-9,10-deshidro-12,13-desoxiepotilona B (28) usando una metátesis con cierre de anillo estereoselectiva. Se demostró que la incorporación de la insaturación de E-9,10 en el contexto de la olefina habitual Z-12,13 (véase el compuesto 1) produce un gran aumento en la potencia *in vitro*. Más concretamente, esto puede trasladarse a un entorno *in vivo* en xenotrasplantes de ratón. Además, el compuesto 28 posee mayores ventajas farmacéuticas con respecto a dEpoB (1). Esto permitió la reducción de niveles de dosificación para 28 con respecto a 1 en experimentos de xenotrasplante para reducirse en un orden de magnitud.

Por consiguiente, los presentes solicitantes se preguntan si la incorporación de la olefina C9-C10 en la epotilona B (51, EpoB) alteraría su perfil biológico en la misma dirección.



La epoxidación de 28 con 2,2'-dimetildioxirano (DMDO) se desarrolló con quimioselectividad alta en la olefina C12-C13 más sustituida para dar un rendimiento del 87% de una proporción 1:2,6 de la (*E*)-9,10-deshidroepotilona B (49) y su diastereómero (50). La estereoquímica de los epóxidos se determinó por la reducción de diimida selectiva de los dobles enlaces C9-C10. El examen de las propiedades espectrales de estos productos reveló que el producto (49) secundario era dEpoB. La preferencia para la α -epoxidación en el caso de 28 está en un marcado contraste con la epoxidación altamente selectiva de dEpoB, que tiene lugar desde la fase β que conduce 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; incorporados en el presente documento por referencia).

Esquema 11



Se evaluó la (*E*)-9,10-deshidroepotilona B (51) frente a una diversidad de tipos de células para determinar su potencial antitumoral. Como se muestra en la Tabla 1-4, (*E*)-9,10-deshidroepotilona B (49) muestra una actividad citotóxica elevada frente a una diversidad de líneas de células tumorales sensibles y resistentes. La comparación directa de 49 y EpoB (51) indica que este nuevo análogo posee casi 3 veces más potencia que EpoB (51), haciendo que sea uno de los análogos de epotilona más potentes presentados hasta la fecha. De forma interesante, las series α -epóxido (50, 52) mostraron una actividad mucho menor que EpoB (51). El gráfico presentado a continuación muestra los resultados para los estudios *in vivo* del compuesto 49.

ES 2 336 937 T3

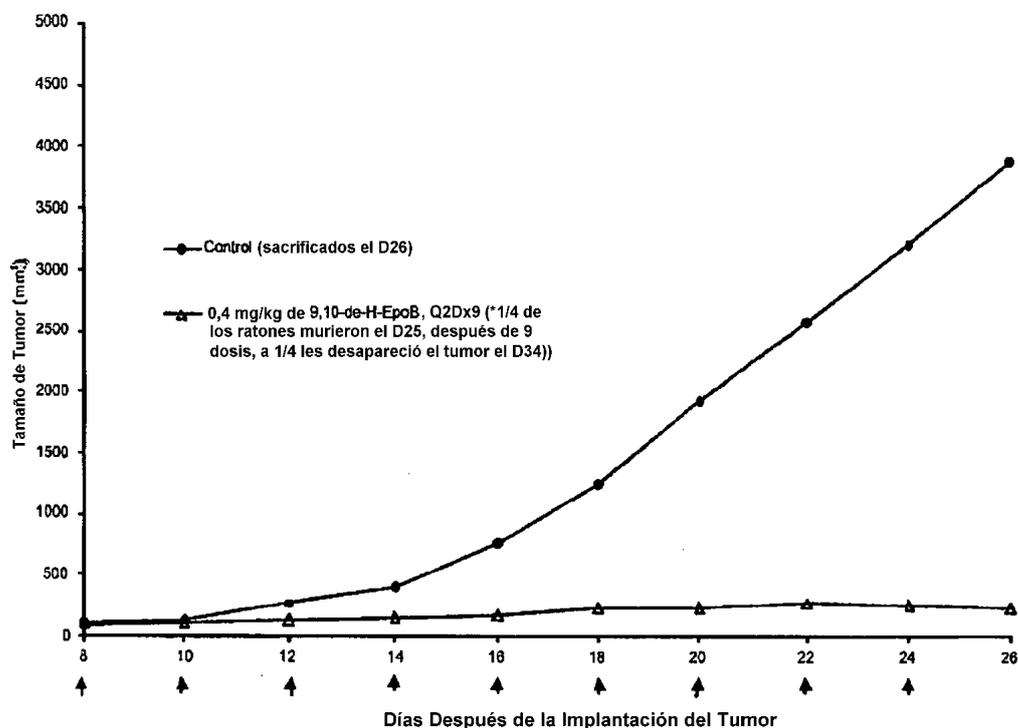
TABLA 1-4

Citotoxicidades in vitro (CI₅₀) con líneas celulares de tumor³

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

^aEnsayo XTT después de inhibición durante 72 h. CCRF-CEM es una línea celular de leucemia linfoblástica aguda de células T humanas. Todas las líneas celulares CCRF-CEM/VBL y CCRF-CEM/Taxol sobre-expresan glicoproteína P y muestran un fenotipo de resistencia multifármaco a oncolíticos asociados a MDR.

Efecto terapéutico de 9,10-de-H-EpoB en ratones desnudos que tienen un xenotrasplante MX-1 (6 h-infusión iv, n = 4)



En resumen, lo descrito anteriormente es una potente síntesis total estereoselectiva de 28 (Epo 3) y, después de la reducción de diimida selectiva de sitio, la propia dEpoB (1). Después, la estrategia que se describe en el presente documento se empleó directamente en la preparación de los análogos trifluoro 2 y 29 correspondientes (Epo 4). Además, la epoxidación de 28 proporcionó 49 y 50, que tras la reducción de diimida selectiva de sitio dio la Epotilona B (51) y 52. Los datos que se han indicado anteriormente apuntan a la aparición de una nueva familia de fármacos anticancerosos más prometedora, apropiada para la evaluación adicional del posible progreso en un entorno clínico humano. Además, la nueva estrategia de síntesis comprende una mejora práctica significativa en la síntesis total de dEpoB y Epotilona B.

Experimentos

Procedimientos Generales

5 Se usaron reactivos obtenidos de proveedores disponibles en el mercado se usaron sin purificación adicional a menos que se indique otra cosa. Los siguientes disolventes se obtuvieron a partir de un sistema de disolvente seco (que se pasó a través de una columna rellena previamente de alúmina) y se usaron sin secado adicional: tetrahidrofurano, cloruro de metileno, éter dietílico, benceno y tolueno. Todas las reacciones sensibles al aire y al agua se realizaron en un recipiente de vidrio secado a la llama a presión positiva de gas argón prepurificado. Los espectros de RMN (^1H y
10 ^{13}C) se registraron en un Bruker AMX-400 MHz o un Bruker Advance DRX-500 MHz como se ha indicado individualmente, utilizando como referencia CDCl_3 (7,27 ppm para ^1H y 77,0 ppm para ^{13}C). Los espectros de 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 a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. La cromatografía de capa fina analítica se realizó sobre placas de gel de sílice E. Merck 60 F254. Los compuestos sin actividad UV se visualizaron sumergiendo las placas en una solución de molibdato cérico amónico o *para*-anisaldehído y calentándolas. La cromatografía sobre gel de sílice se realizó usando el disolvente indicado sobre gel de sílice Davisil[®] (calidad 1740, tipo 60A, malla de 170-400).

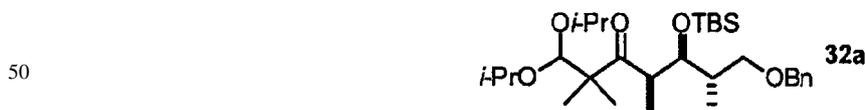
Acrónimos y Abreviaturas

20 TES, trietilsililo; TBS, Dimetiltercbutilsililo; EDCI, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; HF-PY, fluoruro de hidrógeno en piridina; DMAP, 4-*N,N*-dimetilaminopiridina; DCM, diclorometano; DMF, *N,N*-dimetilformamida; THF, tetrahidrofurano.



30 Compuesto 32

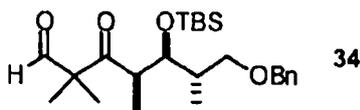
A una solución de LDA recién preparado (11,6 mmol) en THF (25 mmol) se le añadió gota a gota una solución de la cetona 30 (2,40 g, 10,4 mmol) en THF (6,8 ml) a -78°C . Después de agitar a -40°C durante 0,5 h, la mezcla se enfrió a -90°C . Se añadió gota a gota una solución del aldehído 31 (1,38 g, 7,72 mmol) en THF (6,8 ml). Después de agitar a -90°C durante 35 min, la reacción se interrumpió con NH_4Cl ac. sat. (15 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/EtOAc = de 15:1 a 12:1) dio 32 (2,09 g, al 66%) y el isómero 33 (0,39 g, al 12%), ambos en forma de aceites de color amarillo. 32: $[\alpha]_D^{25}$ 13,1 (c 1,22, CHCl_3); IR (película) ν 3494, 2972, 2932, 1708, 1454, 1380, 1329, 1120, 1038, 998, 734 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 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, cd, $J = 7,0, 2,2$, 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); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 10,0, 14,3, 20,5, 21,3, 21,9, 22,5, 23,5, 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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 431,3, encontrado 431,4.



Compuesto 32a (no mostrado)

55 A una solución enfriada (-40°C) del alcohol 32 (1,01 g, 2,47 mmol) y 2,6-lutidina (691 μl , 5,93 mmol) se le añadió TBSOTf (681 μl , 3,00 mmol), y la mezcla se calentó a -20°C durante 3,5 h. La reacción se interrumpió con NaHCO_3 ac. sat. (10 ml). Después de la extracción con hexano (50 ml x 3), los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/EtOAc = 50:1) dio 32a (1,25 g, 2,39 mmol, al 97%) en forma de un aceite incoloro; $[\alpha]_D^{25}$ -19,7 (c 0,58, CHCl_3); IR (película) ν 2966, 2931, 1696, 1455, 1378, 1320, 1255, 1091, 1044, 991, 873, 838, 773 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 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); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): 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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{O}_5\text{SiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 545,4, encontrado 545,4.

ES 2 336 937 T3

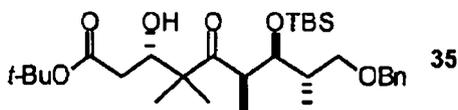


5

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 a reflujo durante 6,5 h. La mezcla de reacción se enfrió a ta y se vertió en NaHCO₃ ac. sat. (25 ml). Después de la extracción con EtOAc (100 ml + 50 ml x 2), las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, hexano/EtOAc = de 50:1 a 30:1) dio 34 (2,37 g, 5,64 mmol, al 98%) en forma de un aceite incoloro: $[\alpha]_D^{25}$ -25,8 (c 0,515, CHCl₃); IR (película) ν 2955, 2931, 1731, 1696, 1455, 1360, 1255, 1091, 1026, 873, 826, 767 cm⁻¹; ¹H RMN (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 RMN (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; EMBR (IEN) calc. para C₂₄H₄₀O₄SiNa [M+Na⁺] 443,3, encontrado 443,2.

20

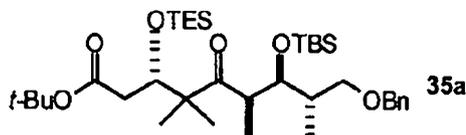


25

Compuesto 35

A una solución de LDA recién preparado (18 ml de una solución 0,5 M en Et₂O, 9,0 mmol) en Et₂O (20 ml) se le añadió acetato de t-butilo (1,16 ml, 8,61 mmol) a -78°C. Después de agitar durante 50 min, se añadió gota a gota CpTiCl(OR)₂ (100 ml de una solución 0,1 M en Et₂O, 10,0 mmol) durante 65 min mediante una bomba de jeringa. Después de agitar durante 20 min, la mezcla de reacción se calentó a -30°C, se agitó durante 50 min y se enfrió de nuevo a -78°C. Se añadió gota a gota una solución de 34 (2,42 g, 5,75 mmol) en Et₂O (9 ml) durante 10 min, y la mezcla resultante se agitó a -78°C. Después de agitar durante 2 h, la reacción se interrumpió con THF acuoso (H₂O 5 M, 3 7 ml) y se agitó a ta durante 2 h. Después de la adición de agua (40 ml), la mezcla se agitó durante 1 h más. El precipitado formado se retiró por filtración mediante Celite (aclorado de Et₂O), y el filtrado se lavó con agua (40 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, hexano/EtOAc = 10:1) dio 35 (2,65 g, 4,94 mmol, al 86%) en forma de un aceite de color amarillo pálido; $[\alpha]_D^{25}$ -20,3 (c 1,0, CHCl₃); IR (película) ν 3523, 2957, 2930, 2856, 1732, 1700, 1472, 1368, 1252, 1152, 1091, 1042, 986, 834, 774 cm⁻¹; ¹H RMN (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 RMN (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; EMBR (IEN) calc. para C₃₀H₅₂O₆SiNa [M+Na⁺] 559,3, encontrado 559,4.

50



55

Compuesto 35a (no mostrado)

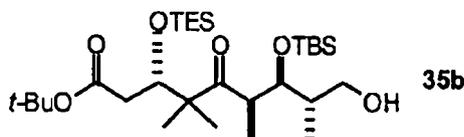
A una mezcla del alcohol 35 (10,2 g, 18,9 mmol) e imidazol (2,70 g, 39,7 mmol) en DMF (25 ml) se le añadió TESECI (3,3 ml, 19,8 mmol) a 0°C, y la mezcla se agitó a ta durante 2 h. La reacción se interrumpió con NaHCO₃ ac. sat. (50 ml). Después de la extracción con hexano (500 ml + 120 ml x 2), los extractos orgánicos combinados se lavaron sucesivamente agua (30 ml x 2) y salmuera (30 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, hexano/EtOAc = 40:1) dio 35a (12,1 g, 18,5 mmol, al 98%) en forma de un aceite incoloro: $[\alpha]_D^{25}$ -38,0 (c 0,46, CHCl₃); IR (película) ν 2955, 2877, 1733, 1697, 1456, 1367, 1298, 1251, 1155, 1099, 988, 835, 742 cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 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 MHz), 4,48 (2H,

65

ES 2 336 937 T3

s), 7,27-7,36 (5H, m); ^{13}C RMN (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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{36}\text{H}_{66}\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 673,4, encontrado 673,5.

5



10

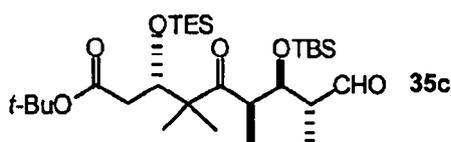
Compuesto 35b (no Mostrado)

15

A una solución en agitación de 35a (4,37 g, 6,72 mmol) en THF (67 ml) se le añadió Pd/C (adquirido en Acros, al 10% en peso, 437 mg) y la mezcla se agitó en atmósfera de H_2 . Después de agitar durante 2,2 h, la mezcla se filtró a través de una capa de Celite, que se aclaró con THF (120 ml). El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/ EtOAc = de 30:1 a 10:1), dando 35b (3,53 g, 6,28 mmol, al 94%) en forma de un aceite incoloro; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -16,1 (c 0,62, CHCl_3); IR (película) ν 3543, 2956, 1732, 1696, 1472, 1368, 1299, 1252, 1155, 1100, 988, 837, 775, 742 cm^{-1} ; ^1H RMN (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 RMN (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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 583,4, encontrado 583,5.

20

25



30

Compuesto 35c (No mostrado)

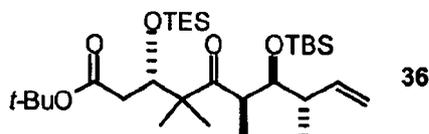
35

A una mezcla en agitación del alcohol 35b (3,53 g, 6,28 mmol) y MS4A en polvo (recién activado, 2,50 g) en CH_2Cl_2 (32 ml) se le añadió NMO (1,17 g, 10,0 mmol) seguido de TPAP (132 mg, 0,377 mmol). Después de agitar a ta durante 35 min, la mezcla se filtró a través de una columna sobre gel de sílice (hexano/ Et_2O = 8:1), dando 35c (3,34 g, 5,98 mmol, al 95%) en forma de un aceite incoloro; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -69,6 (c 0,25, CHCl_3); IR (película) ν 2955, 2878, 1732, 1696, 1472, 1368, 1253, 1155, 1097, 989, 837 cm^{-1} ; ^1H RMN (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, ct, 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 RMN (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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{29}\text{H}_{58}\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 581,3, encontrado 581,3.

40

45

50



55

Compuesto 36

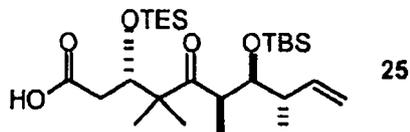
Se trató MePPh_3I (2,56 g, 7,18 mmol) en THF (40,0 ml) con $t\text{-BuOK}$ (6,57 ml) de una solución 1,0 M en THF, 6,57 mmol) a 0°C . Después de agitar a 0°C durante 20 min, la suspensión resultante se enfrió a -78°C y se añadió una solución del aldehído 35c (3,34 g, 5,98 mmol) en THF (14 ml). Después de agitar a -78°C durante 15 min, la mezcla se agitó a 0°C durante 15 min y a ta durante 15 min. La reacción se interrumpió con NH_4Cl ac. sat. (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 en columna ultrarrápida (SiO_2 ~80 g, hexano/ Et_2O = 40:1), dando 36 (125,3 mg, 0,225 mmol, al 78%) en forma de un aceite incoloro; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -33,6 (c 0,250, CHCl_3); IR (película) ν 2956, 2878, 1733, 1696, 1472, 1367, 1299, 1253, 1156, 1100, 988, 837, 774 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 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

60

65

ES 2 336 937 T3

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); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): 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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{30}\text{H}_{60}\text{O}_5\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 579,4, encontrado 579,4.

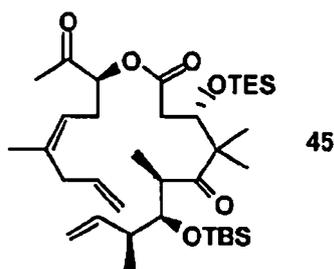


15 Compuesto 25

A una solución del éster t-butilico 36 (4,87 g, 8,74 mmol) y 2,6-lutidina (recién destilada, 4,1 ml, 35,0 mmol) en CH_2Cl_2 (58 ml) se le añadió TESOTf (4,0 ml, 17,5 mmol) a 0°C . Después de agitar a 0°C durante 25 min, la mezcla se agitó a ta durante 3,2 h. La mezcla se diluyó con Et_2O (600 ml), se lavó con sucesivamente con KHSO_4 acuoso al 5% (60 ml x 2) y salmuera (60 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se secó a alto vacío durante 1,5 h, dando el ácido 25 en bruto (6,30 g, contaminado con TESOH). El producto en bruto (6,30 g) se disolvió en THF acuoso (87,5 ml, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O} = 6:1$) y se trató con NaHCO_3 ac. sat. (12,5 ml). Después de agitar a ta durante 20 min, la suspensión resultante se diluyó con Et_2O (500 ml) y se acidificó con KHSO_4 acuoso al 5% (55 ml). Después de que las fases se separaran, la fase acuosa se extrajo con Et_2O (100 ml x 2) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml x 2), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se secó a alto vacío durante una noche, dando el ácido en bruto (5,60 g, contaminado con TESOH) en forma de un aceite incoloro, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

Se purificó para caracterización por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con hexano/ $\text{EtOAc} = 4/1$.

$[\alpha]_D^{25}$ -30,7 (c 0,985, CHCl_3); IR (película) ν 2956, 2936, 2879, 1712, 1472, 1417, 1303, 1253, 1107, 1046, 1003, 988, 872, 837, 775, 741 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 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); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): 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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{26}\text{H}_{52}\text{O}_5\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 523,3, encontrado 522,9.

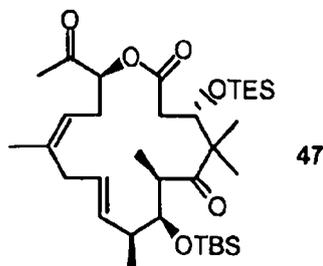


55 Compuesto 45

El ácido de 3-O-TES-6-O-TBS protegido 25 se secó a través de destilación azeotrópica de benceno. Se disolvió el alcohol 43 recién secado (200 mg, 1,19 mmol) en DCM (10 ml) y se enfrió a 0°C , momento en el que se añadieron DMAP sólido (167 mg, 1,37 mmol) y EDCI sólido (261 mg, 1,37 mmol). Después de agitar la mezcla de reacción a 0°C durante 15 min, se añadió gota a gota una solución del ácido 25 (425 mg, 0,85 mmol) en DCM (2 ml). El baño de refrigeración se retiró y la agitación continuó durante 2 horas más. La mezcla de reacción bruta se diluyó con DCM (10 ml) y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice empleando EtOAc al 10%/Hexanos como eluyente, dando el éster 45 (380 mg, rendimiento al 81%, dos etapas, partiendo de 36) en forma de un aceite transparente: $[\alpha]_D$ -15,1 (c 1,2, CDCl_3); IR (puro) 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, $741,6\text{ cm}^{-1}$; ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): 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),

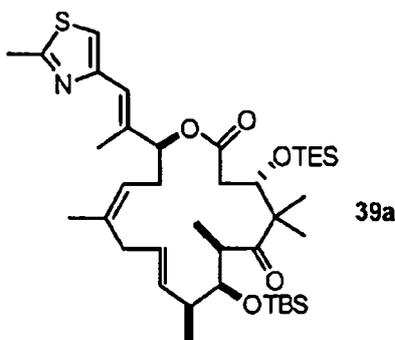
ES 2 336 937 T3

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, $J = 15,7, 8,0$ Hz); ^{13}C RMN (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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{36}\text{H}_{66}\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 673,4, encontrado 673,5.



Compuesto 47

A una solución del compuesto 45 (20 mg, 0,031 mmol) en tolueno seco (60 ml) a reflujo se le añadió en una porción una solución de dicloruro de triciclohexilfosfina[1,3-bis(2,4,6-trimetilfenil)-4,5-dihidroimidazol-2-ilideno][bencilideno]rutenio (IV) (5,2 mg, 0,0061 mmol) en tolueno seco (2 ml) y la mezcla se calentó durante 10 minutos. La mezcla de reacción se enfrió inmediatamente en un baño de hielo, se extrajo sobre sílice y se purificó usando cromatografía sobre gel de sílice, empleando un gradiente de EtOAc al 4-10%/pentano como eluyente, formando el compuesto 47 (15 mg, rendimiento del 78%) en forma de un aceite: $[\alpha]_D^{25}$ -28,6 (c 1,2, CHCl_3); IR (puro) 2955, 2933, 2878, 1745, 1731, 1695, 1471, 1462, 1380, 1361, 1251, 1159, 1104, 1080, 1019, 985,0, 876,1, 835,5, 774,7, 743,1, 670,1 cm^{-1} ; ^1H RMN (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, dd, $J = 12,8, 9,94, 6,9$ Hz), 5,92 (1H, ddd, $J = 18,0, 10,3, 7,8$ Hz); ^{13}C RMN (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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{34}\text{H}_{62}\text{O}_6\text{Si}_2$ 645,4, encontrado 645,4 (M+Na+).



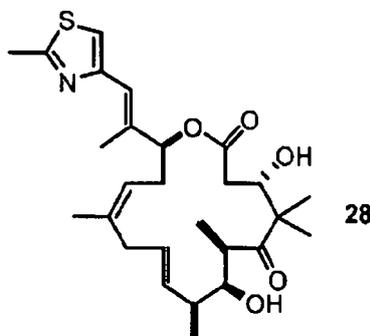
Compuesto 39a

A una solución de reactivo de Wittig (19,1 mg, 54,7 μmol) en THF (0,4 ml) se le añadió KHMDS (109 μl de una solución 0,5 M en tolueno, 54,7 μmol) a 0°C . La mezcla se agitó a 0°C durante 0,5 h y después se enfrió a -78°C . A la mezcla se le añadió gota a gota una solución de la 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 interrumpió con NH_4Cl ac. sat. (2 ml) y se extrajo con EtOAc (7 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/ $\text{Et}_2\text{O} = 10:1$), dando 5,6 mg de una mezcla inseparable de olefinas *E/Z* (*E/Z* = 9:1). La mezcla se purificó por TLC preparativa (hexano/ $\text{Et}_2\text{O} = 4:1$), dando 39a puro (5,0 mg, 6,96 μmol , al 76%) en forma de un aceite incoloro; $[\alpha]_D^{25}$ -41,5 (c 0,715, CHCl_3); IR (película) ν 2955, 2884, 1737, 1690, 1467, 1378, 1249, 1179, 1102, 1014, 979, 879, 826, 773 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,08 (3H, s), 0,12 (3H, s), 0,57 (6H, c, $J = 7,8$ 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, $J = 14,0, 4,8$

ES 2 336 937 T3

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 RMN (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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{39}\text{H}_{68}\text{NO}_5\text{SSi}_2$ [M+H+] 718,4, encontrado 718,3.

10



15

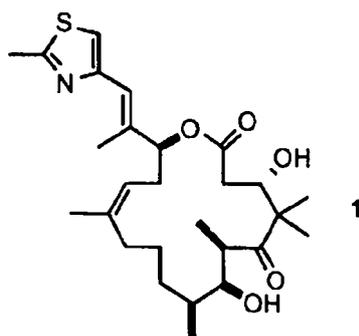
20

25 Compuesto 28 (Epo 3)

A una solución de 39a (298,8 mg, 0,416 mmol) en THF (6,5 ml) se le añadió HF-piridina (3,2 ml) a 0°C, y la mezcla se agitó a ta durante 3 h. La reacción se interrumpió mediante la adición gota a gota de TMSOMe (30 ml) a 0°C. Después de la concentración y el secado a alto vacío, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/EtOAc = 1:1), dando 28 (196,6 mg, 0,402 mmol, al 97%) en forma de un sólido de color blanco; $[\alpha]_D^{25}$ -96,6 (c 0,235, CHCl_3); IR (película) ν 3502, 2970, 2927, 1733, 1685, 1506, 1456, 1375, 1251, 1152, 1040, 977 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 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, t a, $J = 7,3$ 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); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 15,1, 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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{NO}_5\text{S}$ [M+H+] 490,3, encontrado 490,2.

40

45



50

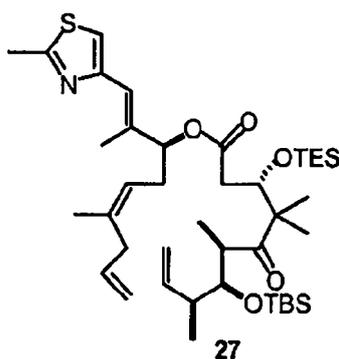
55

dEpoB (1, Epo 1)

A una solución de 28 (1,2 mg, 2,5 μmol) y TrisNH_2 (29,3 mg, 98 μmol) en $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ (0,7 ml) a 50°C se le añadió Et_3N (13,7 μl , 98 μmol). La reacción se controló por HPTLC (hexano/EtOAc/ CH_2Cl_2 = 1/1/2). Después de agitar durante 7 h, la mezcla se enfrió a ta, se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una capa de gel de sílice, que se aclaró con EtOAc. Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/EtOAc/ CH_2Cl_2 = 1/1/2), dando 1 (1,1 mg, 2,2 μmol , al 91%) en forma de un sólido de color blanco.

65

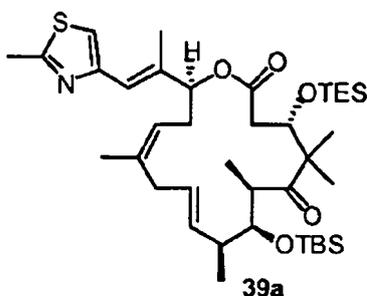
Los datos espectrales de 1 eran idénticos a los indicados en dEpoB.



Compuesto 27

El ácido 25 y el alcohol 24 se destilaron azeotrópicamente con benceno seco (5 ml x 2) y se secaron a 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 añadieron EDCI (576 mg, 3,09 mmol) y DMAP (366 mg, 3,09 mmol) a 0°C . A la mezcla se le añadió gota a gota una solución del ácido 25 (1,11 g, en 1,88 mmol) en CH_2Cl_2 (5 ml + aclarado de 2 ml) durante 16 min a 0°C . Después de agitar a 0°C durante 1,5 h, la mezcla se agitó a ta durante 3,5 h. Después de la concentración, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/EtOAc = de 30:1 a 20:1), dando 27 (1,20 g, 1,61 mmol, al 86% de éster t-butílico) en forma de un aceite incoloro;

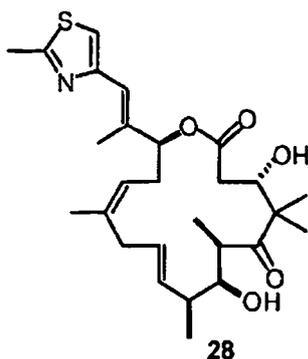
$[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ -25,1 (c 1,30, CHCl_3); IR (película) ν 2955, 2925, 2872, 1732, 1696, 1461, 1378, 1290, 1243, 1173, 1091, 985, 873, 773 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,06 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,58-0,66 (6H, m), 0,92 (9H, s), 0,95 (9H, t, $J = 8,0$ Hz), 1,02 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 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, t a, $J = 7,0$ 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 RMN (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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{41}\text{H}_{71}\text{NO}_5\text{SSi}_2$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 768,5, encontrado 768,5.



Compuesto 39a

Una solución de 27 (26,9 mg, 36,1 μmol) en tolueno (70 ml) se calentó a reflujo y se trató con una solución de catalizador de Grubbs (3,1 mg, 3,61 μmol) en tolueno (2 ml). La mezcla se agitó durante 25 min, se enfrió a 0°C y se filtró a través de una capa de gel de sílice, que se aclaró con hexano/EtOAc = 2/1. Los filtrados combinados se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/ Et_2O = de 40:1 a 5:1), dando 39a (9,9 mg, 13,8 μmol , al 38%) en forma de un aceite incoloro;

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -41,5 (c 0,715, CHCl_3); IR (película) ν 2955, 2884, 1737, 1690, 1467, 1378, 1249, 1179, 1102, 1014, 979, 879, 826, 773 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,08 (3H, s), 0,12 (3H, s), 0,57 (6H, c, $J = 7,8$ 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 RMN (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; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{39}\text{H}_{68}\text{NO}_5\text{SSi}_2$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 718,4, encontrado 718,3.



5

10

15

Compuesto 28

A una solución de 39a (298,8 mg, 0,416 mmol) en THF (6,5 ml) se le añadió HF·piridina (3,2 ml) a 0°C, y la mezcla se agitó a ta durante 3 h. La reacción se interrumpió con la adición gota a gota de TMSOMe (30 ml) a 0°C y la mezcla se agitó a ta durante 3 h. Después de la concentración y el secado a alto vacío, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, hexano/EtOAc = 1:1), dando 28 (196,6 mg, 0,402 mmol, al 97%) en forma de un sólido de color blanco; $[\alpha]_D^{25}$ -96,6 (c 0,235, CHCl₃); IR (película) ν 3502, 2970, 2927, 1733, 1685, 1506, 1456, 1375, 1251, 1152, 1040, 977 cm⁻¹; ¹H RMN (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, t a, *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 RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 15,1, 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; EMBR (IEN) calc. para C₂₇H₄₀NO₅S [M+H⁺] 490,3, encontrado 490,2.

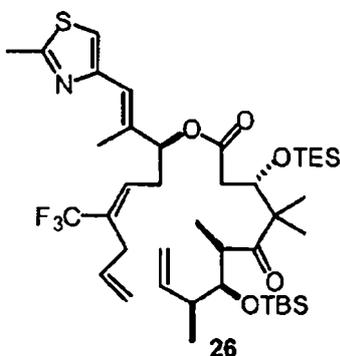
25

30

35

40

45



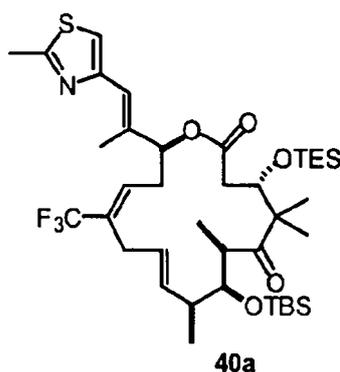
Compuesto 26

El ácido 25 y el alcohol 21 se destilaron azeotrópicamente con benceno seco (5 ml x 2) y se secaron a alto vacío antes de la reacción. A una solución del alcohol 21 (240 mg, 0,756 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml) se le añadieron EDCI (192,7 mg, 1,01 mmol) y DMAP (122,8 mg, 1,01 mmol) a 0°C. A la mezcla se le añadió gota a gota una solución del ácido 25 (314,6 mg, 0,628 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml + aclarado de 1 ml) durante 15 min a 0°C durante 2 h, la mezcla se agitó a ta durante 2 h. Después de la concentración, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, hexano/EtOAc = de 20:1 a 15:1), dando 26 (340,1 mg, 0,425 mmol, basado en ácido al 68%) en forma de un aceite incoloro;

$[\alpha]_D^{24}$ -27,5 (c 0,28, CHCl₃); IR (película) ν 2956, 2878, 1740, 1692, 1472, 1378, 1317, 1253, 1174, 1118, 988, 915, 872, 837, 775 cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 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), 2,07-2,10 (1H, m), 2,09 (3H, s), 2,31 (1H, dd, *J* = 16,9, 7,3 Hz), 2,51 (1H, dd, *J* = 16,8, 3,0 Hz), 2,49-2,65 (2H, m), 2,71 (3H, s), 2,96-2,99 (2H, m), 3,06 (1H, quint., *J* = 7,1 Hz), 3,83 (1H, dd, *J* = 7,3, 2,1 Hz), 4,35 (1H, dd, *J* = 7,2, 3,0 Hz), 4,98-5,12 (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); EMBR (IEN) calc. para C₄₁H₆₈F₃NO₅SSi₂Na [M+Na⁺] 822,4, encontrado 822,4.

65

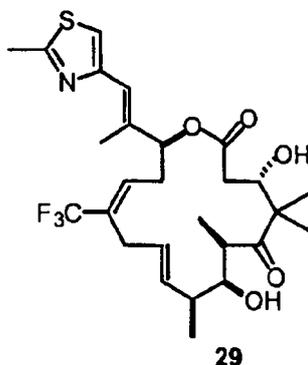
ES 2 336 937 T3



Compuesto 40a (por RCM de 26)

Una solución de 26 (57,6 mg, 72,0 μmol) en tolueno (142 ml) se calentó a reflujo y se trató con una solución de catalizador de Grubbs (6,1 mg, 7,20 μmol) en tolueno (2 ml). La mezcla se agitó durante 28 min, se enfrió a 0°C y se filtró a través de una capa de gel de sílice, que se aclaró con hexano/EtOAc = 2/1 (300 ml). Los filtrados combinados se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/Et₂O = de 40:1 a 15:2), dando 40a (12,0 mg, 15,5 μmol , al 22%) en forma de un aceite incoloro;

IR (película) ν 2955, 2884, 1743, 1690, 1472, 1320, 1173, 1114, 1038, 1008, 873, 832, 773 cm^{-1} ; ¹H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,09 (3H, s), 0,12 (3H, s), 0,55 (6H, c, $J = 7,7$ 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); EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{39}\text{H}_{65}\text{F}_3\text{NO}_5\text{SSi}_2$ [M+H⁺] 772,4, encontrado 772,4.

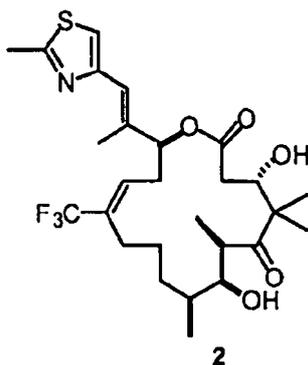


Compuesto 29

A una solución de 40a (1,78 g, 2,31 mmol) en THF (25 ml) se le añadió lentamente HF-piridina (12,5 ml) a 0°C, y la mezcla se agitó a ta durante 4 h. La reacción se interrumpió con la adición gota a gota de TMSOMe (80 ml) durante 10 min a 0°C. La mezcla se agitó vigorosamente a ta durante 2,5 h. Después de la concentración y el secado a alto vacío durante 2 h, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 ~50 g, hexano/EtOAc = 1:1), dando 29 (1,20 g, 2,21 mmol, al 96%) en forma de un polvo incoloro;

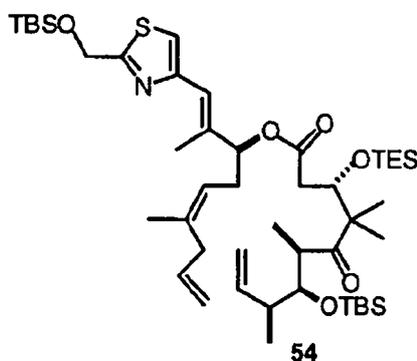
$[\alpha]_D^{25}$ -54,6 (c 0,28, CHCl_3); IR (película) ν 3478, 2974, 2929, 1736, 1689, 1449, 1381, 1318, 1247, 1169, 1113, 1039, 983, 867, 736 cm^{-1} ; ¹H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,05 (3H, s), 1,12 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 1,23 (3H, d, $J = 6,8$ Hz), 1,37 (3H, s), 2,04 (1 H, d a, $J = 3,8$ Hz, -OH), 2,12 (3H, s), 2,25-2,33 (1H, m), 2,38(1 H, 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, s a, =OH), 3,74(1 H, s a), 4,35 (1H, d a, $J = 9,5$ 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); ¹³C RMN (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 [c, ¹J(C,F) = 273,4 Hz], 127,9, 130,2 [c, ³J(C,F) = 6,0 Hz], 130,6 [c, ²J(C,F) = 28,4 Hz], 132,5, 136,7, 152,0, 165,4, 170,2, 218,4; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{NO}_5\text{S}$ [M+H⁺] 544,2, encontrado 544,1.

ES 2 336 937 T3



Compuesto 2

A una solución de 29 (1,22 mg, 2,24 μ mol) y TrisNHNH₂ (26,7 mg, 89,6 μ mol) en ClCH₂CH₂Cl (1 ml) a 50°C se le añadió Et₃N (12,5 μ l, 89,6 μ mol). La reacción se controló por HPTLC (hexano/EtOAc/CH₂Cl₂ = 1/1/2). Después de agitar durante 6,5 h, a la mezcla se le añadió más cantidad de TrisNHNH₂ (26,7 mg, 89,6 μ mol) y Et₃N (12,5 μ l, 89,6 μ mol). Después de agitar durante 14 h, la mezcla se enfrió a ta, se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una capa de gel de sílice, que se aclaró con EtOAc. Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/EtOAc/CH₂Cl₂ = 1/1/2), dando 2 (1,16 mg, 2,13 μ mol, al 94%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 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, cd, *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); EMBR (IEN) calc. para C₂₇H₃₉F₃NO₅S [M+H⁺] 546,3, encontrado 546,2.



Compuesto 54

El ácido 25 y el alcohol 53 se destilaron azeotrópicamente con benceno seco (3 ml x 2) y se secaron a alto vacío antes de la reacción. A una solución de alcohol 53 (68,0 mg, 0,173 mmol) en CH₂Cl₂ (1,3 ml) se le añadieron EDCI (37,8 mg, 0,197 mmol) y DMAP (24,1 mg, 0,197 mmol) a 0°C. A la mezcla se le añadió gota a gota una solución del ácido 25 (72,6 mg, en 0,123 mmol) en CH₂Cl₂ (0,7 ml) durante 5 min a 0°C. Después de agitar a 0°C durante 1 h, la mezcla se agitó a ta durante 2,5 h. Después de la concentración, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, hexano/EtOAc = 30:1), dando 54 (99,5 mg, 0,114 mmol, al 92% de éster t-butílico) en forma de un aceite incoloro;

[α]_D²⁵ -23,4 (c 0,56, CHCl₃); IR (película) ν 2955, 2931, 2880, 1735, 1696, 1506, 1472, 1386, 1362, 1294, 1254, 1174, 1104, 988, 878, 776, 742 cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 0,06 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,14 (6H, s), 0,63 (6H, c, *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* = 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);

ES 2 336 937 T3

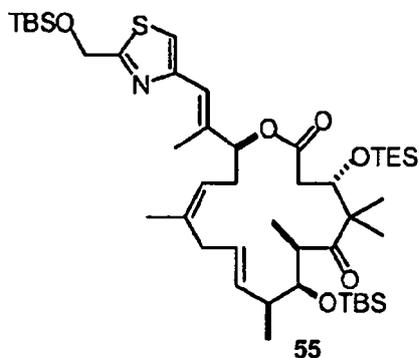
^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ -5,2 (2C), -3,7, -3,3, 5,3 (3C), 7,2 (3C), 14,7, 15,2, 18,5, 18,7, 18,9, 20,3, 23,6, 23,7, 26,0 (3C), 26,4 (3C), 31,7, 36,7, 40,1, 43,8, 46,4, 53,3, 63,4, 74,2, 76,5, 79,6, 115,5, 115,6, 116,6, 120,5, 121,3, 135,8, 136,1, 137,4, 140,1, 153,0, 171,5, 172,2, 218,4; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{47}\text{H}_{86}\text{NO}_6\text{SSi}_3$ [M+H⁺] 876,6, encontrado 876,5.

5

10

15

20



Compuesto 55

25

Una solución de 54 (69,7 mg, 79,5 μmol) en tolueno (158 ml) se calentó a reflujo y se trató con una solución de catalizador de Grubbs (6,7 mg, 7,95 μmol) en tolueno (2 ml). La mezcla se agitó durante 11 min, se enfrió a 0°C y se filtró a través de una capa de gel de sílice, que se aclaró con hexano/EtOAc = 3/1 (280 ml). Los filtrados combinados se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/Et₂O = de 20:1 a 15:1), dando 55 (18,4 mg, 21,7 μmol , al 27%) en forma de un aceite incoloro;

30

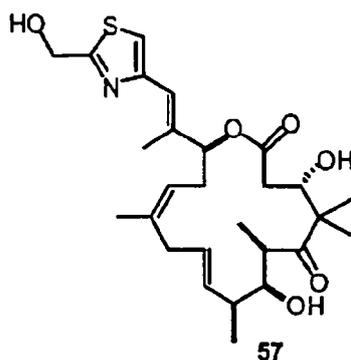
35

$[\alpha]_D^{24}$ -40,4 (c 0,26, CHCl_3); IR (película) ν 2955, 2930, 2879, 1740, 1694, 1472, 1387, 1362, 1253, 1200, 1107, 1007, 838, 776, 742 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,08 (3H, s), 0,12 (3H, s), 0,15 (6H, s), 0,57 (6H, c, $J = 7,9$ 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); EMBR (IEN) 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

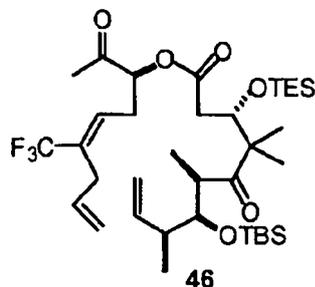
60

A una solución de 55 (61,8 mg, 72,8 μmol) en THF (2 ml) se le añadió HF-piridina (1 ml) a 0°C, y la mezcla se agitó a ta durante 3,2 h. La reacción se interrumpió con la adición gota a gota de TMSOME (15 ml) a 0°C. La mezcla se agitó a ta durante 2 h. Después de la concentración y el secado a alto vacío, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/EtOAc = 1:3), dando 57 (32,4 mg, 64,1 μmol , al 88%) en forma de un sólido de color blanco; $[\alpha]_D^{25}$ -108,4 (c 0,285, CHCl_3); IR (película) ν 3422, 2968, 2919, 2729, 1689, 1449, 1377, 1252, 1152, 1064, 978 cm^{-1} ; ^1H RMN (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, s a, -OH), 3,75 (1H, dd, $J = 6,6, 2,4$ Hz), 4,06 (1H, s a, -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,

65

ES 2 336 937 T3

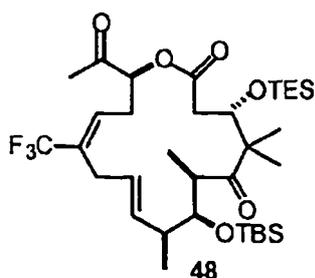
$J = 8,0, 2,5 \text{ Hz}$), 5,52 (1H, dd, $J = 15,8, 6,4 \text{ Hz}$), 5,59 (1H, ddd, $J = 15,8, 6,6, 5,0 \text{ Hz}$), 6,63 (1H, s), 7,13 (1H, s); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 15,3, 16,3, 17,8, 19,2, 22,8, 23,7, 31,9, 35,1, 39,7, 40,2, 45,0, 53,4, 61,8, 71,7, 75,8, 78,1, 116,7, 119,0, 120,5, 130,0, 131,2, 137,6, 138,9, 152,5, 170,0, 170,7, 218,7; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{NO}_6\text{SiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 528,2, encontrado 528,0.



Compuesto 46

El ácido en bruto 25 (4,65 g, en 7,27 mmol) y el alcohol 44 (2,18 g, 9,84 mmol) se destilaron azeotrópicamente con benceno seco y se secaron a alto vacío antes de la reacción. A una solución del alcohol 44 (2,18 g, 9,84 mmol) en CH_2Cl_2 (65 ml) se le añadieron EDCI (2,09 g, 10,9 mmol) y DMAP (1,33 g, 10,9 mmol) a 0°C . A la mezcla se le añadió gota a gota una solución del ácido 25 en bruto (4,65 g, en 7,27 mmol) en CH_2Cl_2 (20 ml + aclarado de 5 ml) durante 20 min a 0°C . Después de agitar a 0°C durante 40 min, la mezcla se agitó a ta durante 4 h. Después de la concentración, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida ($\text{SiO}_2 \sim 160 \text{ g}$, hexano/ $\text{EtOAc} = 20:1$), dando 46 (4,85 g, 6,87 mmol, al 94% de éster t-butilico) en forma de un aceite incoloro;

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,08 (3H, s), 0,08 (3H, s), 0,60 (6H, c, $J = 7,8 \text{ Hz}$), 0,93 (9H, s), 0,94 (9H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$), 1,04 (3H, d, $J = 7,0 \text{ Hz}$), 1,04 (3H, d, $J = 7,0 \text{ Hz}$), 1,11 (3H, s), 1,23 (3H, s), 2,05-2,14 (1H, m), 2,17 (3H, s), 2,40 (1H, dd, $J = 16,9, 7,0 \text{ Hz}$), 2,59 (1H, dd, $J = 17,0, 3,6 \text{ Hz}$), 2,56-2,64 (2H, m), 2,90-3,01 (2H, m), 3,06 (1H, quint., $J = 7,0 \text{ Hz}$), 3,85 (1H, dd, $J = 7,3, 2,0 \text{ Hz}$), 4,38 (1H, d, $J = 7,0, 3,4 \text{ Hz}$), 4,97-5,14 (5H, m), 5,75 (1H, ddt, $J = 16,0, 9,9, 6,2 \text{ Hz}$), 5,92 (1H, ddd, $J = 17,8, 10,5, 7,8 \text{ Hz}$), 6,21 (1H, td, $J = 7,2, 1,5 \text{ Hz}$); EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{36}\text{H}_{63}\text{F}_3\text{O}_6\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 727,4, encontrado 727,3.



Compuesto 48

Una solución de 46 (510,0 mg, 0,723 mmol) en tolueno (500 ml) se calentó a reflujo y se trató con una solución de catalizador de Grubbs (92,1 mg, 0,109 mmol) en tolueno (10 ml). La mezcla se agitó a reflujo durante 17 min, inmediatamente se enfrió a 0°C y se mantuvo a 0°C antes de la filtración a través de una capa de gel de sílice. Un segundo extracto de dieno (510,0 mg, 0,723 mmol) se procesó de forma idéntica y simultáneamente. Las mezclas de reacción combinadas se filtraron a través de una capa de gel de sílice (100 g), que se aclaró con hexano/ $\text{EtOAc} = 3/1$ (1,4 l). Los filtrados combinados se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna ultrarrápida ($\text{SiO}_2 \sim 65 \text{ g}$, hexano/ $\text{Et}_2\text{O} =$ de 10:1 a 5:1), dando 48 (742,4 mg, 1,10 mmol, al 76%) en forma de un aceite incoloro;

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,08 (3H), 0,10 (3H, s), 0,60 (6H, c, $J = 7,8 \text{ Hz}$), 0,93 (9H, s), 0,94 (9H, t, $J = 7,8 \text{ Hz}$), 1,03 (3H, d, $J = 7,1 \text{ Hz}$), 1,08 (3H, s), 1,13 (3H, d, $J = 7,0 \text{ Hz}$), 1,17 (3H, s), 2,26 (3H, s), 2,25-2,34 (1H, m), 2,64 (1H, dd, $J = 15,5, 5,0 \text{ Hz}$), 2,68-2,75 (2H, m), 2,76 (1H, dd, $J = 15,6, 6,4 \text{ Hz}$), 2,85 (1H, dd, $J = 15,6, 5,7 \text{ Hz}$), 2,97 (1H, dc, $J = 8,3, 6,9 \text{ Hz}$), 3,04 (1H, dd, $J = 15,6, 6,3 \text{ Hz}$), 3,92 (1H, dd, $J = 8,3, 1,2 \text{ Hz}$), 4,36 (1H, t, $J = 5,3 \text{ Hz}$), 5,30-5,39 (2H, m), 5,58 (1H, dd, $J = 15,5, 8,0 \text{ Hz}$), 6,13 (1H, t, $J = 7,2 \text{ Hz}$); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ -3,6, -3,6, 5,4

ES 2 336 937 T3

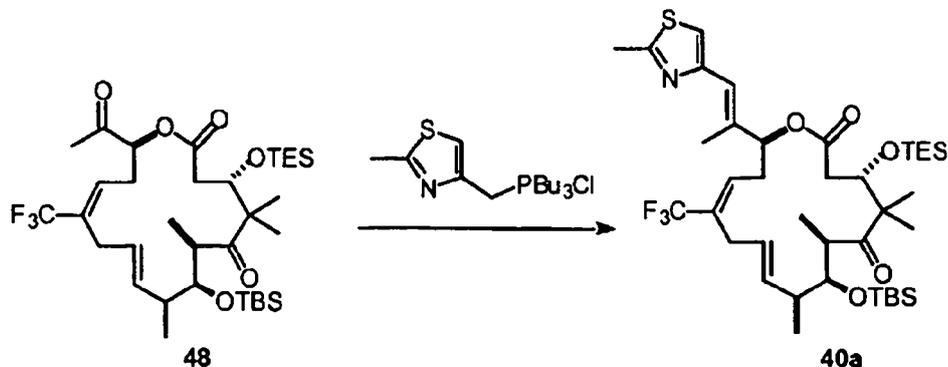
(3C), 7,0 (3C), 17,5, 18,5, 19,0, 21,6, 23,5, 26,3 (3C), 26,5, 28,6, 29,1, 41,0, 42,3, 47,3, 54,1, 74,2, 76,8, 77,7, 124,0 [$^1J(C,F) = 273,7$ Hz], 126,0, 128,7 [$^3J(C,F) = 5,9$ Hz], 132,2 [$^2J(C,F) = 28,1$ Hz], 133,8, 170,5, 204,1, 216,1; EMBR (IEN) calc. para $C_{34}H_{59}F_3O_6Si_2Na$ [$M+Na^+$] 699,4, encontrado 699,4.

5

10

15

20



25

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

30

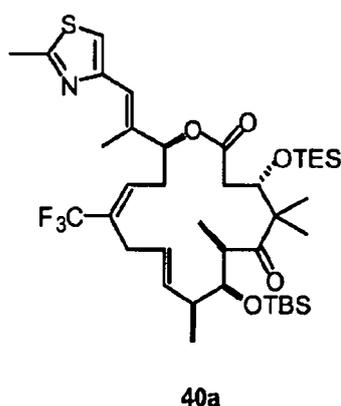
La cetona 48 se destiló azeotrópicamente con benceno (5 ml x 2) y después se secó a alto vacío durante 0,5 h. A una solución de sal de Wittig (907 mg, 2,59 mmol) en THF (19 ml) se le añadió gota a gota t-BuOK (2,4 ml de una solución 1,0 M en THF, 2,43 mmol) durante 5 min a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C durante 0,5 h y después se enfrió a -78°C. A la mezcla se le añadió 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 interrumpió con NH_4Cl acuoso sat. (15 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , hexano/ Et_2O = de 20:1 a 10:1), dando el isómero 16(E) 40a deseado (940 mg, 1,22 mmol, al 75%) junto con el isómero 16(Z) 40b indeseado (140,9 mg, 0,182 mmol, al 11%), ambos en forma de aceites incoloros;

35

40

45

50

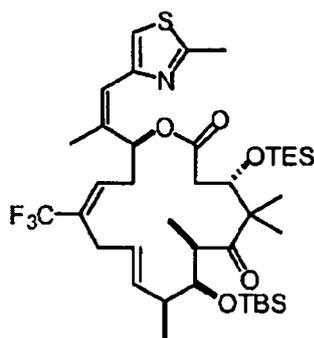


55

$[\alpha]_D^{26} -17,1$ (c 0,14, $CHCl_3$); 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0,09 (3H, s), 0,12 (3H, s), 0,55 (6H, c, $J = 7,7$ 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); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$): 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 [$^1J(C,F) = 273,5$ Hz], 127,2, 130,6 [$^2J(C,F) = 28,2$ Hz], 130,8 [$^3J(C,F) = 6,1$ Hz], 133,2, 136,5, 152,3, 165,0, 170,1, 217,1; HRMS (IEN) calc. para $C_{39}H_{65}F_3NO_5SSi_2$ [$M+H^+$] 772, 4074, encontrado 772, 4102.

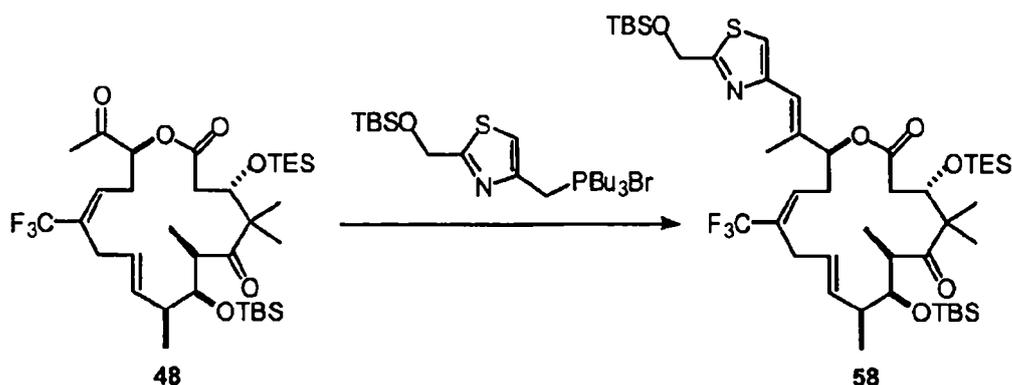
60

65



40b

$[\alpha]_D^{25}$ 62,7 (c 0,33, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,09 (3H, s), 0,13 (3H, s), 0,49 (6H, c, $J = 7,8$ 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, m), 7,09 (1H, d a, $J = 8,4$ Hz); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ -3,2, -3,2, 5,5 (3C), 7,0 (3C), 17,2, 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 [$^1J(\text{C},\text{F}) = 273,3$ Hz], 127,9, 129,7 [$^2J(\text{C},\text{F}) = 28,0$ Hz], 131,9 [$^3J(\text{C},\text{F}) = 6,1$ Hz], 132,9, 136,6, 152,1, 165,4, 170,2, 217,4; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{39}\text{H}_{65}\text{F}_3\text{NO}_5\text{SSi}_2$ [M+H⁺] 772,4, encontrado 772,4.

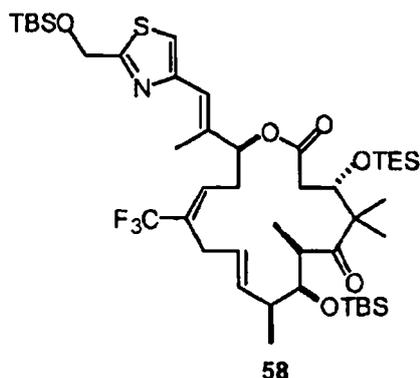


48

58

Compuesto 58 (por la reacción de Wittig de la cetona 48)

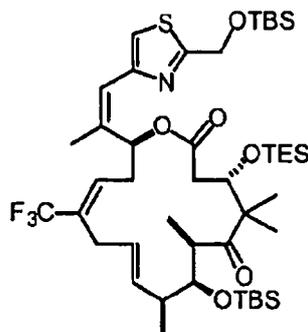
La cetona 48 se destiló azeotrópicamente con benceno (5 ml x 2) y después se secó a alto vacío durante 0,5 h. A una solución de sal de Wittig (1,19 g, 2,27 mmol) en THF (18 ml) se le añadió gota a gota t-BuOK (2,2 ml de una solución 1,0 M en THF, 2,20 mmol) durante 5 min a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C durante 20 min y después se enfrió a -78°C. A la mezcla se le añadió gota a gota una solución de cetona (1,06 g, 1,51 mmol) en THF (10 ml + aclarado de 2 ml) durante 10 min, y la mezcla resultante se dejó calentar a -20°C durante 2 h. La reacción se interrumpió con NH_4Cl acuoso sat. (15 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 ~65 g, hexano/Et₂O = de 30:1 a 20:1), dando el isómero 16(E) 58 deseado (1,01 g, 1,11 mmol, al 74%) junto con el isómero 16(Z) 58a indeseado (154,5 mg, 0,182 mmol, al 11%), ambos en forma de aceites incoloros;



58

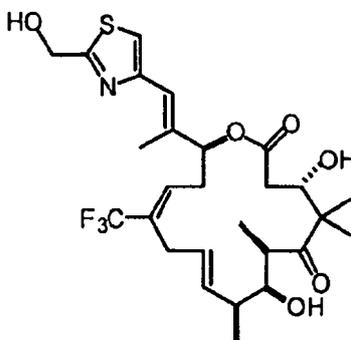
ES 2 336 937 T3

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,09 (3H, s), 0,12 (3H, s), 0,15 (6H, s), 0,55 (6H, c, $J = 7,8$ 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); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): 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, $^1J(\text{C},\text{F}) = 273,6$ Hz], 127,2, 130,7 [c, $^2J(\text{C},\text{F}) = 27,5$ Hz], 130,8 [q, $^3J(\text{C},\text{F}) = 6,2$ Hz], 133,2, 136,4, 152,6, 170,1, 172,4, 217,1; EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{45}\text{H}_{78}\text{F}_3\text{NO}_6\text{SSi}_3\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}^+$] 924,5, encontrado 924,5.



58a

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,07 (3H, s), 0,13 (3H, s), 0,16 (6H, s), 0,48 (6H, c, $J = 7,8$ 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); EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{45}\text{H}_{78}\text{F}_3\text{NO}_6\text{SNa}$ [$\text{M}+\text{Na}^+$] 924,5, encontrado 924,5.



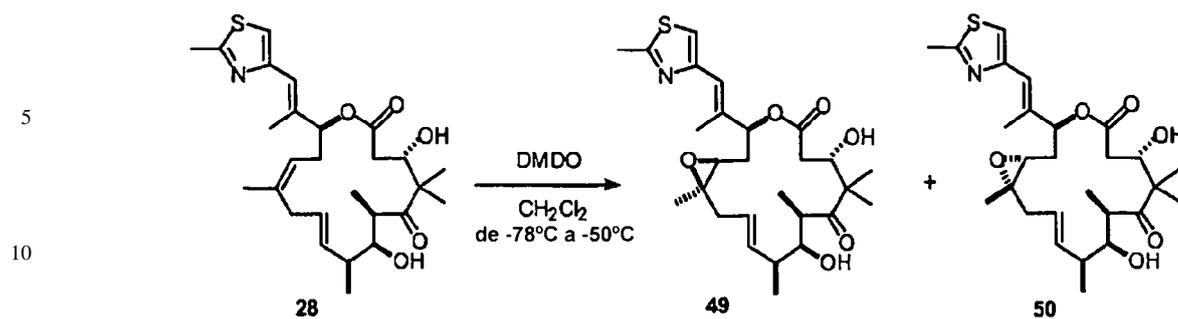
59

Compuesto 59

A una solución de 58 (1,04 g, 2,25 mmol) en THF (22 ml) se le añadió lentamente HF-piridina (11 ml) a 0°C , y la mezcla se agitó a ta durante 4,3 h. La reacción se interrumpió con la adición gota a gota de TMSOMe (75 ml) durante 10 min a 0°C . La mezcla se agitó vigorosamente a ta durante 4,2 h. Después de la concentración y el secado a alto vacío durante 1 h, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 ~25 g, hexano/EtOAc = de 3:4 a 1:2), dando 59 (615,7 mg, 1,00 mmol, al 96%) en forma de un polvo incoloro;

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -57,7$ (c 1,20, CHCl_3); ^1H RMN (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, quintuplete, $J = 6,8$ 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); EMBR (IEN) 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.

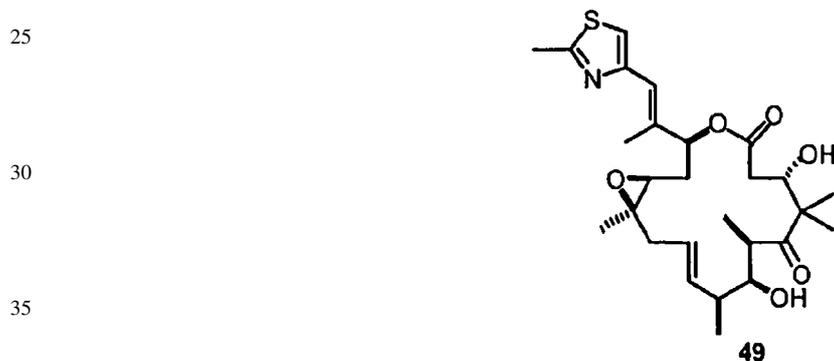
ES 2 336 937 T3



15 Compuestos 49 y 50

Una solución de 28 (12,2 mg, 24,9 μ mol) en CH₂Cl₂ (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 μ l, 54,8 μ mol). La mezcla se dejó calentar a -50°C y se agitó a -50°C durante 2,7 h. El DMDO en exceso se inactivó a -50°C mediante la adición de sulfuro de dimetilo (117 μ l) y la mezcla se agitó a esta temperatura durante 0,5 h. El disolvente se retiró al vacío. La purificación por cromatografía preparativa de capa fina (hexano/EtOAc = 1/2) dio el β -epóxido 49 (3,0 mg, 5,93 μ mol, al 24%) y el α -epóxido 50 (7,9 mg, 15,6 μ mol, al 63%), ambos en forma de sólidos incoloros.

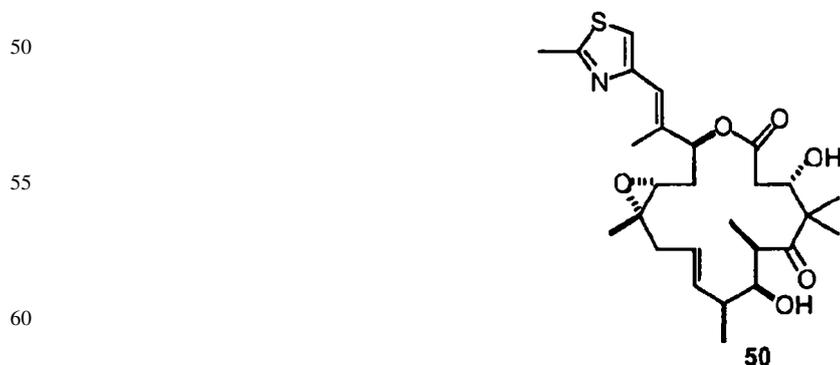
20



40 Compuesto 49

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 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 (1 H, 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, s a, OH), 2,93 (1H, dd, J = 7,3,4,8 Hz), 3,34 (1H, cd, 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); EMBR (IEN) calc. para C₂₇H₄₀NO₆S [M+H⁺] 506,3, encontrado 506,3.

45



65 Compuesto 50

¹H RMN (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,

ES 2 336 937 T3

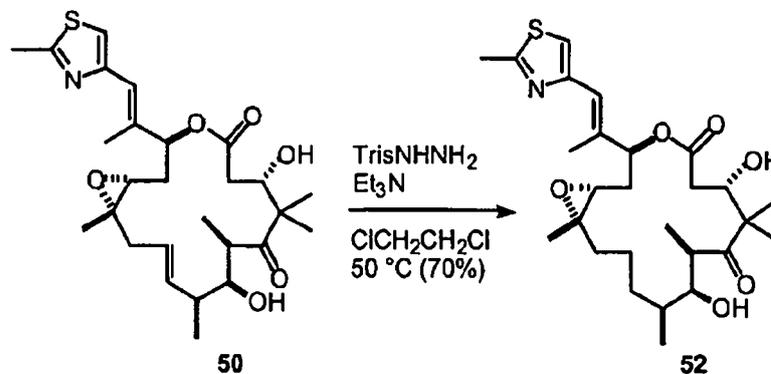
d, $J = 2,7$ Hz), 2,72 (3H, s), 3,06 (1H, dd, $J = 9,7,3,1$ Hz), 3,54 (1H, cd, $J = 7,0, 2,0$ Hz), 3,76-3,80 (1H, m), 4,07-4,14 (1H, m), 4,31 (1H, d, $J = 4,1$ Hz), 5,52 (1H, dd, $J = 15,5, 8,7$ Hz), 5,60 (1H, ddd, $J = 15,1, 9,4, 3,4$ Hz), 5,71 (1H, d, $J = 8,4$ Hz), 6,63 (1H, s), 6,99 (1H, s); EMBR (IEN) calc. para $C_{27}H_{39}NO_6SNa$ [M+Na+] 528,2, encontrado 528,2.

5

10

15

20



25 **Compuesto 52**

A una solución de 50 (1,7 mg, 3,4 μmol) y TrisNHNH_2 (40,1 mg, 0,134 mmol) en $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ (0,8 ml) a 50°C se le añadió Et_3N (18,7 μl , 0,134 mmol). La reacción se controló por HPTLC (hexano/ $\text{EtOAc} = 1/2$). Después de agitar durante 4 h, la mezcla se enfrió a ta, se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una capa de gel de sílice, que se aclaró con EtOAc . Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/ $\text{EtOAc} = 1/2$), dando 52 (1,2 mg, 2,4 μmol , al 70%) en forma de un sólido de color blanco.

30

35

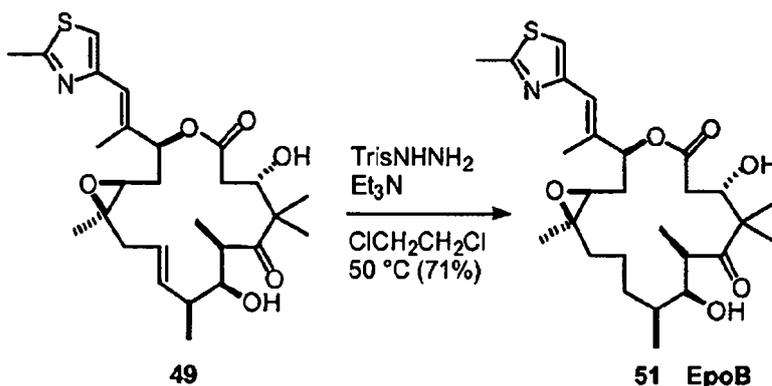
^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 0,95 (3H, d, $J = 7,1$ Hz), 1,04 (3H, s), 1,11 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 1,28 (3H, s), 1,37 (3H, s), 1,35-1,44 (1H, m), 1,45-1,59 (4H, m), 1,71 -1,82 (2H, m), 1,86 (1H, dt, $J = 15,3, 9,5$ Hz), 2,10 (1H, dd, $J = 15,3, 3,6$ Hz), 2,13 (3H, s), 2,40 (1H, dd, $J = 12,5, 2,5$ Hz), 2,49 (1H, dd, $J = 12,5, 11,0$ Hz), 2,74 (3H, s), 2,80 (1H, s a, OH), 3,07 (1H, dd, $J = 10,3, 3,3$ Hz), 3,34 (1H, cd, $J = 7,0, 1,0$ Hz), 3,89 (1H, s a, 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); EMBR (IEN) calc. para $C_{27}H_{41}NO_6SNa$ [M+Na+] 530,3, encontrado 530,2.

40

45

50

55



60 **Compuesto 51**

A una solución de 49 (0,7 mg, 1,38 μmol) y TrisNHNH_2 (20,6 mg, 69 μmol) en $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ (0,4 ml) a 50°C se le añadió Et_3N (9,6 μl , 69 μmol). La reacción se controló por HPTLC (hexano/ $\text{EtOAc} = 1/2$). Después de agitar durante 6 h, la mezcla se enfrió a ta, se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una capa de gel de sílice, que se aclaró con EtOAc . Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/ $\text{EtOAc} = 1/2$), dando 51 (0,5 mg, 0,985 μmol , al 71%) en forma de un sólido de color blanco. Los datos espectrales de 51 eran idénticos a los indicados en EpoB.

65

ES 2 336 937 T3

Ejemplo 2

Estrategias sintéticas alternativas para sintetizar intermedios de epotilonas

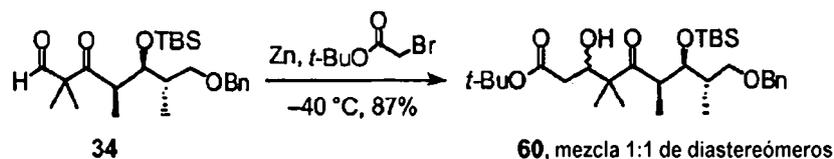
5 Los siguientes ejemplos ofrecen procedimientos para preparar los diversos intermedios en la síntesis de análogos de epotilona.

Optimización de las Síntesis de 9,10-deshidroEpotilonas

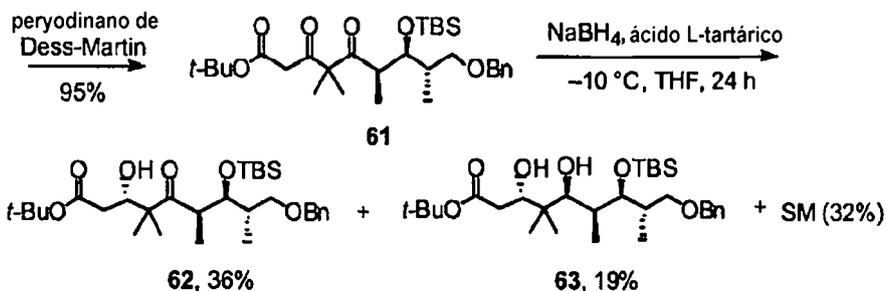
10

Ejemplo 1

15



25



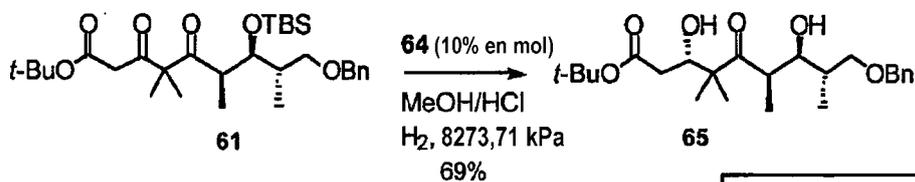
30

35

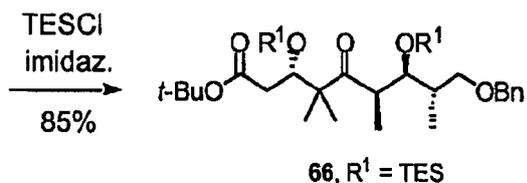
Ejemplo 2

Reducciones de Noyori

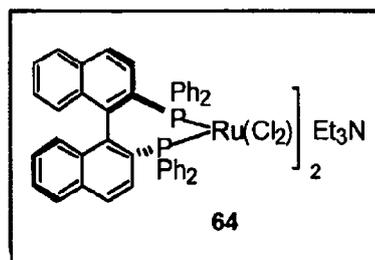
45



55



60

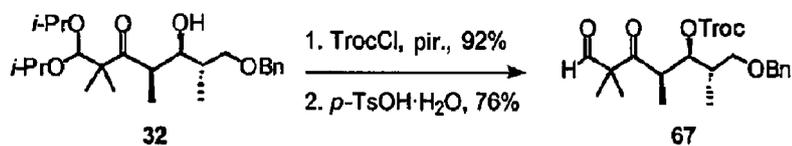


65

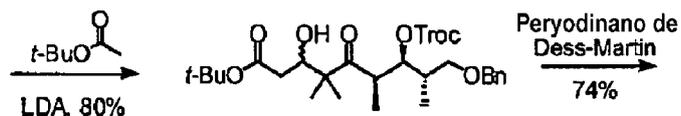
Ejemplo 3

Reducciones de Noyori

5



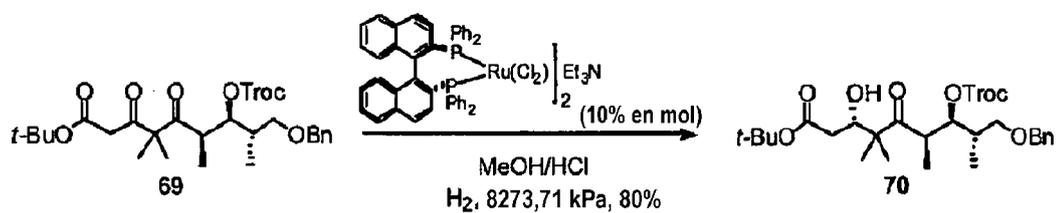
10



15

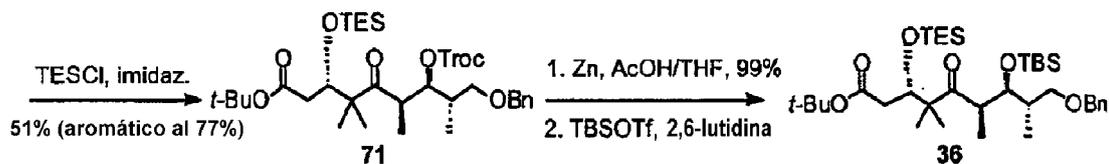
68, mezcla 1:1 de diastereómeros

20



25

30



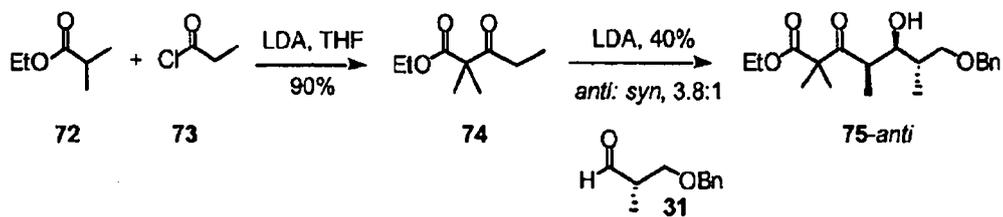
35

40

Ejemplo 4

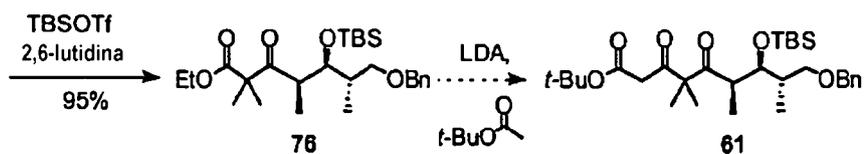
Síntesis Alternativa de la Diketona Clave

45



50

55



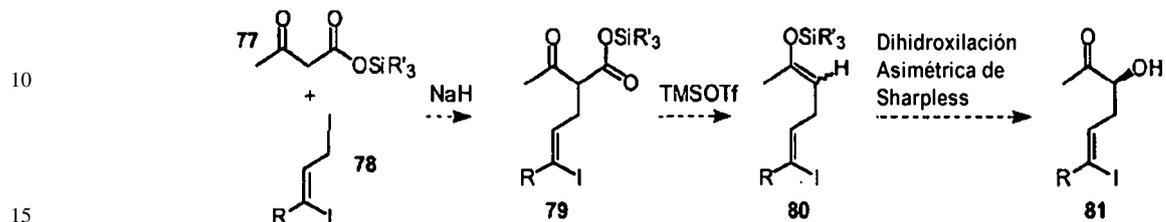
60

65

Ejemplo 5

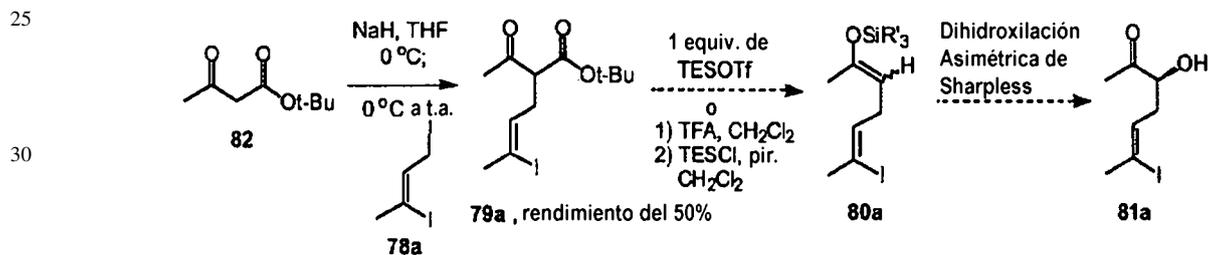
Enfoque 1

5 Migración-Descarboxilación del Grupo Sililo



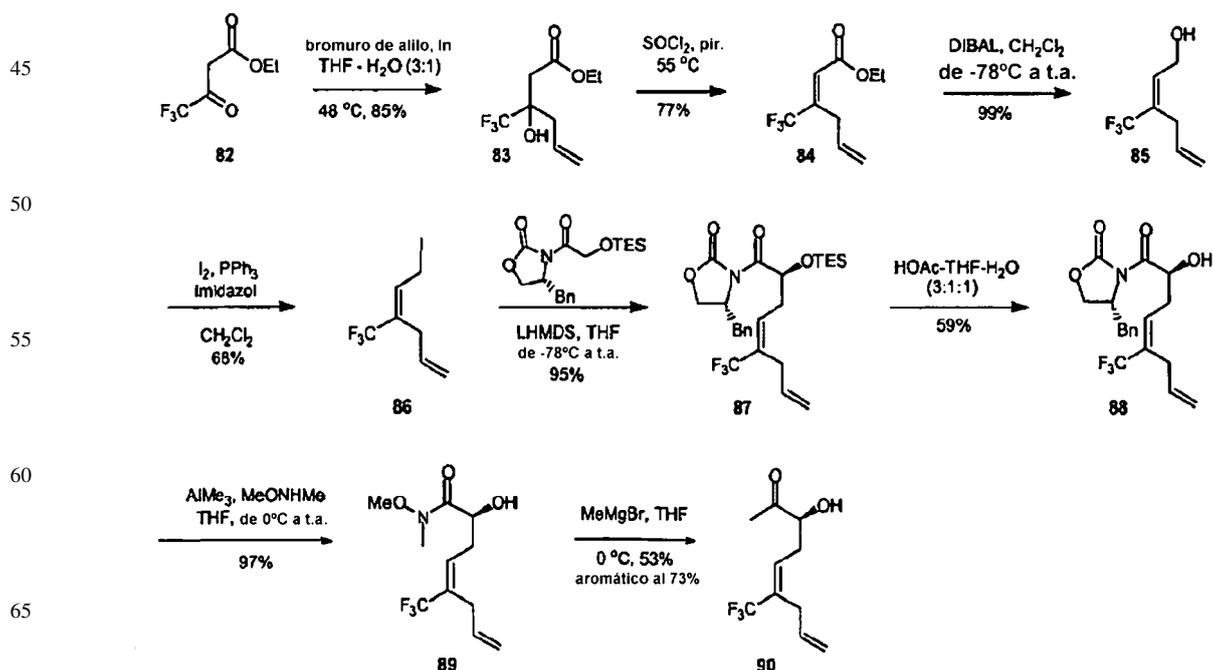
20 Enfoque 2

Descarboxilación-Incorporación del Grupo Sililo



40 Ejemplo 6

Enfoque Auxiliar de Evans a la Síntesis de 2-Hidroxicetona



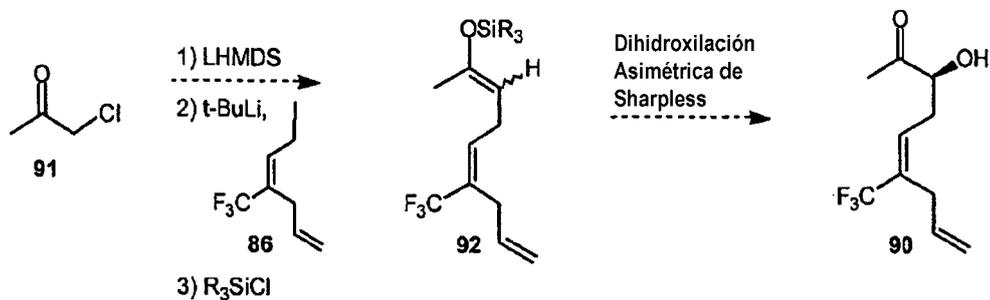
Ejemplo 7

Kowalsky - Enfoque de Sharpless a la Síntesis de 2-Hidroxicetona

5

10

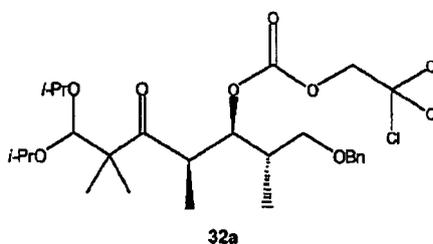
15



20 Experimentos

25

30



2,2,2-Tricloroetil éster del 1-(2-benciloxi-1-metiletil)-5,5-diisopropoxi-2,4,4-trimetil-3-oxopentil éster del ácido carbónico (32a)

35

40

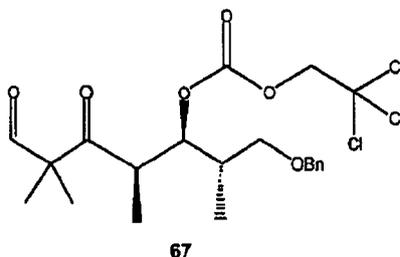
45

A una solución de 7-benciloxi-5-hidroxi-1,1-diisopropoxi-2,2,4,6-tetrametilheptan-3-ona 32 (1,0 g, 2,4 mmol) y piridina (0,8 ml, 7,3 mmol) en CH₂Cl₂ (10,0 ml) a 0°C se le añadió cloroformiato de 2,2,2-tricloroetilo (668,0 μl, 4,9 mmol) y después la mezcla se dejó calentar a ta. Después de 1 h, la mezcla de reacción se inactivó con salmuera y después se extrajo con CH₂Cl₂. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (gradiente de hexano a 93:7 de hexano/EtOAc), dando 32a (1,285 g, al 92%) en forma de un aceite transparente: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 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 (cd, *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); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃): 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 (película, NaCl, cm⁻¹) 2966, 1760, 1698, 1247; EMBR (IEN) calc. para C₂₇H₄₁O₇Cl₃Na[M+Na⁺] 605,2, encontrado 605,2; [α]_D²³ = -20,4 (c = 1,0, CHCl₃).

50

55

60



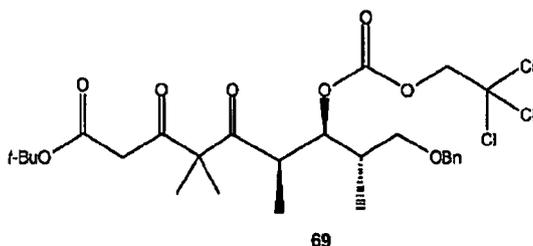
2,2,2-Tricloroetil éster del 1-(2-benciloxi-1-metiletil)-2,4,4-trimetil-3,5-dioxopentil éster del ácido carbónico (67)

65

A una solución de 32a (1,28 g, 2,25 mmol) en 4:1 de THF/H₂O (25 ml) se le añadió *p*-TsOH (111,0 mg, 0,6 mmol). Después de calentar a 70°C durante 5 h, la mezcla de reacción se vertió en una solución ac. sat. enfriada (0°C) de NaHCO₃ (12 ml) y después se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía

ES 2 336 937 T3

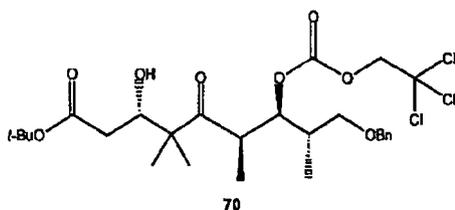
ultrarrápida (gradiente de hexano a 84:16 de hexano/EtOAc), dando 67 (793,2 mg, al 76%) en forma de un aceite transparente: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 0,90 (d, *J* = 5,8 Hz, 3H), 1,0 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H), 1,24 (s, 6H), 1,97-2,04 (m, 1H), 3,24 (dd, *J* = 4,8 y 9,2 Hz, 1H), 3,34 (m, 1H), 3,42 (dd, *J* = 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 RMN (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 (película, NaCl, cm⁻¹) 2973, 2880, 1758, 1701, 1453, 1380, 1248; EMBR (IEN) calc. para C₂₁H₂₇O₆Cl₃Na [M+Na⁺] 503,0, encontrado 503,0; [α]²⁵_D = -18,5 (c = 0,8, CHCl₃).



Éster terc-butílico del ácido 9-benciloxi-4,4,6,8-tetrametil-3,5-dioxo-7-(2,2,2-tricloroetoxicarboniloxi)-nonanoico (69)

A una solución de LDA (1,17 mmol, 0,3 M en Et₂O) a -78°C se le añadió acetato de t-butilo (1,0 mmol, 135,0 μl). Después de 30 min, se añadió lentamente una solución de 67 (464,0 mg, 1 mmol) en Et₂O (2 ml) durante 15 min. Después de agitar durante 1 h, la reacción se interrumpió con una solución ac. sat. de NH₄Cl y después se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (gradiente de hexano a 86:14 de hexano/BtOAc), dando 68 (mezcla epimérica 1:1, 461,4 mg, al 80%) en forma de un aceite transparente: ¹H RMN (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 RMN (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, 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 (película, NaCl, cm⁻¹) 3509, 2975, 1759, 1707, 1368, 1248, 1152; EMBR (IEN) calc. para C₂₇H₃₉O₈Cl₃Na [M+Na⁺] 619,1, encontrado 619,2.

A una solución a 0°C de 68 (350,0 mg, 0,6 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) se le añadió peryodinato de Dess-Martin (398,0 mg, 0,9 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 1 h y después se vertió en una mezcla bien agitada 1:1 de Na₂S₂O₃ sat./NaHCO₃ sat. Las fases se separaron después de 30 min. La fase acuosa se extrajo tres veces con Et₂O. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ sat. y salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (gradiente de hexano a 91:9 de hexano/EtOAc), dando 69 (258,4 mg, al 74%) en forma de un aceite transparente: ¹H RMN (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 RMN (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 (película, NaCl, cm⁻¹) 2977, 1758, 1697, 1368, 1248, 1154; EMBR (IEN) calc. para C₂₇H₃₇O₈Cl₃Na [M+Na⁺] 617,1, encontrado 617,1; [α]²⁵_D = -49,1 (c = 0,9, CHCl₃).

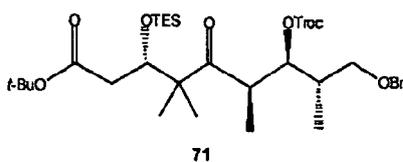


Éster terc-butílico del ácido 9-benciloxi-3-hidroxi-4,4,6,8-tetrametil-5-oxo-7-(2,2,2-tricloroetoxicarboniloxi)-nonanoico (70)

Una línea de autoclave se cargó con catalizador (*R*)-RuBINAP (16,8 mg, 10,0 μmol). Se añadió HCl (555 μl, 0,2 N en MeOH) y después la mezcla se sonicó durante 15 s. Después, se añadió una solución de 69 (59,4 mg, 0,1 mmol)

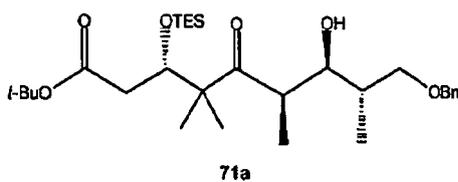
ES 2 336 937 T3

en MeOH (555 μ l) y la mezcla se transfirió a un aparato Parr. El recipiente se purgó con H₂ durante 5 min y después se presurizó a 8273,71 kPa (1200 psi). Después de 17 h, la reacción volvió a presión atmosférica y se vertió en una solución ac. sat. de NaHCO₃. La fase acuosa se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (gradiente de hexano a 88:12 de hexano/EtOAc), dando 70 (pd > 20:1 como se determinó por el análisis de ¹H RMN) (47,6 mg, al 80%) en forma de un aceite transparente: ¹H RMN (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, 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); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃): 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 (película, NaCl, cm⁻¹) 3849, 2974, 2879, 1758, 1701, 1454, 1368, 1248, 1152, 926, 734; EMBR (IEN) calc. para C₂₇H₃₉O₈Cl₃Na [M+Na+] 619,1, encontrado 619,2; $[\alpha]_D^{23}$ = -13,0 (c = 0,4, CHCl₃).



*Éster terc-butílico del ácido 9-benciloxi-4,4,6,8-tetrametil-5-oxo-7-(2,2,2-tricloroetoxicarbonilo)-3-(trietilsilani-
loxi)-nonanoico (71)*

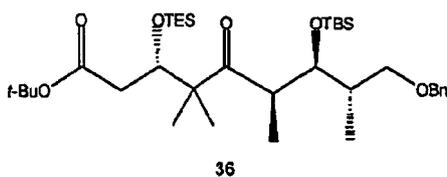
A una solución de 70 (37,6 mg, 6,3 μ mol) e imidazol (9,4 mg, 13,8 μ mol) en DMF (0,4 ml) a 0°C se le añadió TESCO (11,6 μ l, 69,3 μ mol). Después de 3 h, la mezcla se diluyó con NaHCO₃ ac. sat. La fase acuosa se extrajo tres veces con hexanos. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (gradiente de hexano a 93:7 de hexano/EtOAc), produciendo, por orden de elución, 71 (22,9 mg, al 51%), y 70 recuperado (12,9 mg, al 34%) en forma de aceites transparentes. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 0,66 (c, 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); ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): 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, 128,0, 128,7, 138,6, 154,3, 171,7, 215,7; IR (película, NaCl, cm⁻¹) 2956, 2876, 1732, 1694, 1456, 1366, 1257, 1154, 1098, 988, 835, 774, 741; EMBR (IEN) calc. para C₃₃H₅₃O₈SiCl₃Na [M+Na+] 733,2, encontrado 733,3. $[\alpha]_D^{23}$ = -16,1 (c = 0,1, CHCl₃).



Éster terc-butílico del ácido 9-benciloxi-3-(dietilmethylsilanilo)-7-hidroxi-4,4,6,8-tetrametil-5-oxo-nonanoico (71a)

A una solución de 71 (22,9 mg, 3,2 μ mol) en 1:1 de THF/AcOH (1,4 ml) se le añadió Zn (5,0 mg, 7,8 μ mol, nanotamaño). La mezcla se sonicó durante 15 min. Se añadió más cantidad de Zn (5,0 mg, 7,8 μ mol, nanotamaño) seguido de sonicación durante 15 min más. La suspensión se filtró a través de una capa de celite que se lavó con EtOAc varias veces. Los filtrados se lavaron con NaHCO₃ sat. y salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se pasó a través de un lecho corto de gel de sílice eluyendo con 4:1 de hexano/EtOAc, dando 17,1 mg (rendimiento del 99%) de 71a en forma de un aceite incoloro: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 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); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃): 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 (película, NaCl, cm⁻¹) 3502, 2959, 2875, 1731, 1683, 1456, 1366, 1154, 1098, 996, 739; EMBR (IEN) calc. para C₃₀H₅₂O₆SiCl₃Na [M+Na+] 559,3, encontrado 559,3; $[\alpha]_D^{23}$ = -41,0 (c = 0,4, CHCl₃).

ES 2 336 937 T3

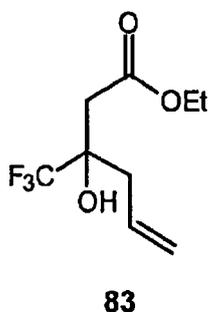


5

10 *Éster terc-butílico del ácido 9-benciloxi-7-(terc-butiidimetilsilanilo)-3-(dietilmetilsilanilo)-4,4,6,8-tetrametil-5-oxo-nonanoico (36)*

15 A una solución de 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 añadió TBSOTf (10,0 μ l, 85,8 mmol). Después de 2 h, se añadió más cantidad de 2,6-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 ac. sat. La fase acuosa se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (gradiente de hexano a 91:9 de hexano/EtOAc), dando 36 (5,4 mg, al 82%) en forma de un aceite transparente. Datos espectroscópicos de acuerdo con los valores indicados.

20



25

30

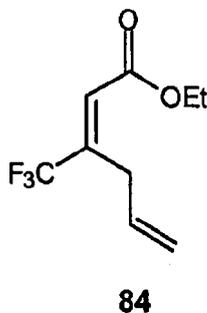
83

35

Alcohol 83

40 A una solución de 4,4,4-trifluoroacetoacetato de etilo (24,0 ml, 0,164 mol) en THF-agua (3:1 = V:V, 320 ml) a temperatura ambiente se le añadieron bromuro de alilo (20,0 ml, 1,4 equiv.) e indio (polvo, malla de -100, 25 g, 1,3 equiv.) y la mezcla resultante se agitó a 48°C durante 15 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó con HCl ac. 2 N (400 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (400 ml, 2 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron al vacío. La cromatografía ultrarrápida (hexanos \rightarrow 10:1 \rightarrow 8:1 \rightarrow 6:1 \rightarrow 4:1 de hexanos-éter) dio el alcohol 83 en forma de un aceite transparente (31,64 g, rendimiento del 85%): IR (película) 3426 (m a), 2986 (m), 1713 (f), 1377 (m), 1345 (m), 1301 (m), 1232 (m), 1173 (s), 1095 (m), 1023 (m), 927 (m) cm^{-1} ; ^1H RMN (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 RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 172,08, 130,89, 125,65 (c, $J = 280$ Hz), 120,27, 73,79 (c, $J = 28$ Hz), 61,55, 38,97, 35,65, 13,82; espectro de masas de alta resolución m/z 227,0895 [(M+H) $^+$]; calc. para $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_3\text{F}_3$: 227,0895].

50



55

60

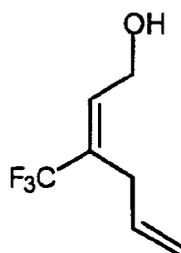
84

Ester 84

65 Una mezcla del alcohol 83 (16,71 g, 0,07386 mol) y piridina (15,0 ml, 2,5 equiv.) se enfrió a -10°C y se trató lentamente con cloruro de tionilo (11,3 ml, 2,1 equiv.) durante 11 min. La mezcla resultante se calentó a 55°C y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se enfrió a -5°C , se inactivó con agua (200 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x

ES 2 336 937 T3

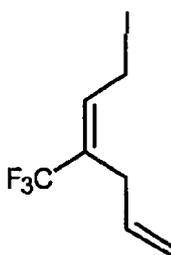
200 ml, 2 x 150 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO_3 saturado (2 x 200 ml), y salmuera (200 ml), se secaron (MgSO_4) y se concentraron al vacío. La cromatografía ultrarrápida (15:1 de pentano:éter) produjo el éster 84 (11,90 g, rendimiento del 77%) en forma de un aceite de color amarillo: IR (película) 2986 (d), 1731 (f), 1308 (f), 1265 (d), 1227 (m), 1197 (f), 1133 (f), 1025 (m), 920 (d), 896 (d) cm^{-1} ; ^1H RMN (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 (c, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 3,44 (d, $J = 6,5$ Hz, 2 H), 1,29 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 164,22, 143,37 (c, $J = 29$ Hz), 132,71, 123,21 (c, $J = 274$ Hz), 122,60 (c, $J = 6$ 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].



85

Alcohol 85

A una solución enfriada (-75°C) del éster 84 (7,12 g, 0,0342 mol) en CH_2Cl_2 (120 ml) se le añadió 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 inactivó con NH_4Cl saturado (12 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. La mezcla de reacción se diluyó con éter (200 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró al vacío. La cromatografía ultrarrápida (3:1 \rightarrow 1:1 de pentano:éter) proporcionó el alcohol 85 (5,68 g, al 99%) en forma de un aceite transparente: IR (película) 3331 (f a), 2929 (m), 1642 (m), 1445 (m), 1417 (d), 1348 (f), 1316 (f), 1217 (f), 1175 (f), 1119 (f), 1045 (m), 985 (f), 921 (m), 831 (d) cm^{-1} ; ^1H RMN (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 RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 134,45 (c, $J = 6$ Hz), 133,38, 127,97 (c, $J = 29$ Hz), 123,76 (c, $J = 271$ Hz), 116,25, 57,87, 29,79.



86

Yoduro 86

Una solución enfriada (0°C) del alcohol 85 (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 I_2 (9,10 g, 1,1 equiv.) y la mezcla resultante se agitó a 0°C durante 10 min. La mezcla de reacción se inactivó 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). Los extractos orgánicos combinados 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 al vacío. La cromatografía ultrarrápida (pentano) dio el yoduro 86 (6,69 g, al 68%) en forma de un aceite de color rojo pálido: IR (película) 3083 (d), 2982 (d), 1636 (d), 1558 (d), 1456 (d), 1367 (d), 1317 (f), 1216 (m), 1181 (f), 1151 (f), 1120 (f), 989 (m), 921 (m), 896 (m) cm^{-1} ; ^1H RMN (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

ES 2 336 937 T3

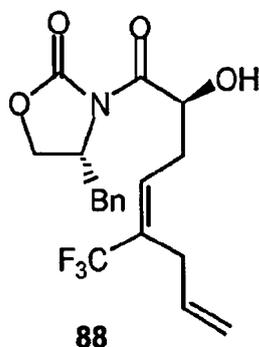
(ddd, $J = 8,9, 2,9, 1,4$ Hz, 2 H), 3,00 (dt, $J = 6,1, 1,4$ Hz, 2H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): 132,42, 131,64 (c, $J = 6$ Hz), 129,63 (c, $J = 29$ Hz), 123,64 (c, $J = 272$ Hz), 117,00, 29,32, -4,27; espectro de masas de baja resolución m/z 298,7 [(M+Na) $^+$]; calc. para $\text{C}_7\text{H}_8\text{F}_3\text{INa}$: 299,0].

5

10

15

20



α -Hidroxioxazolidinona 88

25

30

35

40

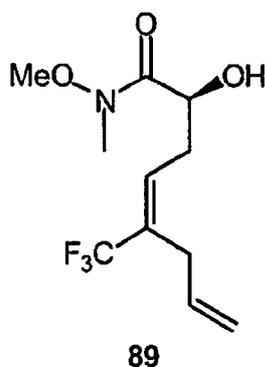
45

A una solución enfriada (-78°C) de 4-bencil-3-hidroxi acetil-oxazolidin-2-ona protegida por TES 7 (16,28 g, 1,92 equiv.) en THF (160 ml) se le añadió gota a gota una solución de LHMDs (42,0 ml, 1,73 equiv.) en THF (1,0 M) durante 51 min y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante 35 min. La mezcla de reacción se trató con una solución del yoduro 86 (6,69 g, 24,2 mmol) en THF (10 ml) y la mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente lentamente durante una noche. La mezcla de reacción se inactivó con NaHCO_3 saturado (200 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NH_4Cl saturado (150 ml) y salmuera (150 ml), se secaron (MgSO_4) y se concentraron al vacío. La cromatografía ultrarrápida (6:1 \rightarrow 3:1 de hexanos-EtOAc) proporcionó una mezcla de productos de alquilación (13,6 g) que se usaron para la siguiente reacción sin purificación adicional. Una solución de los productos de alquilación en HOAc-agua-THF (3:1:1 = V:V:V, 200 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para retirar HOAc, se inactivó con NaHCO_3 saturado (400 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO_4) y se concentraron al vacío. La cromatografía ultrarrápida (3:1 \rightarrow 2:1 de hexanos:EtOAc) proporcionó la α -hidroxioxazolidinona 88 (7,55 g, rendimiento del 81% en dos etapas) en forma de un aceite transparente: $[\alpha]_D^{25} - 48,2$ (c 1,08, CHCl_3); IR (película) 3486 (f a), 3030 (m), 2983 (f), 2925 (m), 1790 (f), 1682 (f), 1481 (m), 1393 (m), 1360 (m), 1217 (m), 1171 (m), 1113 (m), 992 (m), 919 (m), 847 (d) cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,32 (m, 3 H), 7,17 (m, 2 H), 6,33 (td, $J = 7,2, 1,5$ Hz, 1 H), 5,77 (ddd, $J = 16,6, 10,1, 6,2$ Hz, 1 H), 5,08 (m, 3 H), 4,74 (ddd, $J = 4,8, 3,7, 4,4$ 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 (d a, $J = 6,4$ 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); ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3): δ 173,93, 153,05, 134,43, 133,64, 129,98 (c, $J = 6$ Hz), 129,82 (c, $J = 28$ Hz), 129,29, 120,01, 127,58, 124,00 (c, $J = 272$ 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 $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_4\text{F}_3$: 384,1423].

50

55

60



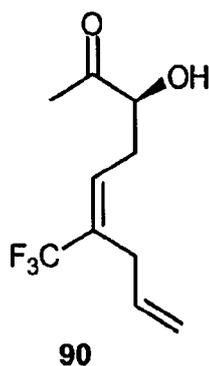
α -Hidroxiamida 89

65

Una suspensión de $(\text{MeO})\text{NHMe}\cdot\text{HCl}$ (10,1 g, 5,25 equiv.) en THF (100 ml) a 0°C se trató gota a gota con una solución de AlMe_3 (50 ml, 5,1 equiv.) en tolueno (2,0 M) y la solución transparente resultante se agitó a temperatura

ES 2 336 937 T3

ambiente durante 34 min y después se añadió a una solución enfriada (0°C) de la α -hidroxioxazolidinona 88 (7,55 g, 19,7 mmol) en THF (70 ml). La mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C, se inactivó por la adición lenta de ácido tartárico ac. 1 N (100 ml), se agitó a temperatura ambiente durante 25 min y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. La cromatografía ultrarrápida (2:1 → 1:1 de hexanos:EtOAc) dio la α -hidroxiamida 89 (5,12 g, rendimiento del 97%) en forma de un aceite transparente: [α]_D²⁵ -57,2 (c 1,03, CHCl₃); IR (película) 3432 (f a), 3084 (d), 2980 (m), 2943 (m), 1652 (f), 1464 (m), 1373 (m), 1318 (m), 1214 (m), 1171 (m), 1112(m), 991 (m), 919 (m), 818 (d) cm⁻¹; ¹H RMN (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 (s a, 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 RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 173,43, 133,68, 130,59 (c, *J* = 6 Hz), 129,25 (c, *J* = 28 Hz), 124,05 (c, *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].

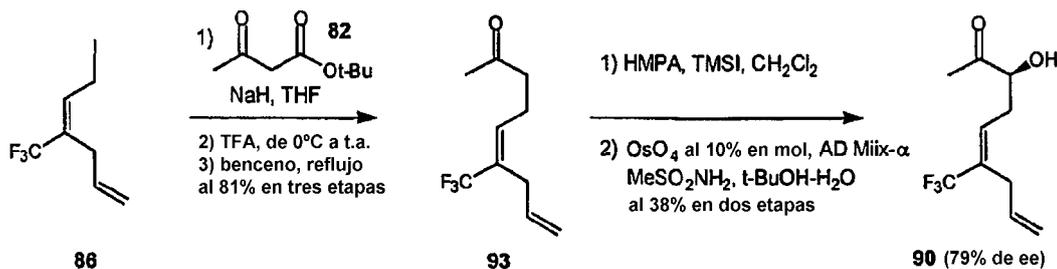


α -Hidroxicetona 90

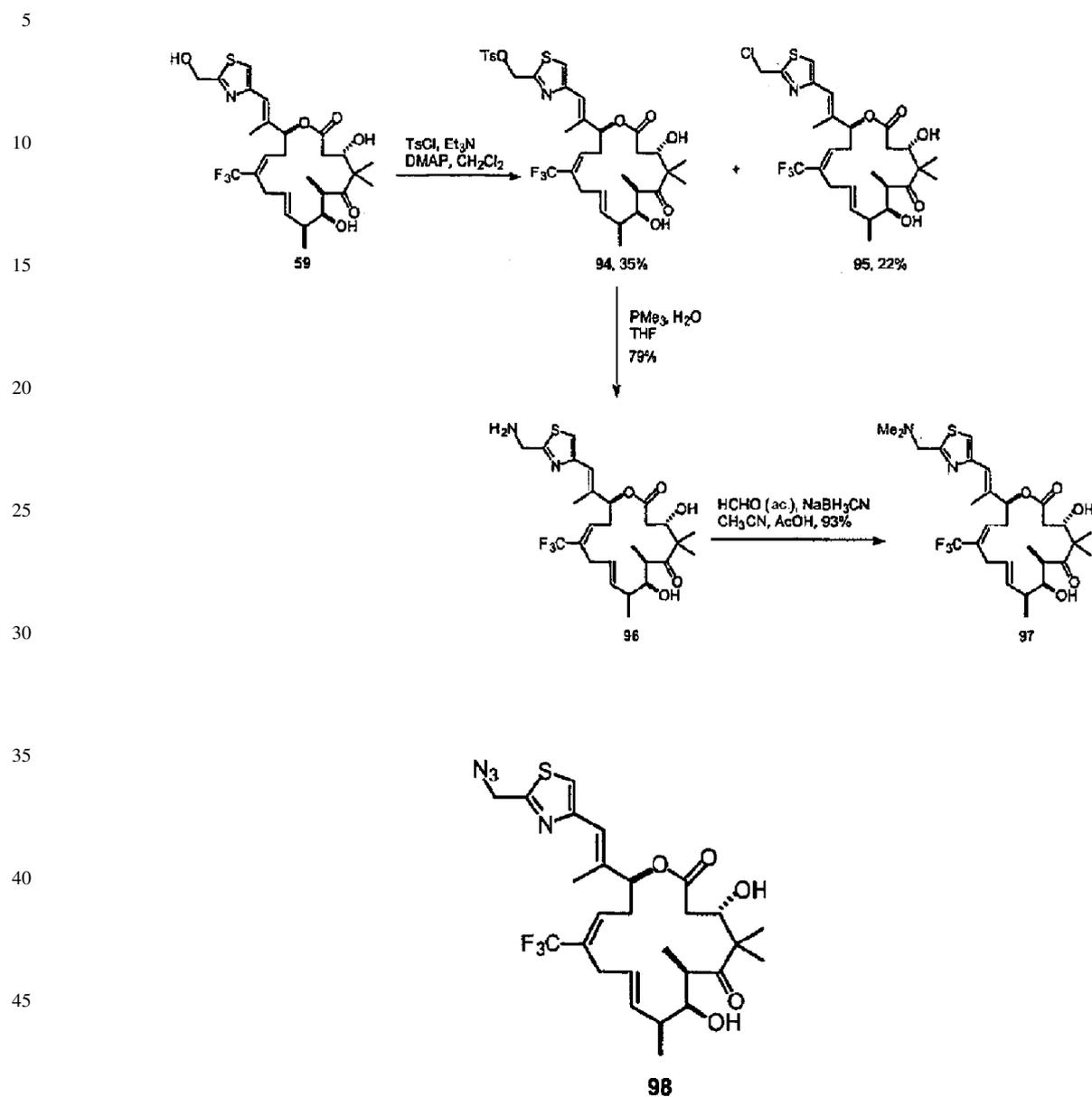
A una solución enfriada (0°C) de la α -hidroxiamida 89 (4,87 g, 18,2 mmol) en THF (150 ml) se le añadió una solución de MeMgBr (75 ml, 12 equiv.) en éter (3,0 M). Después de 5 min, la mezcla de reacción se inactivó con NH₄Cl saturado (250 ml) y se extrajo con EtOAc (5 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. La cromatografía ultrarrápida (4:1 → 2:1 → 1:2 de hexanos:EtOAc) proporcionó la α -hidroxicetona 90 (2,16 g, rendimiento del 53%, rendimiento del 73% basado en el material de partida recuperado) en forma de un aceite y el material de partida α -hidroxiamida 89 (1,30 g, rendimiento del 27%): [α]_D²⁵ +58,5 (c 1,30, CHCl₃); IR (película) 3460 (f a), 3085 (d), 2984 (m), 2926 (m), 1716 (f), 1679 (m), 1641 (m), 1417 (m), 1361 (m), 1319 (s), 1247 (m), 1216 (f), 1172 (f), 1113 (f), 1020 (m), 994 (m), 968 (d), 919 (m) cm⁻¹; ¹H RMN (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, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 208,53, 133,43, 129,80 (c, *J* = 28 Hz), 129,76 (c, *J* = 6 Hz), 123,85 (c, *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

Enfoque de Oxidación Asimétrica Catalítica



Ejemplo 9

Síntesis de 21-amino-26-trifluoro-(*E*)-9,10-deshidro-dEpoB

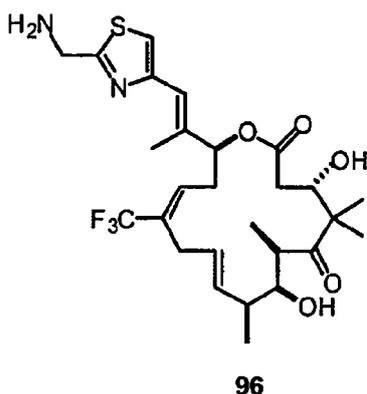
Compuesto 98

55 A una solución de 59 (50,4 mg, 90,1 μmol) en THF (1 ml) se le añadió $(\text{PhO})_2\text{PON}_3$ (27,2 μl , 126 μmol) a 0°C. Después de agitar a 0°C durante 5 min, se añadió DBU (16,2 μl , 108 μmol). Después de agitar a 0°C durante 2 h, la mezcla se agitó a ta durante 20,5 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se inactivó mediante la adición de agua (2 ml). Después de que las fases se separaron, la fase acuosa se extrajo con EtOAc (tres veces), y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 . Después de la concentración, el residuo se secó a alto vacío durante 10 min para retirar DBU. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , hexano/EtOAc = 3:2) dio

60 la azida 98 (45,6 mg, 78,0 μmol , al 87%) en forma de un sólido incoloro; ^1H RMN (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, quintuplete, $J = 6,8$ 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); EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_5\text{SNa}$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 607,2, encontrado 607,2.

65

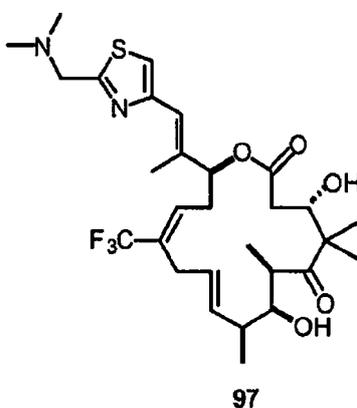
ES 2 336 937 T3



Compuesto 96

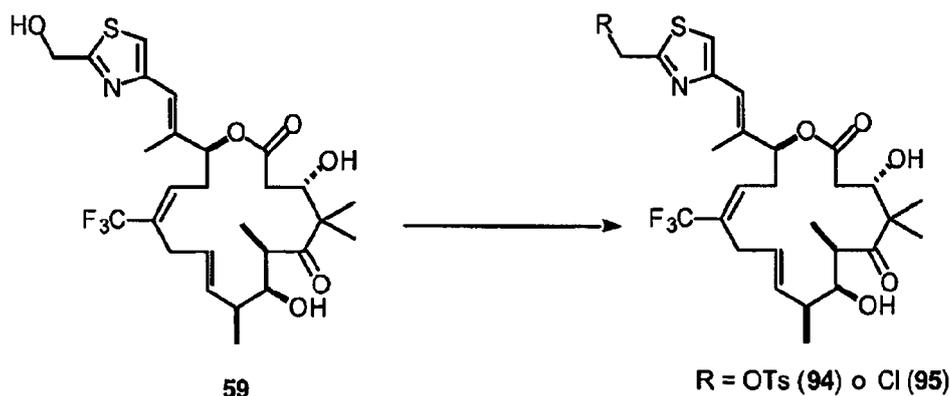
20 A una solución de la azida 98 (21,0 mg, 35,9 μmol) en THF (0,6 ml) se le añadió PMe_3 (1,0 M en THF, 43,1 μl , 43,1 μmol). Después de agitar a ta durante 2 min, se añadió agua (0,1 ml) y la mezcla se agitó a ta durante 3 h. Se añadió PMe_3 (1,0 M en THF, 7,2 μl , 7,2 μmol) y la mezcla se agitó a ta durante 1,5 h. A la mezcla se le añadió NH_4OH (ac.) al 28% (54,5 μl). Después de agitar durante 1 h, la mezcla se purificó directamente por TLC preparativa ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 100:7,5$), dando la amina 96 (15,9 mg, 28,5 μmol , al 79%) en forma de un sólido incoloro;

25 ^1H RMN (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, quintuplete, $J = 6,8$ 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, t a, $J = 7,3$ Hz), 6,66 (1H, s), 7,10 (1H, s); EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ [M+H⁺] 559,2, encontrado 559,2.



Compuesto 97

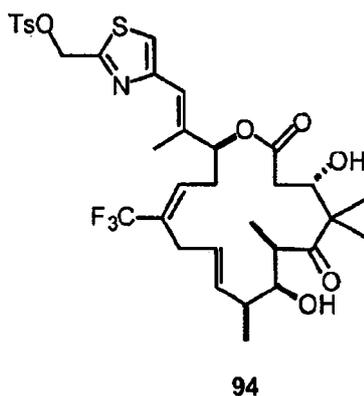
55 A una solución de la amina 96 (15,9 mg, 28,5 μmol) en CH_3CN (0,78 ml) se le añadió HCHO (ac.) al 37% (31,4 μl , 0,143 mmol) seguido de NaBH_3CN (1,0 M en THF, 85,5 μl , 85,5 μmol), y la mezcla se agitó a ta durante 20 min. Se añadió AcOH (1 gota), y la mezcla se agitó a ta durante 40 min. La mezcla se purificó directamente por TLC preparativa ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 100:8$), dando el material 97 (15,6 mg, 26,6 μmol , al 93%) en forma de un sólido incoloro; ^1H RMN (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, quintuplete, $J = 6,8$ 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, t a, $J = 7,2$ Hz), 6,64 (1H, s), 7,30 (1H, s); EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ [M+H⁺] 580,2, encontrado 580,2.



Compuestos 94 y 95

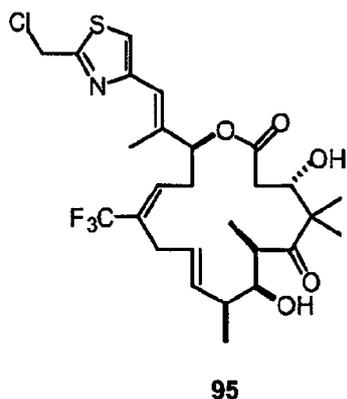
20 A una mezcla de 59 (18,9 mg, 33,8 μmol) y Et_3N (18,8 μl , 0,135 mmol) en CH_2Cl_2 (1 ml) se le añadieron TsCl (12,9 mg, 67,5 μmol) y DMAP (2,1 mg, 16,9 μmol) a 0°C . Después de agitar a ta durante 1,5 h, la mezcla se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una capa de gel de sílice (aclorado de EtOAc). Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/ EtOAc = 1:1), dando el tosilato 94 (8,5 mg, 11,9 μmol , al 35%) y el cloruro 95 (4,3 mg, 7,44 μmol , al 22%); ambos en forma de sólidos incoloros;

25



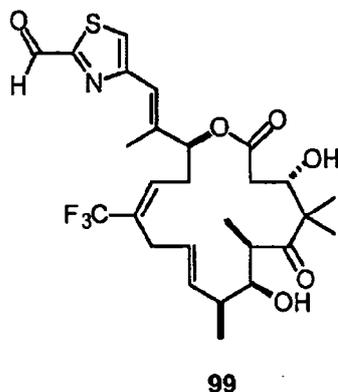
45 ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,06 (3H, s), 1,12 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 1,23 (3H, d, $J = 6,7$ Hz), 1,33 (3H, s), 1,99 (1H, d, $J = 5,5$ Hz), 2,10 (3H, s), 2,25-2,34 (1H, m), 2,41 (1H, dd, $J = 15,5, 3,3$ Hz), 2,47 (3H, s), 2,48 (1H, dd, $J = 15,7, 9,4$ Hz), 2,51-2,63 (1H, m), 2,63 (1H, d, $J = 6,1$ Hz, OH), 2,64-2,75 (1H, m), 2,91-3,05 (2H, m), 3,10 (1H, quintuplete, $J = 6,8$ 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, $J = 15,8, 6,4, 4,6$ MHz), 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); EMBR (IEN) calc. para $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{F}_3\text{NO}_8\text{S}_2\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}^+$] 736,2, encontrado 736,3.

50



ES 2 336 937 T3

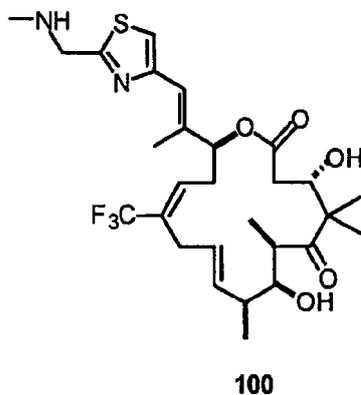
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,06 (3H, s), 1,12 (3H, d, *J* = 6,9 Hz), 1,23 (3H, d, *J* = 6,7 Hz), 1,34 (3H, s), 2,00 (1H, d, *J* = 5,6 Hz, OH), 2,15 (3H, s), 2,25-2,35 (1H, m), 2,41 (1H, dd, *J* = 15,5, 3,2 Hz), 2,49 (1H, dd, *J* = 15,5, 9,4 Hz), 2,53-2,62 (1H, m), 2,69 (1H, d, *J* = 6,1 Hz, OH), 2,66-2,76 (1H, m), 2,92-3,05 (2H, m), 3,11 (1H, quintuplete, *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 MHz), 6,23 (1H, t, *J* = 6,8 Hz), 6,63 (1H, s), 7,20 (1H, s); EMBR (IEN) calc. para C₂₇H₃₅ClF₃NO₅SNa [M+Na⁺] 600,2, encontrado 600,2.



Compuesto 99

A una solución de 59 (6,9 mg, 12,3 μmol) en CH₂Cl₂ (0,4 ml) se le añadió MnO₂ activado (adquirido en Acros, 26,8 mg, 0,308 mmol). Después de agitar vigorosamente a ta durante 4 h, la mezcla se filtró a través de una capa de Celite, que se aclaró con EtOAc. Después de la concentración, el residuo se purificó por TLC preparativa (hexano/EtOAc = 1:1), dando el aldehído 99 (2,7 mg, 4,84 μmol, al 39%) en forma de un sólido incoloro;

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 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), 2,57-2,8 (1H, m), 2,68-2,79 (1H, m), 2,96-3,03 (2H, m), 3,10 (1H, quintuplete, *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).



Compuesto 100

A una solución del aldehído 99 (4,6 mg, 8,25 μmol) en CH₃CN (0,5 ml) a 0°C se le añadió MeNH₂ (2,0 M en THF, 41,3 μl, 41,3 μmol). Después de agitar a 0°C durante 15 min, se añadió NaBH₃CN (1,0 M en THF, 25 μl, 25 μmol). Después de agitar a 0°C durante 0,5 h, se añadió AcOH (3 gotas). Después de agitar a 0°C durante 2 h, se

ES 2 336 937 T3

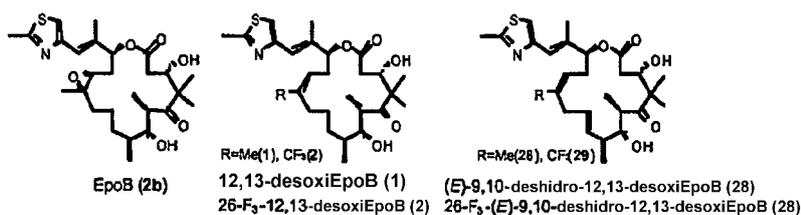
añadió NH₄OH (ac.) al 28% (40 µl), y la mezcla se agitó a ta durante 10 min. La mezcla se purificó directamente dos veces por TLC preparativa (CH₂Cl₂/MeOH = 100: 9), dando 100 (2,4 mg, 4,19 µmol, al 51%) en forma de un sólido incoloro;

5 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,05 (3H, s), 1,12 (3H, d, *J* = 7,0 Hz), 1,23 (3H, d, *J* = 6,8 Hz), 1,34 (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, quintuplete, *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); EMBR (IEN) calc. para C₂₈H₄₀F₃N₂O₅S [M+H⁺] 573,3, encontrado 573,3.

Ejemplo 10

15 Análogos de EpoB que eliminan Tumores de Xenotrasplante a un Estado No Reincidible

Mediante una combinación de síntesis química, modelado molecular y análisis de espectroscopía se descubrió que la introducción de un enlace doble-*E*-9,10 (véase el compuesto 28 a continuación) consigue potenciar aproximadamente 10 veces la potencia del fármaco en experimentos de xenotrasplante con tumores MX-1 resistentes a fármacos (A. Rivkin y col. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 2899; incorporado en el presente documento por referencia). Después de la correlación de experimentos *in vitro* e *in vivo* dirigidos a tipos de tumor MX-1, era evidente que 28 es intrínsecamente más citotóxico que 2b. Sin embargo, otro factor contribuyente es que el resto lactona en la serie 9,10-dehidro es significativamente más estable en plasma de ratón y en seres humanos que en el caso de los congéneres 9,10-dehidro. La suma de estos dos efectos complementarios era dar 28 capaz de conseguir la supresión completa del tumor en una diversidad de xenotrasplantes a 3 mg/kg en lugar de un régimen de 30 mg/kg para 1.



40 Después de la suspensión del tratamiento, reaparecen tumores palpables en alguna fracción de los animales. Por consiguiente, al menos hasta ahora, el compuesto 28 completamente sintético no reúne completamente los patrones rigurosos del índice terapéutico eficaz altamente favorable y la eliminación de tumores a un estado no reincidible.

45 Estos descubrimientos dirigen la atención hacia las consecuencias de sustituir los tres hidrógenos del grupo 26-metilo del compuesto 28 por tres átomos de flúor. La incorporación de los átomos de flúor en este lado conduce a la estabilidad mejorada del enlace doble - 12,13 con respecto a la oxidación (Smart, B. E J. Fluorine Chem. 2001, 109, 3; incorporado en el presente documento por referencia). Experimentos anteriores señalaron hacia alguna atenuación de la citotoxicidad sustituyendo grupos polares en el área del enlace doble C12-C13 (A. Rivkin y col. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 2899; incorporado en el presente documento por referencia). En esta descripción, se indica el descubrimiento, mediante síntesis química total de las 9,10-dehidro-26-trifluoroepotilonas, centrándose particularmente sobre la única realización biológica de estructura precursora 29.

55 La eficacia terapéutica de dEpoB (30 mg/kg), paclitaxel (20 mg/kg) y F₃-deH-dEpoB (29, 20 y 30 mg/kg) frente a xenotrasplantes MX-1 de carcinoma mamario humano en términos de desaparición y recaída de tumores se estudió detalladamente y los resultados se muestran en la Tabla 10-1. Cada grupo de dosis estaba compuesto por cuatro o más ratones desnudos. El peso corporal se refiere al peso total corporal menos el peso del tumor. Los tres compuestos consiguieron la desaparición del tumor. El día 10 después la suspensión del tratamiento, reincidieron 5/10 (dEpoB), 2/7 (Paclitaxel) y 0/4 (compuesto 29) de los ratones. La observación ampliada después de la suspensión del tratamiento con dosificaciones de 20 mg/kg de 29 demostró una ausencia prolongada de tumores hasta el día 27 momento en el que reincidieron 2 de 4 tumores de ratones. Extraordinariamente, el tratamiento con dosificaciones de 30 mg/kg de 29, produjo la desaparición completa del tumor y la ausencia de cualquier reincidencia durante más de dos meses después de la suspensión del tratamiento.

ES 2 336 937 T3

TABLA 10-1

Efecto terapéutico de dEpoB, Paclitaxel y F₃-deH-dEpoB frente a xenotrasplante MX-1 en ratones desnudos^[a]

Fármaco	Dosificación (mg/kg)	Cambios de peso corporal (%)		Sin tumor después de infusión i.v.- 6h Q2Dx6	Reaparición del tumor el día 10 después de la administración
		Día 4 después de suspender la administración	Día 8 después de suspender la administración		
dEpoB (1)	30	-25,3 ± 2,1	-9,1 ± 4,1	10/10	5/10
Paclitaxel	20	-23,9 ± 3,7	-8,7 ± 0,7	7/7	2/7
F ₃ -deH-dEpoB	20	-22,4 ± 0,6	-7,3 ± 0,7	4/4	0/4 ^[b]
(29)	30	-27,1 ± 2,7	-17,4 ± 5,5	4/4	0/4 ^[b]

^[a] El día 0 se implantaron S.C. 50 mg de tejido de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano.0. El tratamiento, Q2Dx 6 por infusión iv-6h, comenzó el Día 8 y se suspendió el Día 18.

^[b] Reaparición de tumor detectable en 2/4 el día 27 después de suspender el tratamiento. No reaparecen más tumores durante los días 28 – 64 después de suspender el tratamiento.

^[c] No reaparecen tumores durante 64 días después de suspender el tratamiento cuando termina el experimento.

La disminución de la dosis de agente 29 a 10 mg/kg (Q2D) también conduce a la desaparición del tumor MX-1, pero se necesitaron nueve dosis para conseguir este resultado (Figuras 57, 58 y 59A). Como un desafío añadido, el tratamiento quimioterapéutico se retrasó hasta que el tamaño del tumor alcanzó 0,5 g (~2,3% del peso corporal). El tratamiento con dosificaciones de 25 mg/kg (Q2Dx7) de 29, causó la desaparición de 4/4 de los tumores de ratón. En cambio para dEpoB, se necesitaron dosificaciones de 30 mg/kg (Q2Dx8) para inducir la desaparición de tumores en 3 de 4 ratones. Sin embargo, a diferencia del caso con 29, las desapariciones aparentes que se producen después del tratamiento con dEpoB estaban sujetas a reincidencias con el tiempo (Figura 59B).

El hecho de que este agente 29 suprima completamente el crecimiento de xenotrasplantes de carcinoma mamario humano MX-1, reduzca el tamaño de los tumores y los haga desaparecer durante hasta 64 días es impresionante. Además, después de las curaciones conseguidas por 29 (20 mg/kg o 30 mg/kg Q2Dx6, infusión i.v. - 6 h, Tabla 1, anterior) el peso corporal de los xenotrasplantes volvió al nivel del control del pretratamiento entre los días 12-18 después de la suspensión del tratamiento. Estos resultados sugieren la ausencia de lesiones en los órganos vitales. A una baja dosificación curativa de 10 mg/kg, Q2DX12 (Figura 59B), la máxima disminución de peso corporal era solo del 12%, con una ganancia de peso corporal del 6% durante las tres últimas dosis. El peso corporal se recuperó hasta el nivel del control del pretratamiento solo tres días después del cese del tratamiento. La Tabla 1 anterior muestra que los animales podrían sobrevivir a pérdidas de peso corporal como mucho de hasta el 27%. El margen de seguridad terapéutico realizado en el presente documento es extraordinariamente amplio para un agente terapéutico curativo de cáncer.

También se evaluó la eficacia terapéutica de 29 frente al xenotrasplante de carcinoma de pulmón humano (A549) y a los xenotrasplantes de carcinoma de pulmón humano A549/Taxol resistentes a paclitaxel también se evaluaron (Figura 59C y 59D). Los xenotrasplantes de carcinoma de pulmón A549 de crecimiento lento se trataron con 29 (25 mg/kg, Q2DX6, dos veces, con ocho días de separación), dando como resultado una supresión tumoral del 99,5% con la erradicación completa eventual de 4 de los 4 tumores después de dos dosis más (Figura 59C). De manera interesante, el peso corporal de los ratones disminuyó hasta el 35% sin ninguna letalidad y la suspensión del tratamiento condujo a una rápida recuperación de peso corporal para acercarse al nivel de control del pretratamiento (Figura 59C). A diferencia, un estudio paralelo con dEpoB (30 mg/kg, Q2Dx6) dio como resultado una supresión tumoral del 97,6% pero no condujo a la erradicación del tumor. En un estudio adicional de 29 (20 mg/kg de dosificación) frente a xenotrasplante resistente a A549/Taxol (Figura 59D), el crecimiento del tumor se suprimió totalmente y el tumor se redujo eventualmente un 24,4% con respecto al control del pretratamiento. Durante este estudio, el peso corporal máximo disminuyó un 24%, sin embargo después de la suspensión del tratamiento con el fármaco el peso corporal

ES 2 336 937 T3

recuperó hasta el 90% del control del pretratamiento. En un estudio comparativo de (*E*)-9,10-dehidro-dEpoB (28, grupo 4 mg/kg), el crecimiento del tumor se suprimió un 41,6%.

5 En la Tabla 10-2 se proporcionan datos pertinentes para analizar qué factores dotan al compuesto 29 con su extraordinario índice terapéutico junto con los datos pertinentes comparables con respecto a congéneres estrechamente relacionados. Se observa que en términos de citotoxicidad intrínseca en movimiento de EpoB(2b) a dEpoB (1) se pierde un orden de magnitud completo. Aproximadamente el 60% de esta pérdida se restablece en el caso de 9,10-dehidro-dEpoB (28). Alguna de esta citotoxicidad intrínseca se pierde yendo a 29, que al menos en la célula es - 1,8 veces tan citotóxico como el compuesto de referencia dEpoB.

10 Se observa que entre las 12,13-dehidroepotilonas, 29 muestra por ahora la mejor estabilidad en plasma de ratón y también es el más estable en el plasma de S9 de hígado humano. También se observa que, en los 2 conjuntos de isómeros 12,13-dehidro, el patrón 26-trifluoro lleva consigo lipofilia disminuida e hidrosolubilidad algo aumentada (Tabla 10-2, a continuación). De momento, parece que la mayor ventaja de 29 proviene de mejoras de la estabilidad y biodisponibilidad del suero.

20 (Tabla pasa a página siguiente)

Tabla 10-2: Perfil de derivados de dEpoB

Compuestos	Eficacia de Citotoxicidad Cl_{50} (nM) ^[a]	p.c. máximo %	Semivida de Estabilidad Plasma de ratón (min)	Solubilidad en agua Fracción S9 de Hígado Humano (h)	Lipofilia octanol/agua (μ g/mL)	Reparto del régimen de dosis terapéutica (POW)	Terapéutica relativa para infusión iv (mg/kg)	Índice a MTD ^[b]
EpoB (2b)	$0,53 \pm 0,2$	15	57	15,8	ND	ND	0,6-0,8	+++
dEpoB(1)	$5,6 \pm 2,8$	32	46	$1,0 \pm 0,1$	9,4	4,4	25-30	++++
deH-dEpoB (28)	$0,90 \pm 0,40$	29	84 ± 6	$4,9 \pm 0,7$	27	3,3	34	++++
F ₃ -dEpoB (2)	$9,3 \pm 5,2$	22	66 ± 7	$1,6 \pm 0,4$	8	4,1	15-20	++
F ₃ -deH- dEpoB (29)	$3,2 \pm 0,3$	33	212 ± 88	$10,5 \pm 2,3$	20	3,3	10-30	+++++

Compuestos	Eficacia de Citotoxicidad Cl_{50} (nM) ^[a]	p.c. máximo %	Semivida de Estabilidad Plasma de ratón (min)	Solubilidad en agua Fracción S9 de Hígado Humano (h)	Lipofilia octanol/agua (μ g/mL)	Reparto del régimen de dosis terapéutica (POW)	Terapéutica relativa para infusión iv (mg/kg)	Índice a MTD ^[b]
EpoB (2b)	$0,53 \pm 0,2$	15	57	15,8	ND	ND	0,6-0,8	+++
dEpoB(1)	$5,6 \pm 2,8$	32	46	$1,0 \pm 0,1$	9,4	4,4	25-30	++++
deH-dEpoB (28)	$0,90 \pm 0,40$	29	84 ± 6	$4,9 \pm 0,7$	27	3,3	34	++++
F ₃ -dEpoB (2)	$9,3 \pm 5,2$	22	66 ± 7	$1,6 \pm 0,4$	8	4,1	15-20	++
F ₃ -deH- dEpoB (29)	$3,2 \pm 0,3$	33	212 ± 88	$10,5 \pm 2,3$	20	3,3	10-30	+++++

ES 2 336 937 T3

[a] Los valores Cl_{50} son para células leucémicas CCRF-CEM. Los valores se encuentran en el intervalo de dos experimentos; todos los valores se obtienen a partir de siete puntos de concentración; ND = No Determinado

[b] Índice terapéutico relativo clasificado (TI) a MTD (dosis toleradas máximas):

+ Crecimiento de tumor suprimido 25-50%.

++ Crecimiento de tumor suprimido 50-100%.

+++ Disminución del tumor pero sin desaparición del tumor.

++++ Desaparición del tumor en algunos o todos los ratones desnudos con lenta recuperación de peso corporal y/o con reincidencias en algunos ratos una semana después de suspender el tratamiento.

+++++ Desaparición de tumor en todos los ratones desnudos, peso corporal rápidamente recuperado y/o sin reincidencia.

El experimento terapéutico para las epotilonas frente a xenotrasplantes humanos en ratones desnudos, tal como MX-1, se estudió en Chou, T. C. y col. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988, 95, 15798 y en 2001, 98, 8113.

Todos los agentes, 1-2 y 28-29, se descubrieron inicialmente a través de síntesis total. Anteriormente se ha descrito una síntesis práctica de 1 (Rivkin y col. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 2899; White y col. J. Am. Chem. Soc. 2001, 123, 5407; Yoshimura y col. Angew. Chem. 2003, 42, 2518; Rivkin y col. J. Org. Chem. 2002, 124, 7737; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia). También se han descrito rutas de nivel de descubrimiento de primera generación para 28 y 29. La reducción selectiva del 9,10-doble enlace de 29 produjo 2. Los extraordinarios resultados obtenidos a partir de los estudios de xenotrasplante que se han descrito anteriormente, para los que el compuesto 29 es el más prometedor actualmente, claramente requieren su progreso para estudios de toxicología y farmacocinética detallados en animales superiores y, a partir de allí si es apropiado, el progreso a pruebas clínicas humanas. Tales posibilidades alteraron totalmente la naturaleza del desafío de la síntesis de la preparación de muestras de sonda, a la de producción de cantidades multigram de estos nuevos agentes de epotilona. Se ha conseguido una renovación fundamental de las rutas anteriores, concebidas y demostradas inicialmente en un entorno de descubrimiento. En particular, los nuevos protocolos consiguieron simplificaciones fundamentales en las elaboraciones estereoespecíficas de los carbonos 3 y 26. Se preparó el alcohol 32 como se ha descrito anteriormente (Rivkin y col. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 2899; incorporada en el presente documento por referencia).

Se indicará que en la nueva síntesis, los estereocentros 6, 7 y 8 se obtienen a partir de la cetona 30 y el aldehído 31 disponibles comúnmente. Después de la protección del alcohol y la hidrólisis de acetal, el aldehído correspondiente se condensó con acetato de t-butilo para producir un producto similar a aldol. Ya que esta condensación no se controla diastereoméricamente, fue necesaria y se consiguió una medida reparadora. La oxidación de esta mezcla 1:1 de los epímeros C3, produjo la cetona 69. Después de una reducción de Noyori altamente satisfactoria (Noyori y col. J. Am. Chem. Soc. 1987, 109, 5856; incorporado en el presente documento por referencia) en las condiciones mostradas, el alcohol 70 estaba disponible. Después, se consiguió la preparación del ácido 25 en algunas etapas adicionales sencillas como se muestra.

ES 2 336 937 T3

Esquema 12

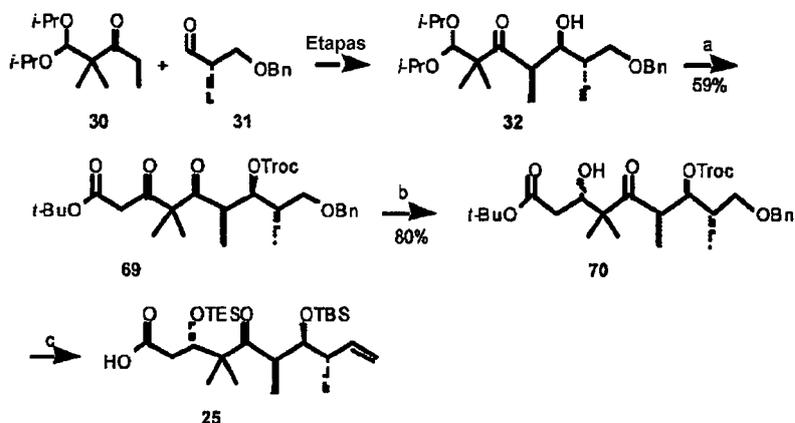
Síntesis del sector acilo 25

5

10

15

20



25 Reactivos y condiciones: (a) (i) Trocal, pir., al 92%; (ii) p-TsOH-H₂O, al 76%; (iii) LDA, acetato de t-butilo, THF, al 80%; (iv) peryodinato de Dess-Martin, al 74%. (b) catalizador de Noyori (al 10% en mol), MeOH/HCl, H₂, 8273,71 kPa (1200 psi), al 80%. (c) (i) TESC1, imidazol, al 77%; (ii) Zn, AcOH, THF, al 99%; (iii) TBSOTf, 2,6-lutidina, al 82%; para las etapas restantes véase Rivkin y col. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 2899.

30 También se ha desarrollado una síntesis nueva, sencilla y fácilmente redimensionable para 90 (Esquema 13). La síntesis empieza con la reacción del trifluoro cetoéster 82 disponible en el mercado con bromuro de alilo indio. La etapa clave en la síntesis es la deshidratación posicionalmente específica y estereoespecífica del alcohol terciario resultante para producir 84 (con un rendimiento total del 65% en dos etapas). El control de esta reacción surge de un "efecto bipolar" en el que los grupos de CF₃ y CO₂Et fuertemente aceptores de electrones se presentan mejor *trans* con respecto al doble enlace que emerge. El yodo requerido 86 se obtuvo en dos etapas a partir de 84. La alquilación del enolato de litio que se ha indicado anteriormente de 7 con el yodo 86 en THF produjo 88 con un rendimiento del 81% y alta diastereoselectividad (>25:1 de). Tras la desprotección del alcohol secundario, el compuesto 88 se progresó en tres etapas hacia 90 como se muestra.

40

Esquema 13

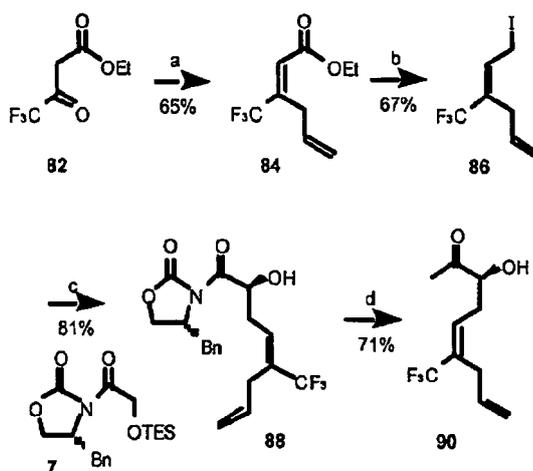
Síntesis del sector alquilo 17

45

50

55

60

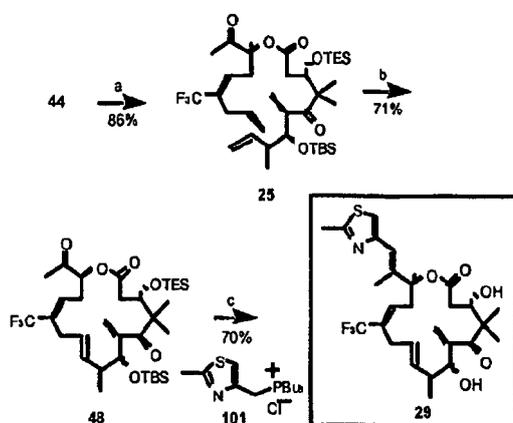


65 Reactivos y condiciones: (a) (i) Bromuro de alilo, In, THF-agua (3:1) a 48°C, al 85%; SOCl₂, pir. a 55°C, al 77%, (b) (i) DIBAL-H, CH₂Cl₂, de -78°C a t.a. al 99%; (ii) I₂, PPh₃, imidazol, CH₂Cl₂, al 74%; (c) (i) LHMDs, THF, de -78°C a t.a.; (ii) HOAc-THF-H₂O (3:1:1), al 81% en dos etapas; (d) (i)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

Con el material 25 y el 90 disponibles mediante química fácilmente procesable, la ruta a 29 era evidente siguiendo los protocolos que se desarrollaron en primer lugar en la fase de descubrimiento (A. Rivkin y col. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 2899; que se incorporan en el presente documento por referencia). La reacción de metátesis con cierre de anillo clave de 25 se realizó en tolueno usando el catalizador de Grubbs de segunda generación (Grubbs, R. H.; Miller, S. J.; Fu, G. C. Ace. Chem. Res. 1995, 28, 446; Trnka, T. M.; Grubbs, R. H. Ace. Chem. Res. 2001, 34, 18; Alkene Metathesis in Organic Chemistry Ed.: Fiirstner, A.; Springer, Berlin, (1998); Fiirstner, A. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2000, 39, 3012; Schrock, R. R. Top. Organomet. Chem. 1998, 1,1; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia). La reacción produjo exclusivamente el isómero *trans* 48 con un rendimiento del 71%. La instalación del resto tiazol mediante el protocolo que se muestra en el Esquema 14 se siguió por la retirada de los dos grupos protectores sililo HF-piridina conduciendo de este modo a 29, que después se convirtió por reducción de la 9,10-olefina en 2 en alto rendimiento. Se han preparado cantidades Gram de epotilonas estructuralmente nuevas por síntesis total en el entorno de un laboratorio de escala académica.

Esquema 14

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



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

Experimentales

Métodos Generales: los reactivos obtenidos de proveedores del mercado se usaron sin purificación adicional a menos que se indique de otro modo. El cloruro de metileno se obtuvo de un sistema de disolvente en seco (pasado a través de una columna de alúmina rellena previamente) y se usó sin secado adicional. Todas las relaciones sensibles al aire y al agua se realizaron en utensilios de cristal secados con llama a una presión positiva de gas argón prepurificado. Los espectros de NMR (¹H y ¹³C) se registraron en Bruker AMX-400 MHz o Bruker Advance DRX-500 MHz como se indica individualmente, referenciados como CDCl₃ (7,27 ppm para ¹H y 77,0 ppm para ¹³C) o CD₂Cl₂ (5,32 ppm para ¹H y 53,5 ppm para ¹³C). El espectro infrarrojo (IR) se obtuvo en un espectrómetro Perkin-Elmer FT-IR modelo 1600. Las rotaciones ópticas se obtuvieron en un polarímetro digital JASCO modelo DIP-370. La cromatografía de capa fina analítica se realizó en placas 60 F254 de gel de sílice de E. Merck. Los compuestos que no eran activos a UV se visualizaron sumergiendo las placas en solución de *para*-anisaldehído y calentando. La cromatografía de capa fina preparativa se realizó usando el disolvente indicado en placa TLC Whatman® (LK6F gel de Sílice 60A) TLC.

Productos Químicos. Todas las epotilonas se sintetizaron internamente (C. R. Harris, S. J. Danishefsky, K. Org. Chem. 1999, 64, 8434; D.-S. Su y col. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1997, 36, 2093; Smart, B. E. J. Fluorine Chem. 2001, 109, 3; F. Yoshimura, y col. Angew. Chem. 2003, 42, 2518; Rivkin y col. J. Org. Chem. 2002, 124, 7737; incorporados cada uno en el presente documento por referencia). Paclitaxel (Taxol®) y el sulfato de vinblastina (VBL) se adquirieron de Sigma. Para los ensayos *in vitro*, todos estos compuestos se disolvieron en dimetilsulfóxido (excepto VBL en solución salina). Para los estudios *in vivo*, todas las epotilonas y el paclitaxel se disolvieron en vehículo Cremophor/etanol (1:1) y después se diluyeron con solución salina para infusión i.v. durante 6 h a través de la vena de cola usando un mini catéter diseñado a medida (T.-C. Chou y col. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001, 98, 8113-8118; T.-C. Chou y col. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1998, 95, 15798-15802; incorporados cada uno en el presente documento por referencia).

Líneas Tumorales y Celulares. Las células de leucemia linfoblástica humana CCRF-CEM se obtuvieron del Dr. William Beck de la Universidad de Illinois, Chicago. Las células de carcinoma mamario humano (MX-1) y de carcinoma de pulmón humano (A549) se obtuvieron de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, Rockville, MD). Las células A549/taxol resistentes a paclitaxel (44 veces resistentes) se desarrollaron con el método como se descri-

be anteriormente (T.-C. Chou y col. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001, 98, 8113-8118; incorporado en el presente documento por referencia).

5 *Animales.* Se obtuvieron ratones desnudos atómicos portadores del gen un/un de NCI, Frederick, MD y se usaron para todos los xenotrasplantes de tumor humanos. Se usaron ratones desnudos macho de 6 semanas o mayores de 20-22 g de peso o más. Los fármacos se administraron a través de la vena de la cola durante 6 horas por infusión i.v. usando un mini catéter casero de infusión y un tubo de contención (T.-C. Chou y col. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001, 98, 8113-8118; incorporado en el presente documento por referencia). Para la infusión i.v. se usó una bomba de jeringa programable Harvard PHD2000 con multivías. Un volumen de infusión de 6 horas típico para cada fármaco en 10 Cremophor/etanol (1:1) era de 100 ml en 2,0 ml de solución salina. El volumen del tumor se evaluó midiendo longitud x anchura x altura (o anchura) usando un calibrador. En el transcurso del experimento para los ratones desnudos portadores de tumor, el peso corporal se refiere al peso total menos el peso del tumor. Todos los estudios animales se realizaron 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.

15 *Ensayos de Citotoxicidad.* En la preparación para los ensayos de citotoxicidad *in vitro*, las células se cultivaron a una densidad inicial $2-5 \times 10^4$ células por mililitro. Se mantuvieron en una atmósfera humedecida de CO₂ al 5% a 37°C en medio RPMI 1640 (GIBCO/BRL) que contenía penicilina (100 unidades/ml), estreptomycin (100 µg/ml, GIBCO/BRL) y FBS inactivado por calor al 5%. Para el crecimiento de las células tumorales sólidas en una monocapa (tales como A549), la citotoxicidad del fármaco se determinó en placas de microtitulación de 96 pocillos usando el método de sulforodamina B (P. Skehan y col. J Natl. Cancer. Inst. 1990, 82, 1107-1112; incorporado en el presente documento por referencia). Para el crecimiento de las células en suspensión (tales como CCRF-CEM y sus sublíneas), la citotoxicidad se midió, por duplicado, usando el método de microcultivo 2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-carboxanilida)-2H-terazodiu hidróxido (XTT) (D. A. Scudiero y col. Cancer Res. 1988, 48, 4827-4833; incorporado en el presente documento por referencia) en placas de microtitulación de 96 pocillos. Para ambos métodos, se midió la absorbancia de cada pocillo con un lector de microplaca (Power Wave XS, Bio-Tek, Winooski, VT). Los datos de la relación dosis-efecto de 6 a 7 concentraciones de cada fármaco, por duplicado, se analizaron con la representación efecto-medio usando un programa por ordenador (T.-C. Chou, M. Hayball. CalcuSyn para Windows, analizador de efecto dosis fármaco-Múltiple y manual. Biosoft, Cambridge Place, Cambridge, UK (1997); incorporado en el presente documento por referencia).

20 *Estabilidad de epotilonas en ratón y la fracción S9 de hígado humano.* El estudio de estabilidad se con un sistema HPLC completamente automatizado formado por un sistema de preparación de muestras Prospekt-2 (Spark Holland, Holanda) y un sistema Agilent 1100 HPLC. En resumen, el Prospekt2 recogió un cartucho de extracción C8 y se lavó con acetonitrilo y agua. El procesador de muestras automático Agilent, ajustado a 37°C, recogió 20 µl de la muestra, lo cargó en el cartucho, lo lavó con agua y después el Prospekt-2 desvió la corriente de fase móvil a través del cartucho de extracción sobre la columna analítica, Reliance Stable Bond (Enlace Estable de Confianza) C8 4x80 mm con columna protectora (MacMod, Chadds Ford, PA) y el eluyente se controló a 250 nm. La fase móvil consistía en 53 ó 65% de acetonitrilo/ácido fórmico 0,1% a 0,4 ml/min, de manera que el tiempo de retención del compuesto de interés era de aproximadamente 6 minutos. La preparación de la muestra implicó la adición de volúmenes iguales de plasma a PBS para un volumen total de 300-400 µl, filtrado y la adición de 0,5-2 µl de sustrato (20 mM) para conseguir aproximadamente mAU 30-50 a 250 nm en el análisis HPLC. Para la fracción S9 microsomal de hígado humano agrupada (Xeno Tech, Lenex, KS), se mezclaron 20 µl (400 µg) de fracción S9 con 280 µl d PBS y después se procesó como se ha indicado anteriormente. El periodo de muestreo se controló mediante el procesador de muestras 25 automático y se recogieron datos de área máxima para comparar la velocidad de desaparición del precursor.

30 *Determinación del coeficiente de reparto octanol-agua (POW).* Para calcular el reparto octanol-agua se usó un método HPLC. Se usó un sistema HPLC Agilent 1100 con una columna eclipse XDB C18 4,6x250 mm con una fase móvil de acetonitrilo al 60%/tampón fosfato de potasio 25 mM al 40% a pH 7,4 con un caudal de 0,8 ml por min y el eluyente se controló a 250 nm. Los compuestos convencionales usados son alcohol bencílico, acetofenona, benzofenona, naftaleno, difenil éter y dibenzilo con POW conocido de 1,1, 1,7, 3,2, 4,2 y 4,8 respectivamente. Se usó dicromato de sodio para evaluar el tiempo cero que es 2,5 min y los tiempos de retención para los productos convencionales son 3,9, 5,4, 10,6, 14, 18,7 y 19,8 min, respectivamente. El valor k se calculó mediante la fórmula $k = (t_r - t_0)/t_0$. La regresión lineal del logaritmo de k frente al logaritmo POW proporciona una línea recta con $r^2 = 0,966$. Este gráfico se usa para evaluar el valor de POW de los análogos de epotilona.

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

35 $[\alpha]_D^{25} -54,6$ (c 0,28, CHCl₃); IR (película) ν 3478, 2974, 2929, 1736, 1689, 1449, 1381, 1318, 1247, 1169, 1113, 1039, 983, 867, 736 cm⁻¹; NMR de ¹H (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, quinteto, 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); NMR de ¹³C (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) calculado para C₂₇H₃₇F₃NO₅S [M+H⁺] 544,2, encontrado 544,1.

Ejemplo 11

Estudios in vitro

5 Un experimento típico implica células de cultivo (por ejemplo, CCRF-CEM) a una densidad inicial de 2.5×10^4 por ml. Se mantienen en una atmósfera humedecida de CO_2 al 5% a 37°C en medio RPMI 1640 (GIBCO/BRL) que contiene penicilina (100 unidades/ml), estreptomocina (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, GIBCO/BRL) y suero bovino fetal inactivado por calor al 5%. Para las células que crecieron en suspensión (tales como CCRF-CEM y sus sublíneas), la citotoxicidad se midió usando el método de microcultivo 2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-carboxanilida)-2H-terazodidum hidróxido (XTT) por duplicado en placas de microtitulación de 96 pocillos. Para ambos métodos, la absorbancia de cada pocillo se midió con un lector de microplaca (EL-340, Bio-Tek, Burlington, VT). Cada proceso supone seis o siete concentraciones de los fármacos ensayados. Los datos de relación dosis-efecto se analizaron con el gráfico efecto-medio.

15 Las células T humanas CCRF-CEM, células de leucemia linfoblástica aguda, su sublínea resistente a tenipósito (CCRF-CEM/VM₁) y la sublínea resistente a vinblastina (CCRF-CEM/VBL₁₀₀) se obtuvieron de W.T. Beck (Universidad de Illinois, Chicago, Il).

20 En un experimento típico, como se ha indicado generalmente antes, determinados compuestos de la invención (por ejemplo, 9,10-dehidro-EpoD) demuestran actividad en líneas celulares CCRF-CEM y en líneas celulares CCRF-CEM resistentes a Taxol.

25 Otros compuestos determinados presentan valores CI_{50} en el intervalo de 0,0015 a aproximadamente 0,120 para las líneas celulares CCRF-CEM. Otros compuestos determinados presentan valores CI_{50} en el intervalo de 0,0015 a aproximadamente 10,5. Determinados de estos compuestos también presentan valores CI_{50} en el intervalo de 0,011 a aproximadamente 0,80 para las líneas celulares resistentes a CCRF-CEM/Taxol y otros compuestos determinados muestran valores CI_{50} en el intervalo de aproximadamente 0,011 a aproximadamente 13,0 μM . En determinadas realizaciones, 26F-EpoD muestra actividades en el intervalo de 0,0015 μM para las líneas celulares CCRF-CEM y en el intervalo de 0,011 μM para líneas celulares CCRF-CEM resistentes a Taxol (Figura 11).

Ejemplo 12

Estudios in vivo

35 Para xenotrasplantes de tumor se usaron típicamente ratones desnudos atímicos portadores del gen nu/nu. Se obtuvieron ratones exogámicos con antecedentes Suizos de Charles River Laboratories. Para la mayoría de los experimentos se usaron ratones macho de 8 semanas o mayores de 22 g de peso y superior. El fármaco se administró a través de la vena de la cola durante 6 h por infusión i.v.. Cada ratón individual se encerró en un contenedor tubular de propileno Falcon perforado para la administración del fármaco. El volumen del tumor se evaluó midiendo longitud x anchura x altura (o anchura) usando un calibrador. Para la infusión i.v. se usó la bomba de jeringa programable Harvard PHD2000 (Harvard Apparatus) con multivías. Todos los estudios animales se realizaron 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. De acuerdo con la normativa de este comité para el tratamiento de animales portadores de tumor humano, la eutanasia de los ratones se realizó cuando los tumores alcanzaron $\geq 10\%$ de su peso corporal total.

50 Como se representa en la Figura 8, la 9,10-dehidro-EpoB se ensayó en ratones desnudos portadores de MX-1 carcinoma mamario humano. En general, la 9,10-dehidro-EpoB se formuló como se indica a continuación: se disolvió 9,10-dehidro-EpoB en etanol y se añadió Cremophor (1:1) a una concentración de 20 mg/ml. Esta solución se diluyó con solución salina para infusión i.v. La solución diluida se usó para infusión i.v. en una hora. Después se midió el tamaño del tumor y el peso corporal usando dosificaciones de 10 mg/kg, 20 mg/kg y 30 mg/kg mas de 15 días. El tamaño del tumor y el peso corporal también se midieron usando un régimen de dosificación de 0,4 mg/kg Q3Dx2, 0,5 mg/kg Q3Dx2 y 0,6 mg/kg Q3Dx5 (véanse las Figuras 33, 34, 55 y 56). Uno de cada tres días se usó un régimen de dosificación para reducir la toxicidad. En las figuras 70 y 71 (CCRF-CEM/Taxol Q3Dx5) y en las figuras 23 y 24 (HCT-116, Q2Dx7) se muestran otros estudios terapéuticos en 9,10-dehidro-EpoB.

65 El compuesto, 9,10-dehidro-12,13-desoxiepotilona B (iso-490 epotilona), es tres veces más eficaz que el dEpoB. El compuesto 9,10-dehidro-12,13-desoxiepotilona D ha mostrado detener el crecimiento del tumor después de dos o tres infusiones de 10 mg/kg o 20 mg/kg, cada una de las cuales se administró un día sí y otro no. Los mejores resultados en ratones se obtuvieron usando una dosis de 30 mg/kg de 9,10-dehidro-12,13-desoxiepotilona B usando dos infusiones iv cada 6 horas un día sí y otro no. También se ha demostrado que 9,10-dehidro-dEpoB a 5 mg/kg, Q3Dx9, infusión iv durante 6 h, consigue la desaparición del tumor en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 sin muerte del ratón y únicamente con una pérdida moderada de peso corporal (Figuras 74 y 75). Esto parece conseguirse administrando los análogos de epotilona cada tres días para reducir la toxicidad (véanse las Figuras 53 y 54). En resumen, 9,10-dehidro-12,13-desoxiepotilona B muestra toxicidad disminuida si compara con otras epotilonas, mayor potencia en la detención del crecimiento del tumor y mayor estabilidad en suero. 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) se muestran otros estudios terapéuticos.

ES 2 336 937 T3

Cuando se administra 9,10-dehidro-Epo B de 9 a 11 veces cada tres días, con infusión iv de 6 h, a 0,4 - 0,6 mg/kg, se produce la disminución y la desaparición del tumor en ratones desnudos con xenotrasplantes implantados de carcinoma mamario humano MX-1 (Figuras 68 y 69). La administración un día sí y otro no para 8 dosis conduce a la supresión del crecimiento del tumor pero no a la disminución del tumor. Cuando se administra 9,10-dehidro-Epo B un día sí y otro no para 9 dosis, el tumor implantado continuó disminuyendo moderadamente del segundo al octavo día, pero el peso corporal se recuperó muy lentamente del 76% al 82% del control durante el mismo periodo. Al décimo día, una cuarta parte del tumor había desaparecido. Cuando se administra una dosificación de 0,6 mg/kg de 9,10-dehidro EpoB Q2Wx6, infusión de 6 horas a ratones desnudos con xenotrasplantes HCT-116, cuatro de cuatro ratones murieron de citotoxicidad tres días después de la sexta dosificación. El compuesto 9,10-dehidro-EpoB suprime el crecimiento tumoral frente a CCRF-CEM/Taxol usando 0,6 mg/kg, programa Q3Dx5,x2 (Figuras 70 y 71).

Como se muestra en las Figuras el compuesto 26-trifluoro-9,10-dehidro-12,13-desoxi-epotilona B (F₃-deH-dEpoB) es curativo a 20 mg/kg y 30 mg/kg, Q2Dx6, infusiones de 6 horas, en un modelo de ratón desnudo implantado con xenotrasplantes MX-1 de carcinoma mamario humano. Los datos también sugieren que la dosis máxima tolerada es de aproximadamente 30 mg/kg Q2Dx6. A 20 mg/kg, Q2Dx6, infusión de 6 horas, el 26-trifluoro-9,10-dehidro-12,13-desoxi-epotilona B conduce a la disminución y desaparición del tumor en cuatro de cuatro ratones desnudos con xenotrasplantes MX-1 de carcinoma mamario humano.

No hay reaparición del tumor el día 20 después de suspender el tratamiento. El día 27 después de suspender el tratamiento 2/4 reaparecen. No reaparecen más tumores durante los días 28-64 después de suspender el tratamiento. Por comparación, dEpoB a 30 mg/kg consigue la desaparición del tumor en el mismo modelo de ratón en siete de siete ratones; sin embargo, el tumor reapareció en 2 de cinco ratones el octavo día después de suspender el tratamiento. La administración de 26-trifluoro-9,10-dehidro-12,13-desoxi-epotilona B a 20 mg/kg, Q2Dx6, infusión iv de 6 h conduce a una disminución transitoria del peso corporal de los ratones de hasta el 26%. Esta disminución de peso corporal no conduce a la muerte lo que sugiere que no existe toxicidad grave hacia los órganos vitales. Dos días después del último tratamiento, el peso corporal comenzó a recuperarse. El día 16 después del tratamiento, el peso corporal regresó al 109% del control del pretratamiento lo que sugiere que la toxicidad, si existe, es completamente reversible. Comparándolos, dEpoB administrado a 30 mg/kg conduce a una disminución de peso corporal del 31% sin letalidad.

Cuando se administra 26-trifluoro-9,10-dehidro-12,13-desoxi-epotilona B a 30 mg/kg, Q2Dx6, infusión iv de 6 h, el tumor desaparece 2-3 días antes que con una dosificación de 20 mg/kg. A esta dosis mayor, el peso corporal disminuye un 27% y persiste 4 días sin conducir a la letalidad lo que confirma que no existe toxicidad grave para los órganos vitales. Cuatro días después del último tratamiento a 30 mg/kg, el peso corporal comenzó a recuperarse. El día 16 después del tratamiento, el peso corporal regresó al 98% del control del pretratamiento confirmando de nuevo la reversibilidad de la toxicidad. El tratamiento con 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB a 20 mg/kg y 30 mg/kg conduce a la desaparición total del tumor y a la dosis de 30 mg/kg, no se observa incidencia después de 62 días. La desaparición del tumor se consiguió también a 10 mg/kg administrando 9 dosis con tres dosis adicionales proporcionadas (Figura 57). Únicamente se observó menor pérdida de peso corporal con 10 mg/kg de 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB (Figura 58). No se observó pérdida de peso corporal adicional con tratamiento continuado.

La Figura 59 resume el efecto de 26-F₃-9,10-deH-dEpo B (y otras epotilonas) frente a xenotrasplante MX-1, A, a dosis bajas; B, frente a un tumor grande; frente a xenotrasplante de carcinoma de pulmón A549, C; y frente a xenotrasplante de carcinoma de pulmón resistente a Taxol A549/Taxol, D.

La Figura 61 enumera la potencia *in vitro* de epotilonas modificadas C-21 frente a CCRF-CEM, CCRF-CEM/VBL y CCRF-CEM/Taxol.

La Figura 62 muestra el efecto terapéutico de 26-F₃-9,10-deH-dEpoB (15 mg/kg y 30 mg/kg) y Taxol (20 mg/kg) Q2Dx8, infusión i.v. de 6 horas frente a xenotrasplante CCRF-CEM de leucemia linfoblástica de células T humanas. Se observó similar disminución de peso corporal en los otros tres grupos de tratamiento (Figura 63).

El tratamiento de xenotrasplante CCRF-CEM/Taxol (resistente a Taxol) con 26-F₃-9,10-deH-dEpo B, 15 mg/kg, consigue 1/3 de desaparición de tumor y 30 mg/kg consigue ¾ de desaparición de tumor. El mismo tratamiento con Taxol, 20 mg/kg produce únicamente supresión parcial del crecimiento del tumor y no consigue la disminución del tumor (Figura 64). En la Figura 65 se muestran los cambios de peso corporal durante este experimento.

El tratamiento del xenotrasplante HCT-116 de carcinoma de colon humano con 26-F₃-9,10-deH-dEpo B (20 mg/kg) consigue efecto similar al Taxol (20 mg/kg). Sin embargo, F₃-deH-dEpo B a 30 mg/kg produce mejor efecto terapéutico con desaparición de tumor de 2/4 después de 5 dosis (Figura 66). En la Figura 67 se muestran los cambios de peso corporal durante este experimento.

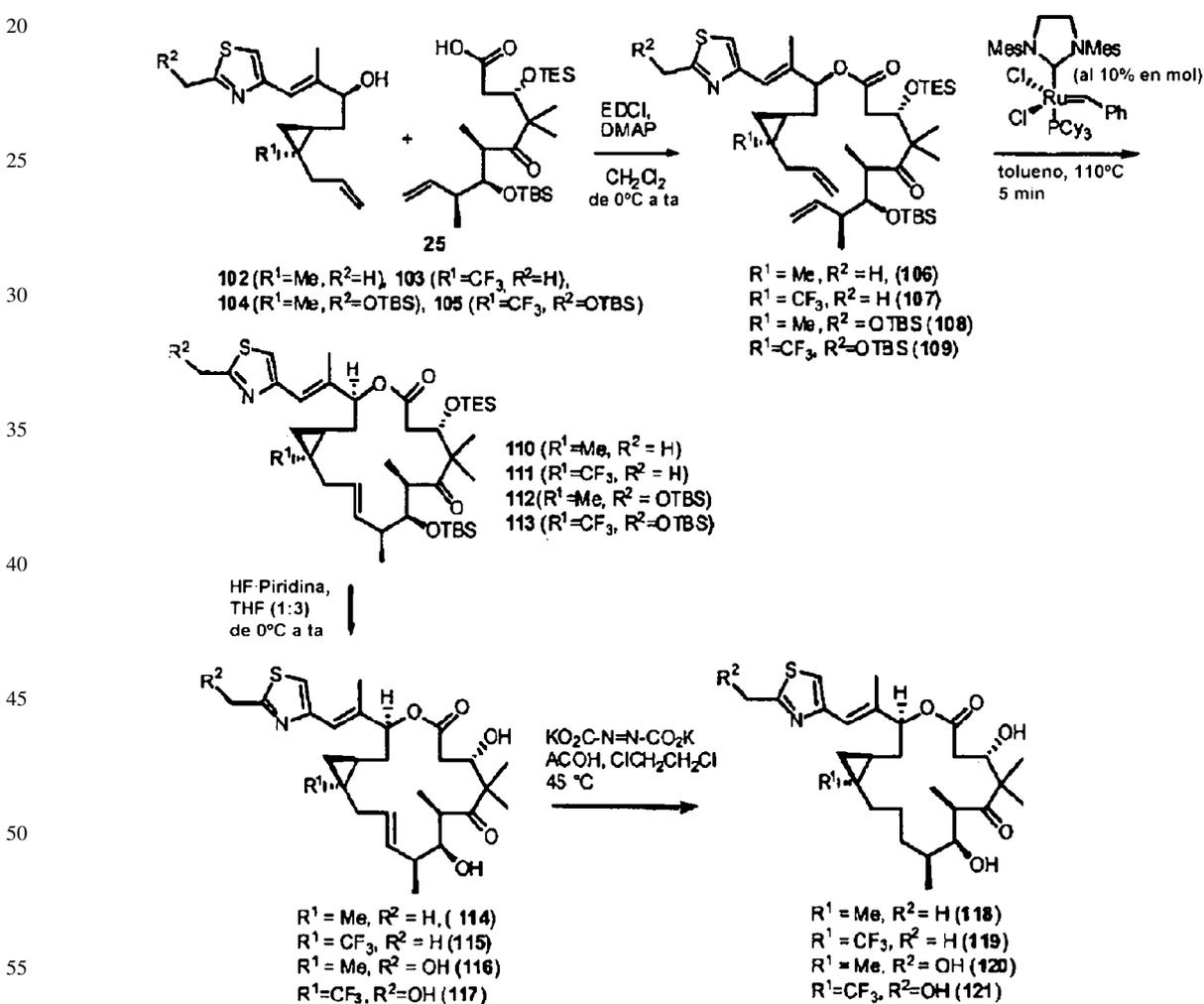
Los efectos terapéuticos de F₃-9,10-dehidro-dEpoF frente a xenotrasplantes MX-1 a diferentes dosis (5-30 mg/kg) con infusión i.v. durante 6 horas e inyección i.v. se muestran en las Figuras 76 y 77.

Conclusión. El 9,10-dehidro, 26-trifluoro o ambas modificaciones de dEpoB producen un aumento de citotoxicidad *in vitro* de 1,5 a 5 veces y un aumento de la semivida en plasma de ratón *in vitro* de 2 a 5 veces. Usando modelos de xenotrasplante de tumor sólido humano en ratones desnudos y usando la técnica de infusión i.v. durante 6 horas, Q2Dx5-9 a través de la vena de la cola a una dosis máxima tolerada, se evaluó la eficacia antitumoral y la toxicidad de

las 9,10-dehidroepotilonas. La capacidad para conseguir la supresión completa del crecimiento tumoral completa, la disminución y desaparición del tumor permitió la investigación adicional para determinar la tasa de reincidencia y la tasa de curación después de la suspensión del tratamiento. La 9,10-dehidro-EpoB, la epotilona más potente conocida *in vitro*, aunque es altamente eficaz, *in vivo* muestra un reducido margen de seguridad terapéutico. La 9,10-dehidro-dEpoB a 4 mg/kg, la 9,10-dehidro-EpoB a 0,4 mg/kg y la 21-hidroxi-9,10-dehidro-dEpoB a 3 mg/kg todas suprimen fuertemente el crecimiento tumoral durante un periodo de tiempo prolongado y alguna consigue la disminución del tumor y alguna consigue la desaparición del tumor. La dEpoB a 30 mg/kg, 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB a 20 mg/kg y paclitaxel a 20 mg/kg todos muestran fuerte supresión del crecimiento tumoral y consiguen la disminución y la desaparición del tumor de xenotrasplantes MX-1 de carcinoma mamario humano en todos los ratones ensayados. La 26-trifluoro-9,10-dehidro-dEpoB, cuando se compara con dEpoB o paclitaxel, consigue una curación prolongada sin reincidencia de tumor y muestra igualmente una rápida recuperación del peso corporal con respecto al nivel de control del pretratamiento.

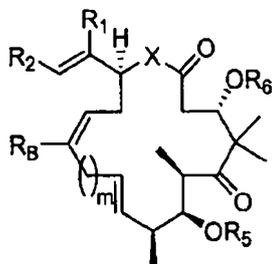
15 Ejemplo 13

Síntesis de Análogos de Ciclopropil-Epotilona



REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula:



en la que

R₁ es hidrógeno o alquilo inferior C₁₋₆;

R₂ es un resto arilo C₃₋₁₄, heteroarilo C₃₋₁₄, aril C₃₋₁₄-alquilo C₁₋₂₀ o heteroaril C₃₋₁₄-alquilo C₁₋₂₀ sustituido o sin sustituir;

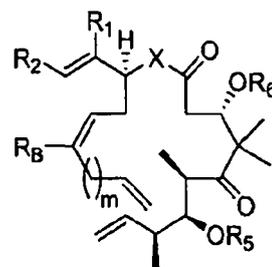
cada uno de R₅ y R₆ es independientemente hidrógeno o un grupo protector;

X es O, S, C(R₇)₂ o NR₇, donde cada vez que aparece R₇ es independientemente hidrógeno o alquilo inferior C₁₋₆;

R_B es, independientemente en cada caso, hidrógeno; halógeno; -OR_{B'}; -SR_{B'}; -N(R_{B'})₂; -CY₃, -CHY₂, -CH₂Y, donde Y es F, Br, Cl, I, OR_{B'}, NHR_{B'}, N(R_{B'})₂ o SR_{B'}; -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 arilo C₃₋₁₄ o heteroarilo C₃₋₁₄ alifático C₁₋₂₀, heteroalifático C₁₋₂₀ cíclico o acíclico, lineal o ramificado, 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 un resto arilo C₃₋₁₄ o heteroarilo C₃₋₁₄ alifático C₁₋₂₀, heteroalifático C₁₋₂₀ cíclico o acíclico, lineal o ramificado sustituido o sin sustituir; o es una epotilona, desoxiepotilona o análogos de las mismas; o es un polímero; carbohidrato; marcador de fotoafinidad; o radiomarcador; donde cada vez que aparece R_{B'} es independientemente hidrógeno; un grupo protector; C₁₋₂₀ alifático, hetero C₁₋₂₀ alifático, un resto arilo C₃₋₁₄, heteroarilo C₃₋₁₄, aril C₃₋₁₄-alquilo C₁₋₂₀, aril C₃₋₁₄-alqueno C₁₋₂₀, aril C₃₋₁₄-alquino C₁₋₂₀, heteroaril C₃₋₁₄-alquilo C₁₋₂₀, heteroaril C₃₋₁₄-alqueno C₁₋₂₀ o heteroaril C₃₋₁₄-alquino C₁₋₂₀ alifático C₁₋₂₀, heteroalifático C₁₋₂₀ cíclico o acíclico; y

m es 1, 2, 3 ó 4, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

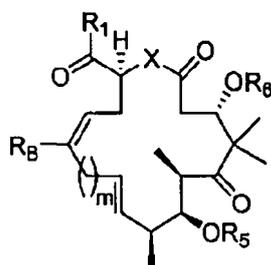
someter un compuesto de la fórmula:



a condiciones de una reacción de metátesis con cierre de anillo.

ES 2 336 937 T3

2. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula:



en la que

R_1 es hidrógeno o alquilo inferior C_{1-6} ;

R_2 es un resto arilo C_{3-14} , heteroarilo C_{3-14} , aril C_{3-14} -alquilo C_{1-20} o heteroaril C_{3-14} -alquilo C_{1-20} sustituido o sin sustituir;

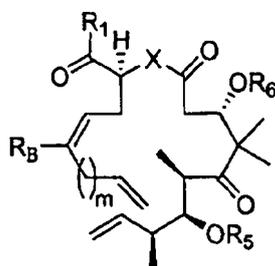
cada uno de R_5 y R_6 es independientemente hidrógeno o un grupo protector;

X es O, S, $C(R_7)_2$ o NR_7 , donde cada vez que aparece R_7 es independientemente hidrógeno o alquilo inferior C_{1-6} ;

R_B es, independientemente en cada caso, hidrógeno; halógeno; $-OR_{B'}$; $-SR_{B'}$; $-N(R_{B'})_2$; $-CY_3$, $-CHY_2$, $-CH_2Y$, donde Y es F, Br, Cl, I, $OR_{B'}$, $NHR_{B'}$, $N(R_{B'})_2$ o $SR_{B'}$; $-C(O)OR_{B'}$; $-C(O)R_{B'}$; $-CON-HR_{B'}$; $-O(C=O)R_{B'}$; $-O(C=O)OR_{B'}$; $-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$; N_3 ; $N_2R_{B'}$; acetal cíclico; o arilo C_{3-14} o heteroarilo C_{3-14} alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} cíclico o acíclico, lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más de hidrógeno; halógeno; $-OR_{B'}$; $-SR_{B'}$; $-N(R_{B'})_2$; $-C(O)OR_{B'}$; $-C(O)R_{B'}$; $-CONHR_{B'}$; $-O(C=O)R_{B'}$; $-O(C-O)OR_{B'}$; $-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$; N_3 ; $N_2R_{B'}$; acetal cíclico; o un resto arilo C_{3-14} o heteroarilo C_{3-14} alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} cíclico o acíclico, lineal o ramificado sustituido o sin sustituir; o es una epotilona, desoxiepotilona o análogos de las mismas; o es un polímero; carbohidrato; marcador de fotoafinidad; o radiomarcador; donde cada vez que aparece $R_{B'}$ es independientemente hidrógeno; un grupo protector; C_{1-20} alifático, hetero C_{1-20} alifático, un resto arilo C_{3-14} , heteroarilo C_{3-14} , aril C_{3-14} -alquilo C_{1-20} , aril C_{3-14} -alqueno C_{1-20} , aril C_{3-14} -alquino C_{1-20} , heteroaril C_{3-14} -alquilo C_{1-20} , heteroaril C_{3-14} -alqueno C_{1-20} o heteroaril C_{3-14} -alquino C_{1-20} alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} cíclico o acíclico; y

m es 1, 2, 3 ó 4, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

someter un compuesto de la fórmula:

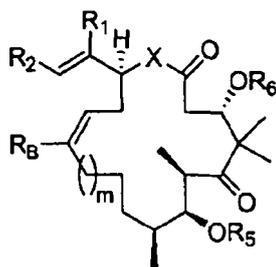


a condiciones de una reacción de metátesis con cierre de anillo.

3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que las condiciones de una reacción de metátesis con cierre de anillo incluyen un catalizador de Grubbs.

4. El procedimiento de la reivindicación 3, en el que el catalizador de Grubbs es cloruro de triciclohexilfosfina[1,3-bis(2,4,6-trimetilfenil)-4,5-dihidroimidazol-2-ilideno][bencilideno]rutenio (IV).

5. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula.



5
10

15 en la que

R₁ es hidrógeno o alquilo inferior C₁₋₆;

R₂ es un resto arilo C₃₋₁₄, heteroarilo C₃₋₁₄, aril C₃₋₁₄-alquilo C₁₋₂₀ o heteroaril C₃₋₁₄-alquilo C₁₋₂₀ sustituido o sin sustituir;

20

cada uno de R₅ y R₆ es independientemente hidrógeno o un grupo protector;

X es O, S, C(R₇)₂ o NR₇, donde cada vez que aparece R₇ es independientemente hidrógeno o alquilo inferior C₁₋₆;

25

R_B es, independientemente en cada caso, hidrógeno; halógeno; -OR_{B'}; -SR_{B'}; -N(R_{B'})₂; -CY₃, -CH₂Y, donde Y es F, Br, Cl, I, OR_{B'}, NHR_{B'}, N(R_{B'})₂ o SR_{B'}; -C(O)OR_{B'}; -C(O)R_{B'}; -CON-HR_{B'}; -O(C=O)R_{B'}; -O(C=O)OR_{B'}; -NR_{B'}(C=O)R_{B'}; N₃; N₂R_{B'}; acetal cíclico; o arilo C₃₋₁₄ o heteroarilo C₃₋₁₄ alifático C₁₋₂₀, heteroalifático C₁₋₂₀ cíclico o acíclico, lineal o ramificado, 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 un resto arilo C₃₋₁₄ o heteroarilo C₃₋₁₄ alifático C₁₋₂₀, heteroalifático C₁₋₂₀ cíclico o acíclico, lineal o ramificado sustituido o sin sustituir; o es una epotilona, desoxiepotilona o análogos de las mismas; o es un polimero; carbohidrato; marcador de fotoafinidad; o radiomarcador; donde cada vez que aparece R_{B'} es independientemente hidrógeno; un grupo protector; C₁₋₂₀ alifático, hetero C₁₋₂₀ alifático, un resto arilo C₃₋₁₄, heteroarilo C₃₋₁₄, aril C₃₋₁₄-alquilo C₁₋₂₀, aril C₃₋₁₄-alqueno C₁₋₂₀, aril C₃₋₁₄-alquino C₁₋₂₀, heteroaril C₃₋₁₄-alquilo C₁₋₂₀, heteroaril C₃₋₁₄-alqueno C₁₋₂₀ o heteroaril C₃₋₁₄-alquino C₁₋₂₀ alifático C₁₋₂₀, heteroalifático C₁₋₂₀ cíclico o acíclico; y

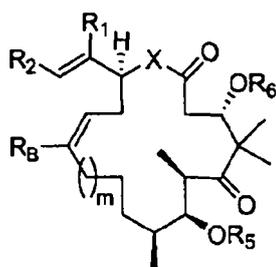
30

35

m es 1, 2, 3 ó 4, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

reducir un compuesto de la fórmula:

40

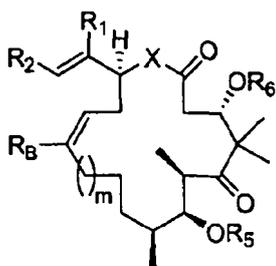


45

50

6. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula:

55



60

65 en la que

R₁ es hidrógeno o alquilo inferior C₁₋₆;

ES 2 336 937 T3

R_2 es un resto arilo C_{3-14} , heteroarilo C_{3-14} , aril C_{3-14} -alquilo C_{1-20} o heteroaril C_{3-14} -alquilo C_{1-20} sustituido o sin sustituir;

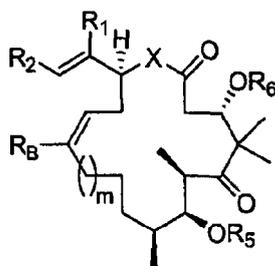
cada uno de R_5 y R_6 es independientemente hidrógeno o un grupo protector;

X es O, S, $C(R_7)_2$ o NR_7 , donde cada vez que aparece R_7 es independientemente hidrógeno o alquilo inferior C_{1-6} ;

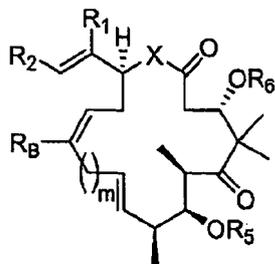
R_B es, independientemente en cada caso, hidrógeno; halógeno; $-OR_{B'}$; $-SR_{B'}$; $-N(R_{B'})_2$; $-CY_3$, $-CHY_2$, $-CH_2Y$, donde Y es F, Br, Cl, I, $OR_{B'}$, $NHR_{B'}$, $N(R_{B'})_2$ o $SR_{B'}$; $-C(O)OR_{B'}$; $-C(O)R_{B'}$; $-CON-HR_{B'}$; $-O(C=O)R_{B'}$; $-O(C=O)OR_{B'}$; $-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$; N_3 ; $N_2R_{B'}$; acetal cíclico; o arilo C_{3-14} o heteroarilo C_{3-14} alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} cíclico o acíclico, lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más de hidrógeno; halógeno; $-OR_{B'}$; $-SR_{B'}$; $-N(R_{B'})_2$; $-C(O)OR_{B'}$; $-C(O)R_{B'}$; $-CONHR_{B'}$; $-O(C=O)R_{B'}$; $-O(C-O)OR_{B'}$; $-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$; N_3 ; $N_2R_{B'}$; acetal cíclico; o un resto arilo C_{3-14} o heteroarilo C_{3-14} alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} cíclico o acíclico, lineal o ramificado sustituido o sin sustituir; o es una epotilona, desoxiepotilona o análogos de las mismas; o es un polímero; carbohidrato; marcador de fotoafinidad; o radiomarcador; donde cada vez que aparece $R_{B'}$ es independientemente hidrógeno; un grupo protector; C_{1-20} alifático, hetero C_{1-20} alifático, un resto arilo C_{3-14} , heteroarilo C_{3-14} , aril C_{3-14} -alquilo C_{1-20} , aril C_{3-14} -alqueno C_{1-20} , aril C_{3-14} -alquino C_{1-20} , heteroaril C_{3-14} -alquilo C_{1-20} , heteroaril C_{3-14} -alqueno C_{1-20} o heteroaril C_{3-14} -alquino C_{1-20} alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} cíclico o acíclico; y

m es 1, 2, 3 ó 4, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

oxidar un compuesto de la fórmula:



7. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula:



en la que

R_1 es hidrógeno o alquilo inferior C_{1-6} ;

R_2 es un resto arilo C_{3-14} , heteroarilo C_{3-14} , aril C_{3-14} -alquilo C_{1-20} o heteroaril C_{3-14} -alquilo C_{1-20} sustituido o sin sustituir;

cada uno de R_5 y R_6 es independientemente hidrógeno o un grupo protector;

X es O, S, $C(R_7)_2$ o NR_7 , donde cada vez que aparece R_7 es independientemente hidrógeno o alquilo inferior C_{1-6} ;

R_B es, independientemente en cada caso, hidrógeno; halógeno; $-OR_{B'}$; $-SR_{B'}$; $-N(R_{B'})_2$; $-CY_3$, $-CHY_2$, $-CH_2Y$, donde Y es F, Br, Cl, I, $OR_{B'}$, $NHR_{B'}$, $N(R_{B'})_2$ o $SR_{B'}$; $-C(O)OR_{B'}$; $-C(O)R_{B'}$; $-CON-HR_{B'}$; $-O(C=O)R_{B'}$; $-O(C=O)OR_{B'}$; $-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$; N_3 ; $N_2R_{B'}$; acetal cíclico; o un resto arilo C_{3-14} o heteroarilo C_{3-14} alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} cíclico o acíclico, lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más de hidrógeno; halógeno; $-OR_{B'}$; $-SR_{B'}$; $-N(R_{B'})_2$; $-C(O)OR_{B'}$; $-C(O)R_{B'}$; $-CONHR_{B'}$; $-O(C=O)R_{B'}$; $-O(C-O)OR_{B'}$; $-NR_{B'}(C=O)R_{B'}$; N_3 ; $N_2R_{B'}$; acetal cíclico; o un resto arilo C_{3-14} o heteroarilo C_{3-14} alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} cíclico o acíclico, lineal o ramificado sustituido o sin sustituir; o es una epotilona, desoxiepotilona o análogos de las mismas; o es un polímero; carbohidrato; marcador de fotoafinidad; o radiomarcador; donde cada vez que aparece $R_{B'}$ es independientemente hidrógeno; un grupo protector; C_{1-20} alifático, hetero C_{1-20} alifático, un resto arilo C_{3-14} ,

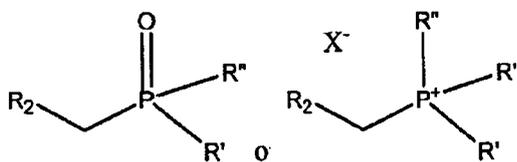
ES 2 336 937 T3

heteroarilo C₃₋₁₄, aril C₃₋₁₄-alquilo C₁₋₂₀, aril C₃₋₁₄-alqueno C₁₋₂₀, aril C₃₋₁₄-alquino C₁₋₂₀, heteroaril C₃₋₁₄-alquilo C₁₋₂₀, heteroaril C₃₋₁₄-alqueno C₁₋₂₀ o heteroaril C₃₋₁₄-alquino C₁₋₂₀ alifático C₁₋₂₀, heteroalifático C₁₋₂₀ cíclico o acíclico; y

5 m es 1, 2, 3 ó 4, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

condensar un óxido de fosfina o reactivo de Wittig que tiene la estructura:

10



15

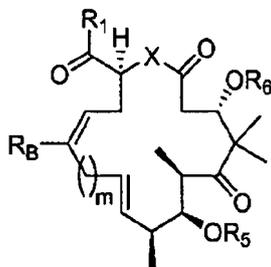
en las que R' y R'' son independientemente una cadena alquilo C₁₋₈ lineal o ramificada o un fenilo, arilo, alcoxi o ariloxi sustituido o sin sustituir; y

20 X es un contra anión tal como cloruro o bromuro;

20

con una cetona que tiene la estructura:

25



30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 336 937 T3

Valores Cl_{50} para las nuevas Epolitonas frente al crecimiento celular CCRF-CEM

Compuesto	Cl_{50} (μ M) para		
	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol
<u>dEpoB (EpoD)</u>	0,0016±0,0002	0,016±0,003 (1,4x)	0,0046±0,0002 (1,3x)
<u>dEpoF</u>	0,0013±0,0001	0,0456 (0,4x)	0,0035 (2,3x)
<u>EpoB</u>	<u>0,00062±0,00013</u>	0,0037±0,0011 (1,9x)	0,0011±0,0001 (1,3x)
10,11-didehidro-dEpoB (Epo-490)	0,0160	0,078 (4,8x)	0,032 (2x)
26-metil-dEpoB	0,040	0,123 (3,1x)	0,077 (1,9x)
4-des-me-EpoB	0,00081	0,0078 (0,8x)	0,017 (2,1x)
11-OH (cis)EpoD	0,0029	0,077 (26,6x)	0,0091 (1,1x)
11- α -F-dEpoB	0,0285	0,147 (5,2x)	0,0550 (1,9x)
11- β -F-dEpoB	0,0980	0,230 (2,3x)	0,138 (1,9x)
19-oxazolEpoD	0,0054	0,045 (8,3x)	0,0017 (1,2x)
19-oxazolEpoB	0,00034	0,0057 (16,5x)	0,0057 (1,6x)
19-oxazol-Epo490	0,0077	0,0227 (2,9x)	0,0130 (1,7x)
<u>9,10-deH-(16)dEpoB,</u> (Iso-490)	0,0009±0,0004	0,0042±0,0022 (4,7x)	0,0012±0,0006 (1,3x)
Iso-490-dEpoF	0,00051±0,00009	0,0106 (20,8x)	0,00073 (1,4x)
<u>Iso-490-EpoB</u>	<u>0,00023±0,00002</u>	0,00032 (1,4x)	0,00042 (1,8x)
12,13-epi-Iso-490-EpoB	0,0134±0,0032	0,0959 (7,1x)	0,0802 (2,6x)
12,13-epi-EpoB	0,0830±0,0001	0,4519 (5,4x)	0,1507 (1,8x)
Iso-490-dEpo-Me- cetona	5,02	-----	-----
<u>26-F₁-9,10-deH-</u> <u>(16)dEpoB</u>	0,0035	0,0210 (5,7x)	0,0057 (1,6x)
26-F ₁ -dEpoB	0,0041	0,080 (19,5x)	0,0118 (4,4x)
Taxol	0,0016±0,0005	2,30 (143,6x)	0,058±0,001 (36x)
Vinblastina	0,00045	0,418±0,076 (929x)	0,026±0,008 (33x)

FIG. 1

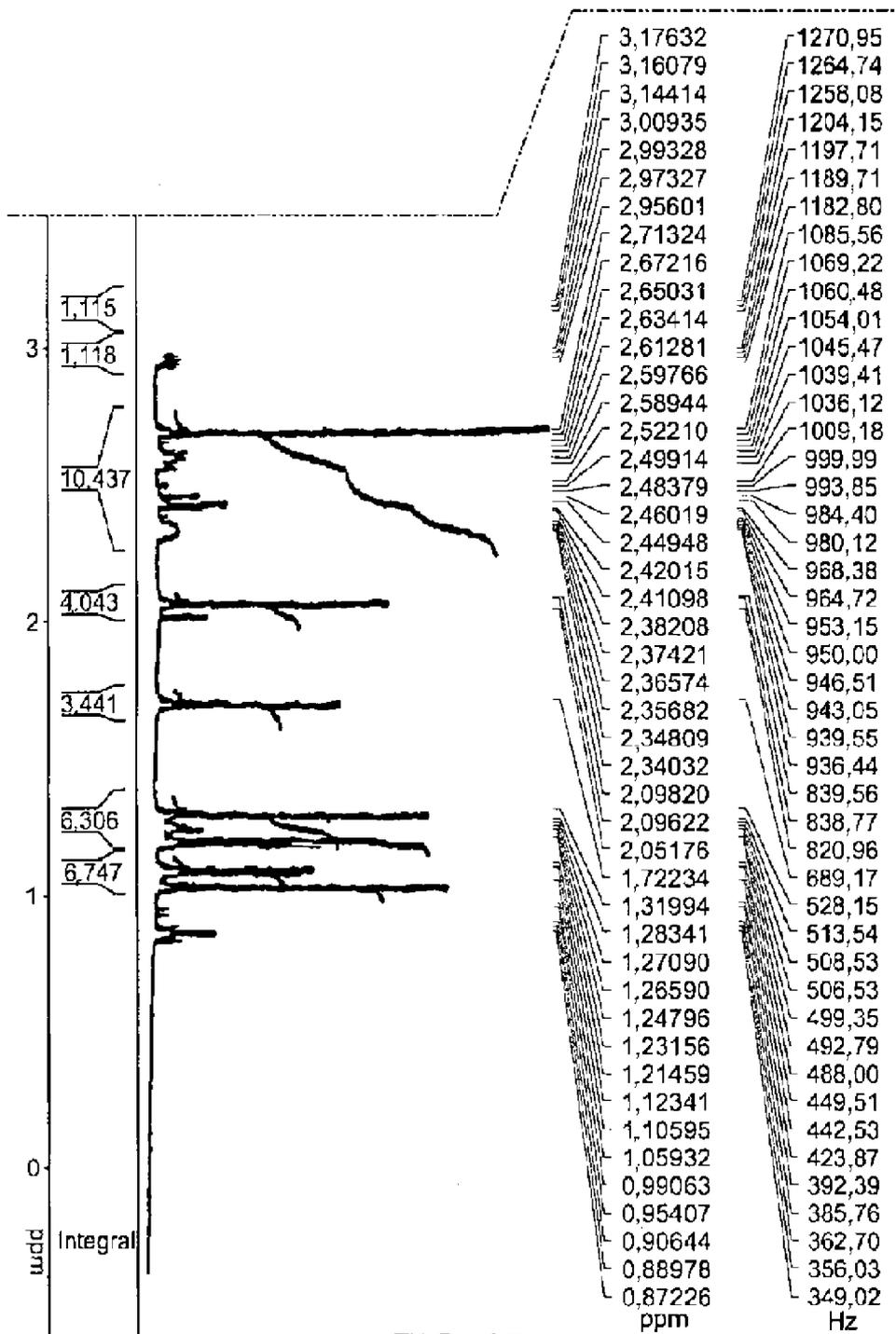
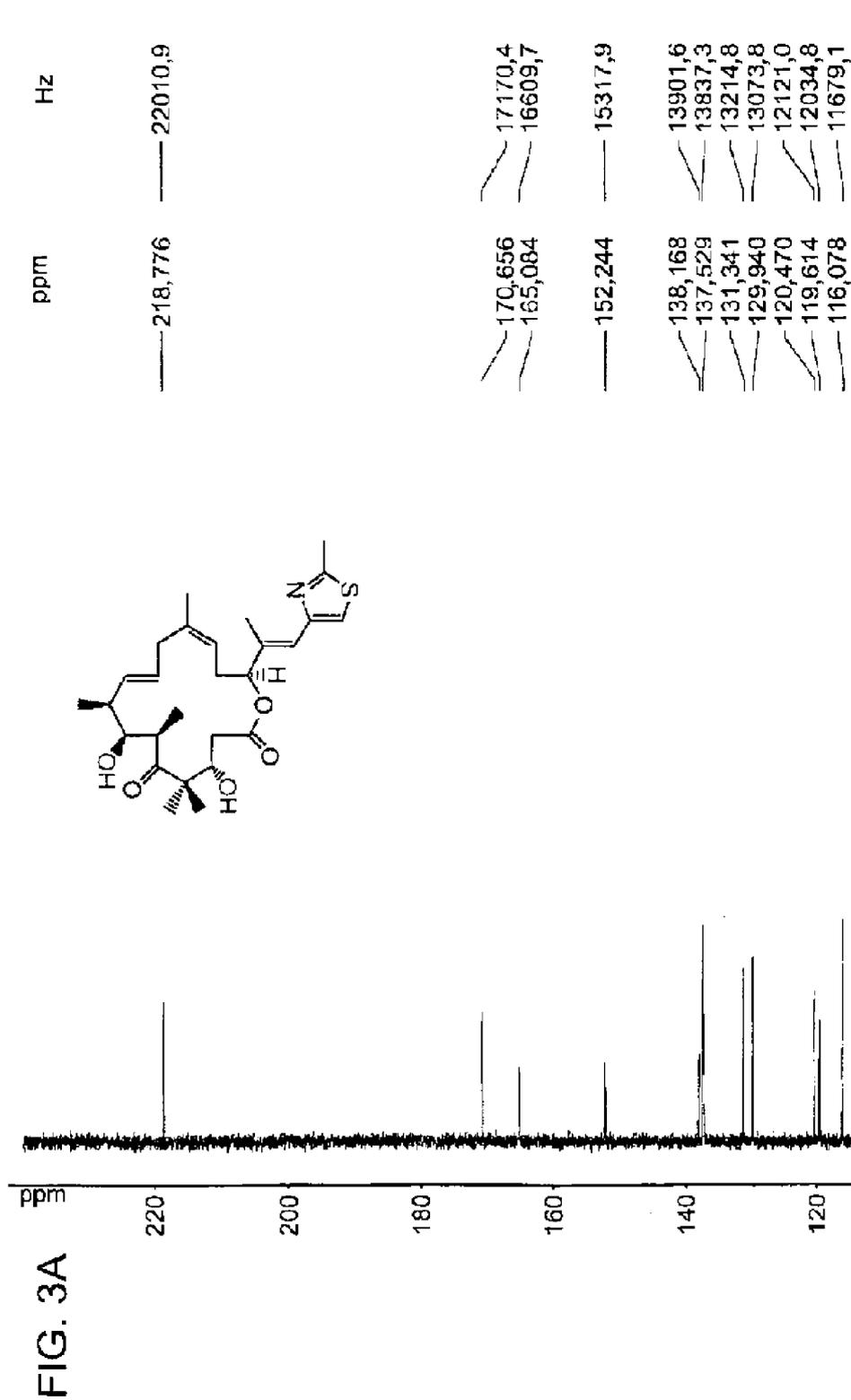
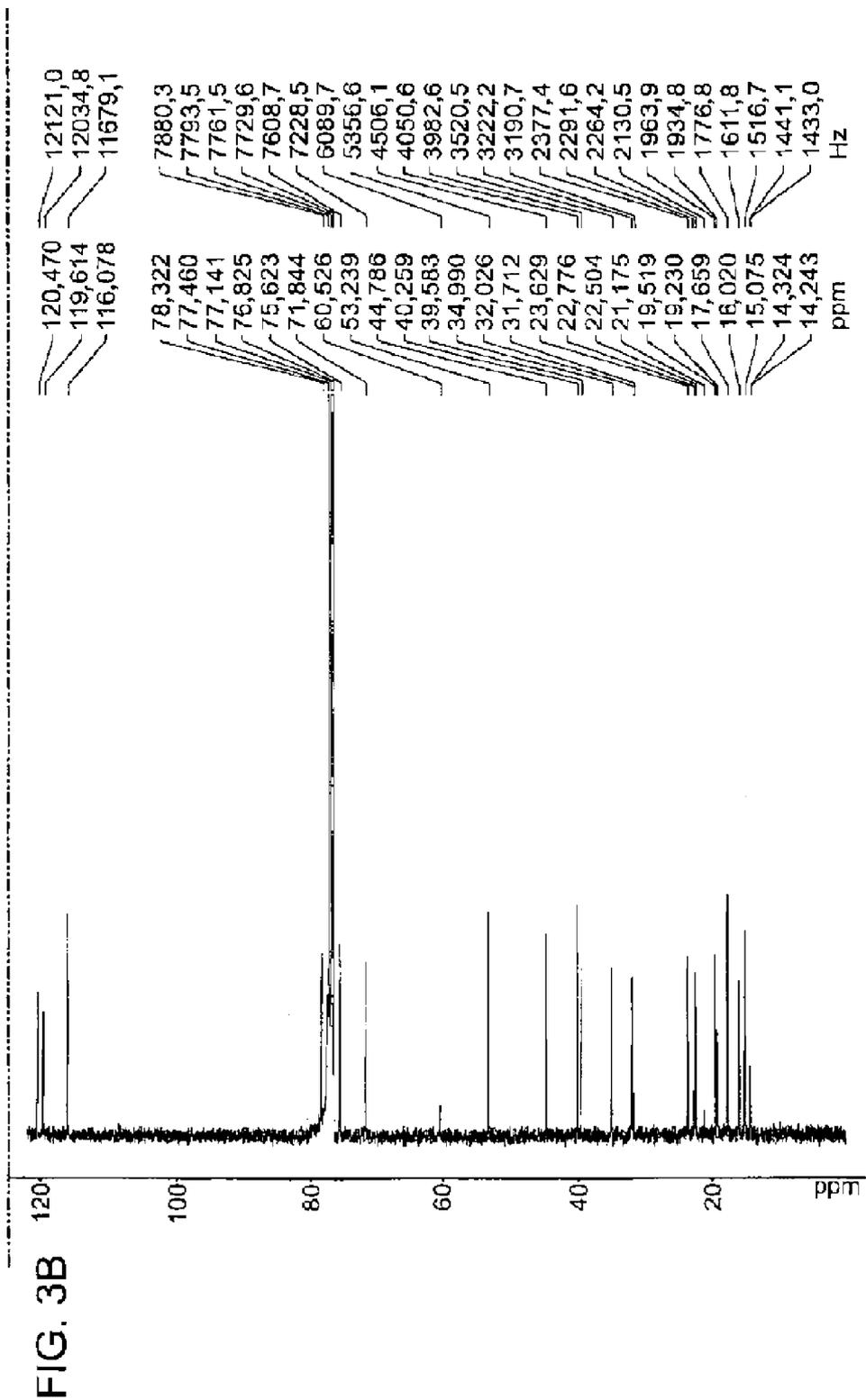


FIG. 2B





Síntesis de 14-R de Epotilonas usando la estrategia de Metatesis de olefinas con cierre de anillo-LACDAC

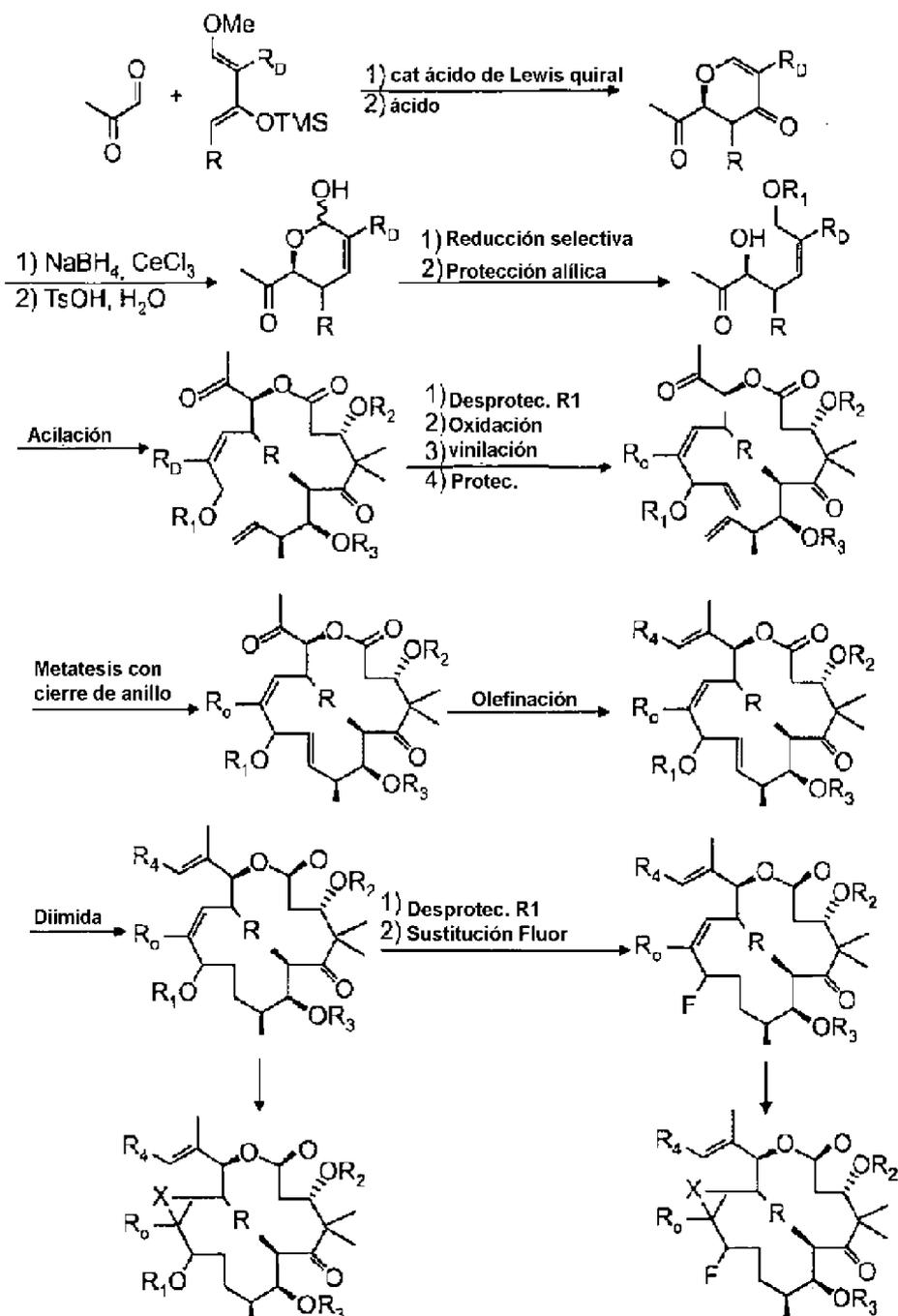


FIG. 4

Citotoxicidad relativa de Epotilonas frente a células leucémicas humanas *in vitro*

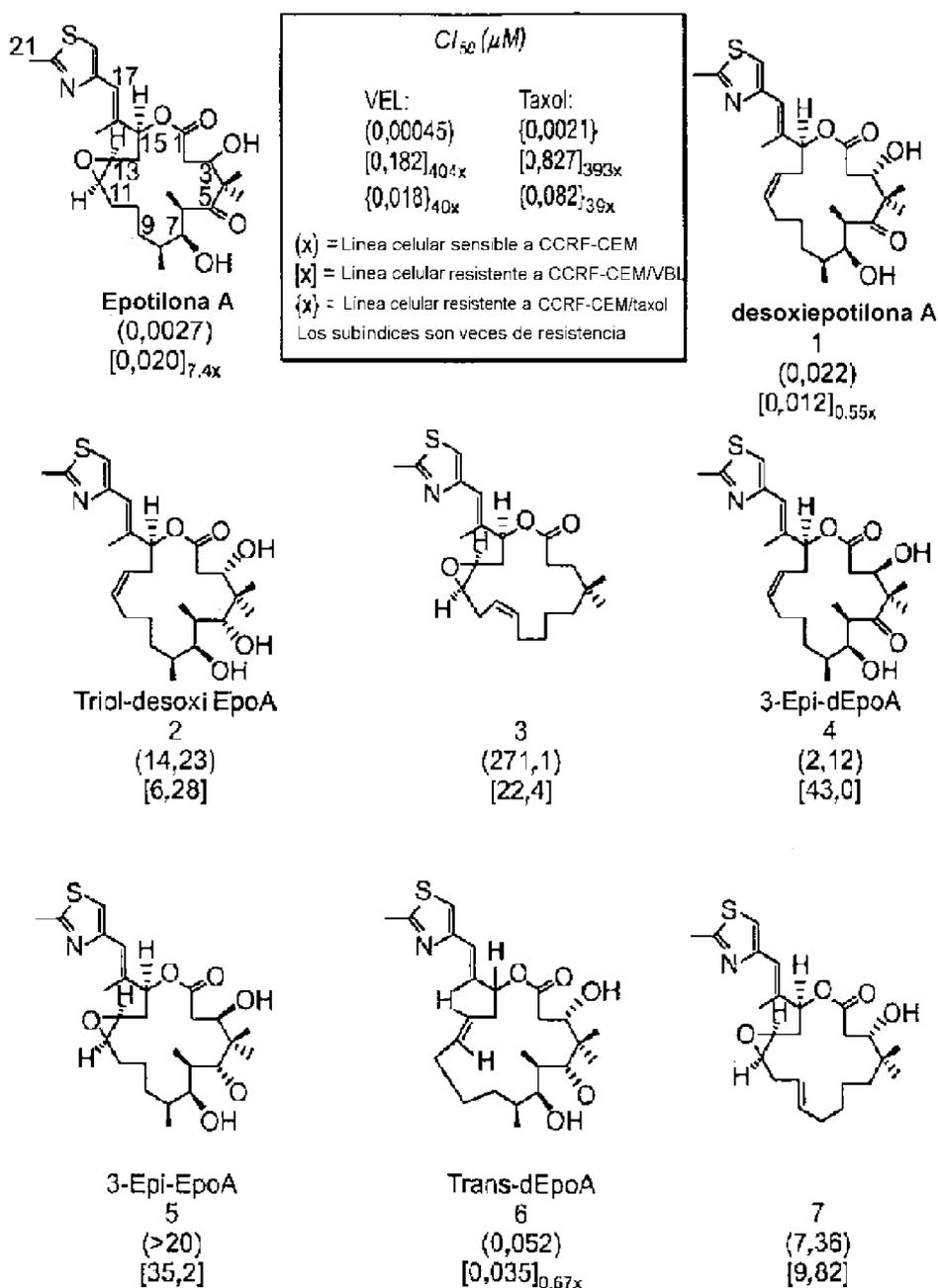


FIG. 5A

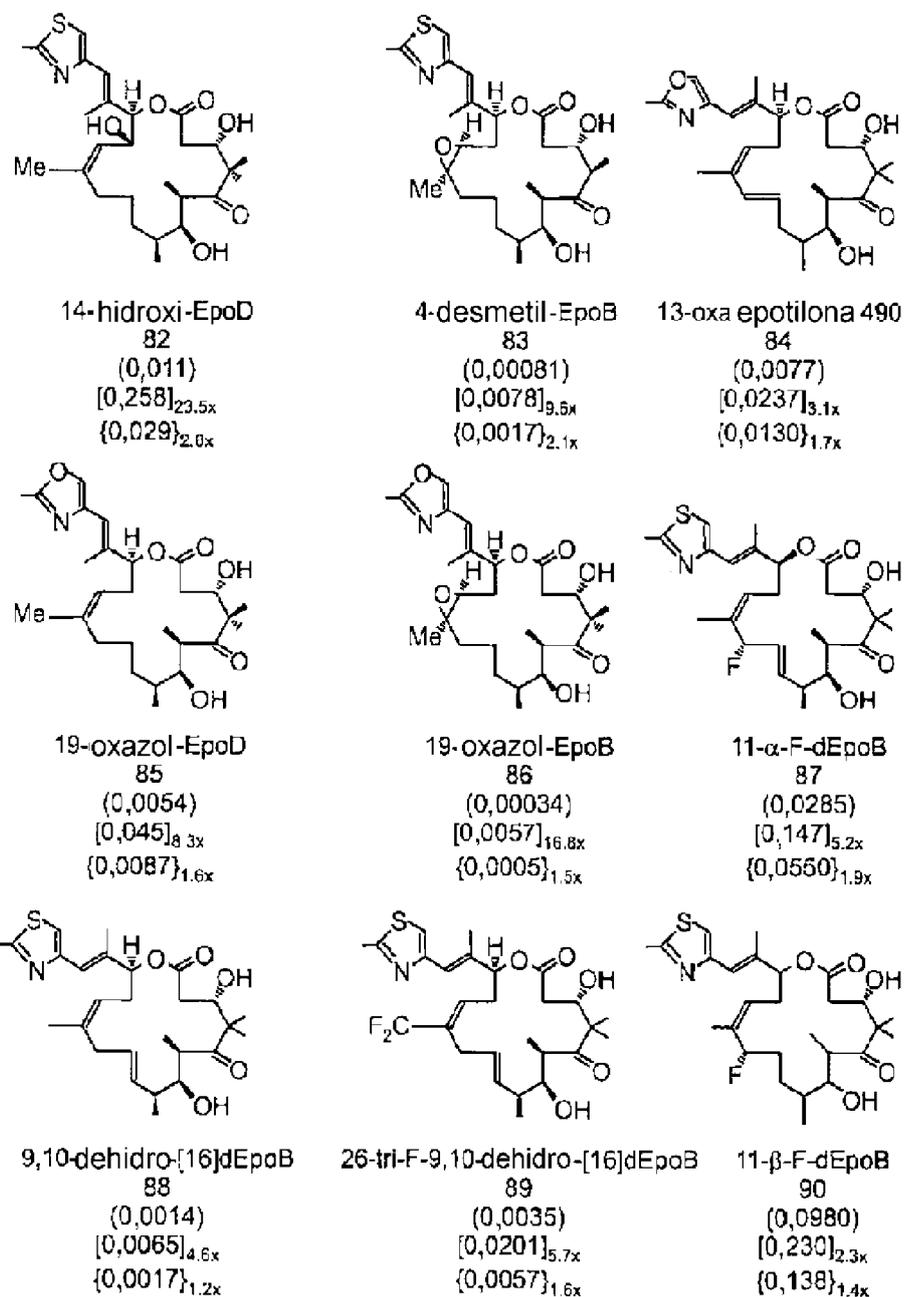
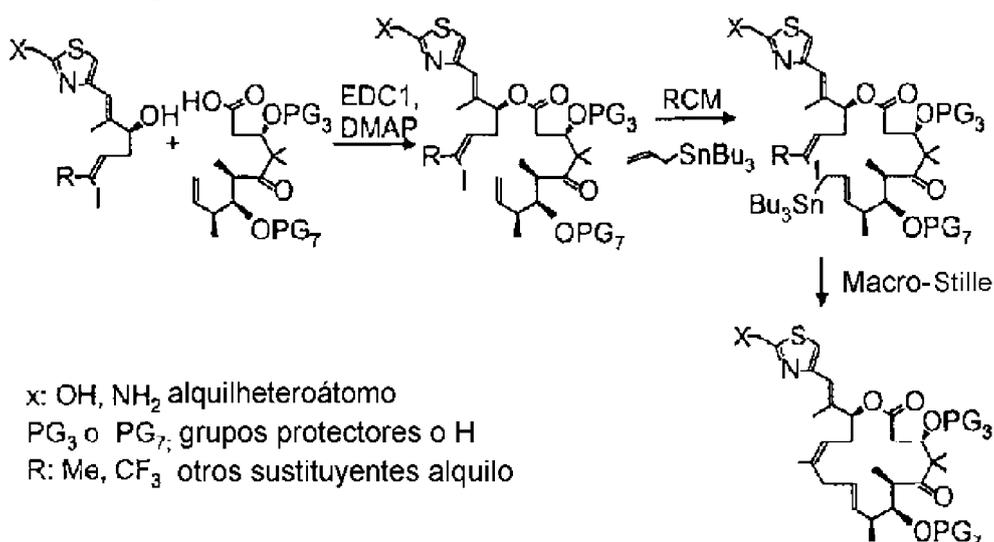


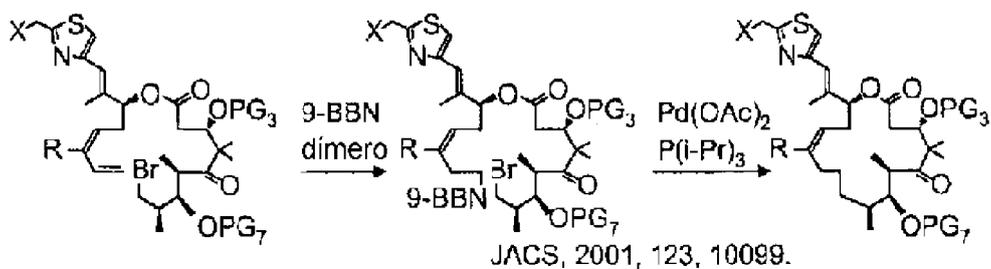
FIG. 5B

Estrategias alternativas para la síntesis de 9,10-dehidro-12,13-desoxiEpoB:

1. Estrategia Macro-Stille



2. sp³-sp³ estrategia de acoplamiento sp³-sp³



3. Acoplamiento β-Suzuki

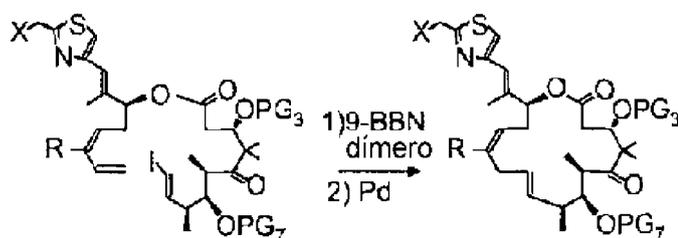
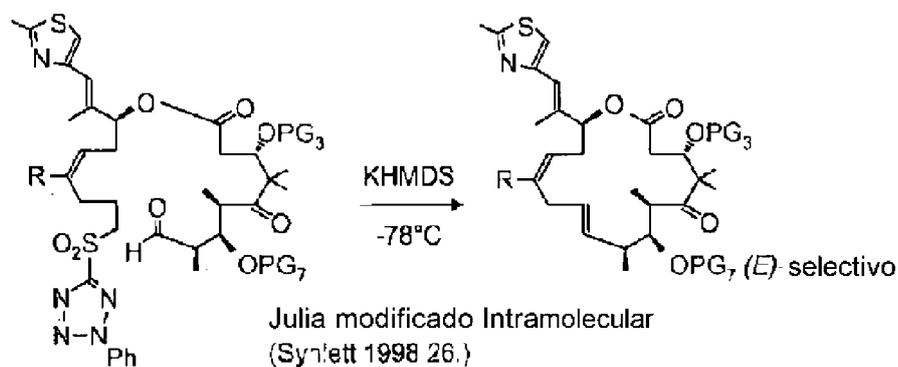
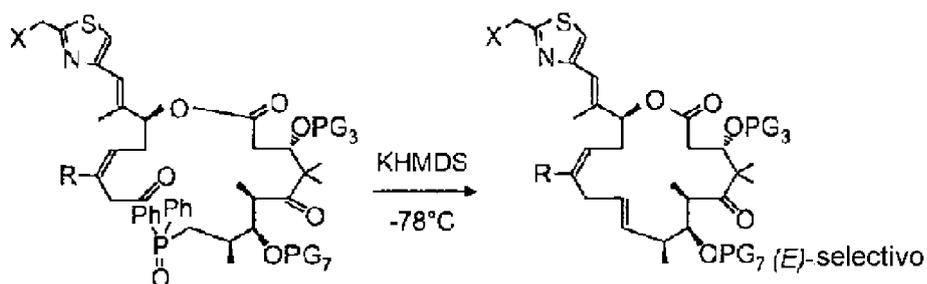


FIG. 6A

4. Estrategia de olefinación de Julia



5. Estrategia de Wadsworth-Emmons



6. Estrategia Macro-Refromatosky

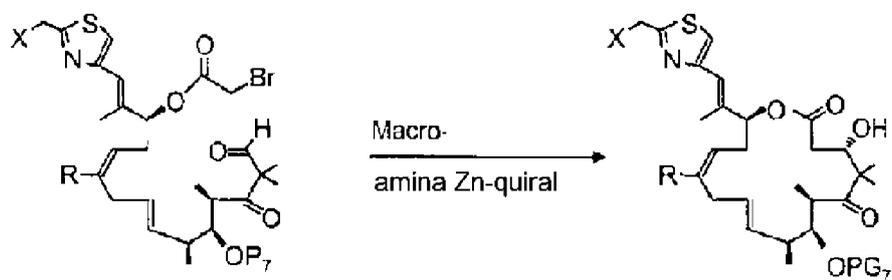
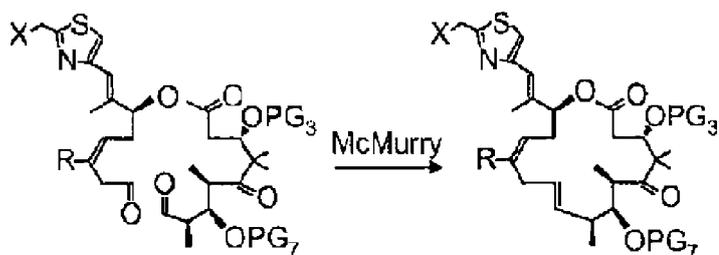


FIG. 6B

7. Estrategia de acoplamiento de McMurry



8. Síntesis de análogo de lactamo

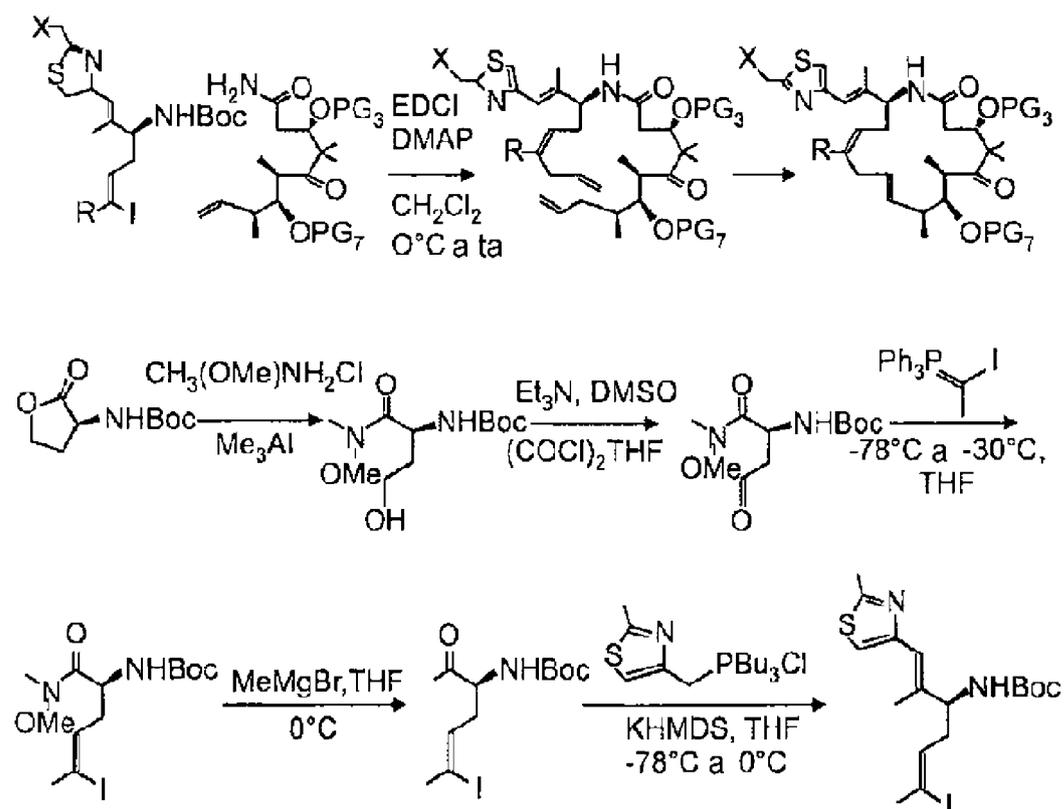


FIG. 6C

Análogos de 9,10-dehidro-12,13-desoxiEpo B:

R: Metil, CF₃, otros sustituyentes alquilo

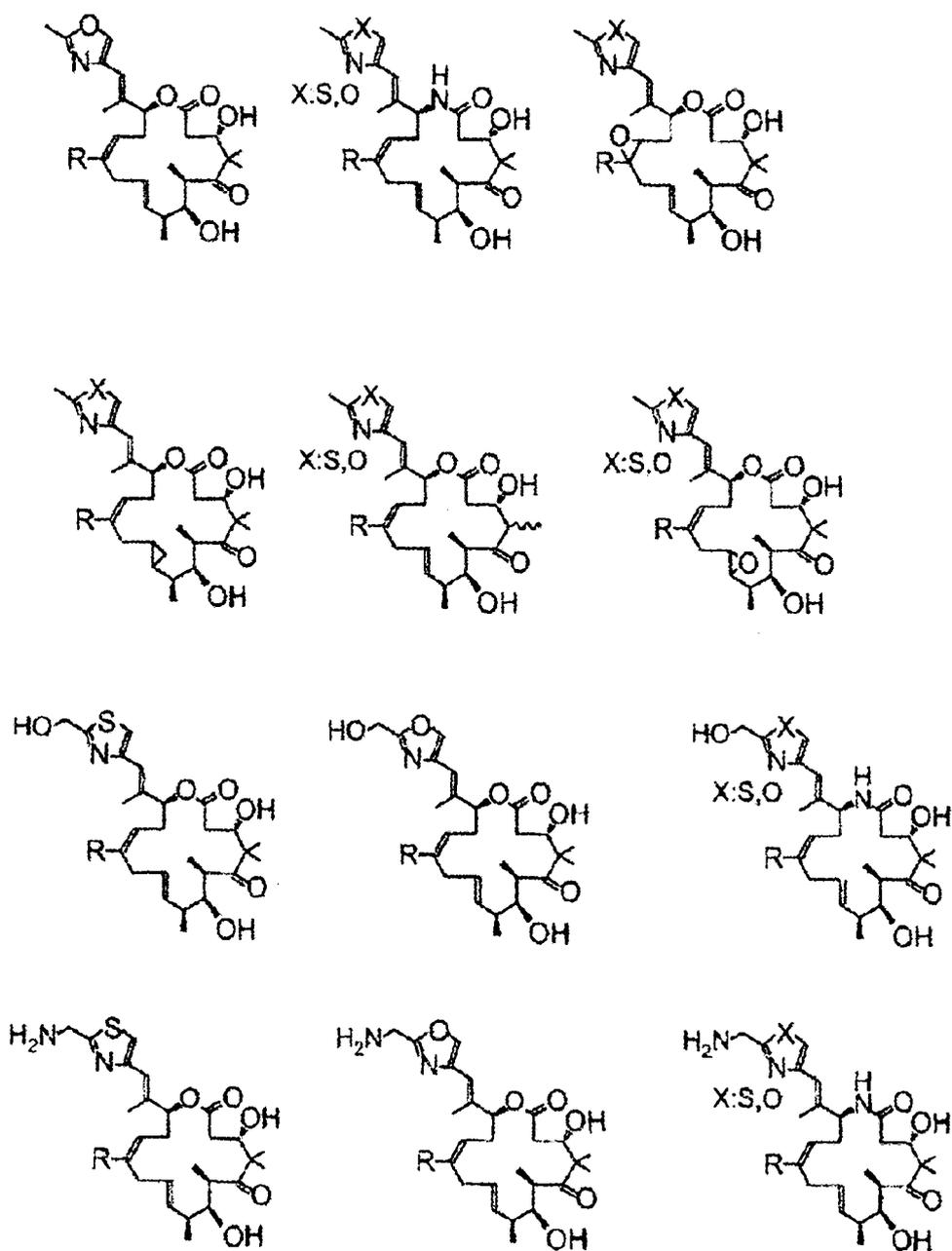


FIG. 7

Efecto terapéutico de 9,10-de-H-dEpoB(#88) y dEpoB(#10) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano (infusión iv, Q2Dx3)

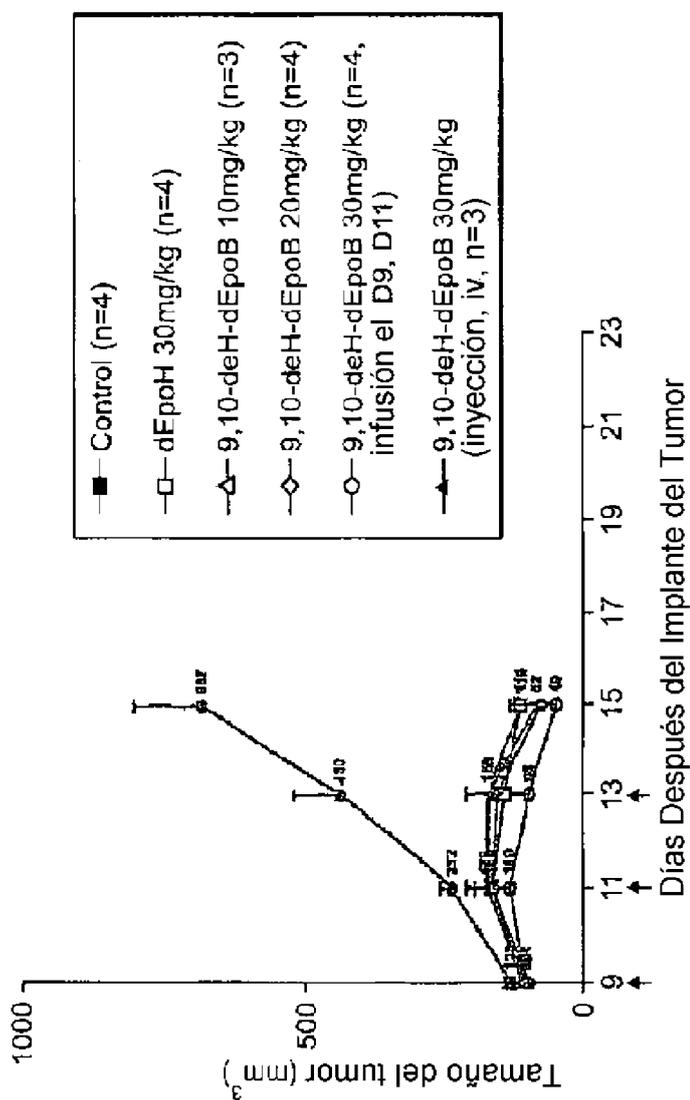


FIG. 8

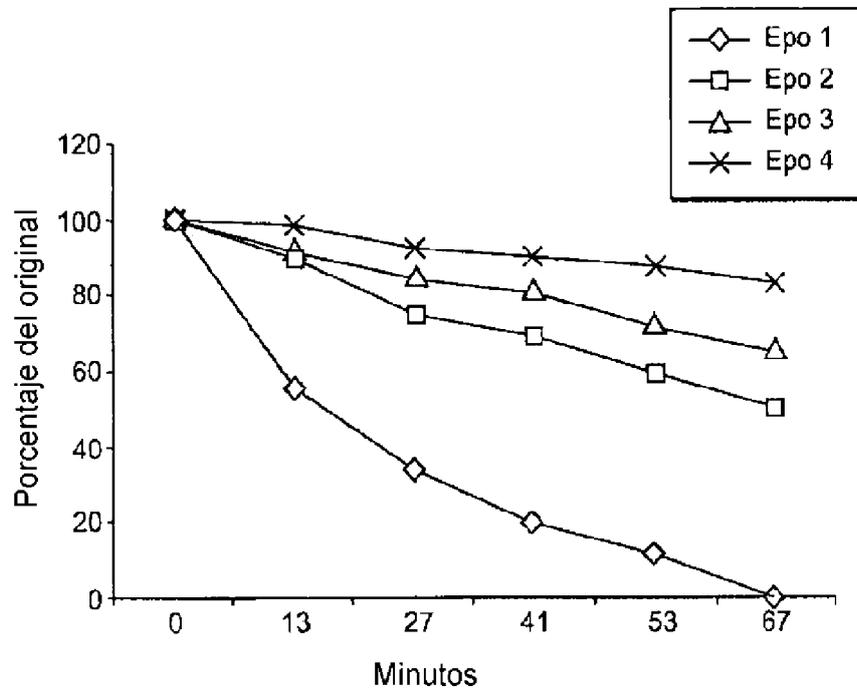


FIG. 9

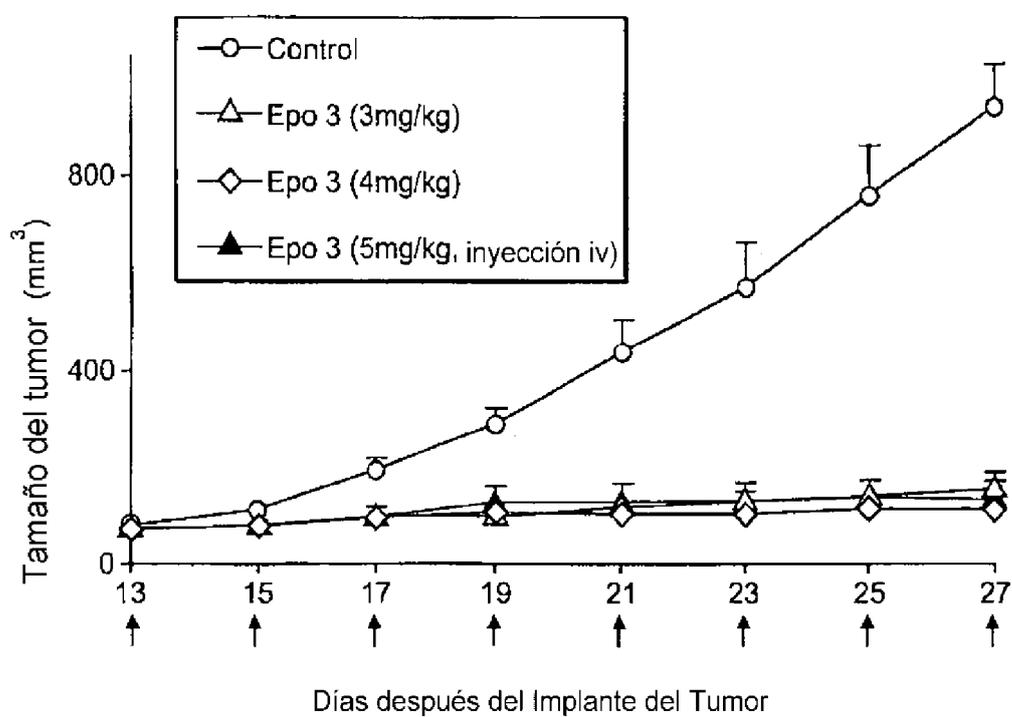


FIG. 10

Potencia de epotilona: frente al crecimiento celular tumoral in vitro e índice terapéutico relativo

Compuesto	Sublíneas de leucemia linfoblástica de células T humanas				CI ₅₀ (µM) para		Carcinoma de Pulmón Humano A549	Carcinoma de Colon Humano HCT-116	Índice terapéutico relativo frente a xenotrasplante de ratones a MTD
	CCRf-CEM		CCRf-CEM/VBL		CCRf-CEM/Taxol				
	CCRf-CEM	CCRf-CEM/VBL	CCRf-CEM/VBL	CCRf-CEM/Taxol	CCRf-CEM/Taxol	CCRf-CEM/Taxol			
dEpoB	0,0056 ±0,0028	0,016 ±0,003 _[2,9x]	0,016 ±0,003 _[2,9x]	0,085 ±0,0055 _[1,5x]	0,0039 ±0,0004	0,0039 ±0,0004	0,0068 ±0,0032	++++	
dEpoF	0,0015 ±0,0001	0,055 ±0,09 _[3,6x]	0,055 ±0,09 _[3,6x]	0,066 ±0,0031 _[4,4x]	0,012 ±0,004	0,012 ±0,004	0,0034 ±0,0006	++++	
EpoB	0,0053 ±0,00017	0,0032 ±0,0012 _[6,05x]	0,0032 ±0,0012 _[6,05x]	0,011 ±0,00008 _[2,1x]	0,0008 ±0,0005	0,0008 ±0,0005	0,0038 ±0,00001	+++	
15-Aza-EpoB	0,0024 ±0,0003	2,08 _[1423x] ±0,92 _[667x]	2,08 _[1423x] ±0,92 _[667x]	0,103 ±0,068 _[43x]	0,040 ±0,0035	0,040 ±0,0035	0,0014 ±0,00009	++	
9,10-deH-dEpoB	0,0009 ±0,0004	0,0042 ±0,0022 _[4,7x]	0,0042 ±0,0022 _[4,7x]	0,0012 ±0,0006 _[1,3x]	0,0089 ±0,00064	0,0089 ±0,00064	0,00094 ±0,00055	++++	
9,10-deH-dEpoF	0,00051 ±0,00009	0,021 ±0,010 _[4,1x]	0,021 ±0,010 _[4,1x]	0,0017 ±0,0010 _[3,3x]	0,00091 ±0,00006	0,00091 ±0,00006	0,00056 ±0,00006	+++	
9,10-deH-EpoB	0,00023 ±0,00002	0,00096 ±0,00064 _[4,2x]	0,00096 ±0,00064 _[4,2x]	0,00041 ±0,00001 _[1,6x]	0,00026 ±0,00004	0,00026 ±0,00004	0,00014 ±0,00001	++++	
26-F ₃ -deH-dEpoB	0,0032 ±0,0003	0,023 ±0,002 _[7,2x]	0,023 ±0,002 _[7,2x]	0,0047 ±0,0010 _[1,5x]	0,0037 ±0,0024	0,0037 ±0,0024	0,0056 ±0,0010	+++++	
26-F ₃ -dEpoB	0,0093 ±0,0052	0,085 ±0,005 _[9,1x]	0,085 ±0,005 _[9,1x]	0,018 ±0,001 _[1,9x]	0,015 ±0,004	0,015 ±0,004	0,012 ±0,001	ND	
Pacitaxel	0,0018 ±0,0005	3,22 ±0,92 _[1,763x]	3,22 ±0,92 _[1,763x]	0,079 ±0,029 _[43,9x]	0,0029 ±0,0003	0,0029 ±0,0003	0,0026 ±0,0009	++++	
Vinblastina	0,00054 ±0,00009	0,389 ±0,074 _[7,20x]	0,389 ±0,074 _[7,20x]	0,0196 ±0,011 _[36,3x]	0,0099 ±0,0018	0,0099 ±0,0018	0,0087 ±0,0007	++++	

FIG. 11

Tabla 2 Efecto de dEpoB, Paclitaxel y F₃-deH-DepoB frente a xenotrasplante MX-1 en ratones desnudos en términos de pérdida de peso corporal y recuperación y desaparición y reincidencia del tumor con respecto a la dosis

Fármaco	Dosificación (mg/kg)	Cambios de peso corporal (%)		Sin tumor después de Q2Dx6 infusión iv-6 horas	Reaparición del tumor 10 días después de suspender la administración
		4 días después de suspender la administración	8 días después de suspender la administración		
dEpoB	30	-25,3 ± 2,1	-9,1 ± 4,1	10/10	5/10
Paclitaxel	20	-23,9 ± 3,7	-8,7 ± 0,7	7/7	3/7
F ₃ -deH-dEpoB	20	-22,4 ± 0,6	-7,3 ± 0,7	4/4	0/4
	30	-27,1 ± 2,7	-17,4 ± 5,5	4/4	0/4

FIG. 12

Efecto terapéutico de 26-tri-F-9, 10-de-HdEPOB(#89) y 9, 10-de-HEPOB(#95) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante (MX-I) de carcinoma mamario humano (infusión iv-6h, n=4, Q2Dx6, & Q2Dx9, respectivamente).

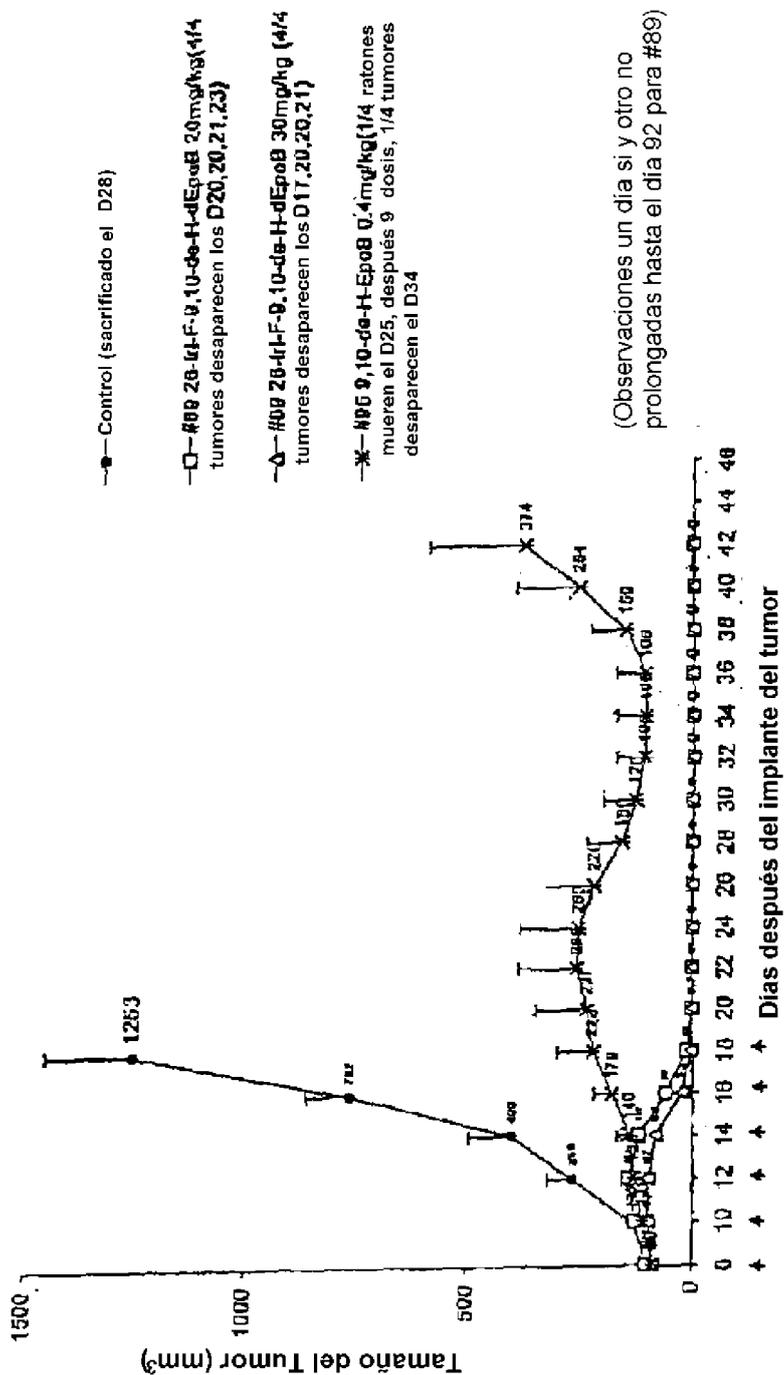


FIG. 13

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano después del tratamiento con 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB(#89) y 9,10-de-HEpoB(#95) (infusión iv-6 horas, n=4, Q2Dx6 & Q2Dx9, respectivamente)

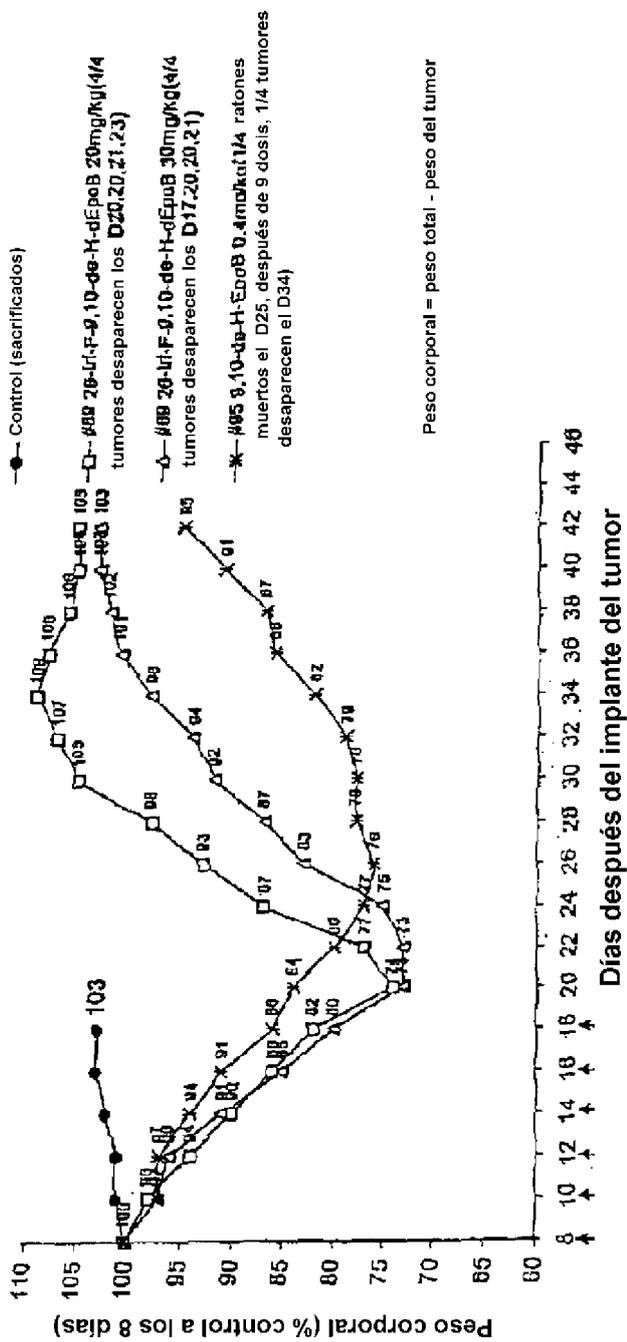


FIG. 14

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

- Control (sacrificados el D26)
- #89 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB 20mg/kg(4/4 tumores desaparecen los D20,20,21,23)
- #89 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB 30 mg/kg (4/4 tumores desaparecen los D17,20,20,21)
- #95 9,10-de-H-EpoB 0,2mg (suspendido el D16, sacrificado el D28)
- ★ #95 9,10-de-H-EpoB 0,4 mg/kg (1/4 ratones muertos después 9 dosis, 1/4 tumores desaparecen el D34)

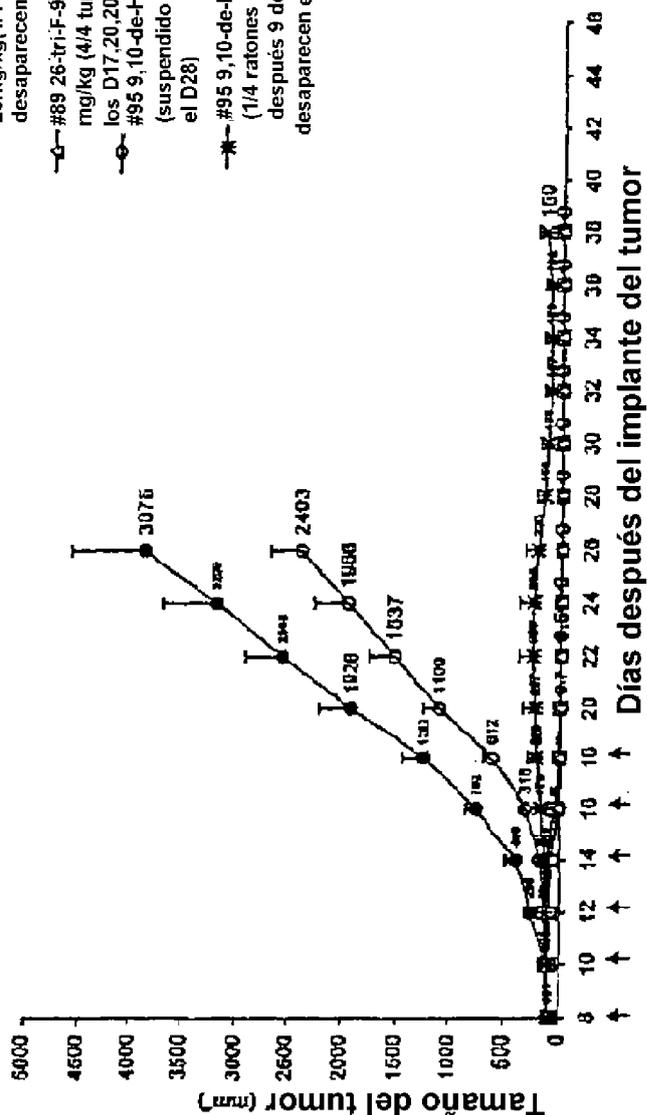


FIG. 15

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano después del tratamiento con 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB(#00) y 9,10-de-H-EpoB(#95) (infusión iv-6 horas, n=4, Q2Dx6 & Q2Dx9, respectivamente)

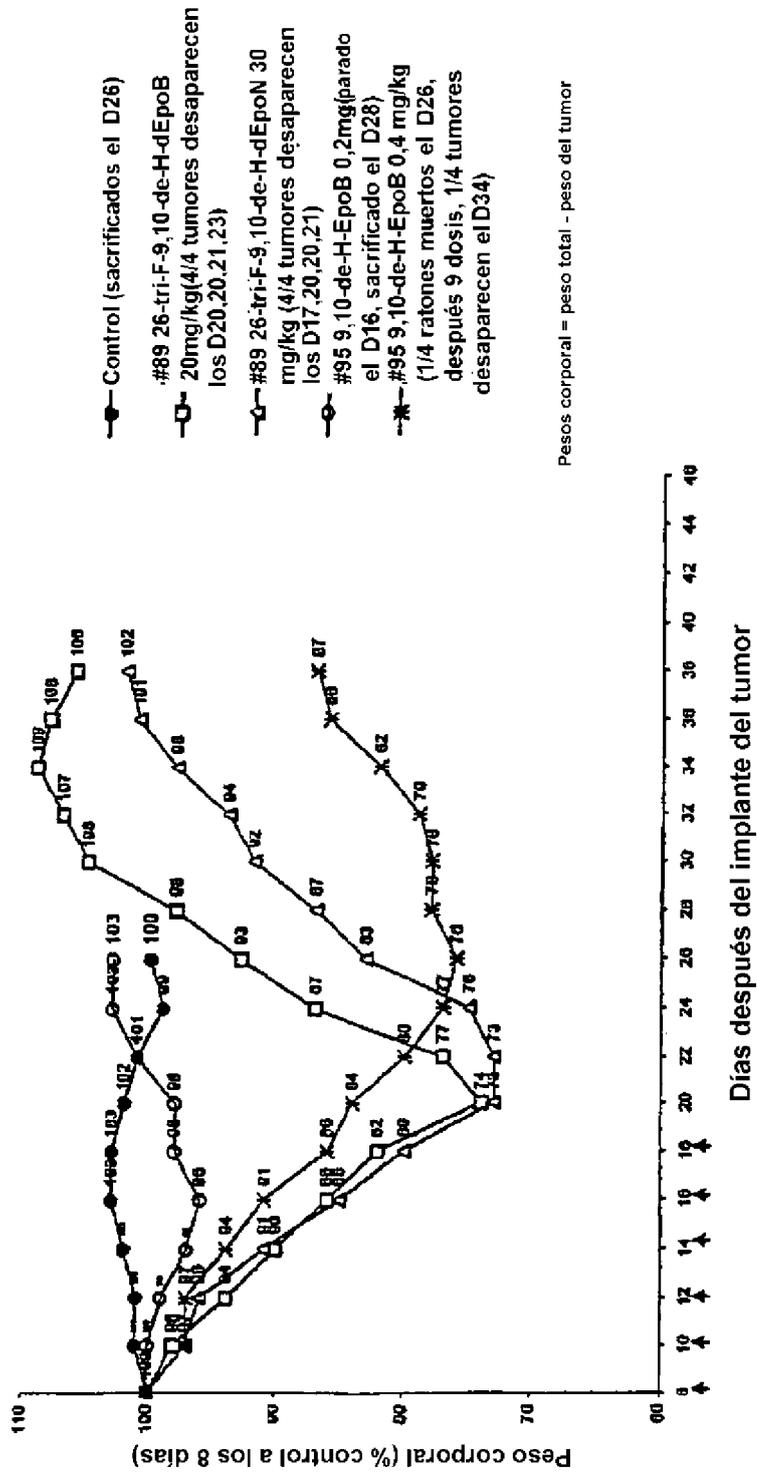


FIG. 16

Efecto terapéutico de 9,10-deH-dEpoB(#88) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante de carcinoma de colon humano (HCT-116) (infusión iv, Q2Dx7, n=3)

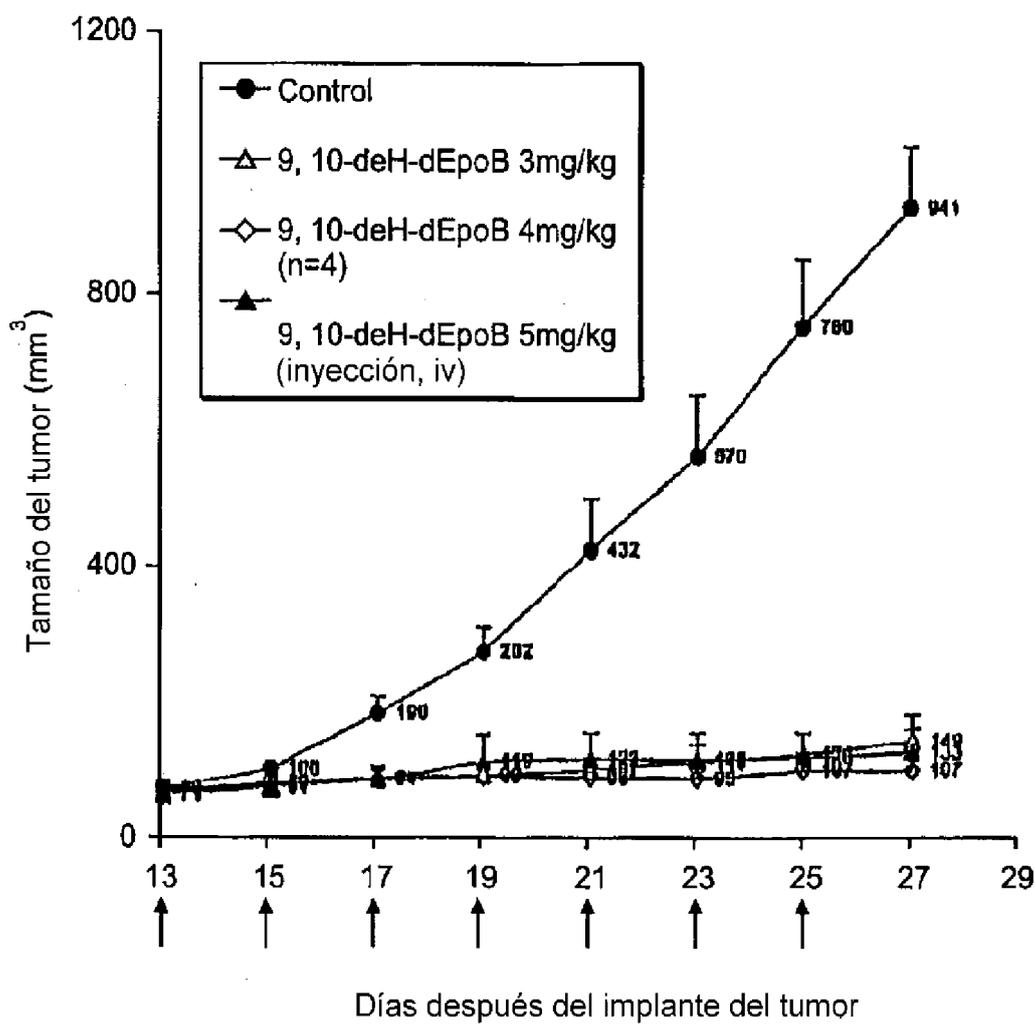


FIG. 17

Efecto terapéutico de 9,10-de-H-dEpoB(#88) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión iv, Q3Dx5, n=4)

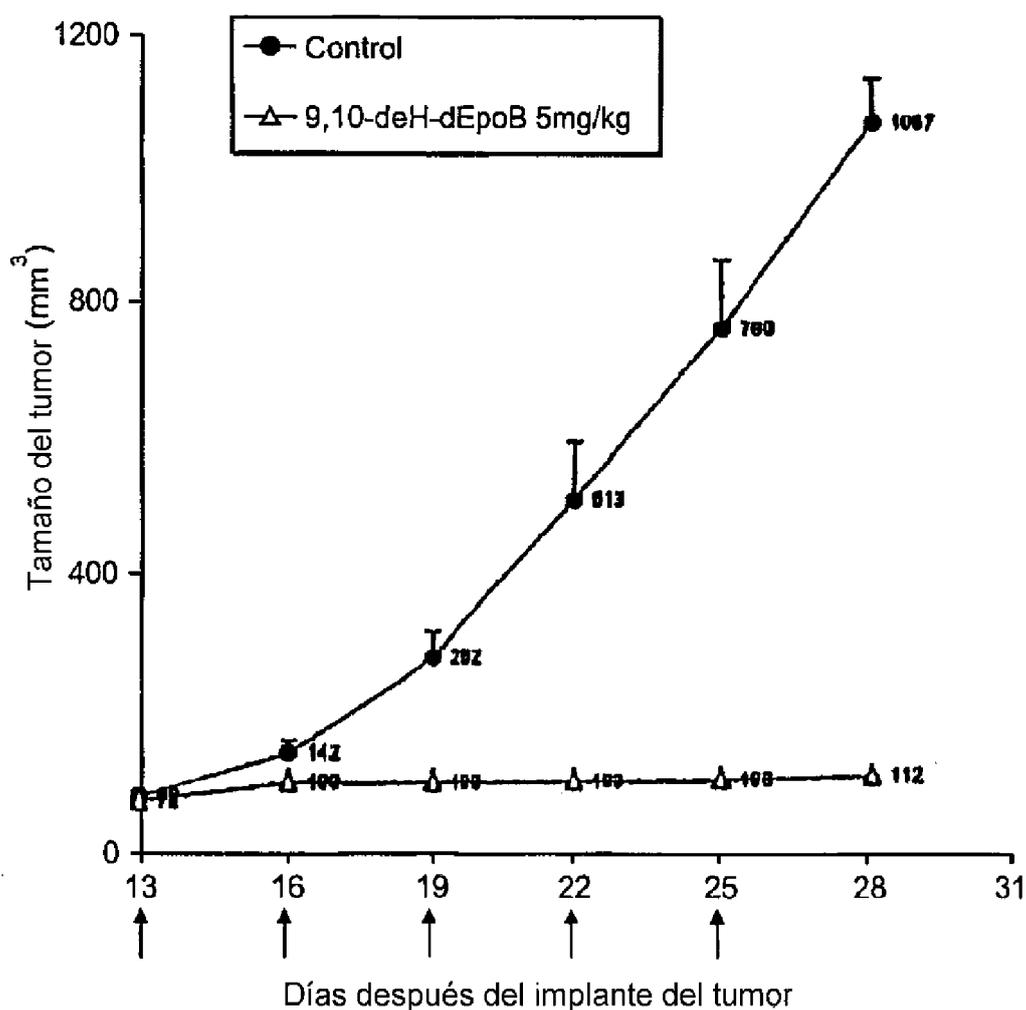


FIG. 18

Efecto terapéutico de 9,10-de-H-dEpoB(#88) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante A549/Taxol (infusión iv - 6 h, Q3Dx7, n=4)

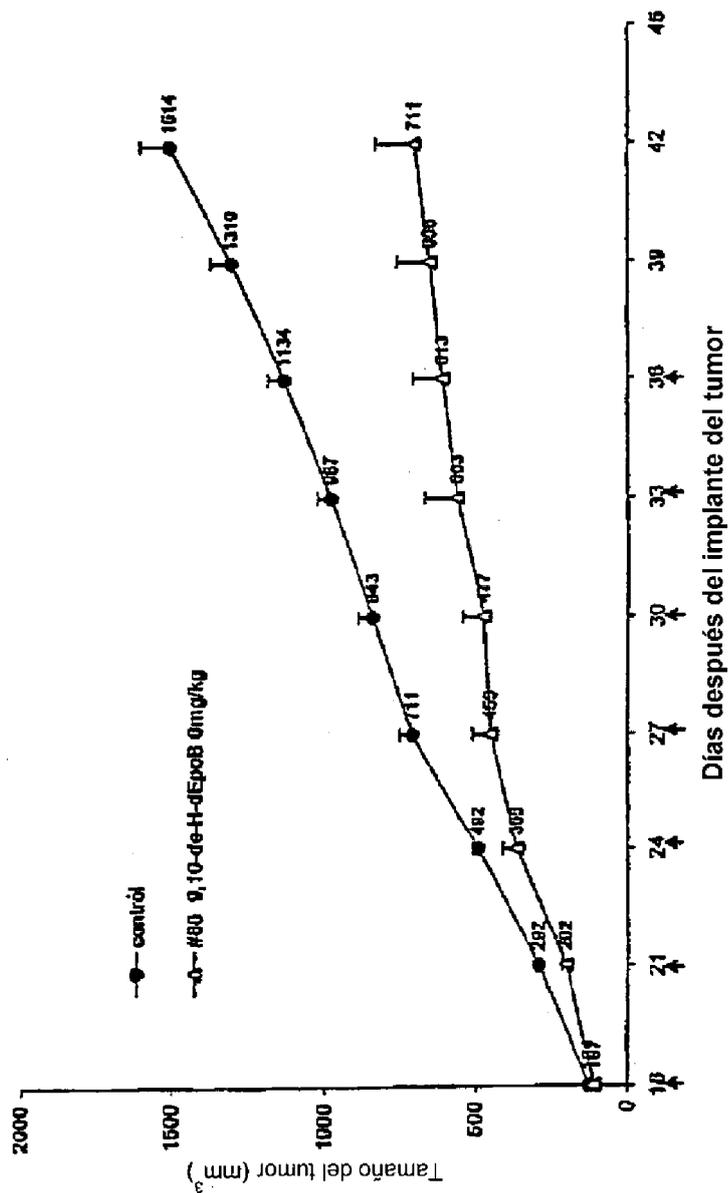


FIG. 19

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante A549/Taxol después del tratamiento con 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB(#89) & 9,10-de-H-dEpoB(#88) (infusión iv - 6h, Q3Dx7, n=4)

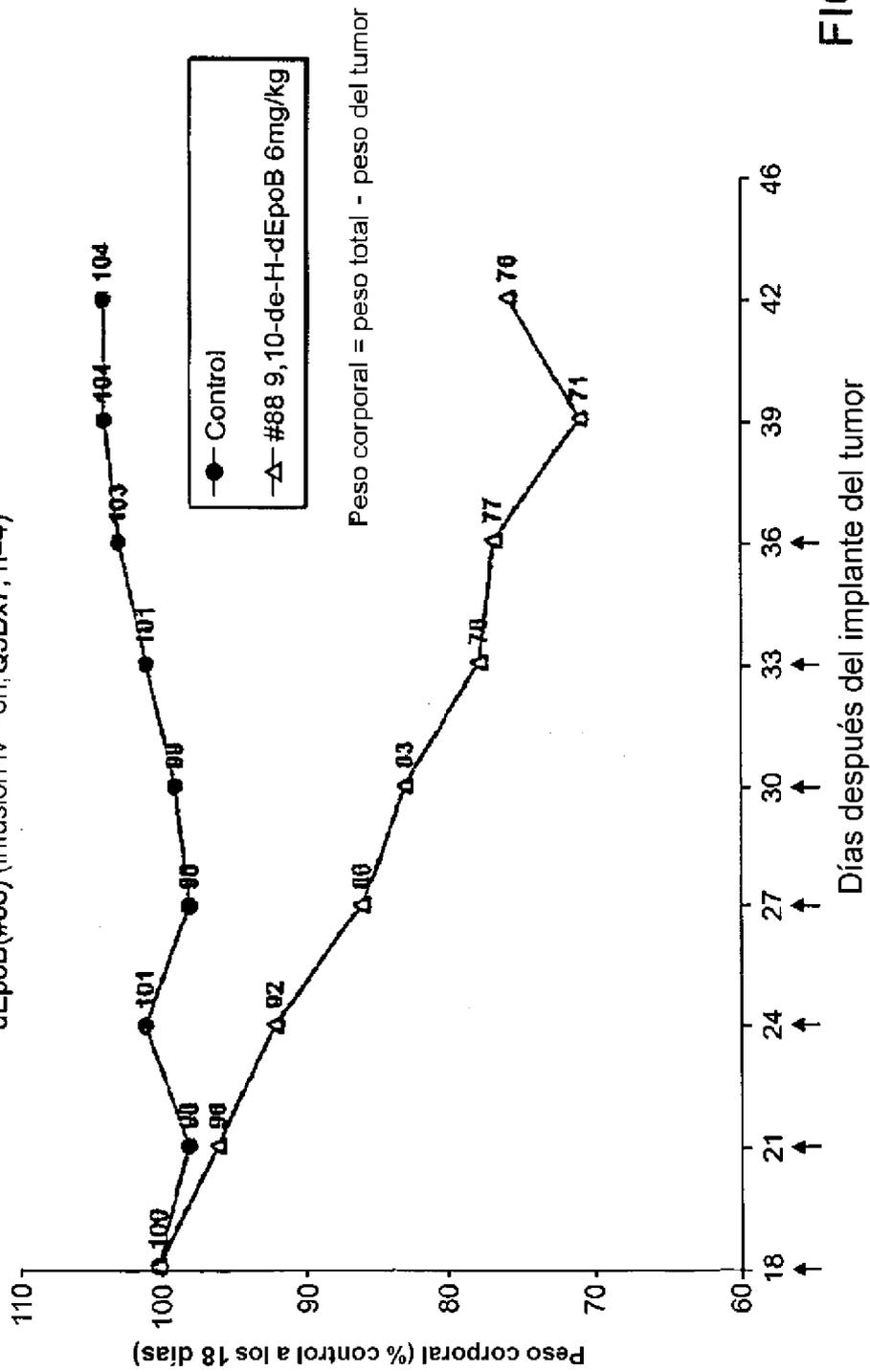


FIG. 20

Efecto terapéutico de 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB(#89) y 9,10-de-H-dEpoB(#88) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante (A549/Taxol) de carcinoma de pulmón humano (infusión iv - 6 h, Q2Dx7, n=4)

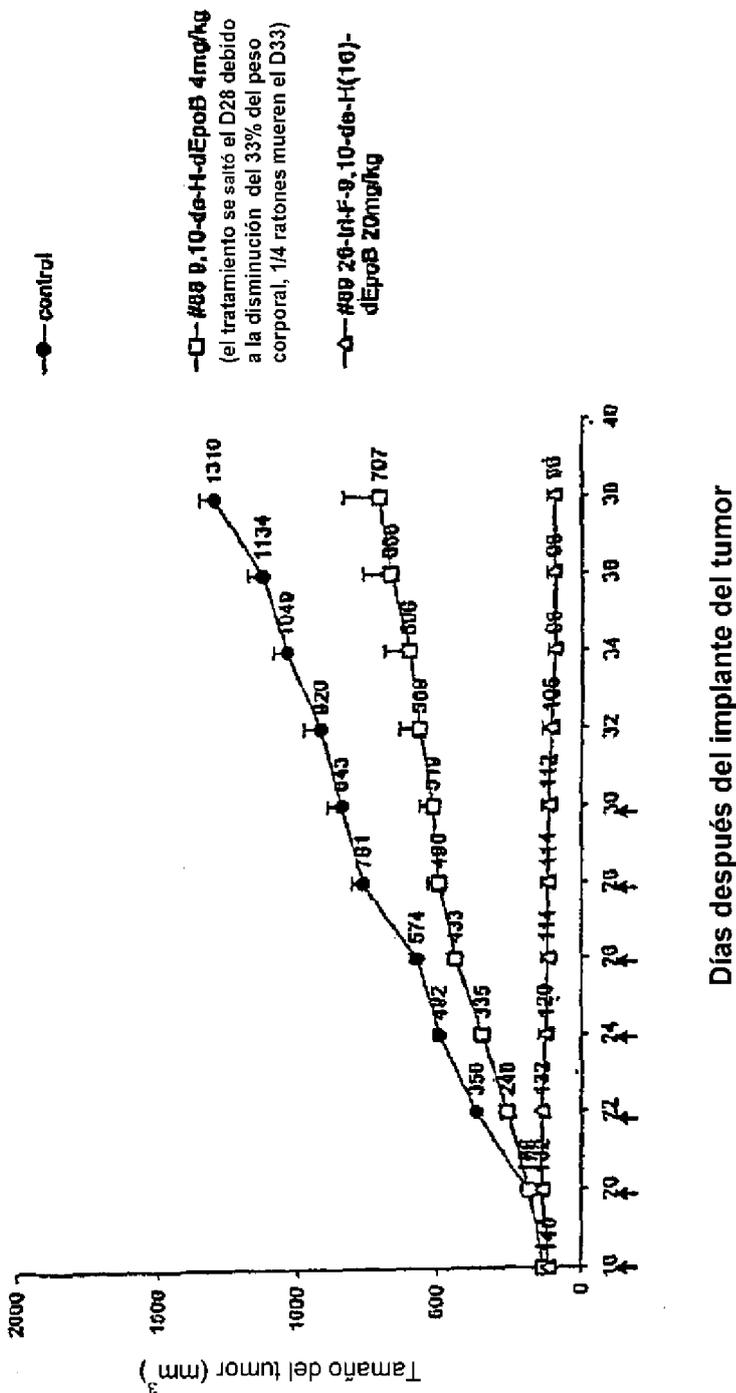


FIG. 21

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante (A549/Taxol) de carcinoma de pulmón humano después del tratamiento con 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB(89) & 9,10-de-H-dEpoB(88) (infusión iv - 6 h, Q2Dx7, n=4)

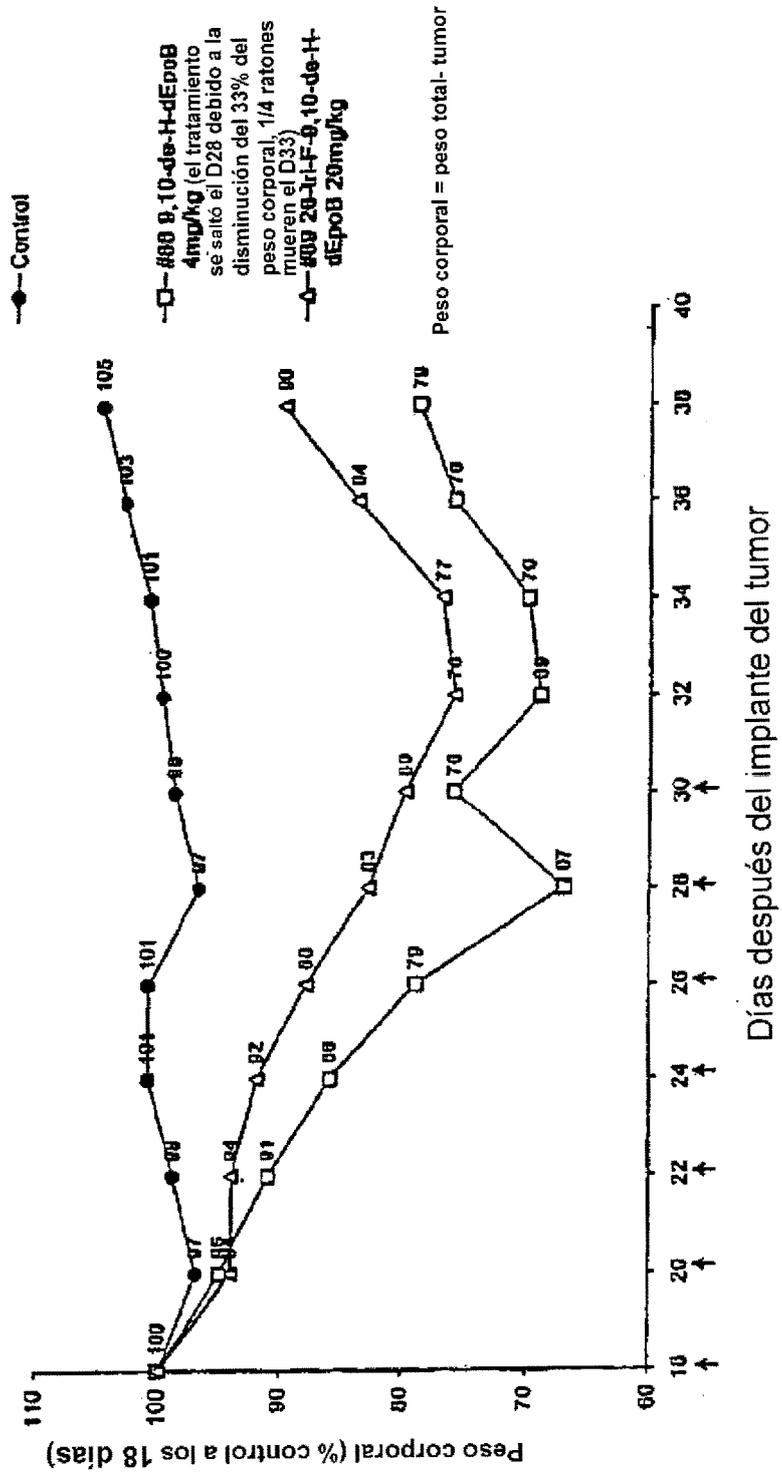


FIG. 22

Efecto terapéutico de 9,10-de-H-EpoB(#95) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión iv - 6 h, n = 4)

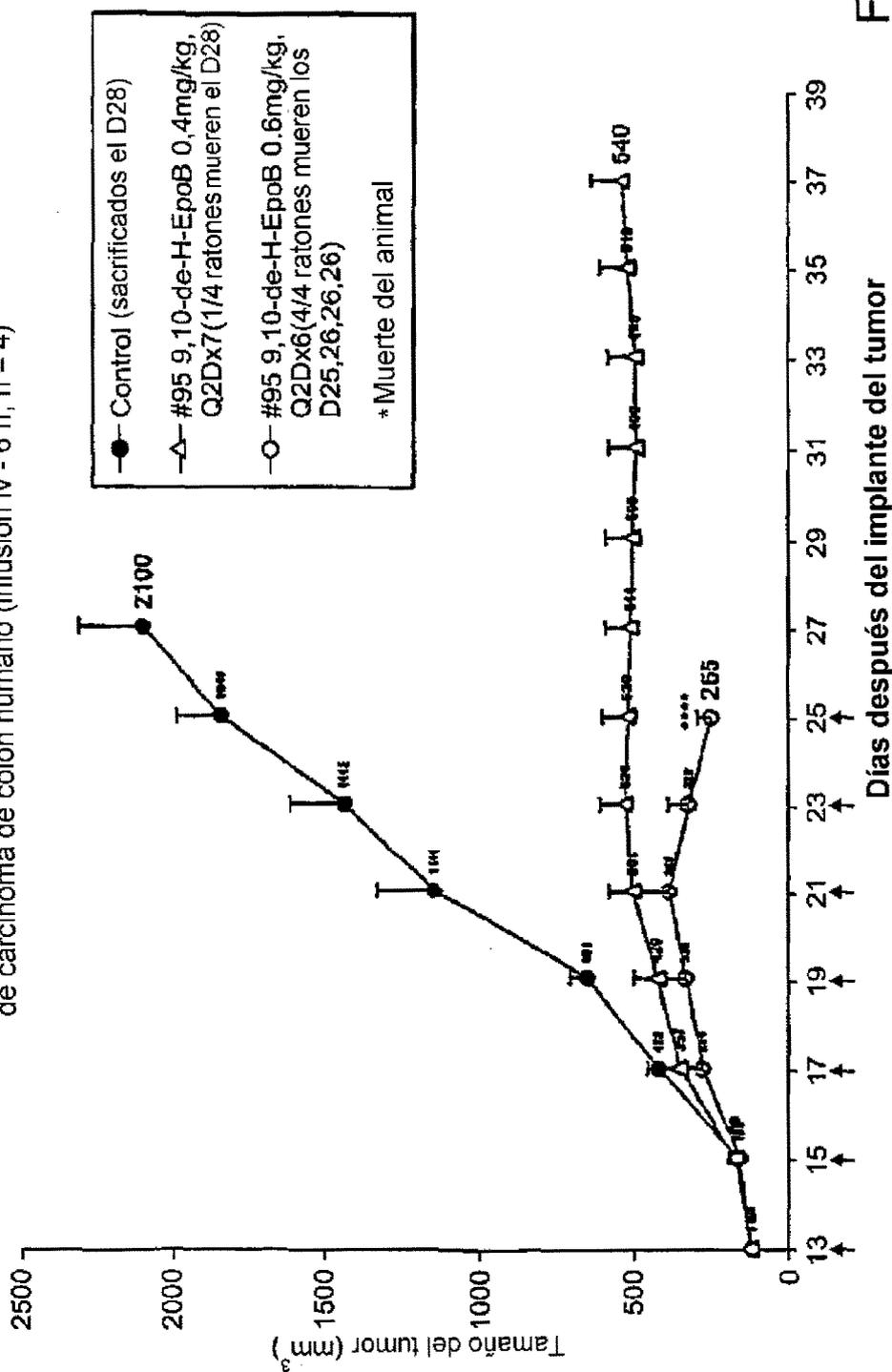


FIG. 23

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante de carcinoma de colon humano HCT-116 después del tratamiento con **9,10-de-H-EpoB(95)** (infusión iv - 6h, n=4)

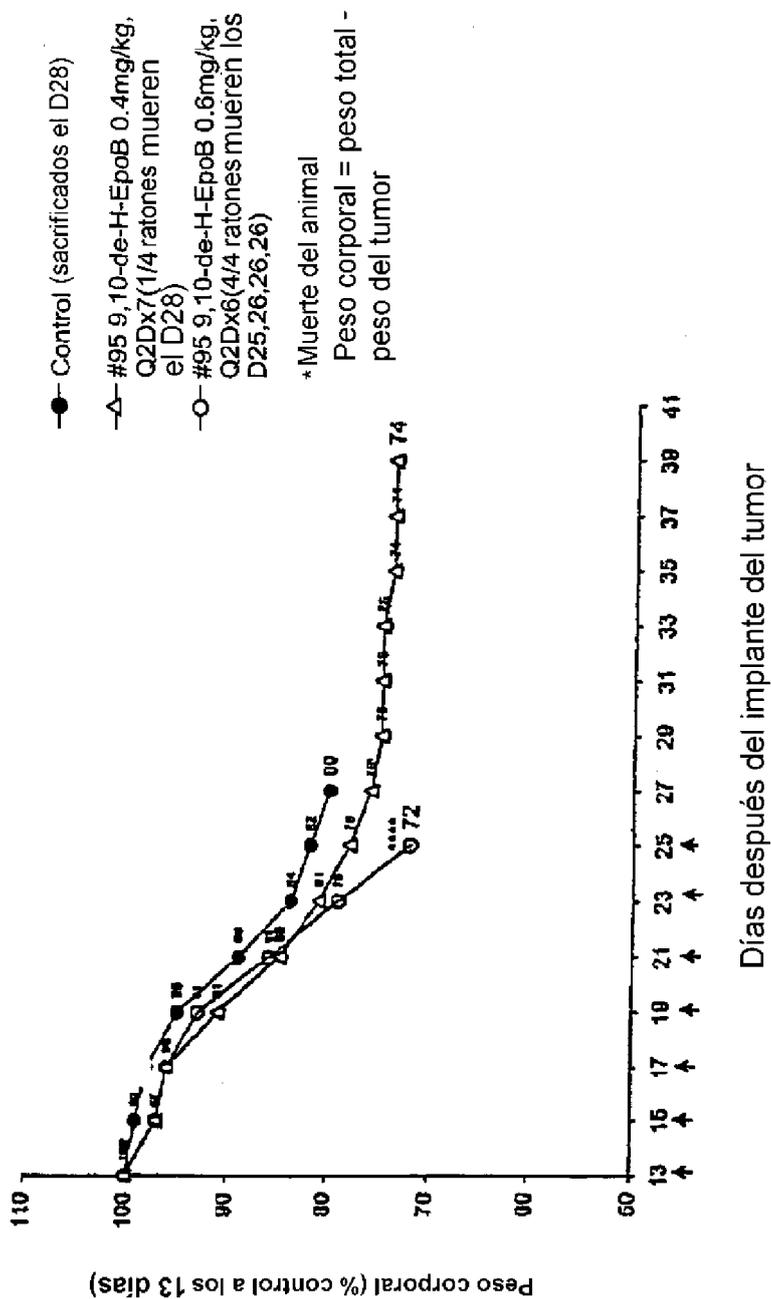


FIG. 24

A

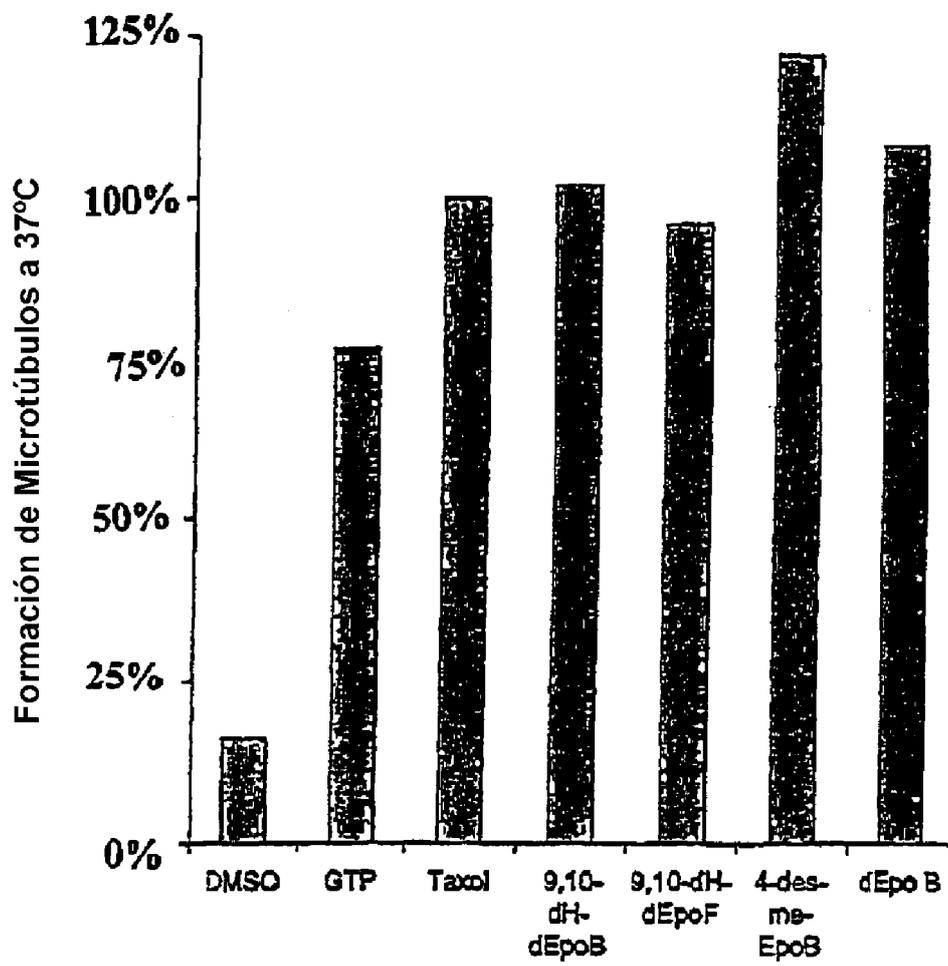


FIG. 25

B

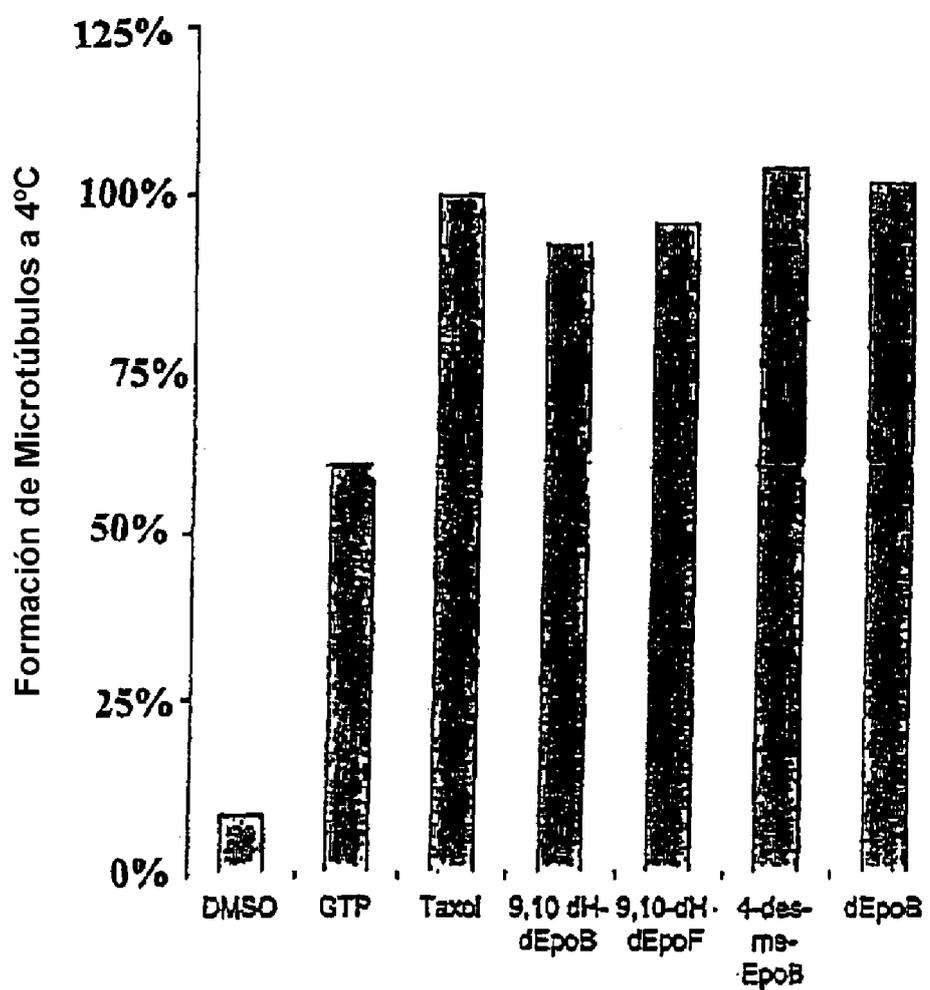


FIG. 26

Efecto terapéutico de 9,10-deH-dEpoB(#88) y dEpoB(#10) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 (infusión iv, Q2Dx6, n = 3)

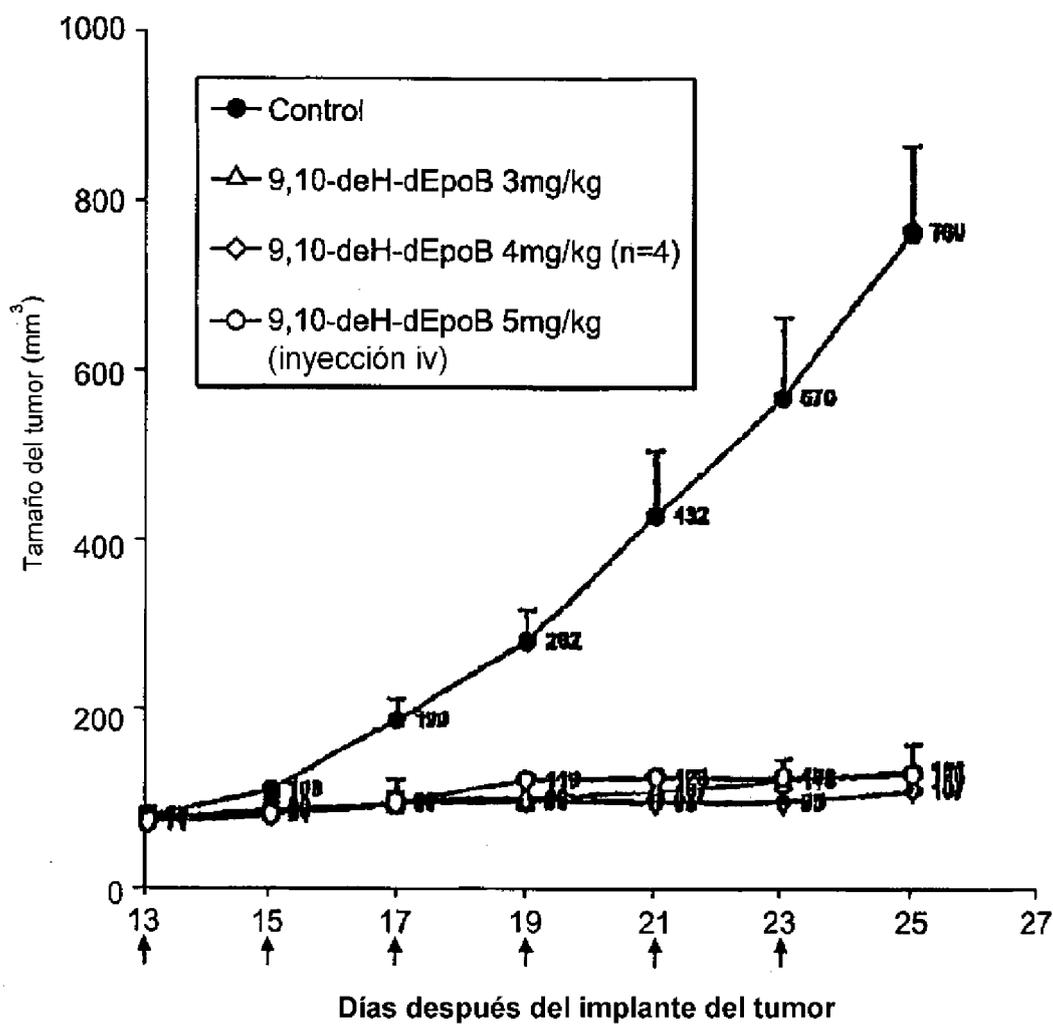


FIG. 27

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 después del tratamiento con 9,10-de-H-dEpoB (#88) y dEpoB(#10) (infusión iv, Q2Dx6, n=3)

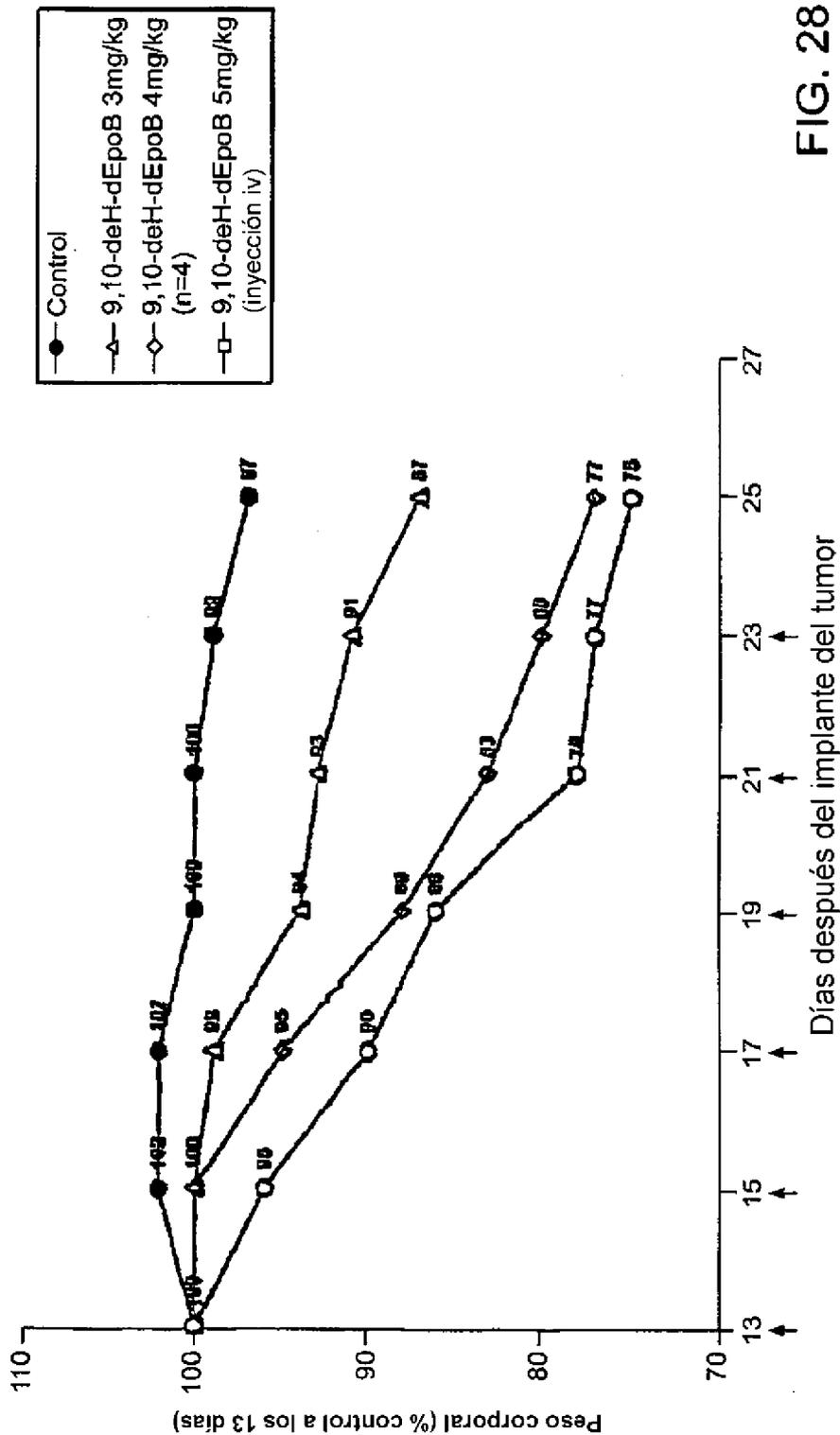


FIG. 28

Efecto terapéutico de 9,10-de-H-dEpoB(#88) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión i.v., Q3Dx4, n=4)

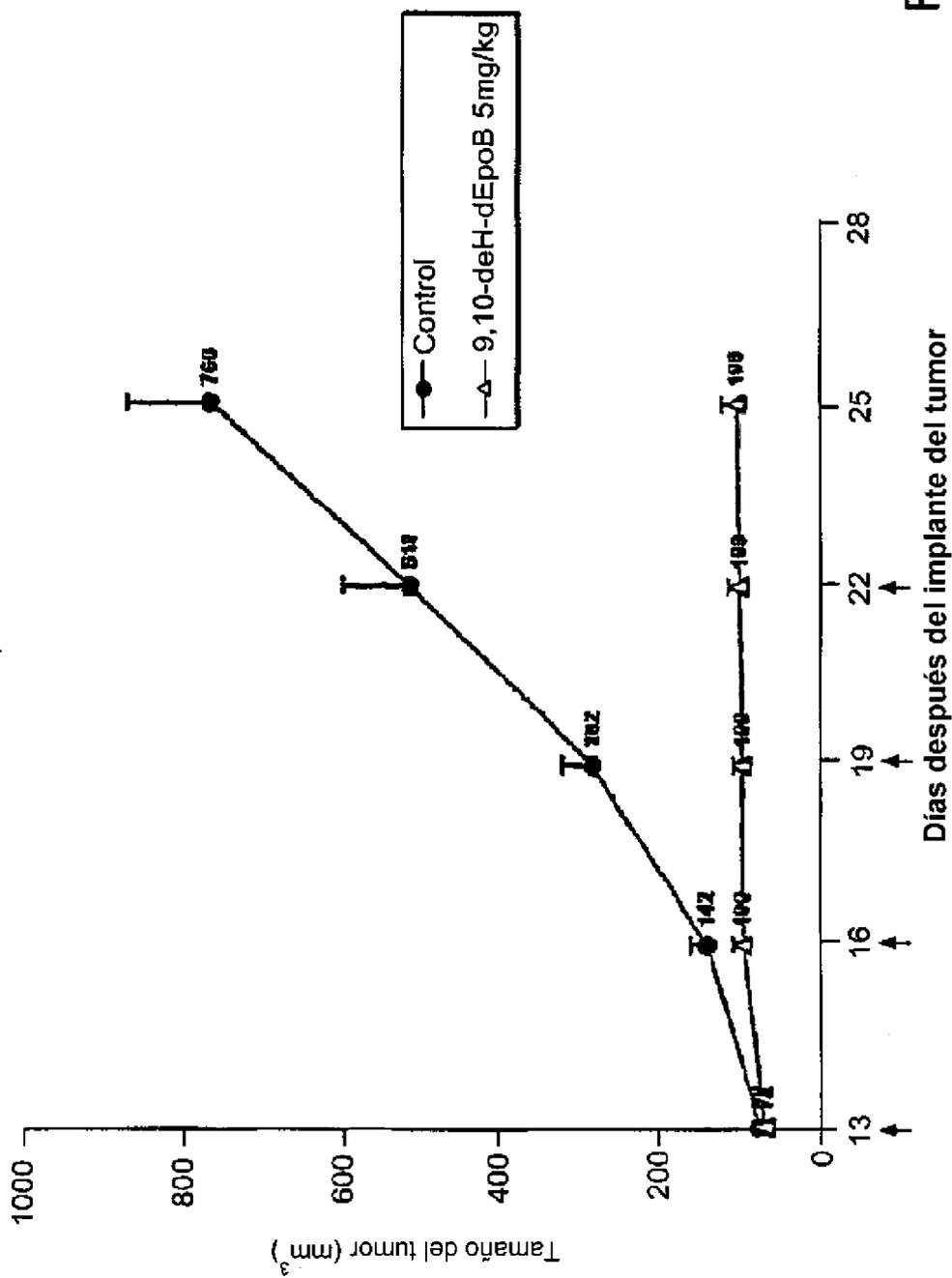


FIG. 29

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenoinjerto HCT-116 de tumor de carcinoma de colon humano después del tratamiento con 9,10-deH-dEpoB (#88) (infusión iv, Q3Dx4, n=4)

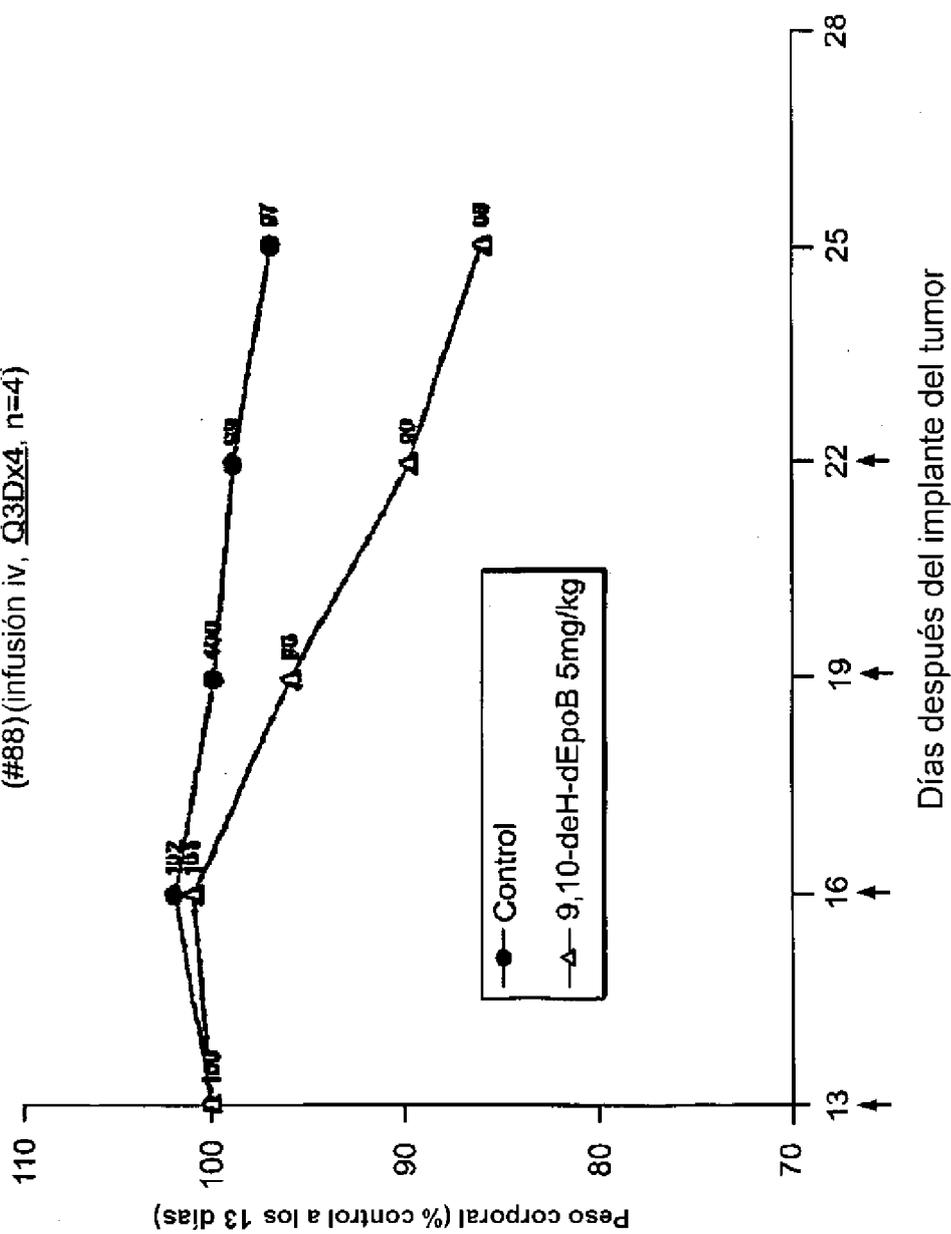


FIG. 30

ES 2 336 937 T3

Valores CI_{50} para las nuevas epitolonas frente al crecimiento celular CCRF-CEM

Compuesto	CI_{50} (μ M) for		
	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol
dEpoB (EpoD)	0,0036±0,0002	0,016±0,003 (μ Eq)	0,0046±0,0002 (μ Eq)
dEpoF	0,0015±0,0001	0,0456 (μ Eq)	0,0035 (μ Eq)
EpoB	0,00062±0,00013	0,0037±0,0011 (μ Eq)	0,0011±0,0001 (μ Eq)
26 metil dEpoB	0,040	0,123 (μ Eq)	0,077 (μ Eq)
11- α -F-dEpoB	0,0285	0,247 (μ Eq)	0,0550 (μ Eq)
11- β -F-dEpoB	0,0980	0,230 (μ Eq)	0,138 (μ Eq)
19-oxazolo-10,11-dehidro-dEpoB	0,0077	0,0227 (μ Eq)	0,0130 (μ Eq)
9,10-deH-[16]dEpoB	0,0009±0,0004	0,0042±0,0022 (μ Eq)	0,0012±0,0006 (μ Eq)
9,10-deH-[16]dEpoF	0,00051±0,00009	0,0106 (μ Eq)	0,00073 (μ Eq)
9,10-deH-[16]EpoB	0,00023±0,00002	0,00082 (μ Eq)	0,00042 (μ Eq)
12,13-epi-9,10-deH-EpoB	0,0134±0,0032	0,0958 (μ Eq)	0,0802 (μ Eq)
12,13-epi-EpoB	0,0830±0,0001	0,4519 (μ Eq)	0,1507 (μ Eq)
9,10-deH-dEpo-Me-cetona	5,02	—	—
26-F ₂ -9,10-deH-[16]dEpoB	0,0035	0,0210 (μ Eq)	0,0057 (μ Eq)
26-F ₂ -dEpoB	0,0041	0,080 (μ Eq)	0,018 (μ Eq)
Taxol	0,0016±0,0005	2,30 (μ Eq)	0,058±0,001 (μ Eq)
Vinblastina	0,00045	0,418±0,076 (μ Eq)	0,026±0,008 (μ Eq)

FIG. 31

Estabilidad Metabólica de Epotilonas (experimentos en curso)

Compuesto	<i>t</i> _{1/2} <i>in vitro</i>				
	Plasma de ratón	Plasma de perro	Plasma Humano	Prep. hígado humano	
dEpoB(EpoD)	31 min	>8 hr	>8 hr	60 min	
26-F ₃ -9,10-deH-dEpoB	150 min	---	---	180 min	
26-F ₃ -dEpoB(MDR)	68 min	---	---	105 min	
26- metil -dEpoB	50 min	>8 hr	---	---	
9,10-deH-dEpoB	90 min	---	---	150 min	

FIG. 32

ES 2 336 937 T3

Efecto terapéutico de compuestos de epotilona frente a xenotrasplantes de tumor humano en ratones con infusión iv - 6 h

Compuesto	Dosis y Programa	Modelo de Xenotrasplante	Efecto Terapéutico		Toxicidad	
			Reducción del volumen del tumor (%)	Proporción de desaparición del tumor	Cambio de peso corporal	Proporción de ratones muertos
dEpoB (#10)	30mg/kg, Q2Dx5, d10-18	MX-1	99,4% (d26)	4/5 (d26)	(control -0,3%) +3,9% (d26)	0/3 (d26)
Epo-490 (#12)	40 mg/kg, Q2Dx5 50 mg/kg, Q2Dx5 d10-18	MX-1	11,9% (d26) 30,5% (d20)	0/3 (d26) 0/4 (d26)	-8,9% (d26) -4,0% (d26)	0/3 (d26) 0/4 (d26)
14-OH-dEpoB (#82)	40 mg/kg, Q2Dx5 d8-16	MX-1	65,8% (d24)	0/4 (d24)	(control +1,6%, d24) +7,9% (d24)	0/4 (d24)
dEpoB (#10)	30 mg/kg, Q2Dx5x2 d8-16 después d20-22	MX-1	99,9% (d24) 100% (d28)	2/4 (d24) 4/4 (d28)	-14,6% (d24) -0,3% (d28)	0/4 (d28)
4-Des-me-EpoB (#83)	1,5 mg/kg, Q2Dx3,x6,x3 d8-16,d21-31,d35-39 3 mg/kg, Q2Dx3 d11-15	MX-1	67% (d17) >97,5% (d45)	0/4 (d17) 1/4 (d45)	(control -3%, d17) -13% (d45)	1/4 (d19) 4/4 (d17)
19-oxa-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% (d27)	0/3 (d39)	(control -1,1%, d27) ^s -18% (d17) -30% (d33) -29% (d27)	3/3 (d24,34,34) 4/4 (d20,21,21,22) 3/3 (d19,20,20)
19-oxa-EpoD (#85)	30 mg/kg, Q2Dx3 d15-19 40 mg/kg, Q2Dx3 d15-19	HCT-116	71,9% (d27)	0/4 (d39)	-16% (d27) ^p -28% (d35) -20% (d27) -30% (d35)	0/4 (d39) 0/3 (d39)
Epo[17]-490 (#70) (Epo[17]-490- del-EpoB)	50 mg/kg, Q2Dx3 después 80 mg/kg, Q2Dx1 después 100 mg/kg, Q2Dx1 d10-14,d16,d18	MX-1	11,3% (d22)	0/3 (d22)	(control +2,1%, d22) +2,1% (d22)	0/3 (d22)
Epo[18]-490 (#76) (Epo[18]-490- del-EpoB)	80 mg/kg, Q2Dx5 d10-18	MX-1	13,2% (d24)	0/3 (d24)	(control +4,7%, d24) -4,4% (d24)	0/3 (d24)
27-F ₂ -EpoD(17) (#78)	60 mg/kg, Q2Dx3 después 80 mg/kg, Q2Dx2 d10-14,d16-18	MX-1	4,8% (d20)	0/4 (d20)	(control -6,6%, d20) -7,4% (d20)	0/4 (d20)
26-Me-EpoD (#25)	50 mg/kg, Q2Dx5,x1 d12-20,d24	MX-1	65,7% (d26)	0/2 (d26)	(control +3,8%, d26) +1,7% (d26)	0/2 (d26)
14-Me-EpoD (#81)	30 mg/kg, Q2Dx5,x1 d12-20,d24	MX-1	48,9% (d26)	0/3 (d28)	-1,2% (d26)	0/3 (d28)
17-Oxazol-Epo-490 (#84) (17-oxazol- Epo-490)	30 mg/kg, Q2Dx7 d22-34 40 mg/kg, Q2Dx7 d22-34	HCT-116	43,2% (d44)	0/3 (d44)	(control -14%, d44) ^s -18% (d44) -18% (d44)	0/3 (d44) 0/3 (d44)

FIG. 33

Efecto terapéutico de 9,10-de-H-EpoB(#95) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante de tumor HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión iv - 6 h, Q2Dx7, n = 4)

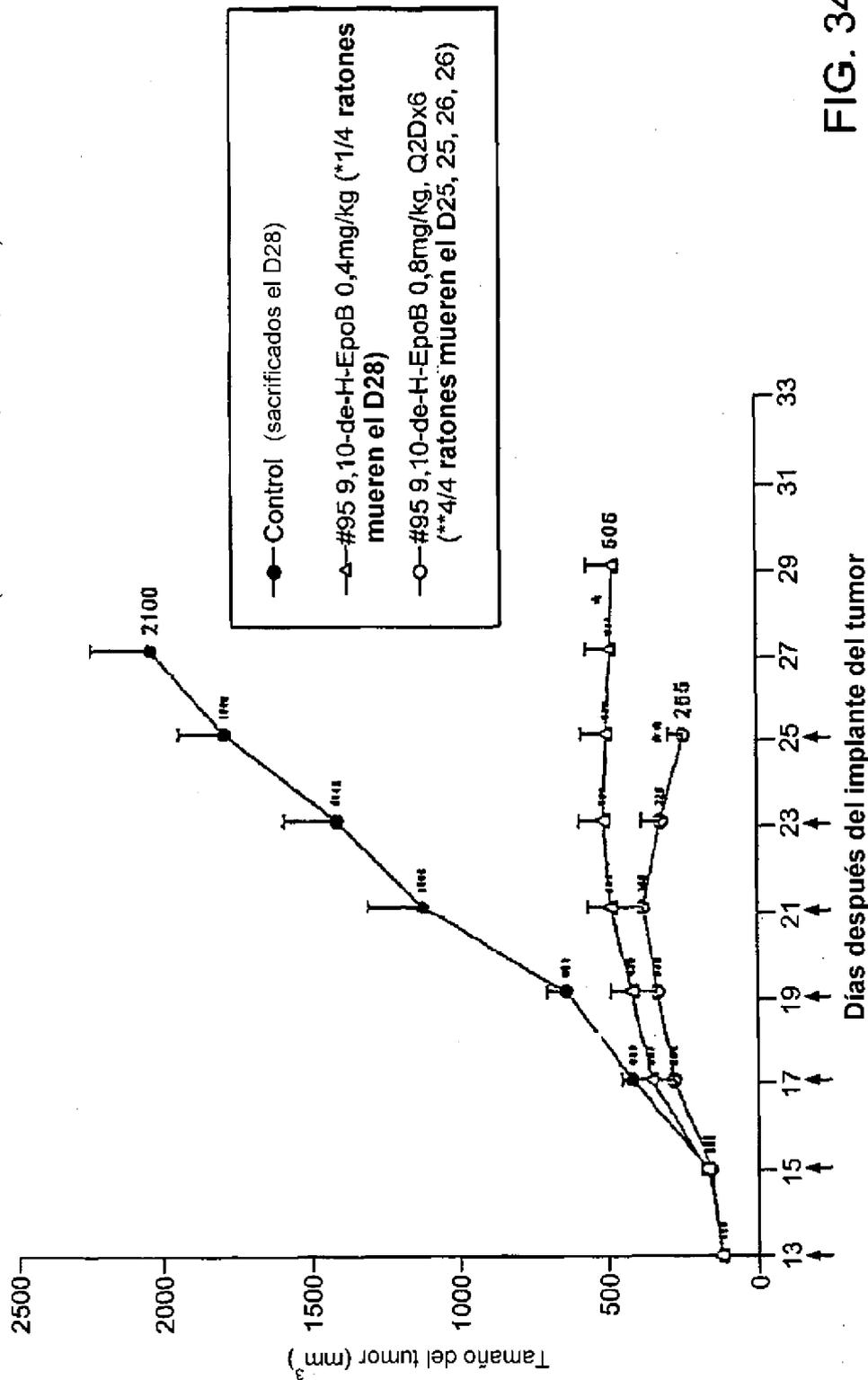


FIG. 34

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante de tumor HCT-116 de carcinoma de colon humano después del tratamiento con 9,10-de-H-EpoB(#95) y oxazol-EpoB (#95) (infusión iv - 6 h, Q2Dx7, n = 4)

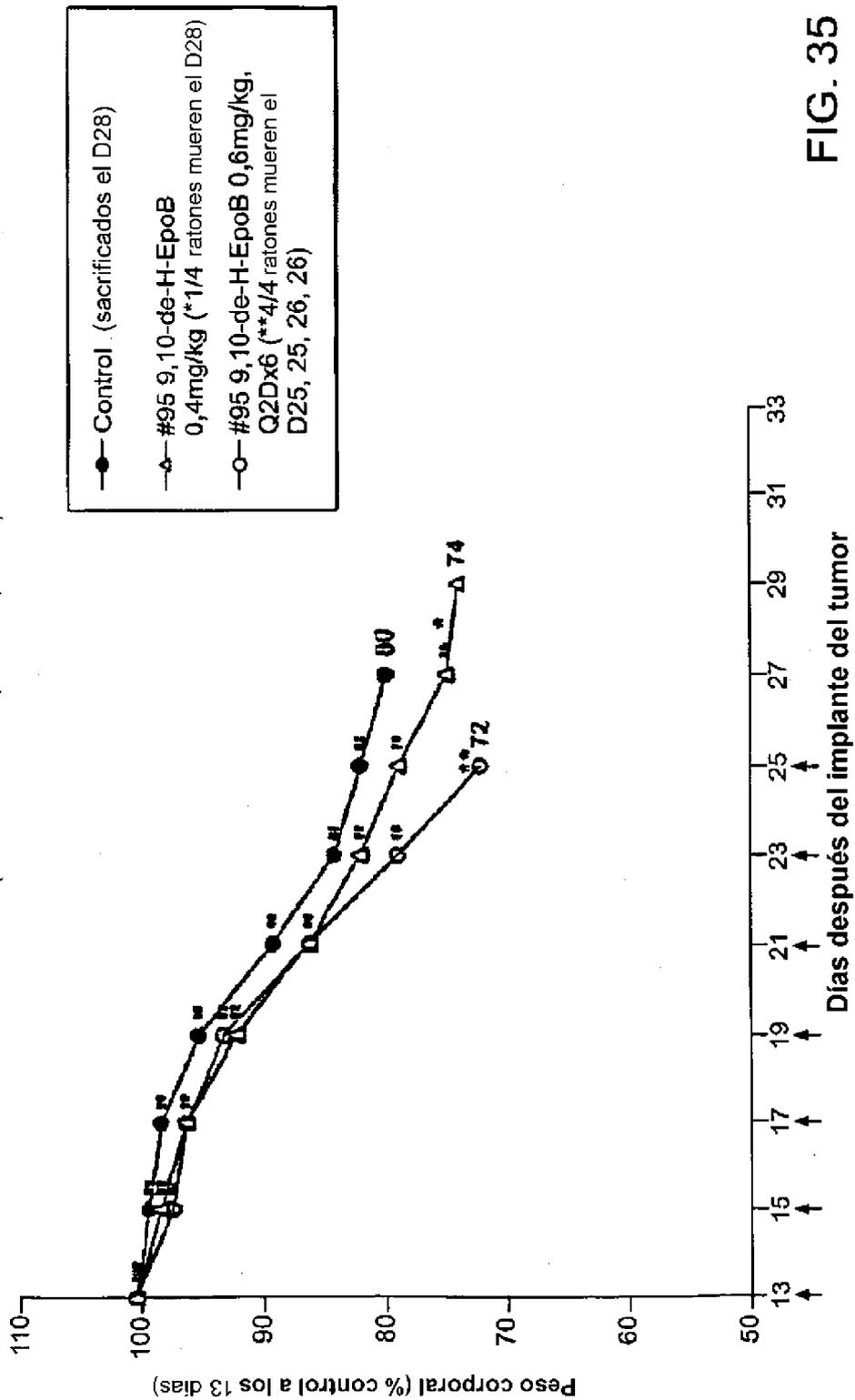


FIG. 35

Efecto terapéutico de 26-tri-F-9,10-de-H-dEpoB(#89) y 9,10-de-H-dEpoB(#88) en ratones desnudos de portadores de xenotrasplante A549/Taxol (infusión iv - 6 h, Q2Dx4)

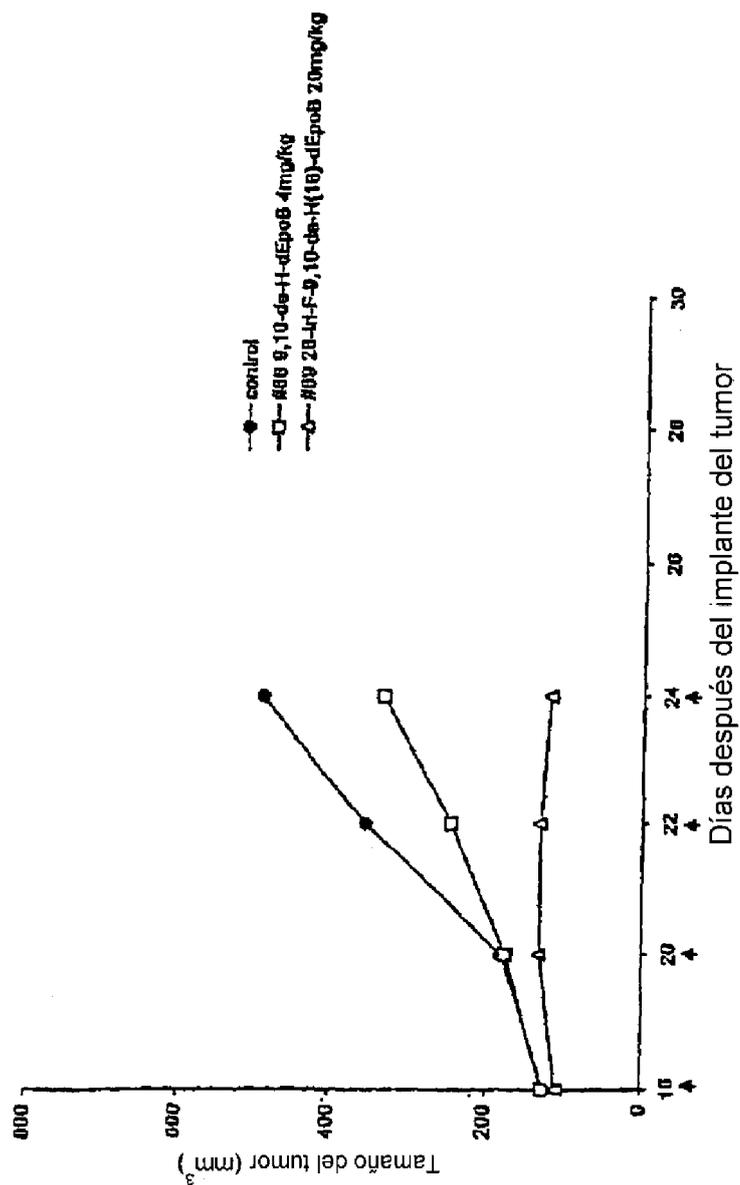


FIG. 36

Efecto terapéutico de 9,10-de-H-dEpoB(#88) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante A549/Taxol (infusión iv- 6 h, Q3Dx3)

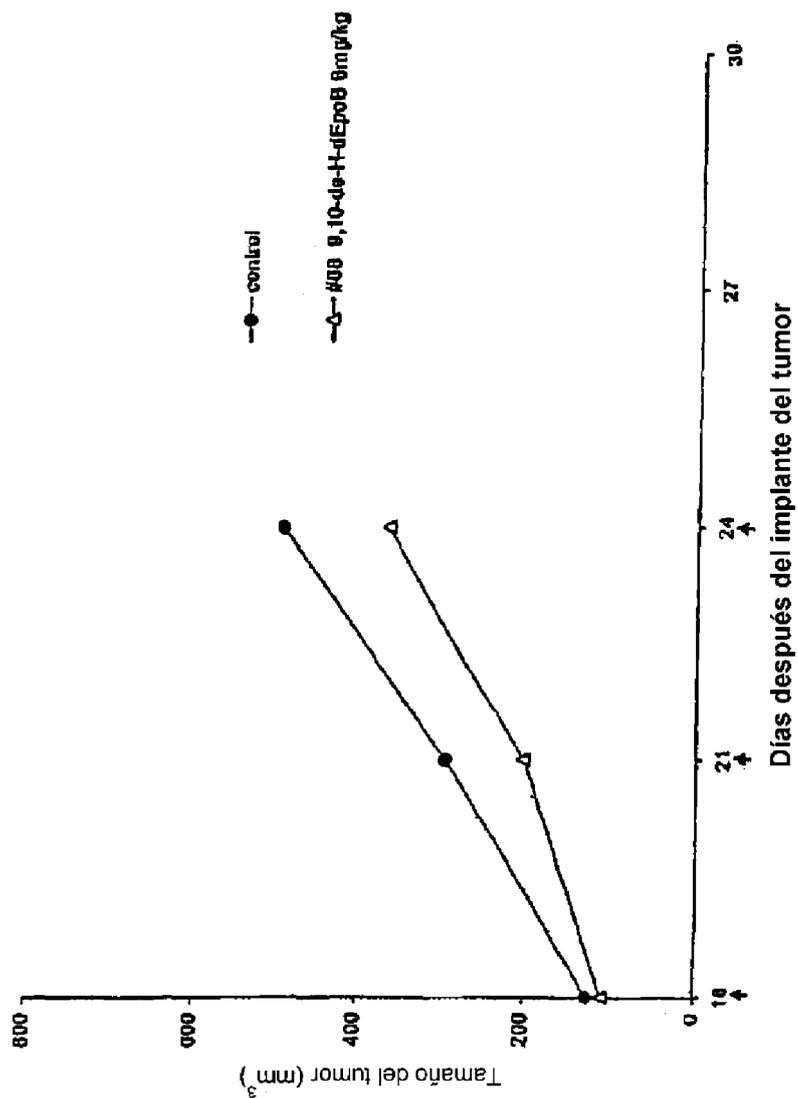


FIG. 37

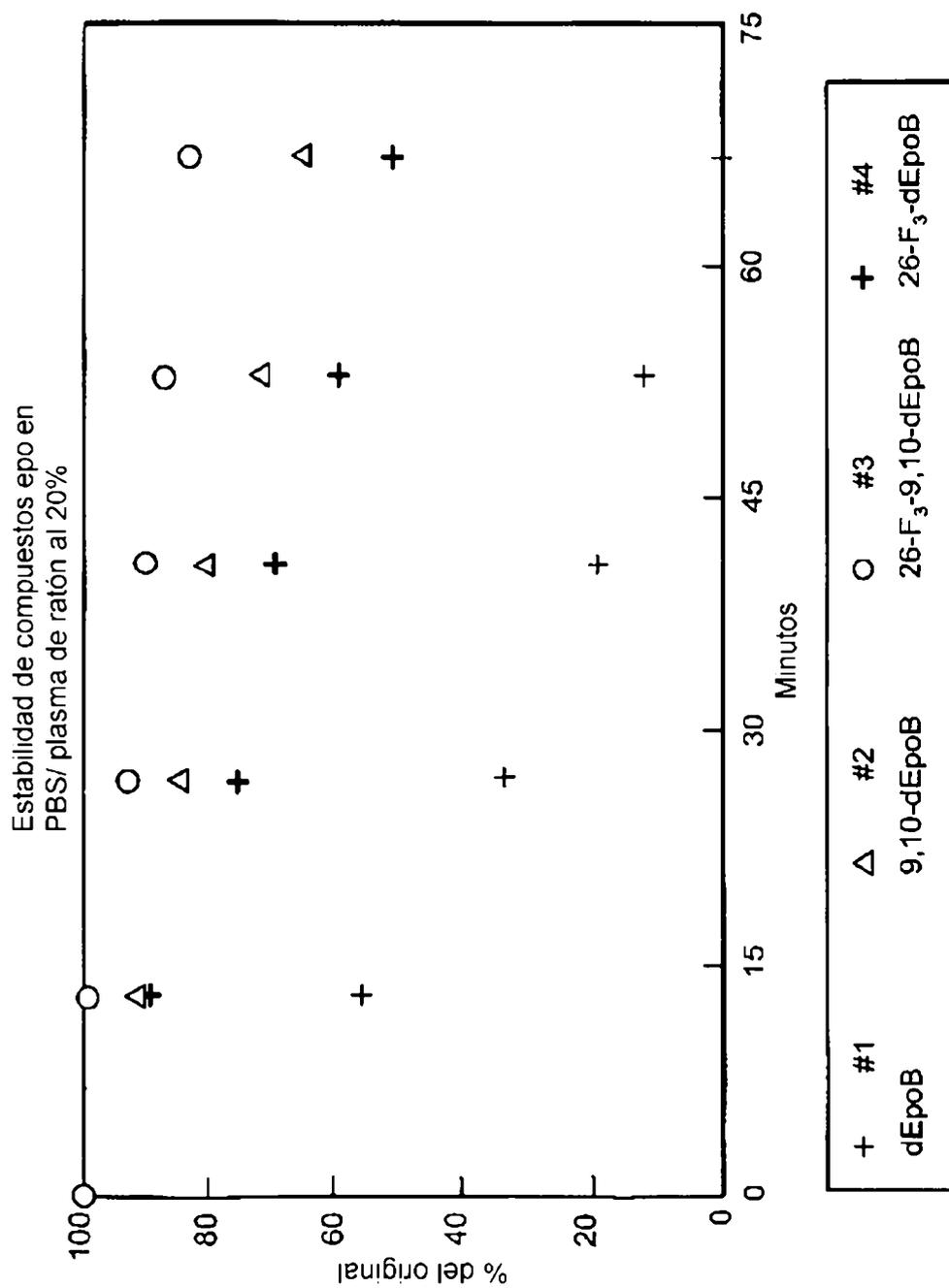


FIG. 38

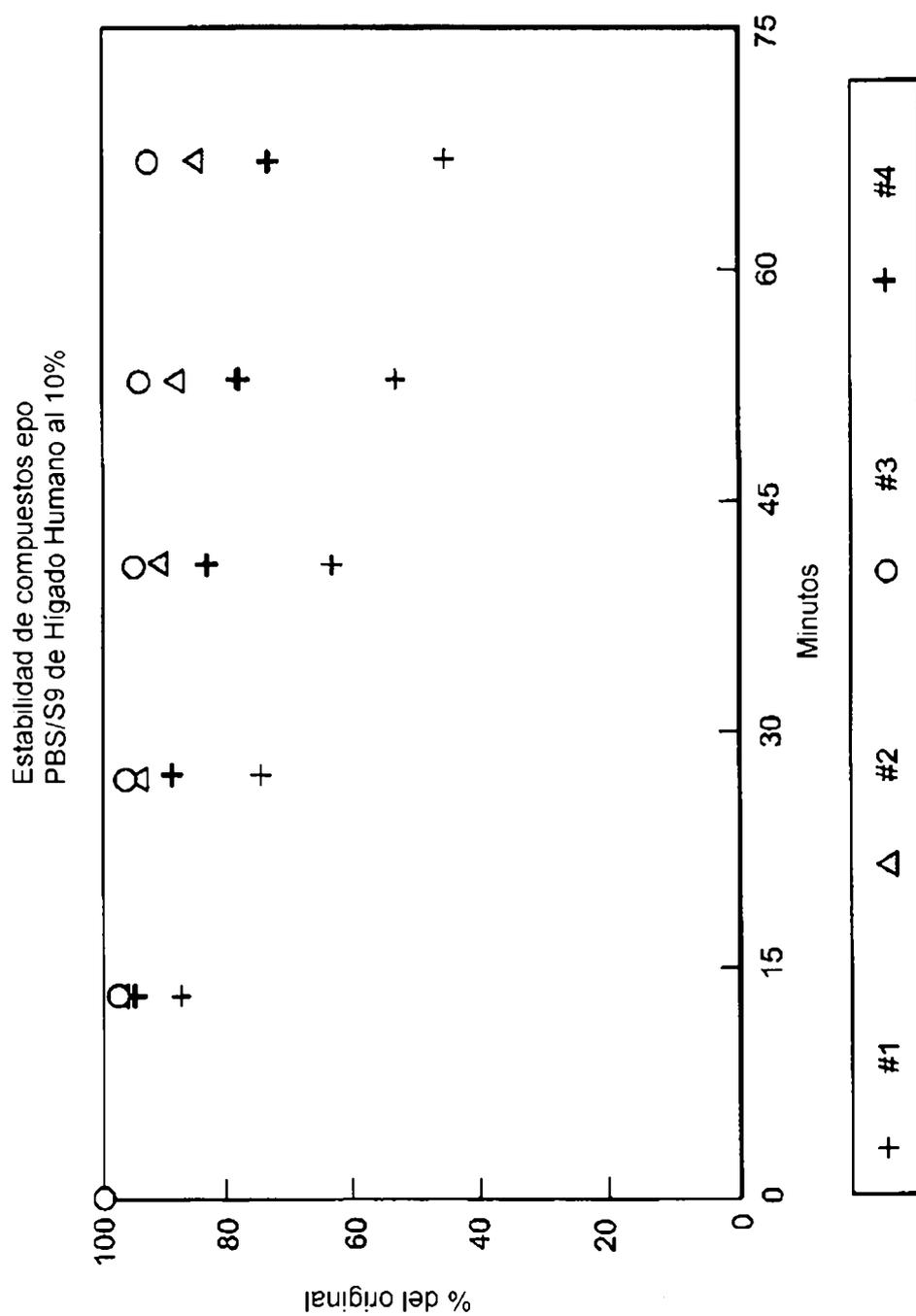


FIG. 39

Cromatograma de Estabilidad de
EpoD en PBS/S9 de Hígado Humano al 10%

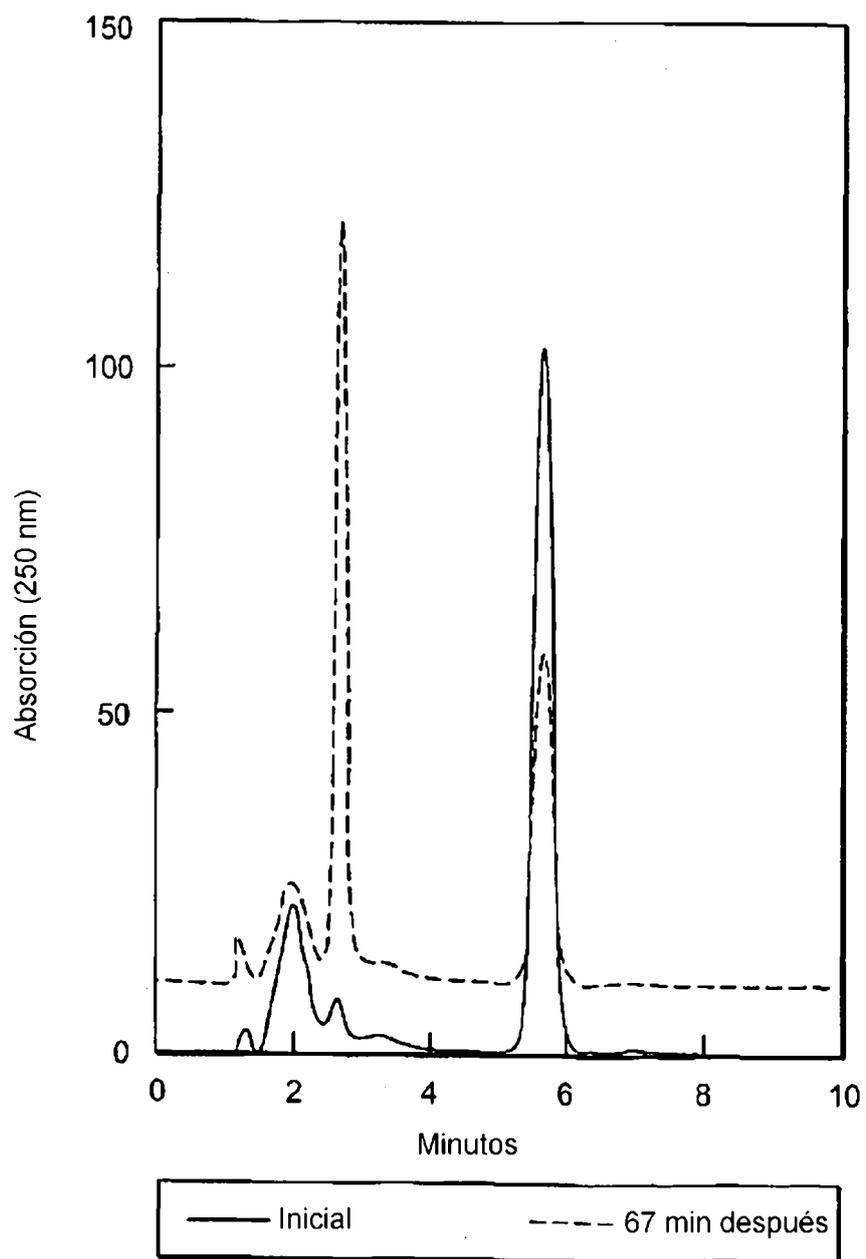


FIG. 40

A. Ensamblaje de microtúbulos *in vitro*

	Ensamblaje MT (37°C, %)
Control	0
EpoB	100
dEpoB	117
9,10-dehidro-[16]dEpoB	108
26-tri-F-9,10-dehidro-[16]dEpoB	106
26-tri-F-[16]dEpoB	84
21-hidroxi-9,10-dehidro-[16]dEpoB	88

B. Ensayo de toxicidad

	AS49 (IC50, nM)	AS49EpoB40 (IC50, nM)
EpoB	1,94	55,44
dEpoB	11,6	>500
9,10-dehidro-[16]dEpoB	1,88	122,78
26-tri-F-9,10-dehidro-[16]dEpoB	5,98	431,50
26-tri-F-[16]dEpoB	44,2	>500
21-hidroxi-9,10-dehidro-[16]dEpoB	3,59	244,02

FIG. 41

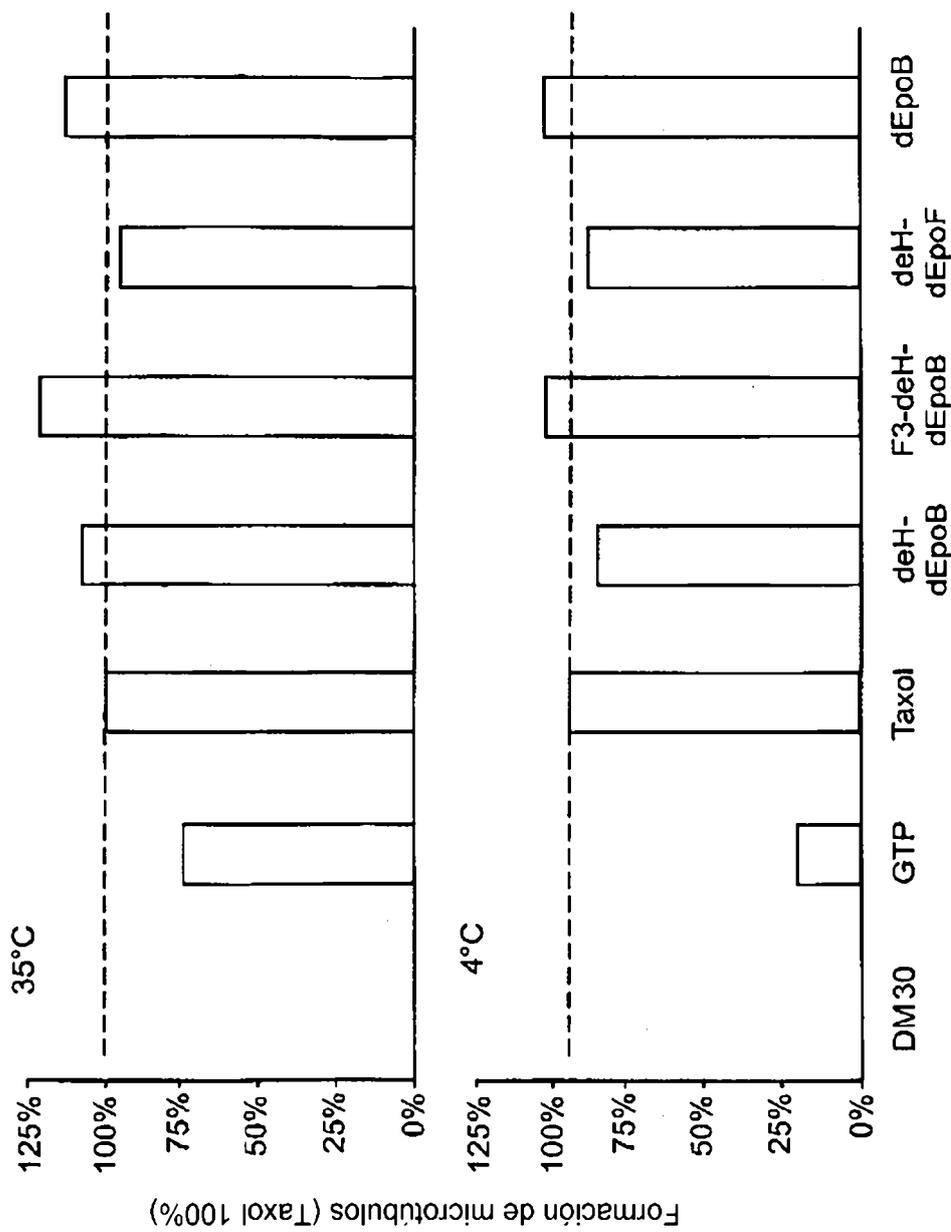


FIG. 42

Estabilización de formación de microtúbulos por eptononas.

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

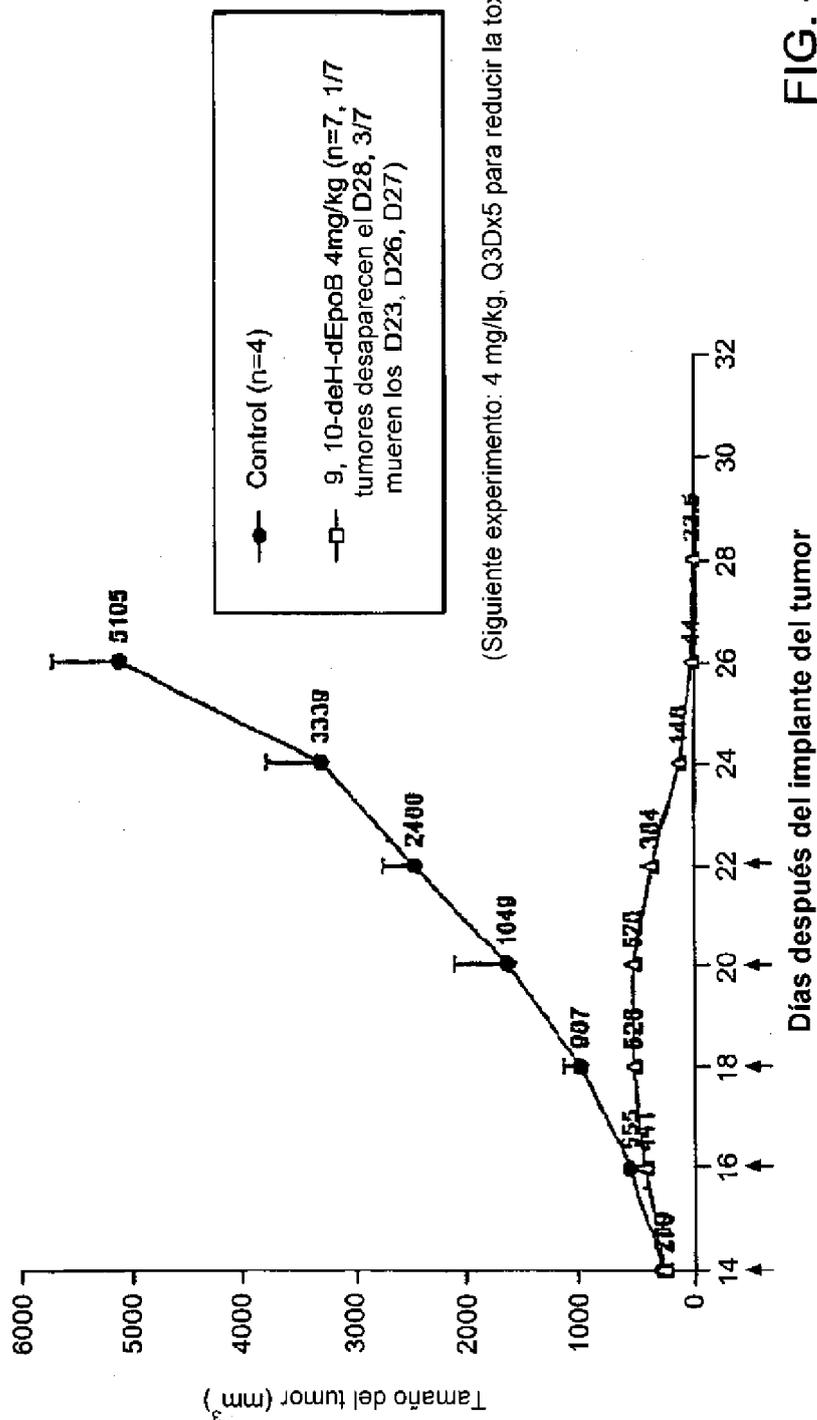


FIG. 43

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante (MX-1) de carcinoma mamario humano después de tratamiento con 9,10-de-H-dEpoB(#88) (infusión iv - 6 h, Q2Dx8, n = 4)

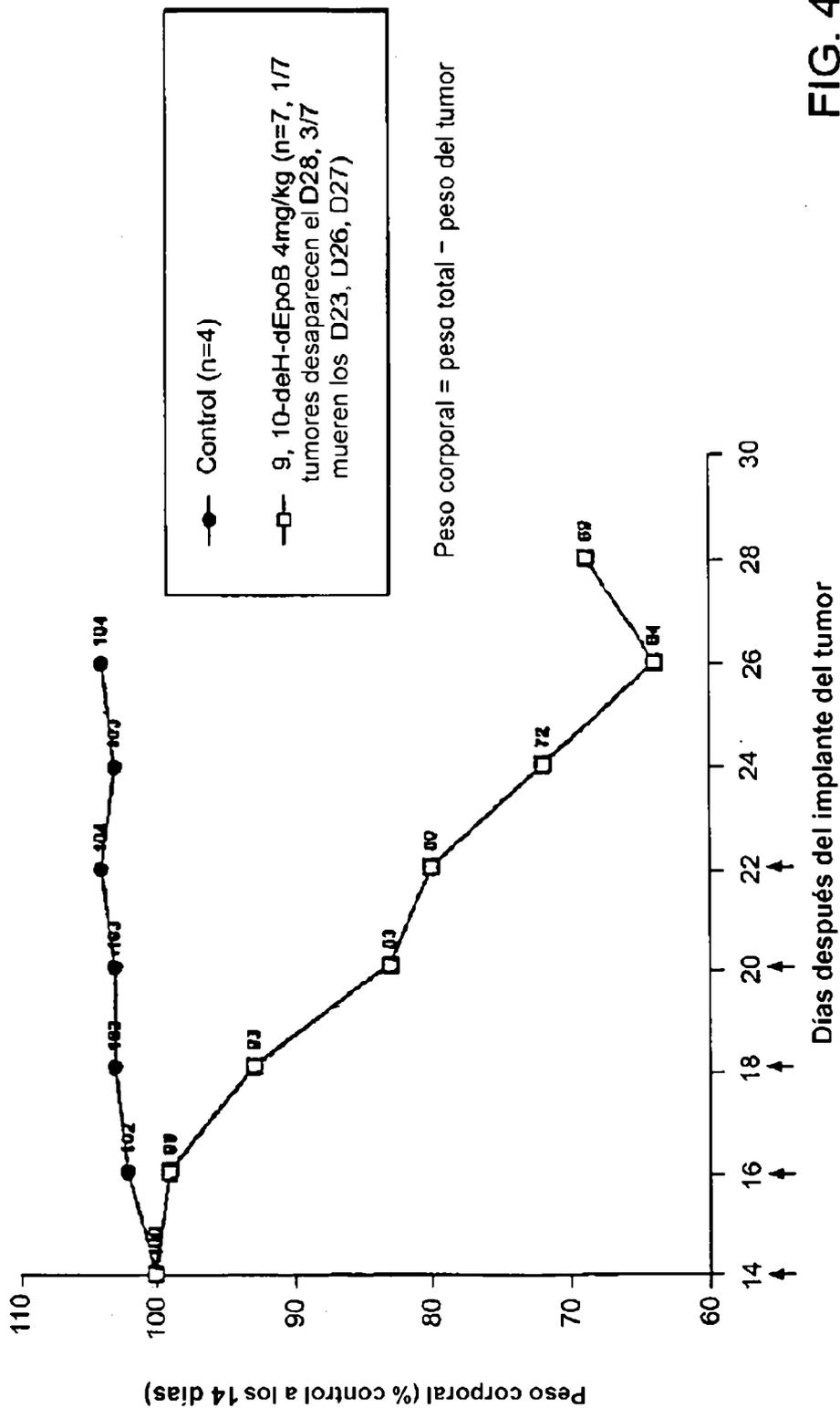


FIG. 44

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 después del tratamiento con 9,10-de-H-dEpoB(#88) (infusión iv, Q2Dx7, n = 3)

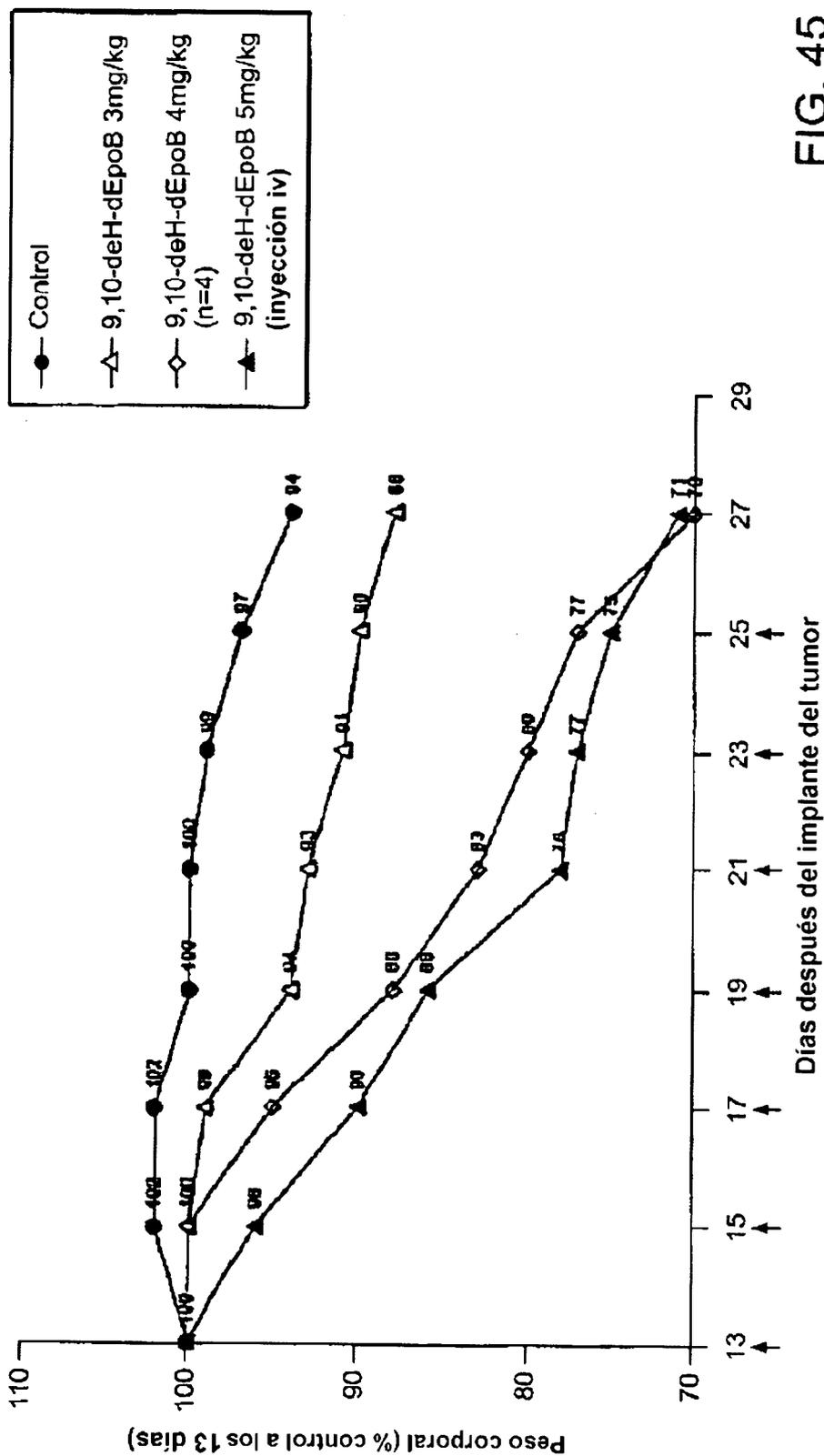


FIG. 45

Efecto terapéutico de 9,10-d-H-dEpoF, dEpoB y Taxol en ratones desnudos portadores de xenotrasplante de tumor (MX-1) de carcinoma mamario humano (infusión iv - 6 h, Q2Dx6, n = 5)

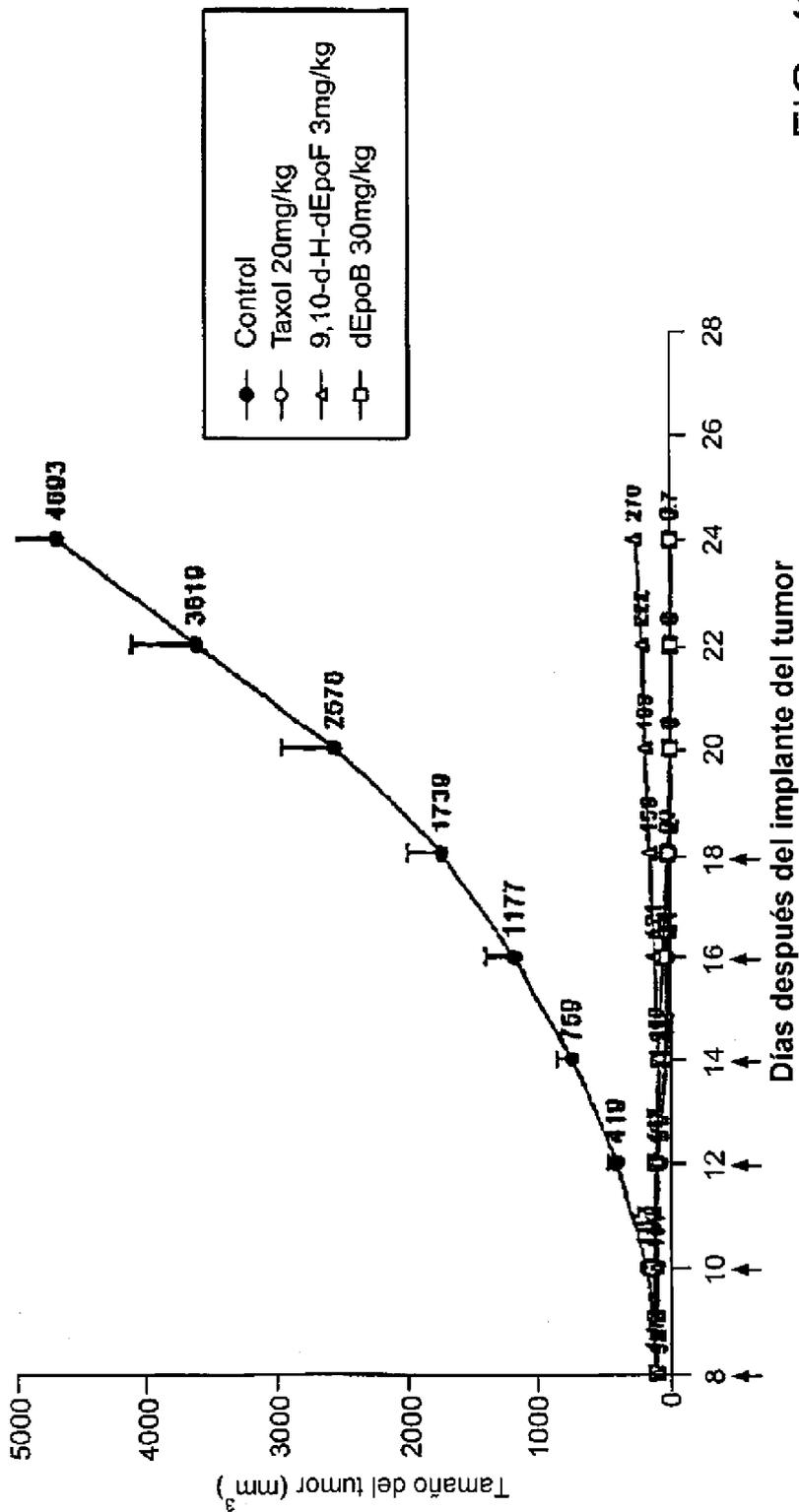


FIG. 46

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante de tumor (MX-1) de carcinoma mamario humano después del tratamiento con 9,10-de-H-dEpoF, dEpoB y Taxol (infusión iv - 6 h. Q2Dx6, n=5)

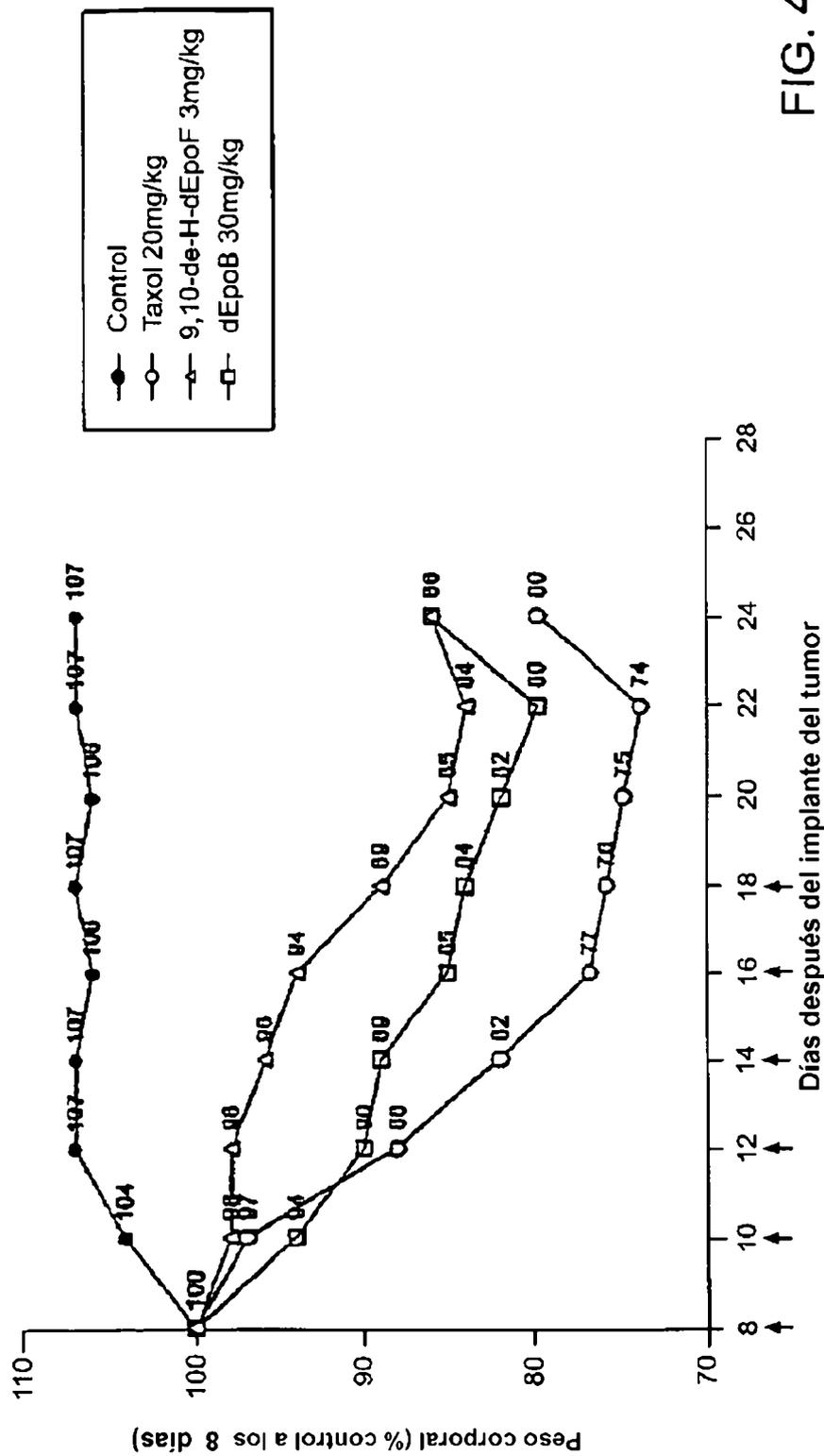


FIG. 47

Efecto terapéutico de 9,10-de-H-EpoF(#93) y dEpoB(#10) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 de carcinoma de colon humano (infusión iv - 6 h, Q2Dx8)

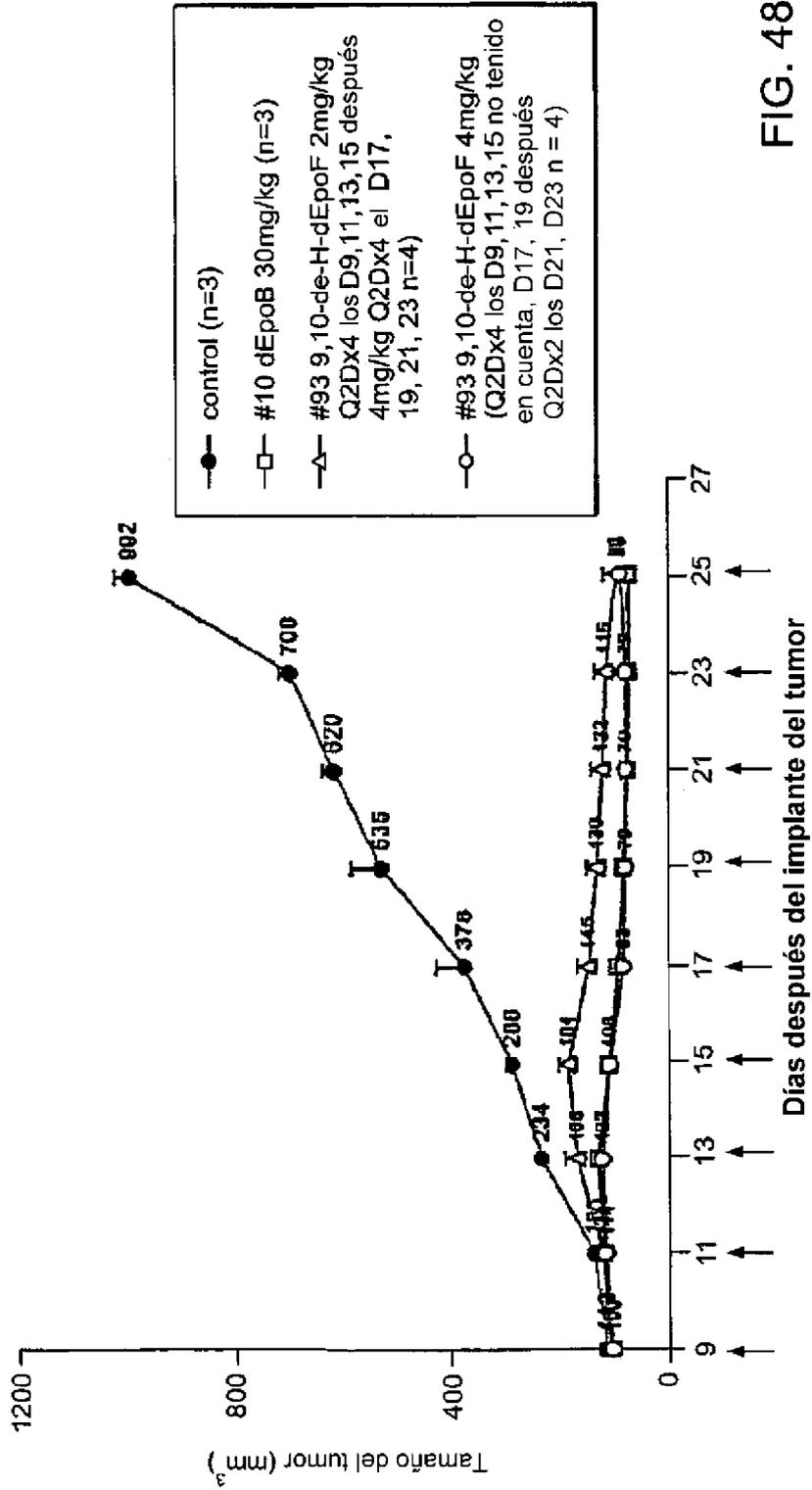


FIG. 48

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 después de tratamiento con 9,10-de-H-dEpoF(#93) y dEpoB (#10) (infusión iv - 6 h, Q2Dx8)

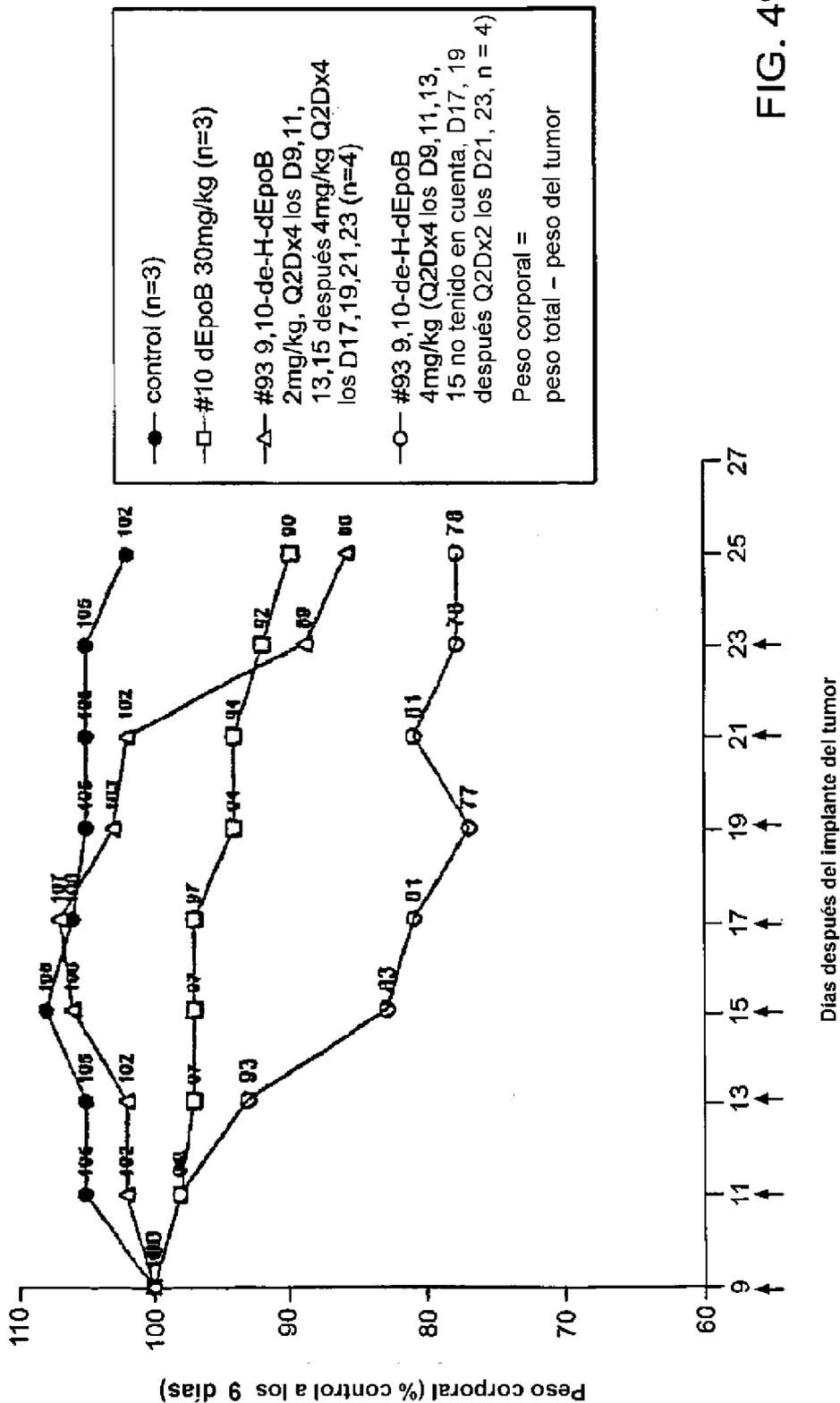


FIG. 49

Efecto terapéutico de 9,10-de-H-dEpo(#93) y dEpoB(#10) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante (A549/Taxol) de carcinoma de pulmón humano resistente a Taxol (infusión iv - 6 h, Q2Dx5, n = 4)

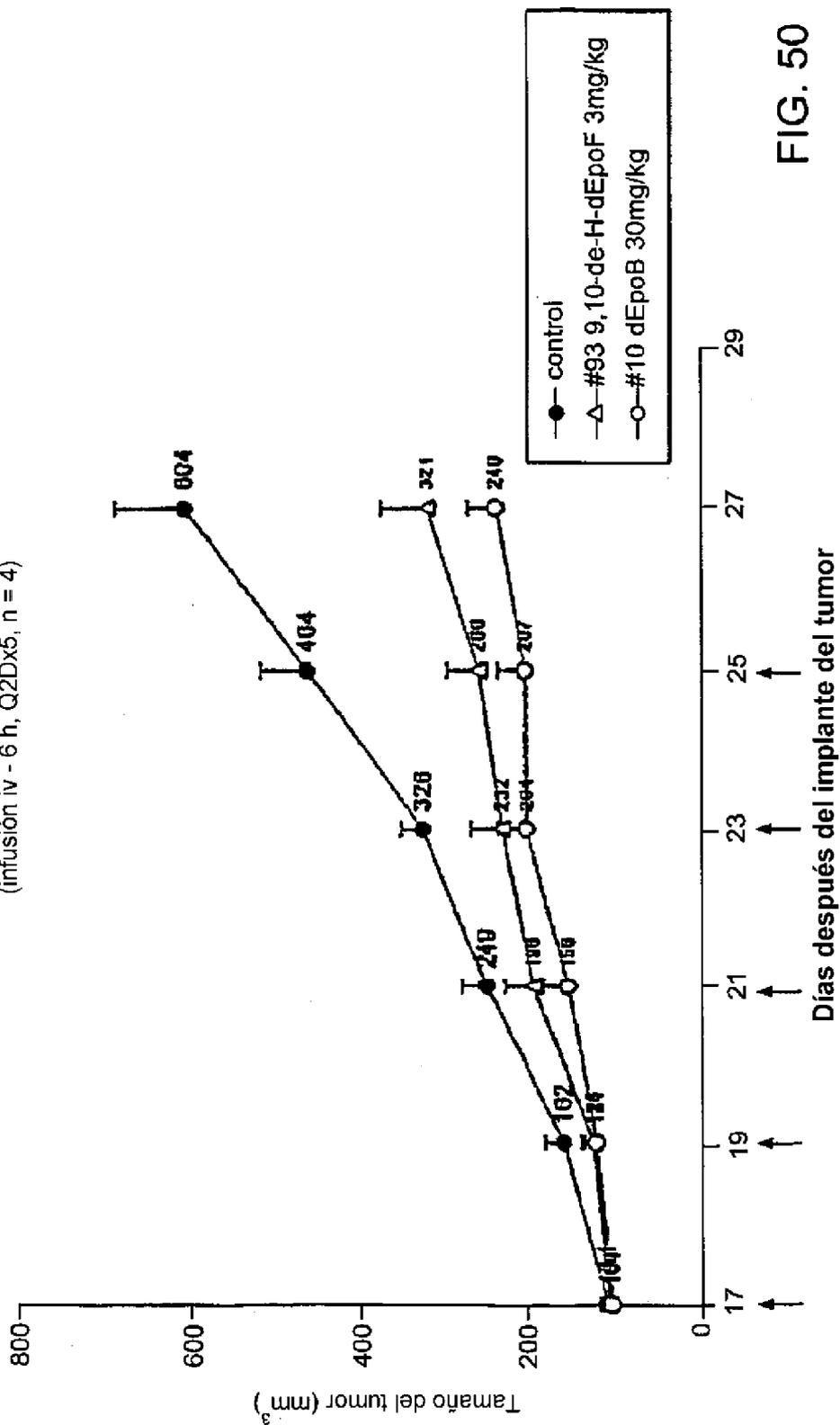


FIG. 50

Cambios de peso corporal de ratones desnudos de xenotrasplante (A549/Taxol) de carcinoma de pulmón humano resistente a Taxol después del tratamiento con 9,10-de-H-dEpoF(#93) y EpoB(#10) (infusión iv - 6 h, Q2Dx5, n = 4)

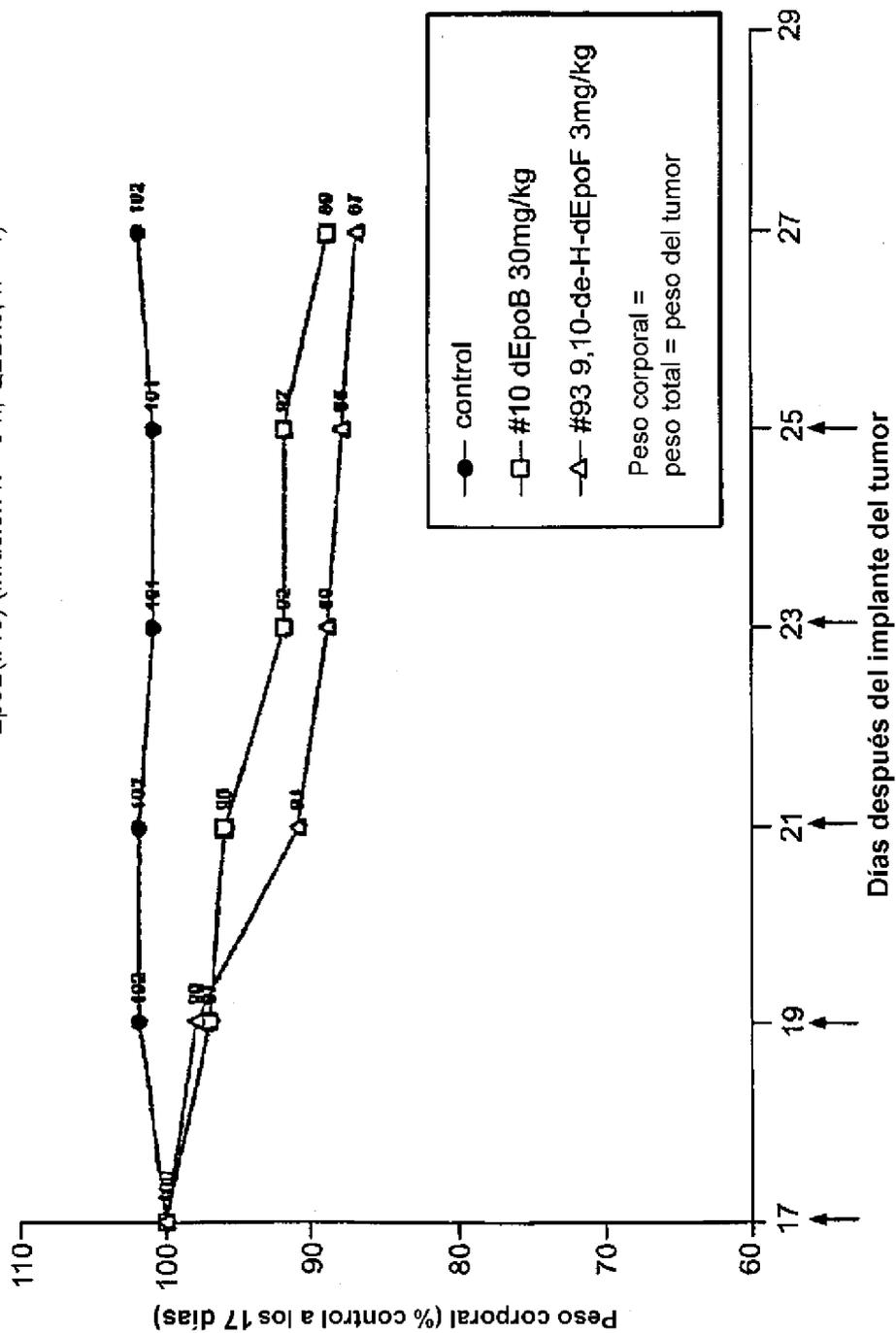


FIG. 51

FIG. 52

FIG. 52A

FIG. 52B

Tabla 1: Potencia de epotilonas frente al crecimiento celular de tumor *in vitro* y el índice terapéutico relativo

Compuesto	Sublíneas de leucemia linfoblástica en células T Humanas				CI ₅₀ (μM) para		Carcinoma de pulmón humano A549	Carcinoma de colón humano HCT-116	Índice terapéutico relativo frente a xenotrasplante de ratones a MTD ^d
	CCR1-CEM	CCR1-CEM/VBL	CCR1-CEM/axo1	CCR1-CEM/axo2	CCR1-CEM/axo1	CCR1-CEM/axo2			
dEpoB	0,0056 ±0,0028	0,016 ±0,003 _{2,5x}	0,0085 ±0,055 _{1,5x}	0,0039 ±0,0004	0,0068 ±0,0032	+++			
dEpoF	0,0015 ±0,001	0,055 ±0,09 _{36x}	0,0066 ±0,0031 _{4,4x}	0,012 ±0,004	0,0034 ±0,0006	+++			
EpoB	0,00053 ±0,00017	0,0032 ±0,0012 _{6,05x}	0,0011 ±0,00008 _{2,1x}	0,0008 ±0,0005	0,00038 ±0,00001	+++			
Aza-EpoB	0,0024 ±0,0003	2,08 _{3924x} ±0,92 _{667x}	0,103 ±0,068 _{43x}	0,0040 ±0,0035	0,0014 ±0,00009	++			

FIG. 52A

deH-dEpoB	0,0009 ±0,0004	0,0042 ±0,0022 _{4,7x}	0,0012 ±0,0006 _{1,3x}	0,00089 ±0,00064	0,00094 ±0,00055	++++
deH-dEpoF	0,00051 ±0,00009	±0,021 ±0,010 _{4,1x}	0,0017 ±0,0010 _{3,3x}	0,00091 ±0,00006	0,00056 ±0,00006	+++
deH-EpoB	0,00023 ±0,00002	0,00096 ±0,00064 _{4,2x}	0,00041 ±0,00001 _{1,8x}	0,00026 ±0,00004	0,00014 0,00001	++++
F ₃ -deH-dEpoB	0,0032 ±0,0003	0,023 ±0,0027 _{2x}	0,0047 ±0,0010 _{1,5x}	0,0037 ±0,00024	0,0056 ±0,00010	+++++
F ₃ -deH-dEpoF	0,00089	0,038 _{4,3x}	0,0058 _{6,5x}			
F ₃ -dEpoB	0,0093 ±0,0052	0,085 ±0,005 _{9,1x}	0,018 ±0,001 _{1,9x}	0,015 ±0,004	0,012 ±0,001	ND
Pacitaxel	0,0018 ±0,0005	3,22 ±0,92 _{1788x}	0,079 ±0,029 _{43,9x}	0,0029 ±0,0003	0,0026 ±0,0009	++++
Vinblastina	0,00054 ±0,00009	0,389 ±0,074 _{720x}	0,0196 ±0,0111 _{36,3x}	0,0099 ±0,0018	0,0087 ±0,0007	++++

FIG. 52B

Efecto terapéutico de 9,10-deH-dEpoB(#88) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MIX-1 (Q3Dx9, infusión iv - 6 h, n = 4)

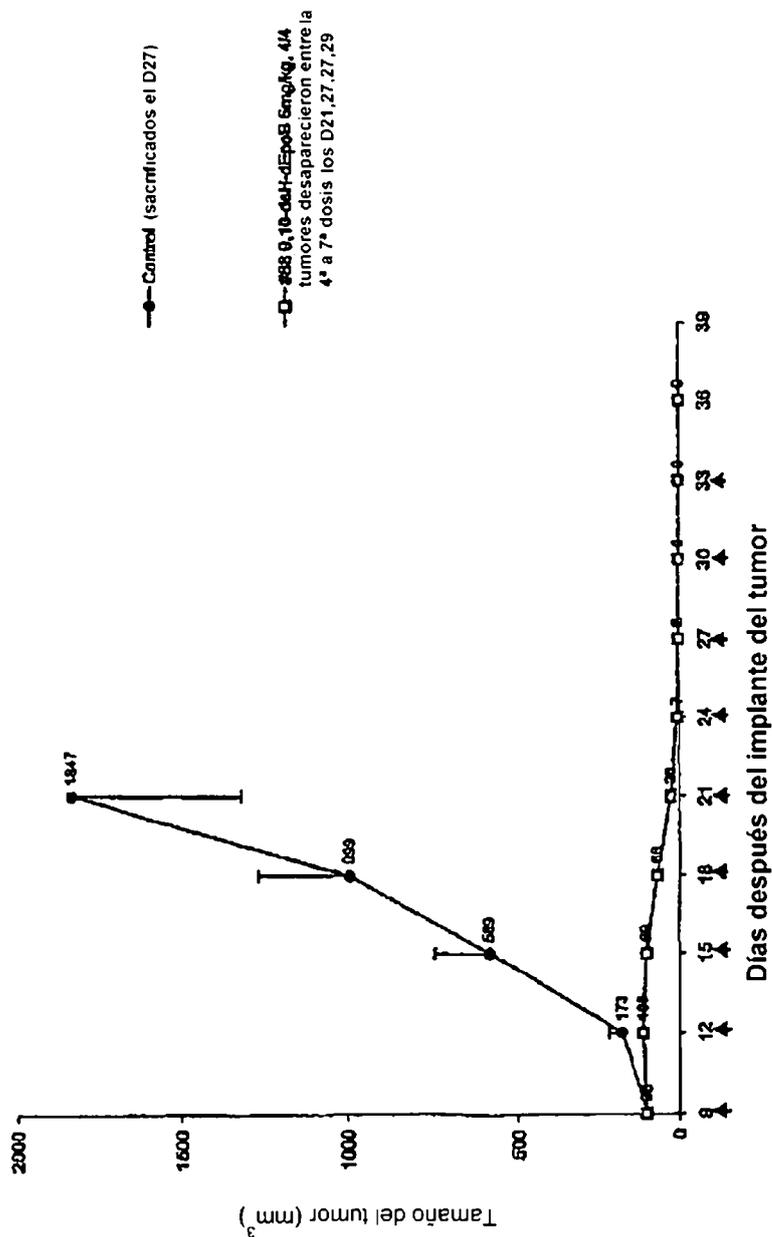


FIG. 53

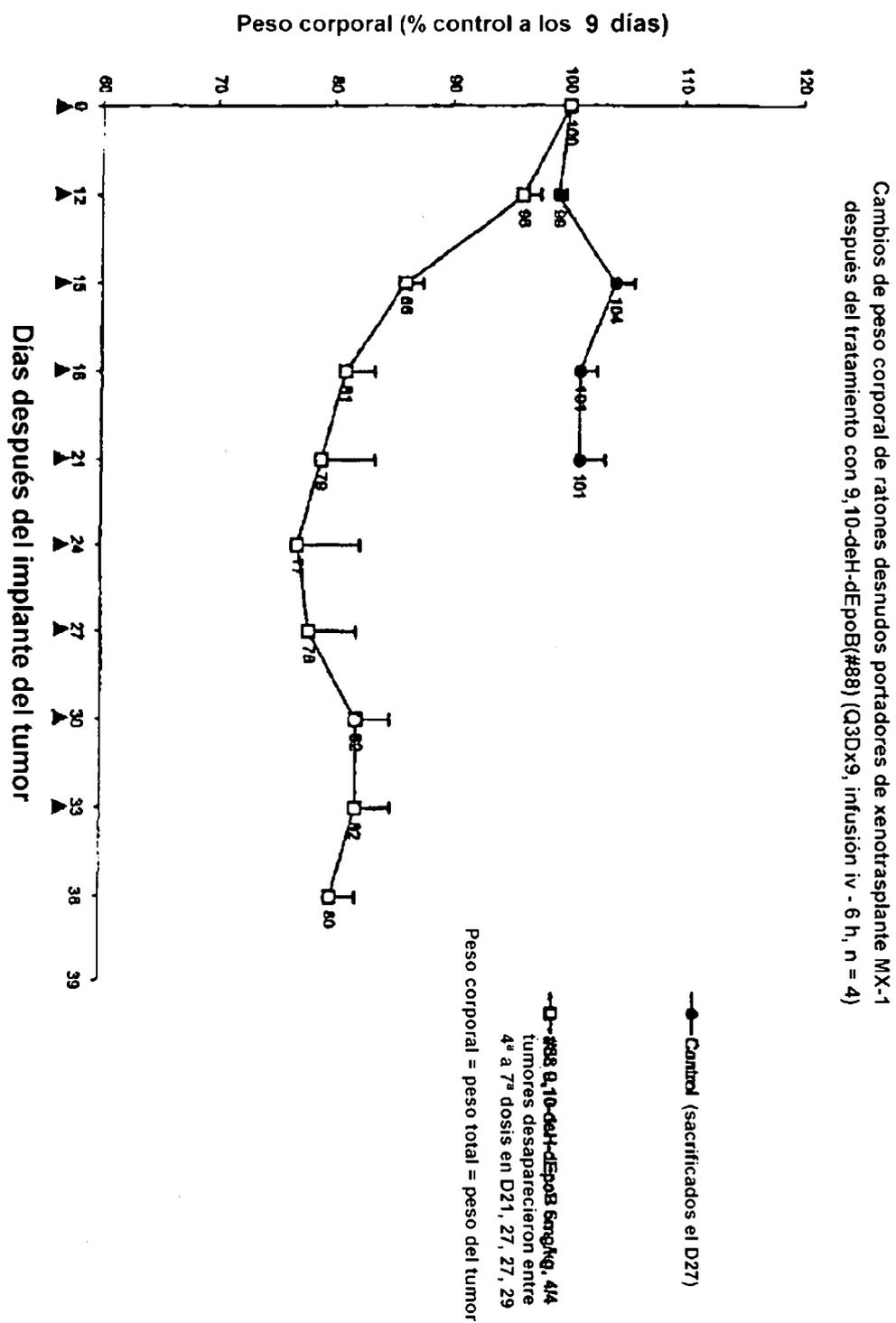


FIG. 54

Efecto terapéutico de 9,10-deH-EpoB(#95) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1
(Q3Dx9, infusión iv - 6 h, n = 4)

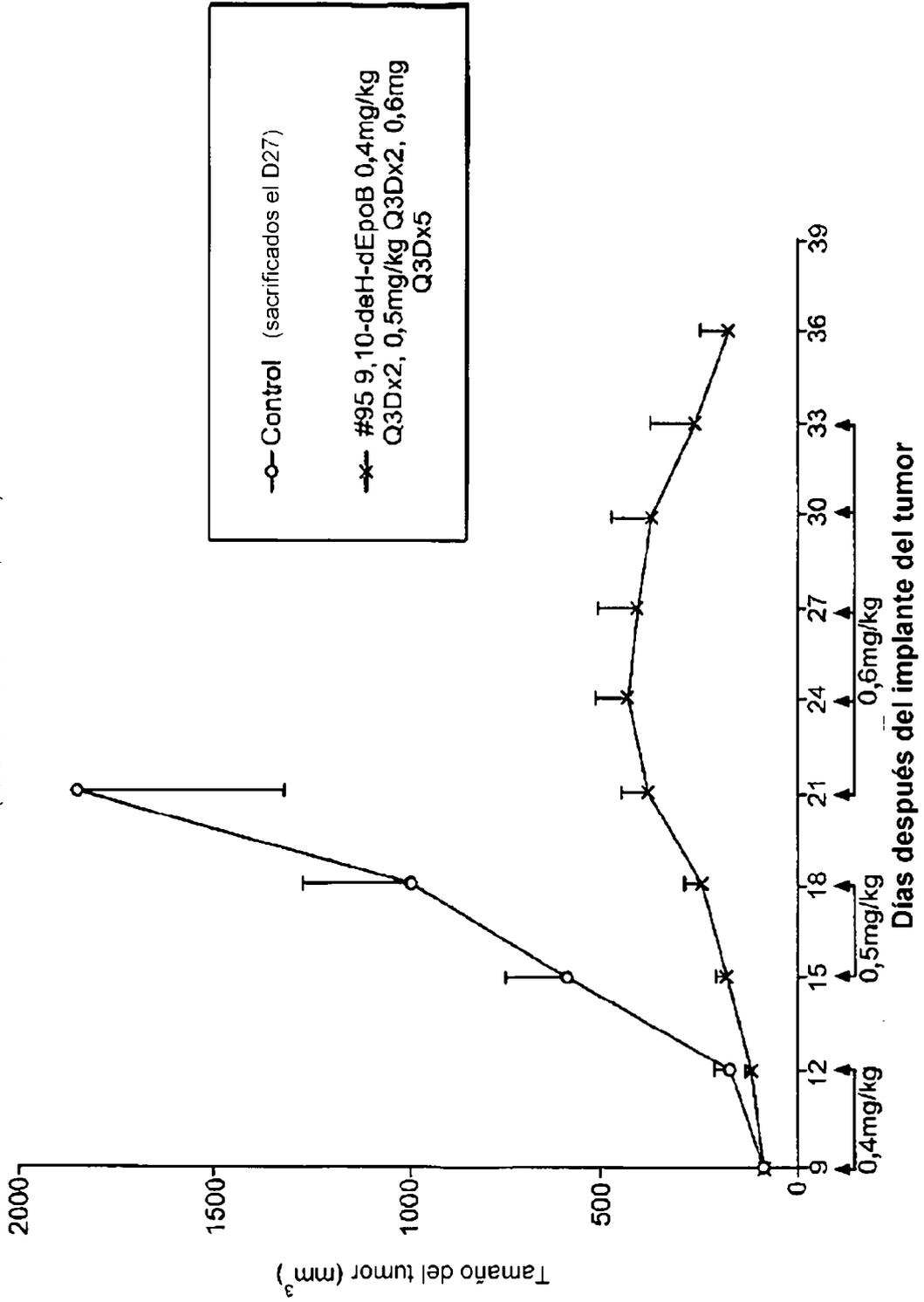


FIG. 55

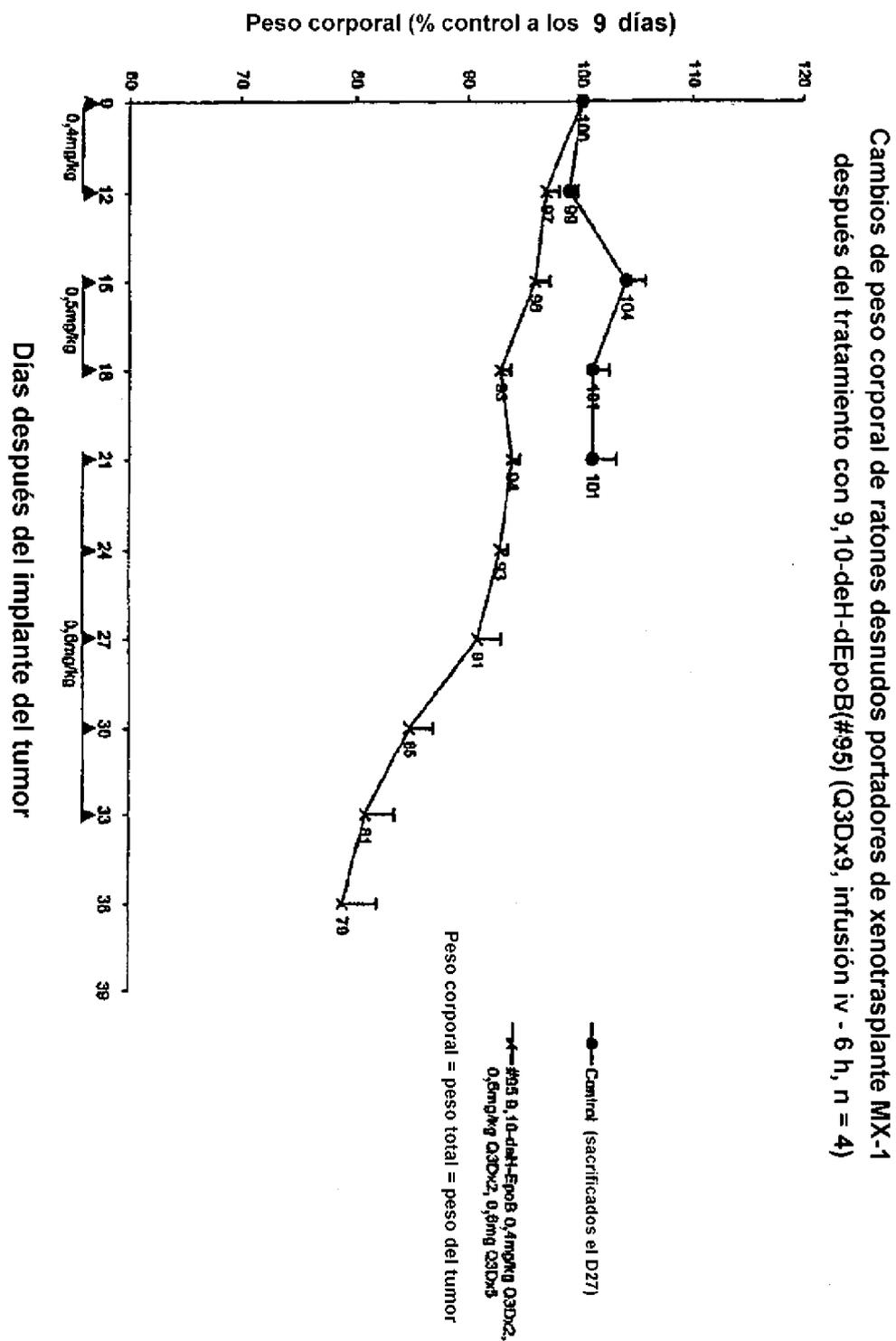


FIG. 56

Efecto terapéutico a dosis bajas de F₃-9,10-deH-dEpoB(#89) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 (infusión iv - 6 h, n = 4, Q2Dx12)

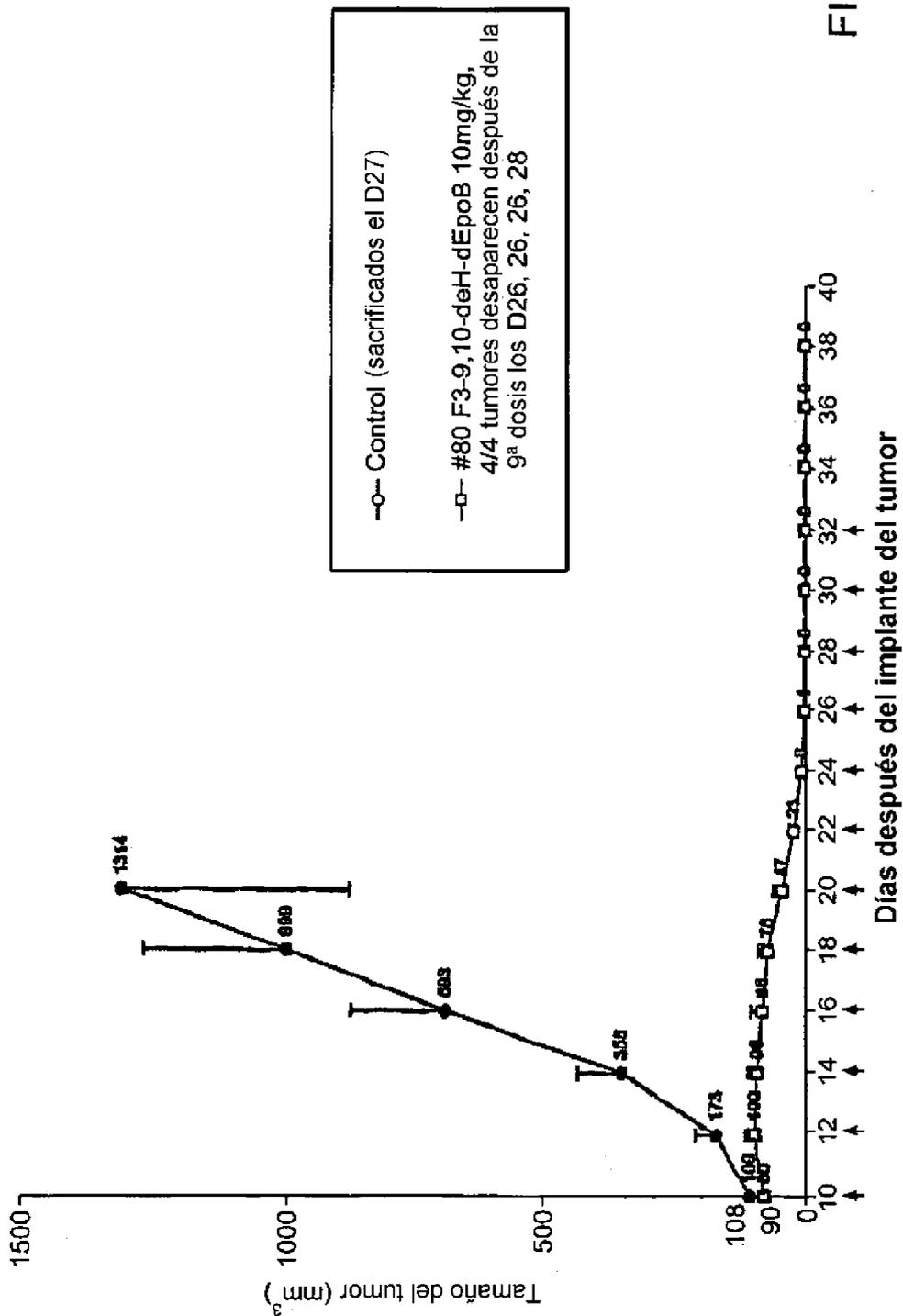


FIG. 57

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 después del tratamiento con dosis baja de F3-9,10-deH-EpoB(#89) (infusión iv - 6h, n = 4, Q2Dx12)

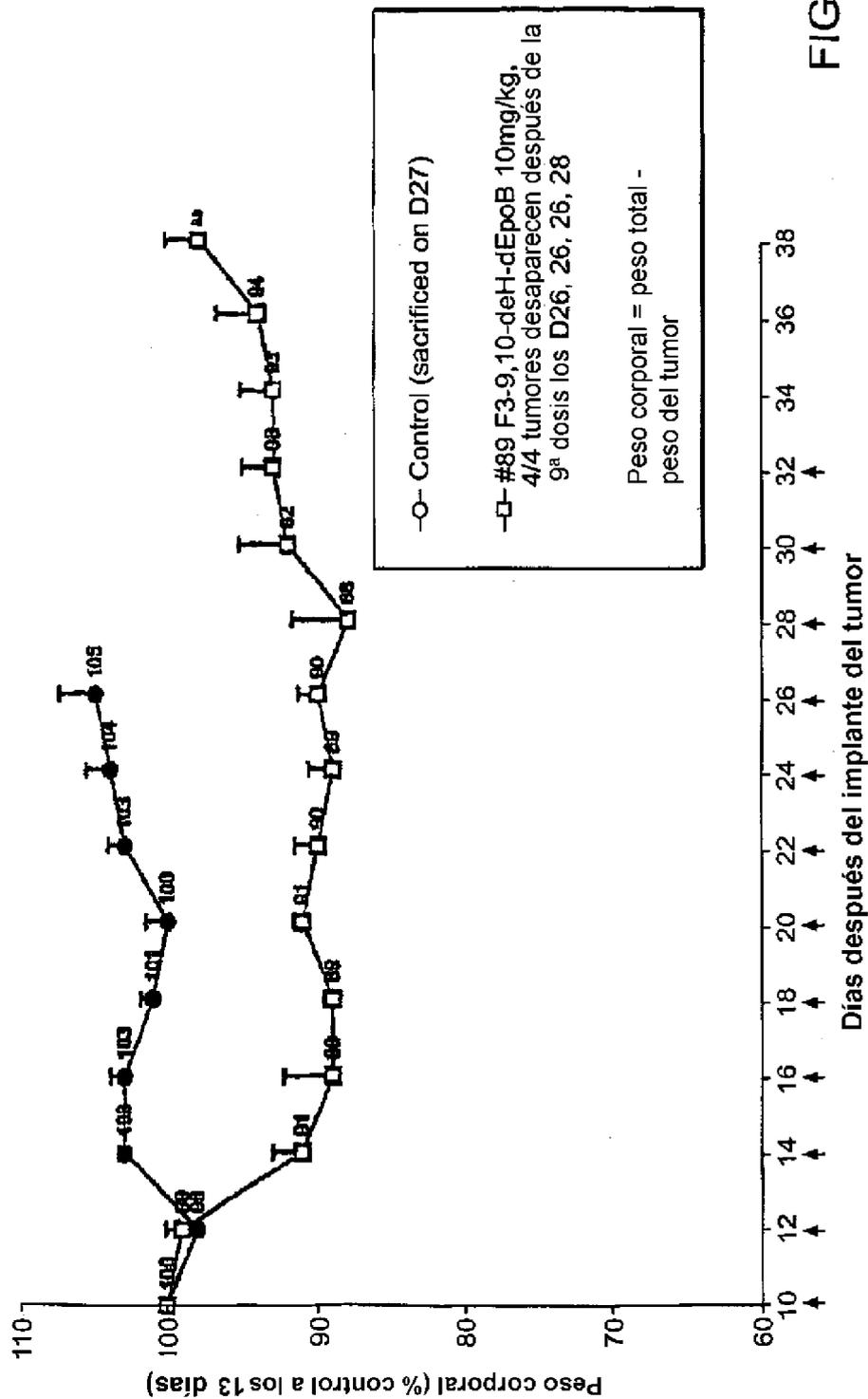


FIG. 58

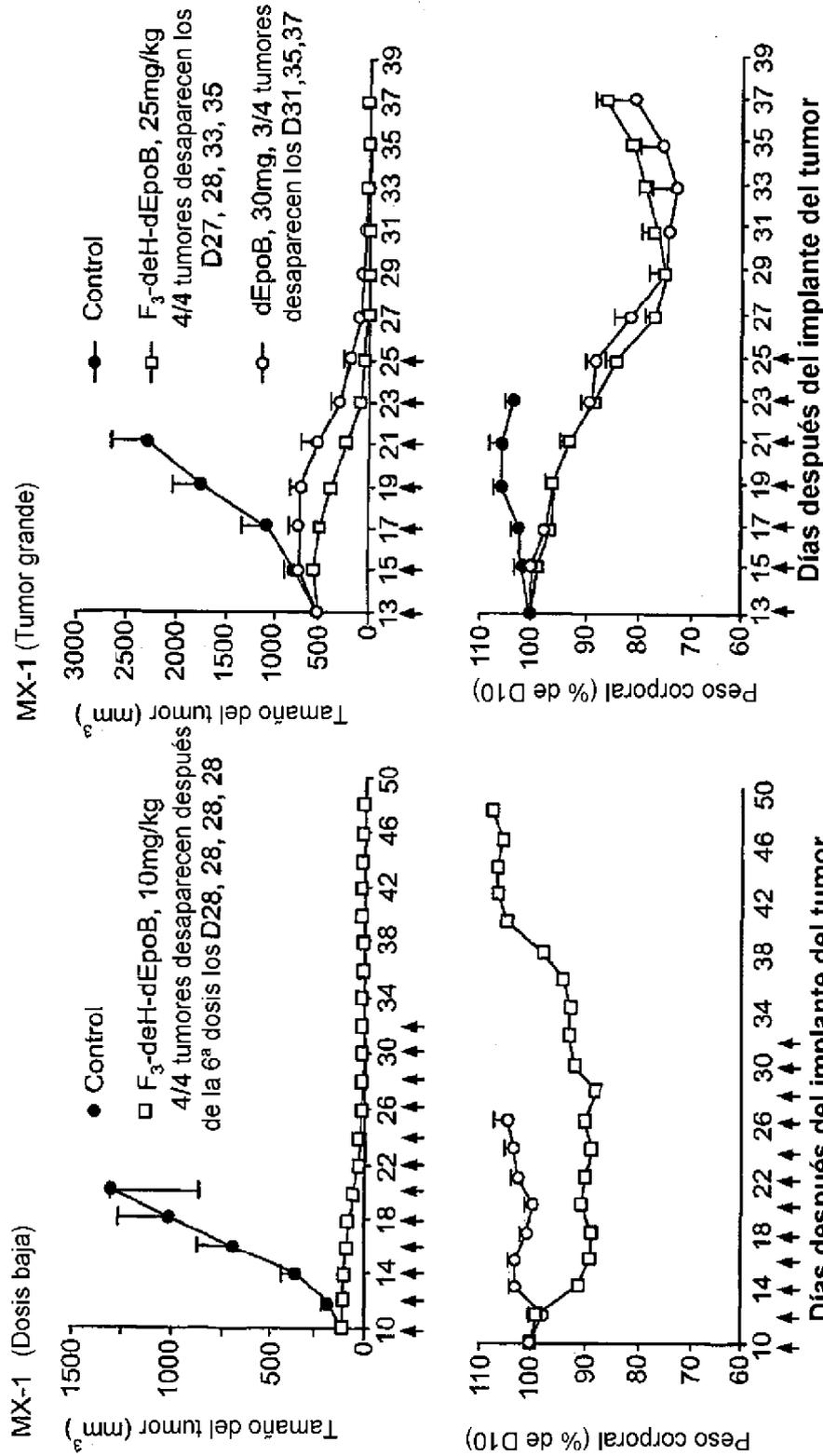


FIG. 59B

FIG. 59A

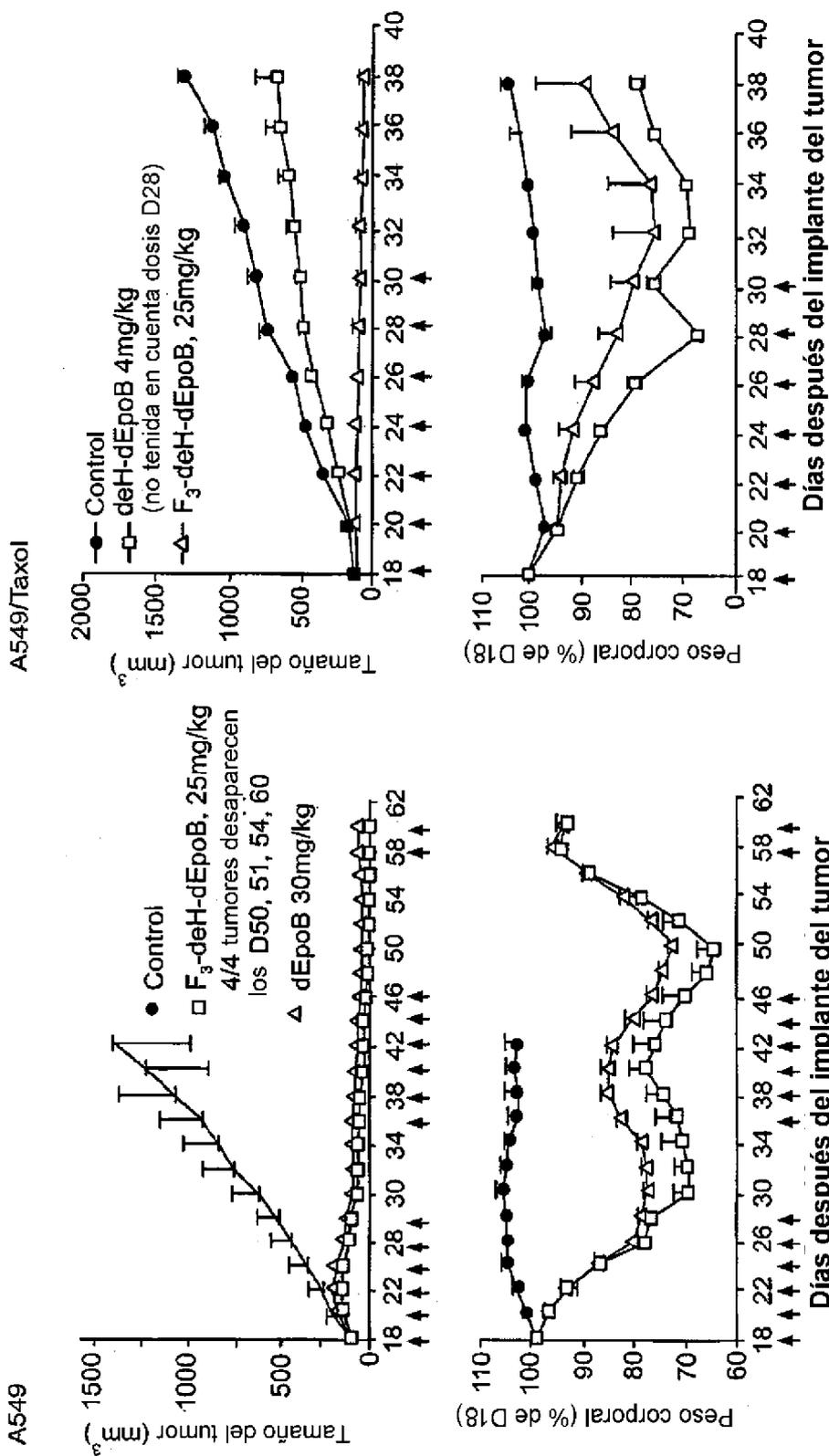


FIG. 59D

FIG. 59C

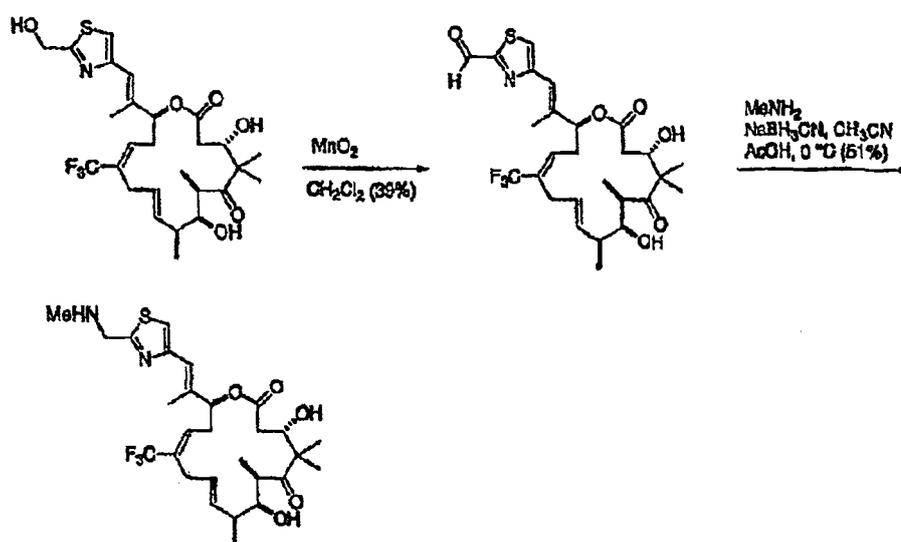


FIG. 60 A

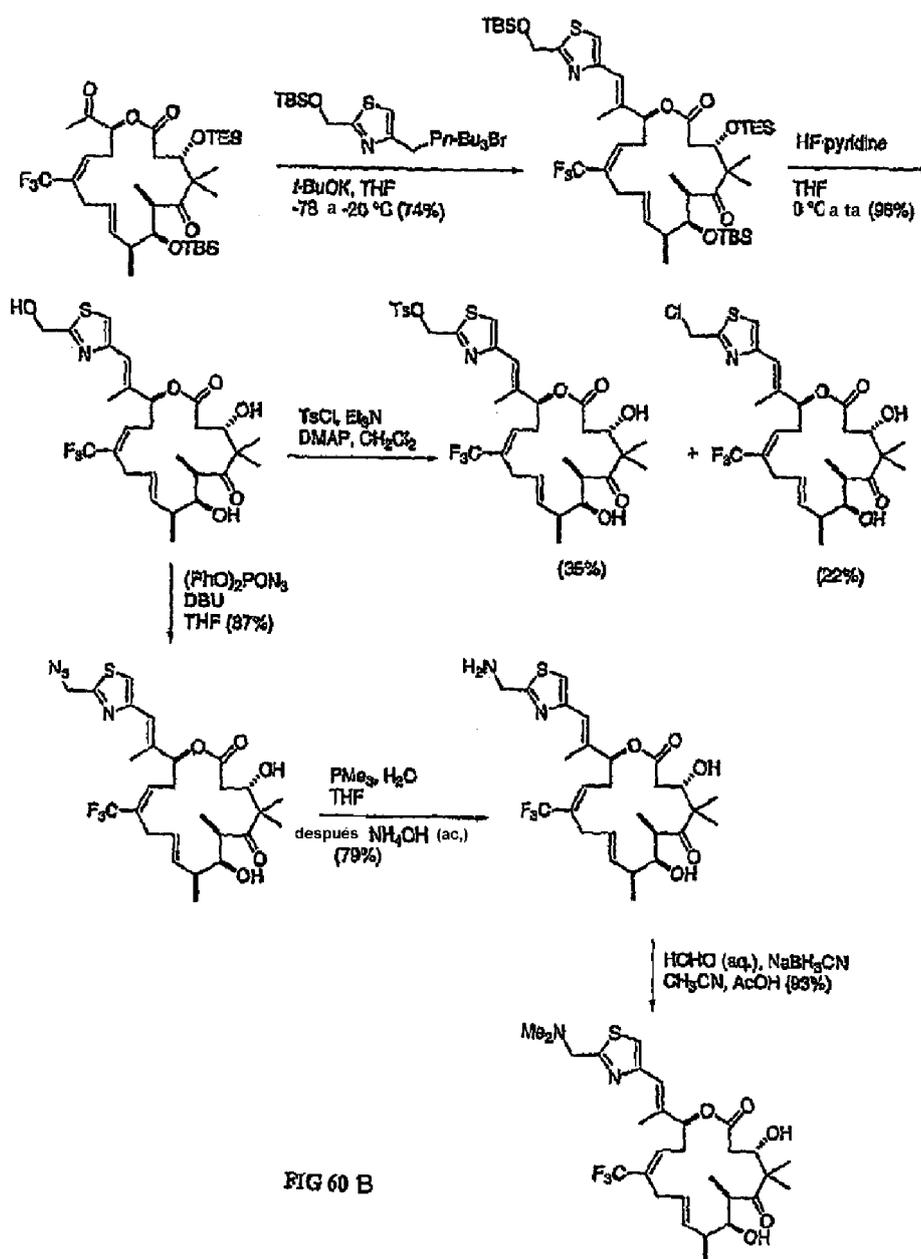


FIG 60 B

Potencia de epitilonas modificadas C-21 *in vitro*

Compuesto	CI ₅₀ (µM)		
	CCRF-CEM	CCRF-CEM/VBL	CCRF-CEM/Taxol
dEpoB	0,0056 ±0,0028	0,016 ±0,003 [2,5]	0,0085 ±0,0035 [1,5]
21-OH-dEpoB (dEpoF)	0,0015 ±0,0001	0,025 ±0,009 [2,5]	0,0066 ±0,0031 [4,5]
21-OH-9,10-deH-dEpoB	0,00051 ±0,00009	0,021 ±0,010 [1,5]	0,0017 ±0,0010 [2,5]
21-OH-9,10-deH-26-F ₂ -dEpoB	0,0013 ±0,0003	0,060 ±0,020 [4,5]	0,0065 [6,5] ±0,0007 [2]
21-NH ₂ -F ₂ -deH-dEpoB	0,0025 ±0,0002	0,163 [22,5]	0,039 [15,5]
21-(CH ₃) ₂ -N-F ₂ -deH-dEpoB	0,018	1,70 [21,5]	0,501 [27,5]
21-CH ₃ NH-F ₂ -deH-dEpoB	0,020	3,06 [12,5]	0,582 [22,1]
21-Cl-F ₂ -deH-dEpoB	0,0037 ±0,0006	0,049 [2,5]	0,017 [2,5]

FIG 61

Efecto terapéutico de F₃-9,10-dehidro-dEpoB y Taxol en ratones desnudos portadores de xenoinjerto CCRF-CEM de leucemia linfoblástica de células T humanas (infusión iv 6 horas, Q2Dx8).

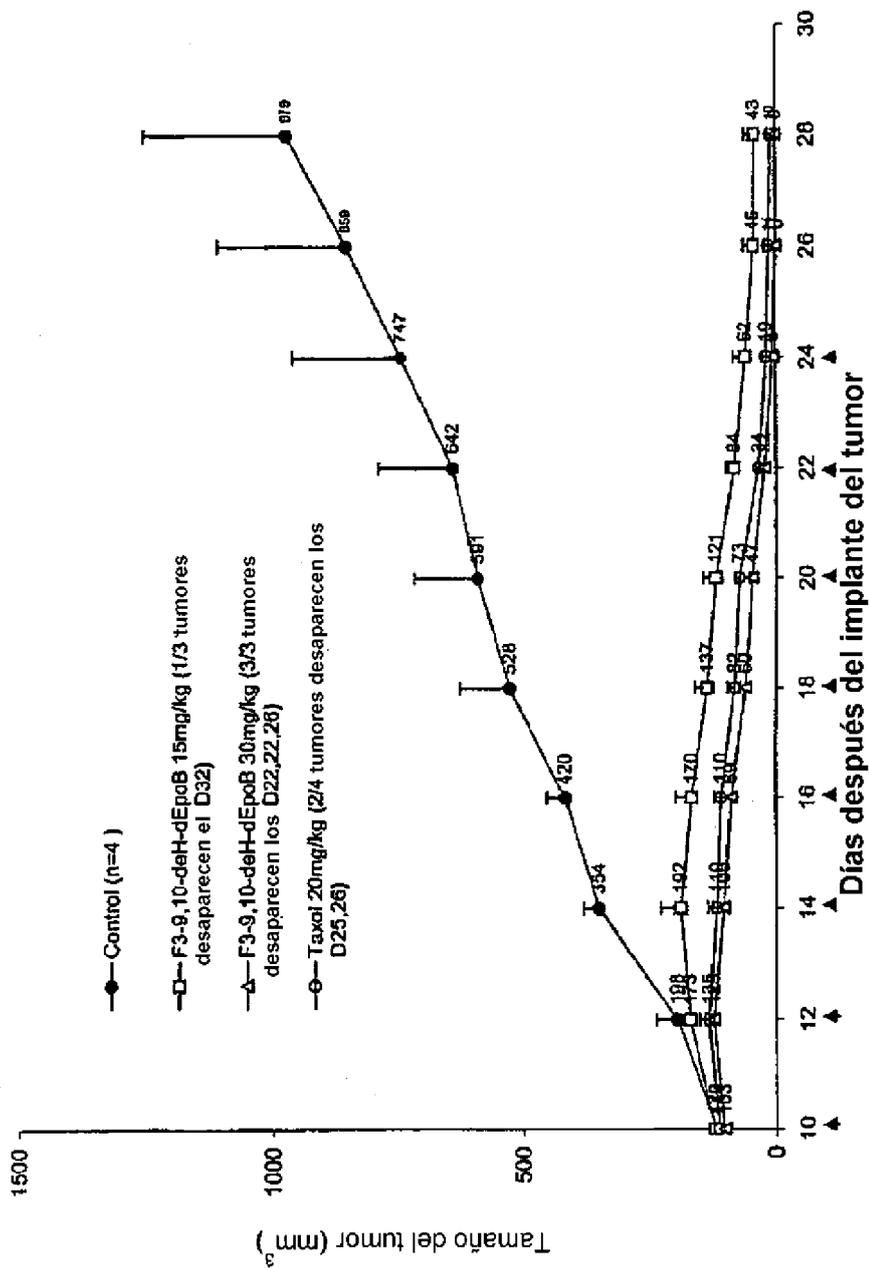


FIG. 62

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante CCFR-CEM de leucemia linfoblástica de células T humanas: Tratamiento con F3-9,10-deH-dEpoB y Taxol (infusión iv - 6 h, Q2Dx8)

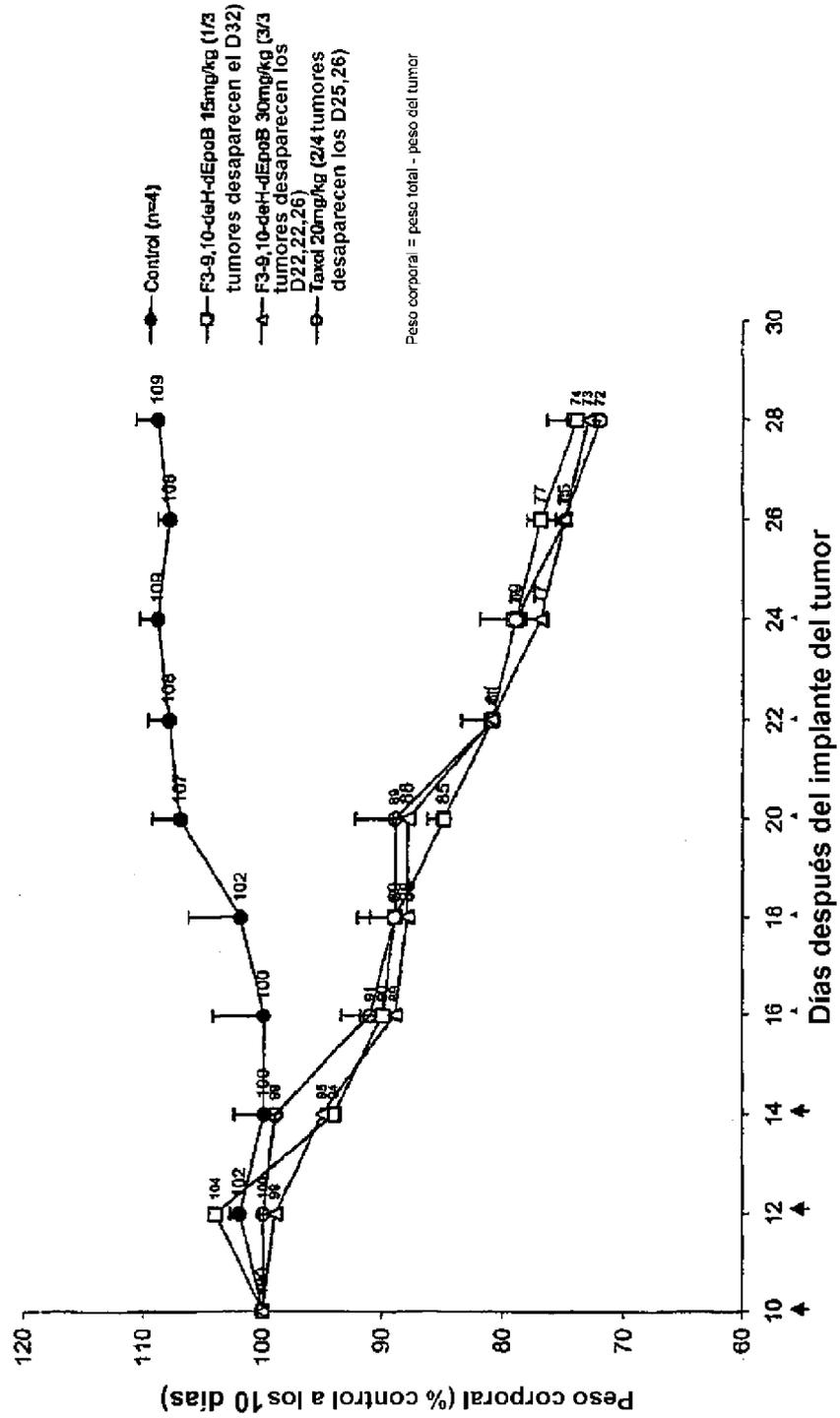


FIG. 63

Efecto terapéutico de F₃-9,10-dehidro-dEpoB y Taxol en ratones desnudos portadores de xenotrasplante CRF-CEM de leucemia linfoblástica de células T humanas (resistente a Taxol) (infusión iv - 6 h, Q2DX7, x5)

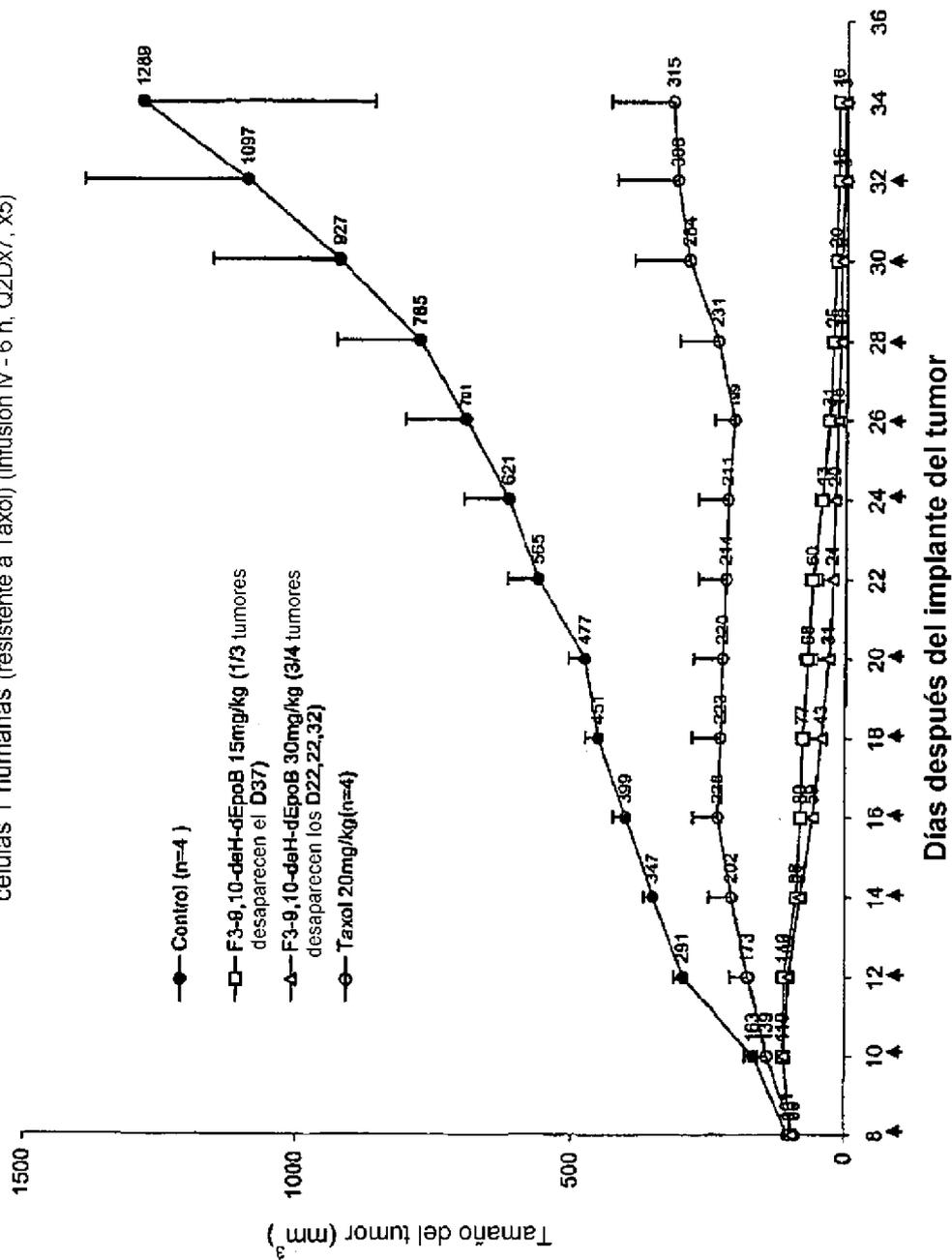


FIG. 64

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante CCFR-CEM/ Taxol de leucemia linfoblástica de células T humanas (resistente a Taxol): Tratamiento con F₃ -9-10-deH-dEpoB y Taxol (infusión iv - 6 h, Q2Dx7, x5)

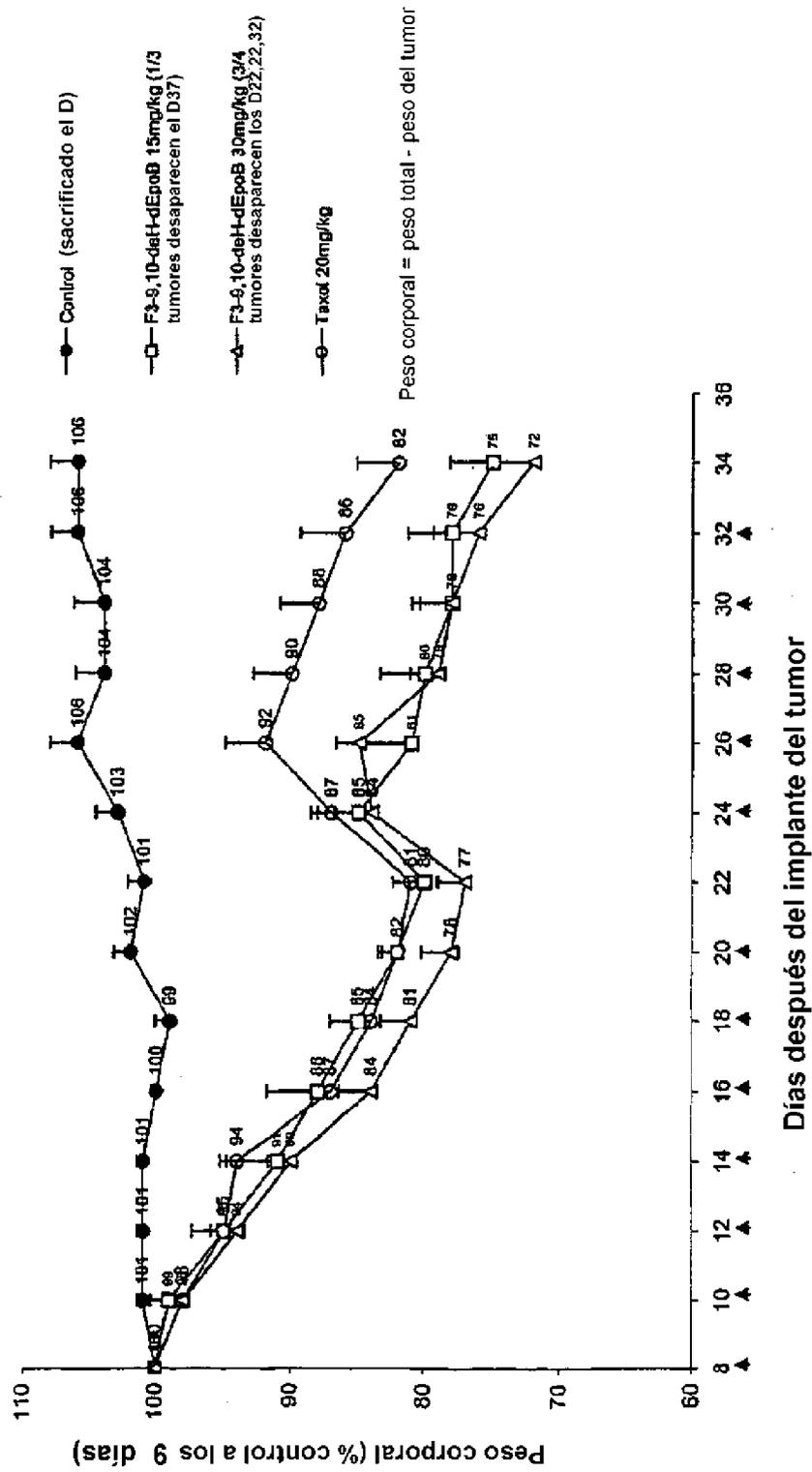


FIG. 65

Efecto terapéutico de F₃-deH-dEpoB y Taxol en ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 de carcinoma de colon humano (Q2Dx4, x2, infusión iv - 6 h, n = 4)

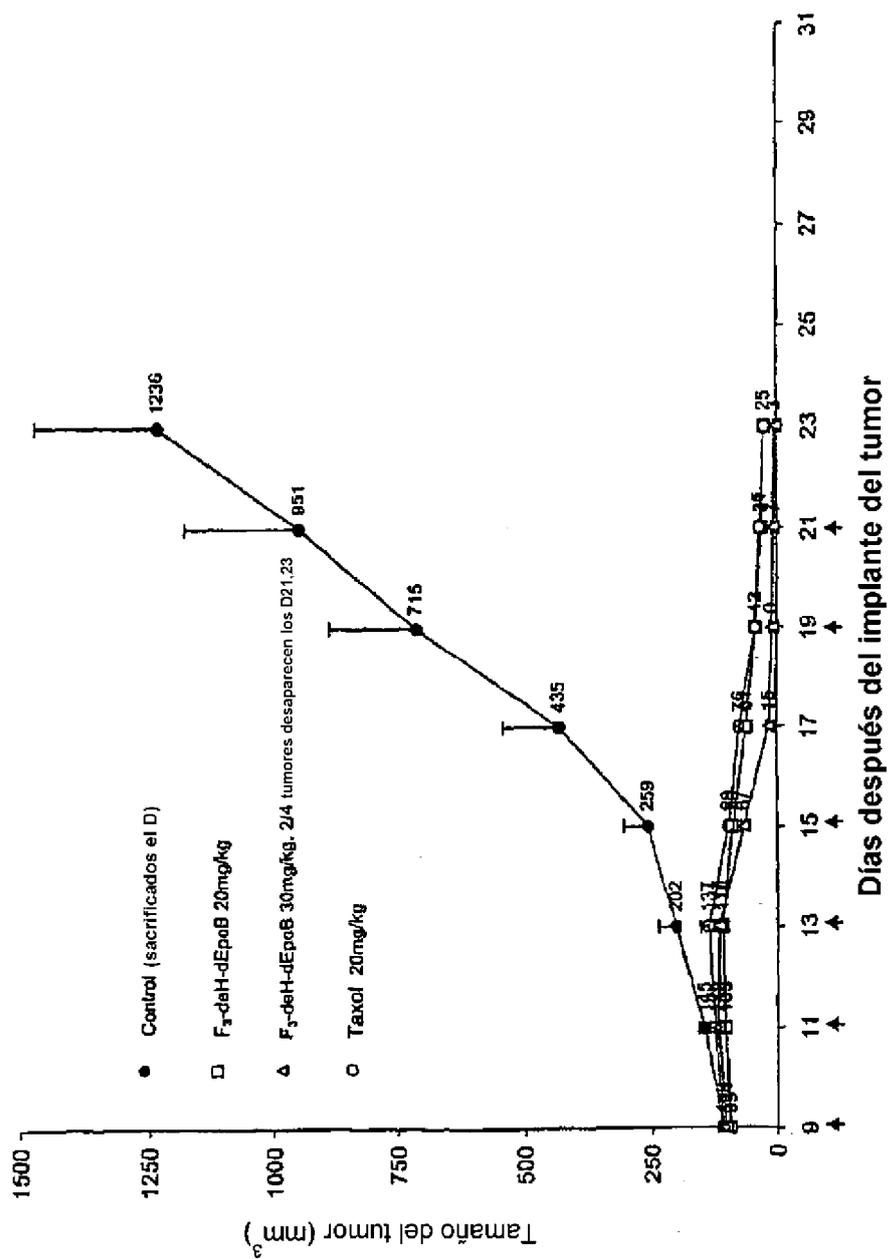


FIG. 66

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante HCT-116 de carcinoma de colon humano: Tratamiento con F₃-deH-dEpoB y Taxol (Q2DX4, x2, infusión iv - 6 h, n = 4)

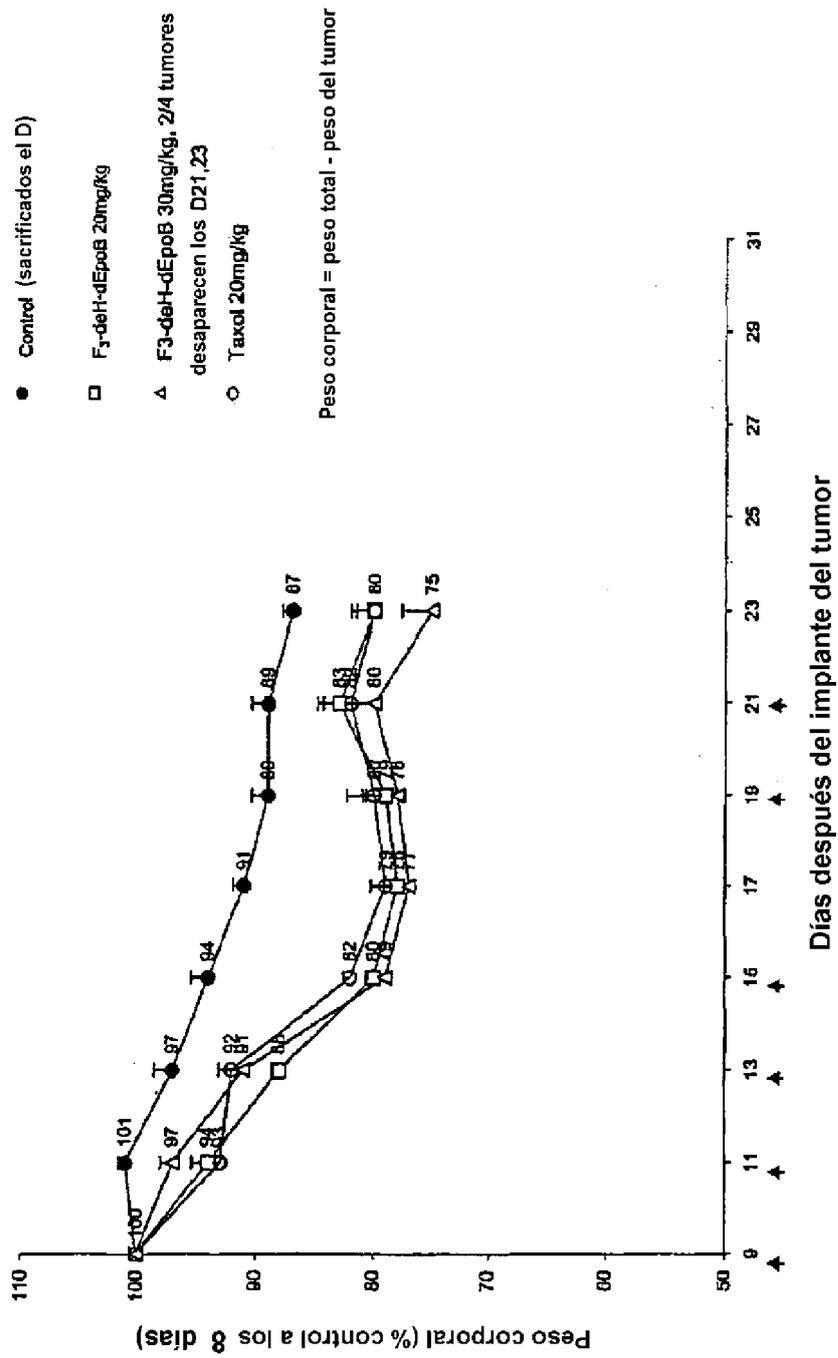


FIG. 67

Efecto terapéutico de deH-EpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1
(infusión iv - 6 h, n = 4)

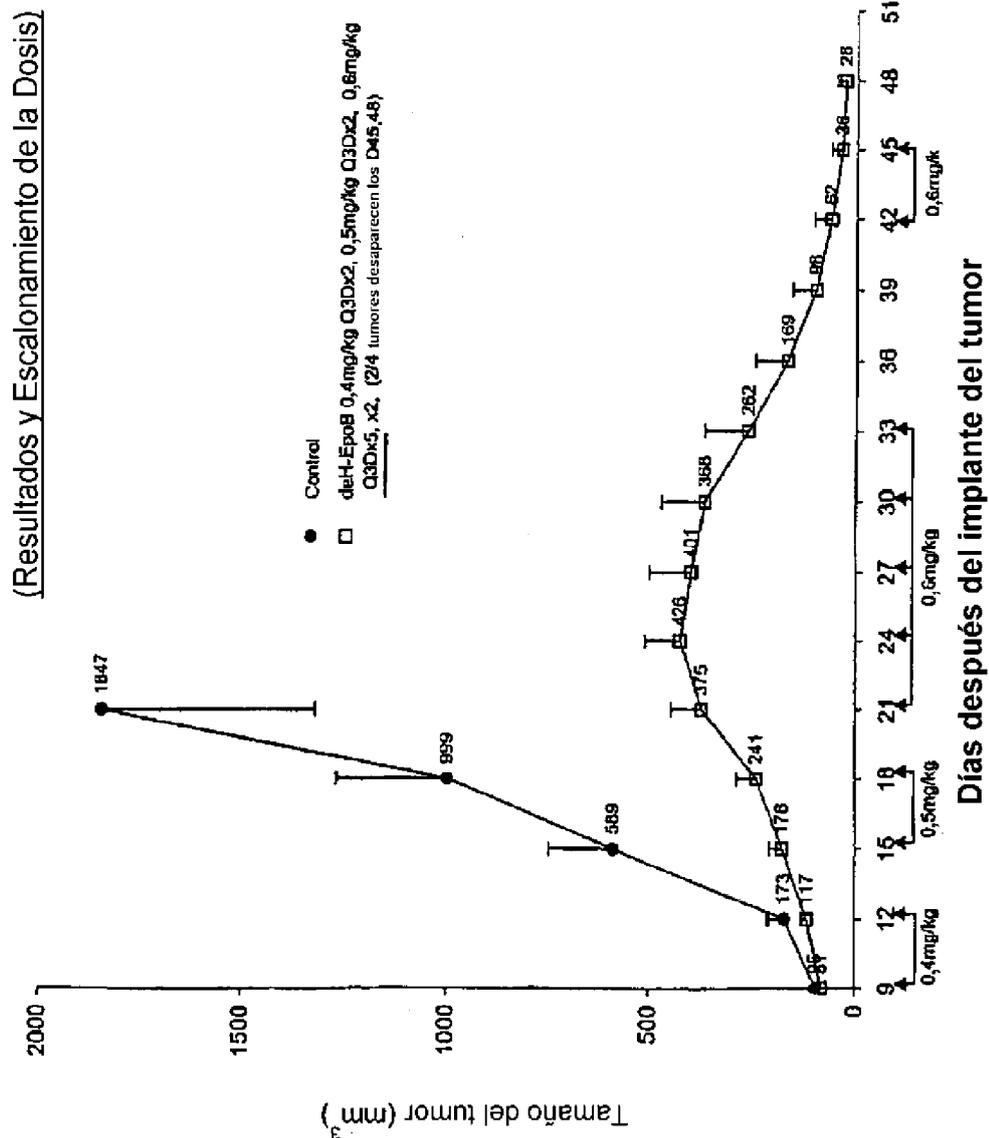


FIG. 68

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano después del tratamiento con 9,10- γ -dehidro-EpoB (infusión iv 6 horas).

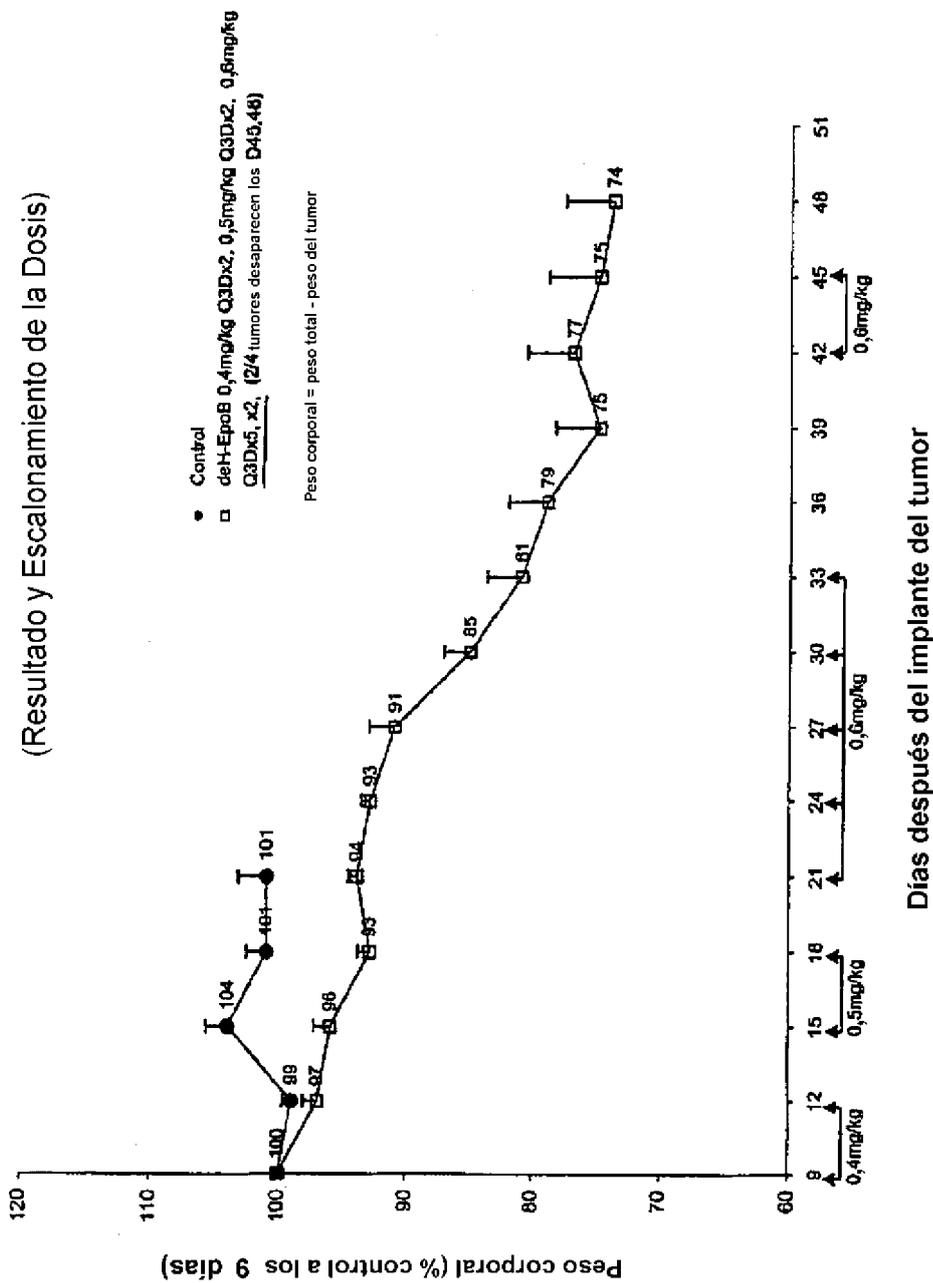


FIG. 69

Efecto terapéutico de 9,10-deH-EpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante CCRF-ECM/Taxol de leucemia linfoblástica de células T humanas (Resistente a Taxol) (infusión iv - 6 h, n = 4, Q3Dx5, x2).

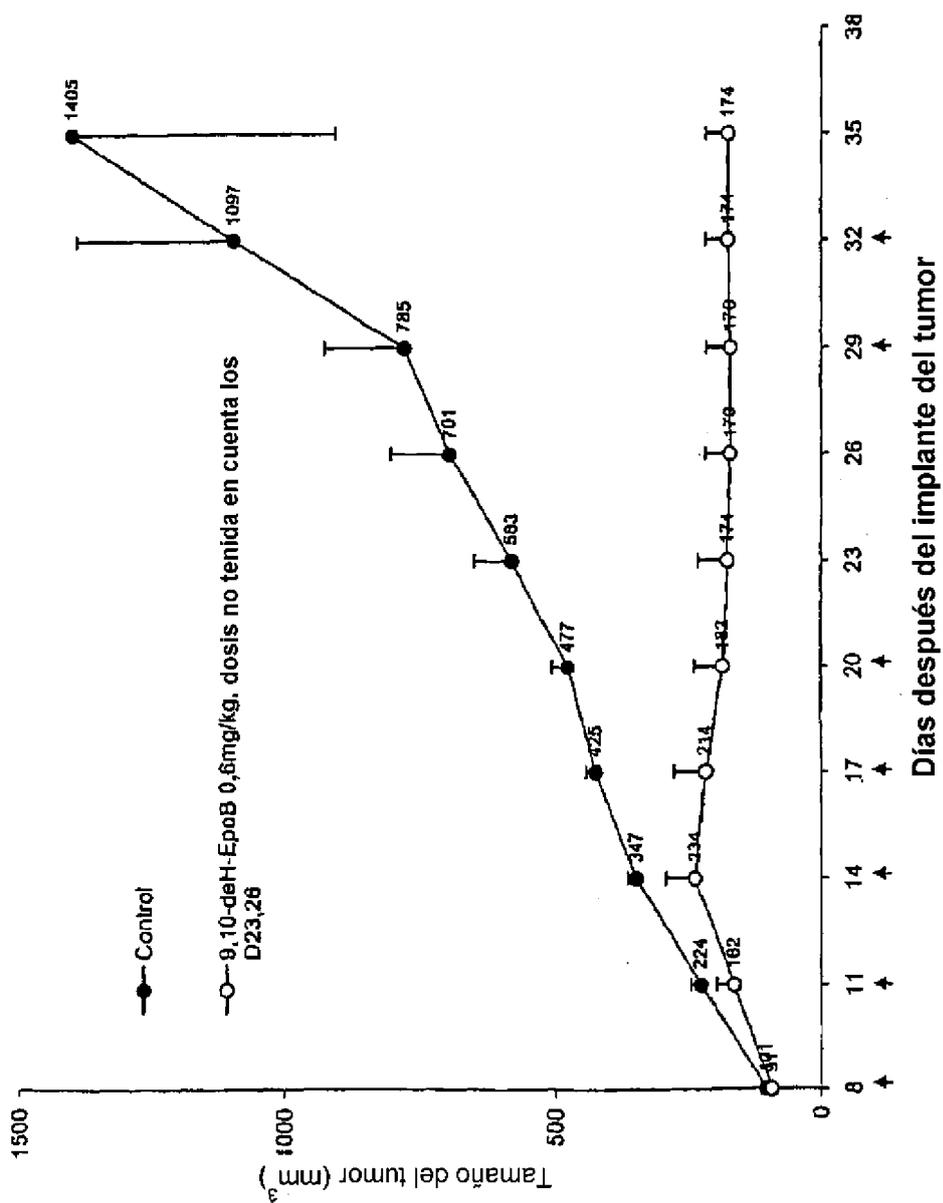


FIG. 70

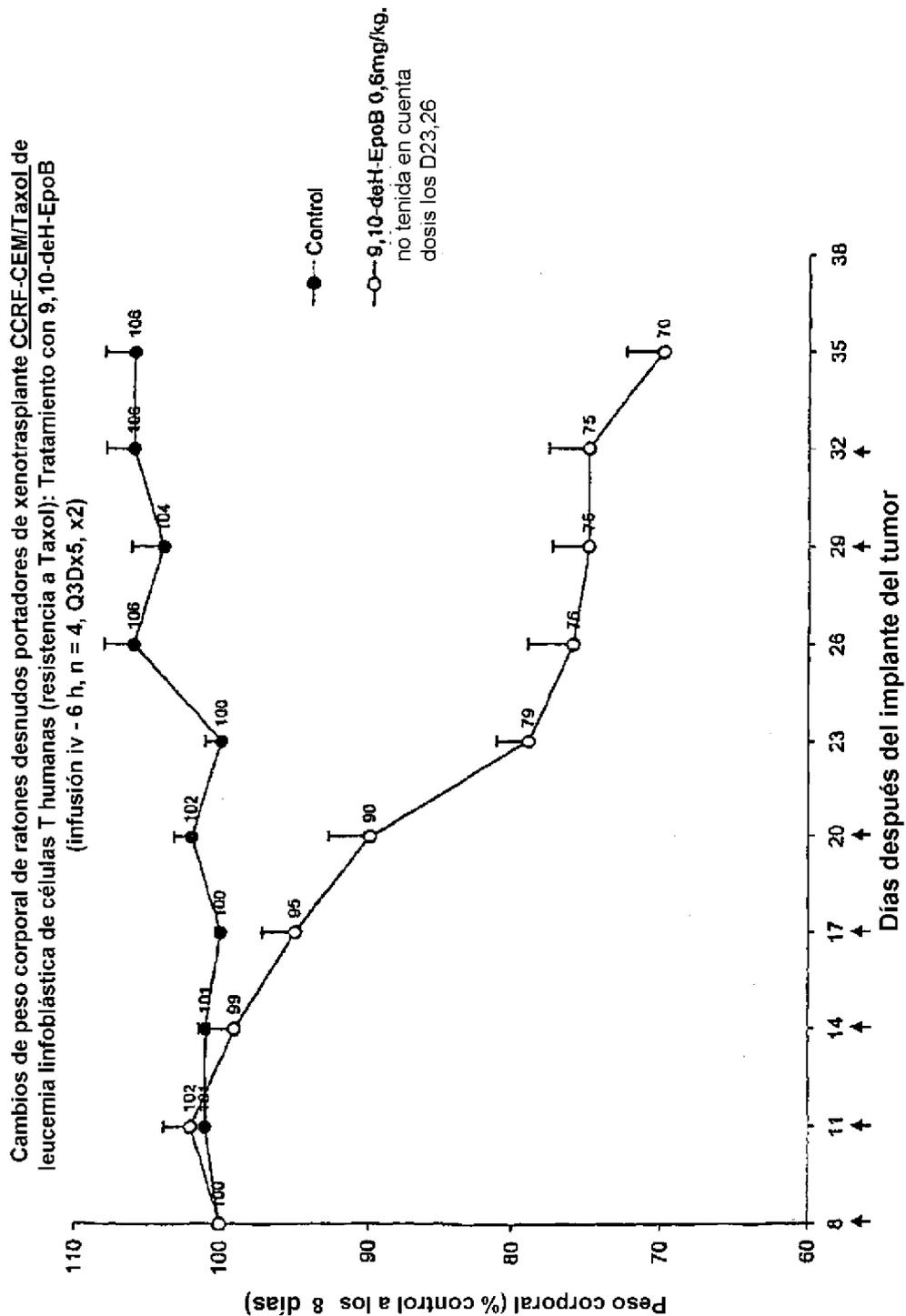


FIG. 71

Efecto terapéutico de F₃-dEpoB y F₃-deH-dEpoF en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano (Q2Dx11, inyección iv, n = 4)

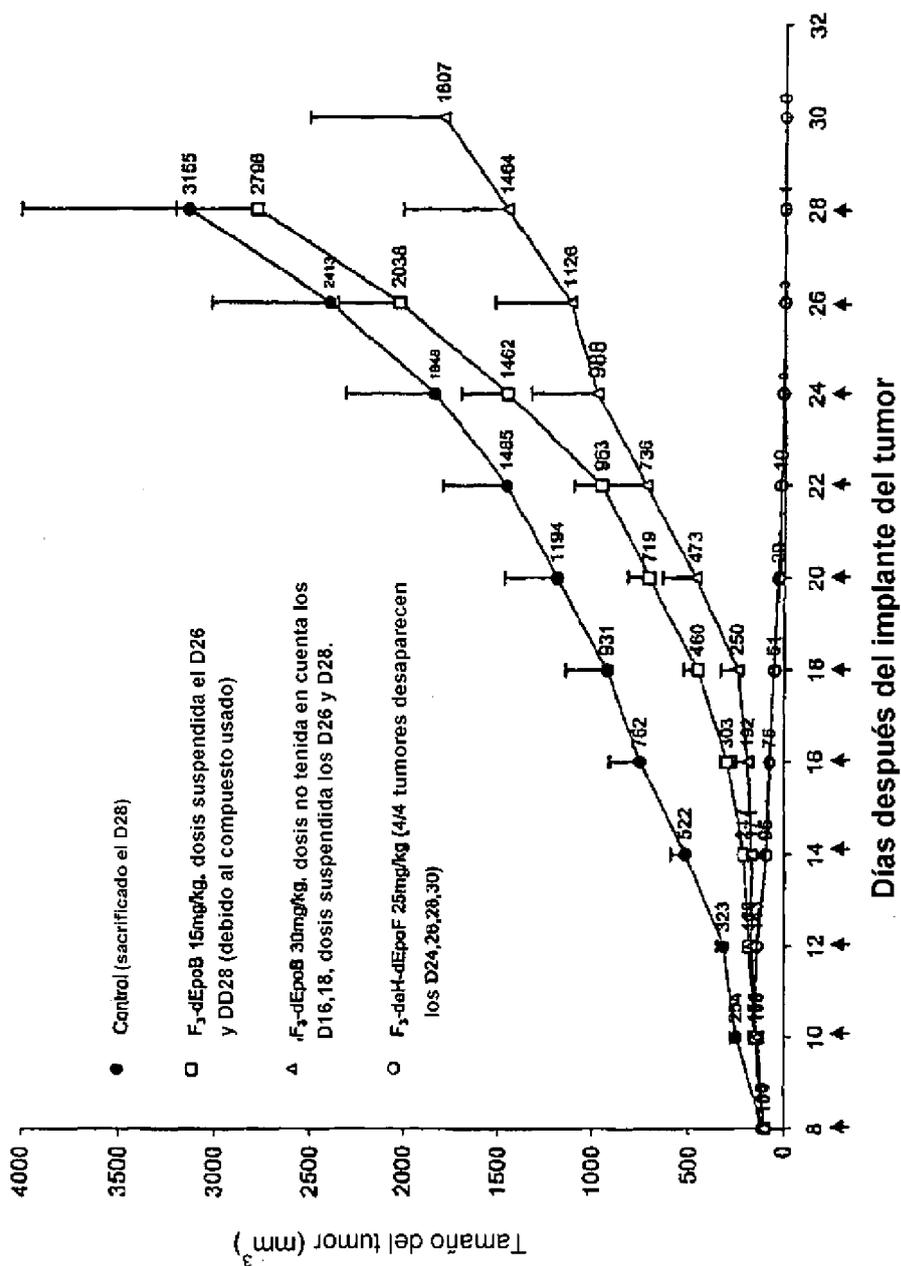


FIG. 72

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano:
 Tratamiento con F₃-dEpoB y F₃-deH-dEpoF (Q2Dx11, inyección iv, n = 4)

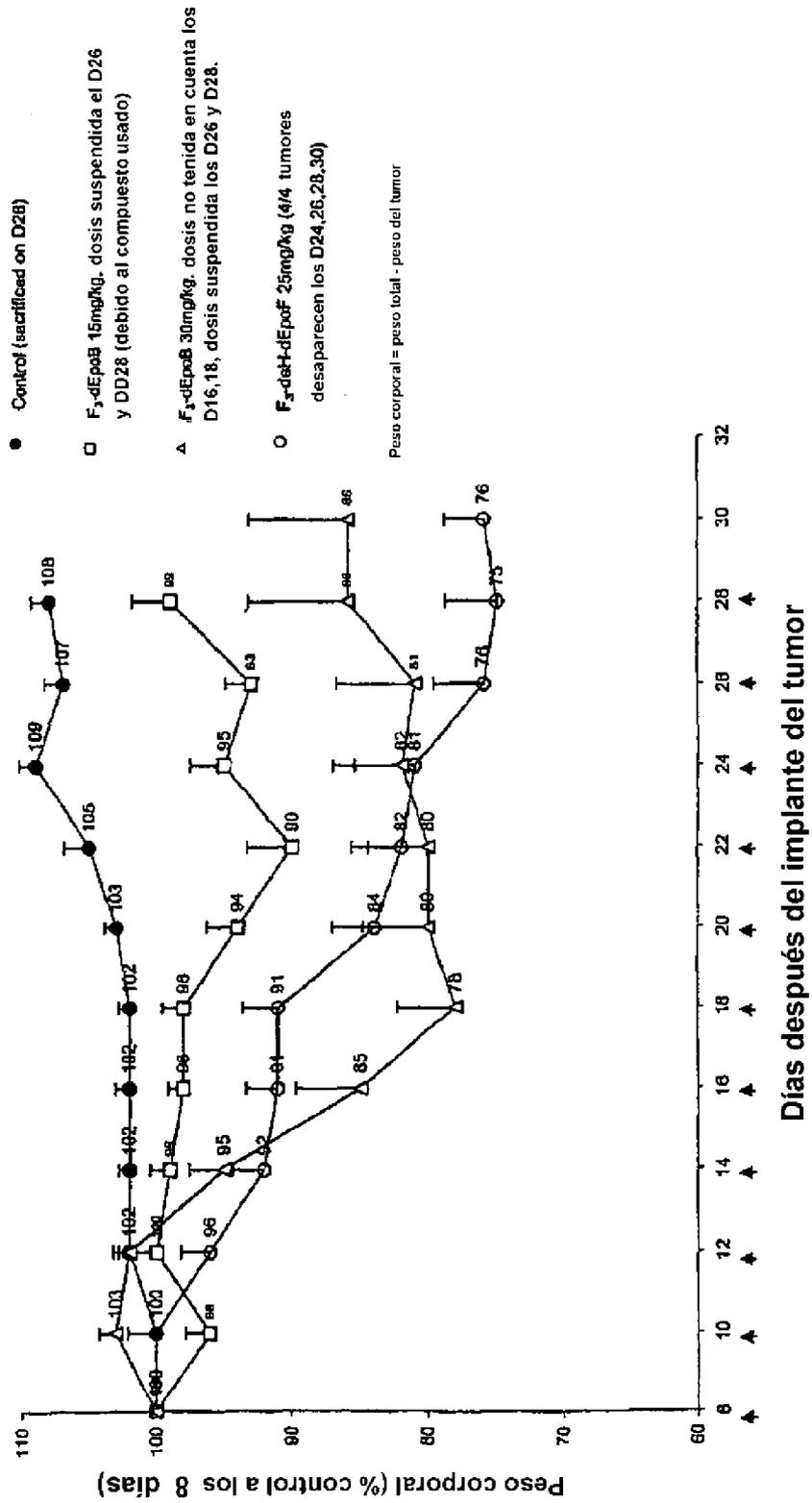


FIG. 73

Efecto terapéutico deH-dEpoB en ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano (Q3Dx9, infusión iv - 6 h, n = 4)

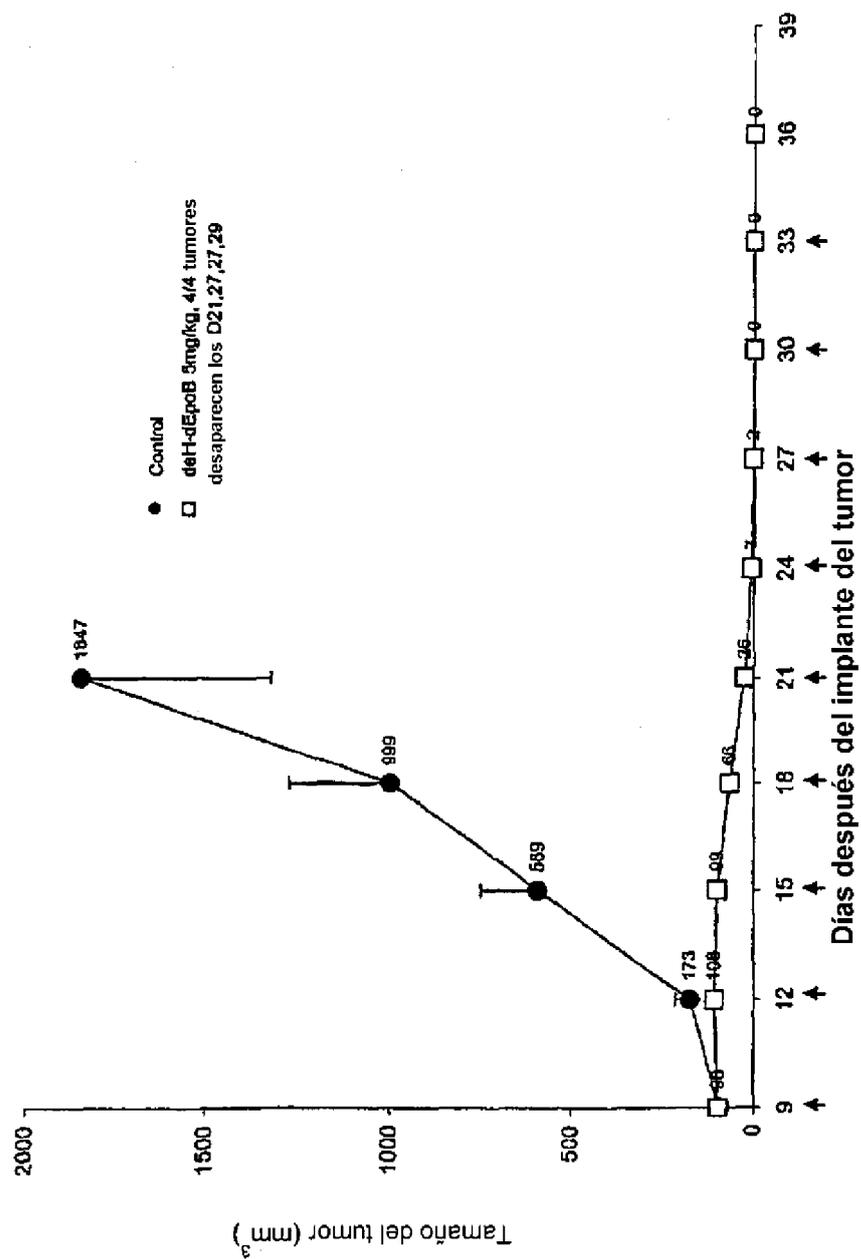


FIG. 74

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 de carcinoma mamario humano
 Tratamiento con deH-dEpoB (Q3Dx9, infusión IV - 6 h, n = 4)

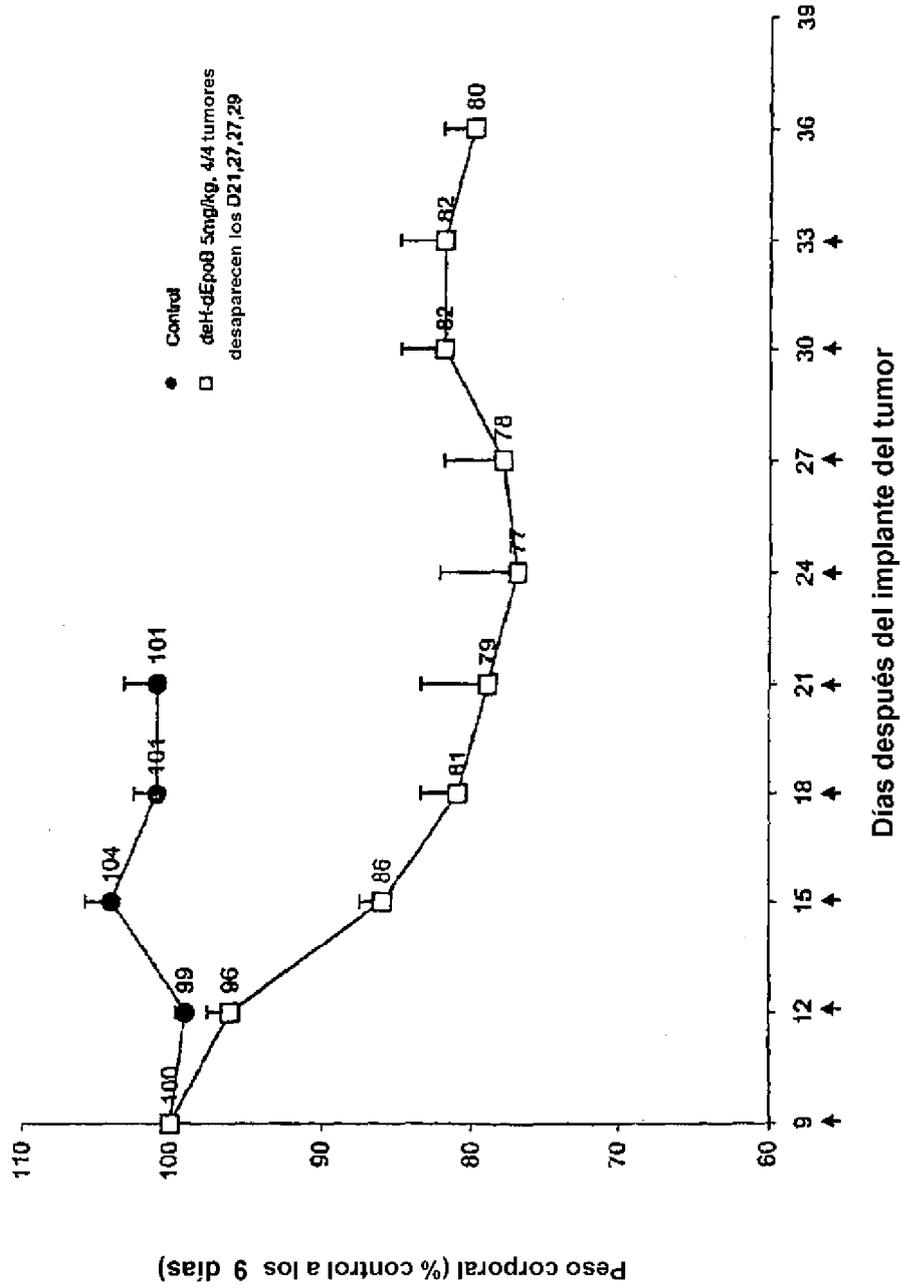


FIG. 75

Efecto terapéutico de F₃-9,10-deH-dEpoF(#99) en ratones desnudos portadores de xenotrasplante (MX-1) de carcinoma de pulmón humano (infusión iv - 6 h, e inyección iv, n = 4)

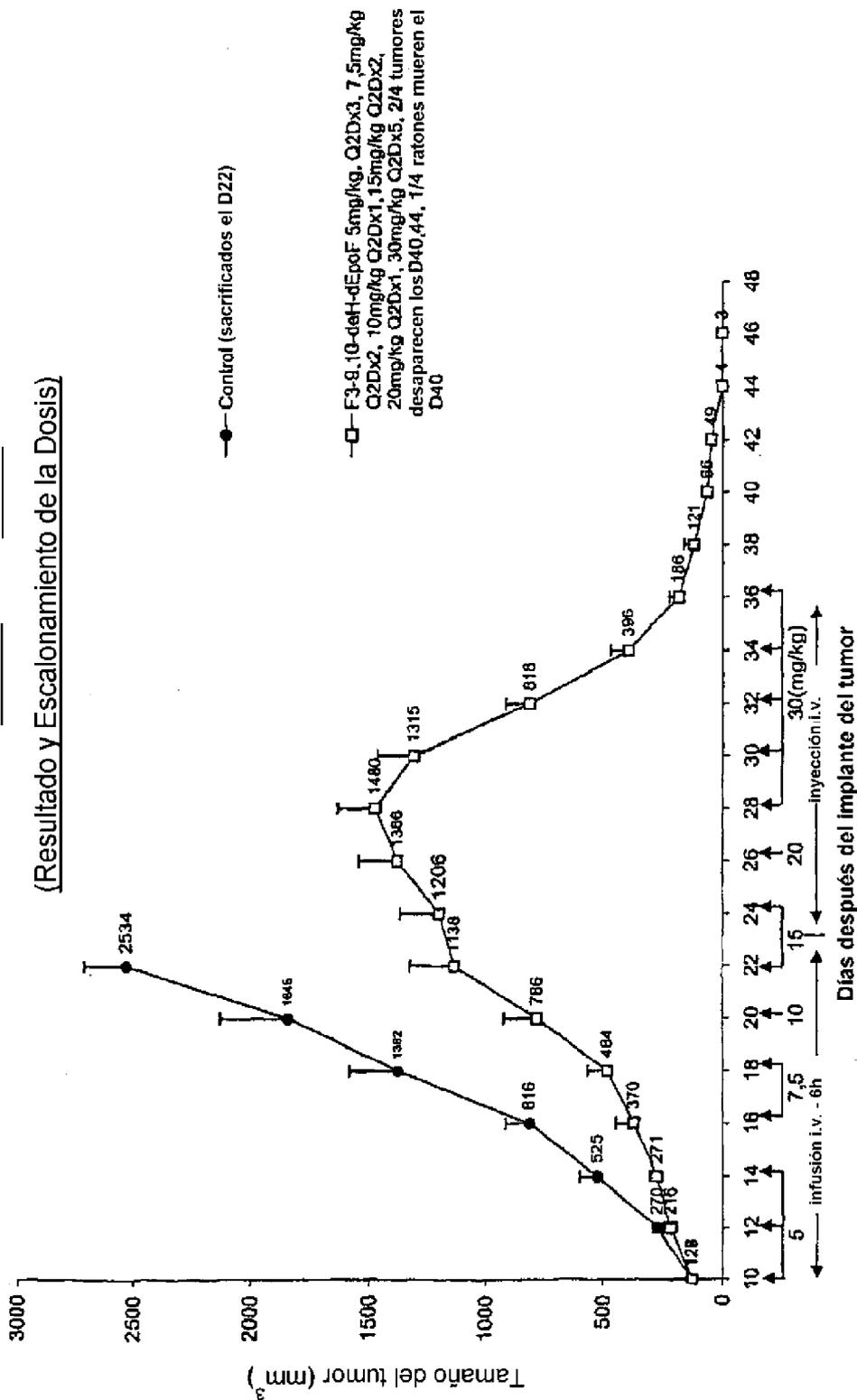


FIG. 76

Cambios de peso corporal de ratones desnudos portadores de xenotrasplante MX-1 después del tratamiento con F3-9,10-deH-dEpoF(#99) (infusión iv - 6 h, e inyección iv, n = 4)

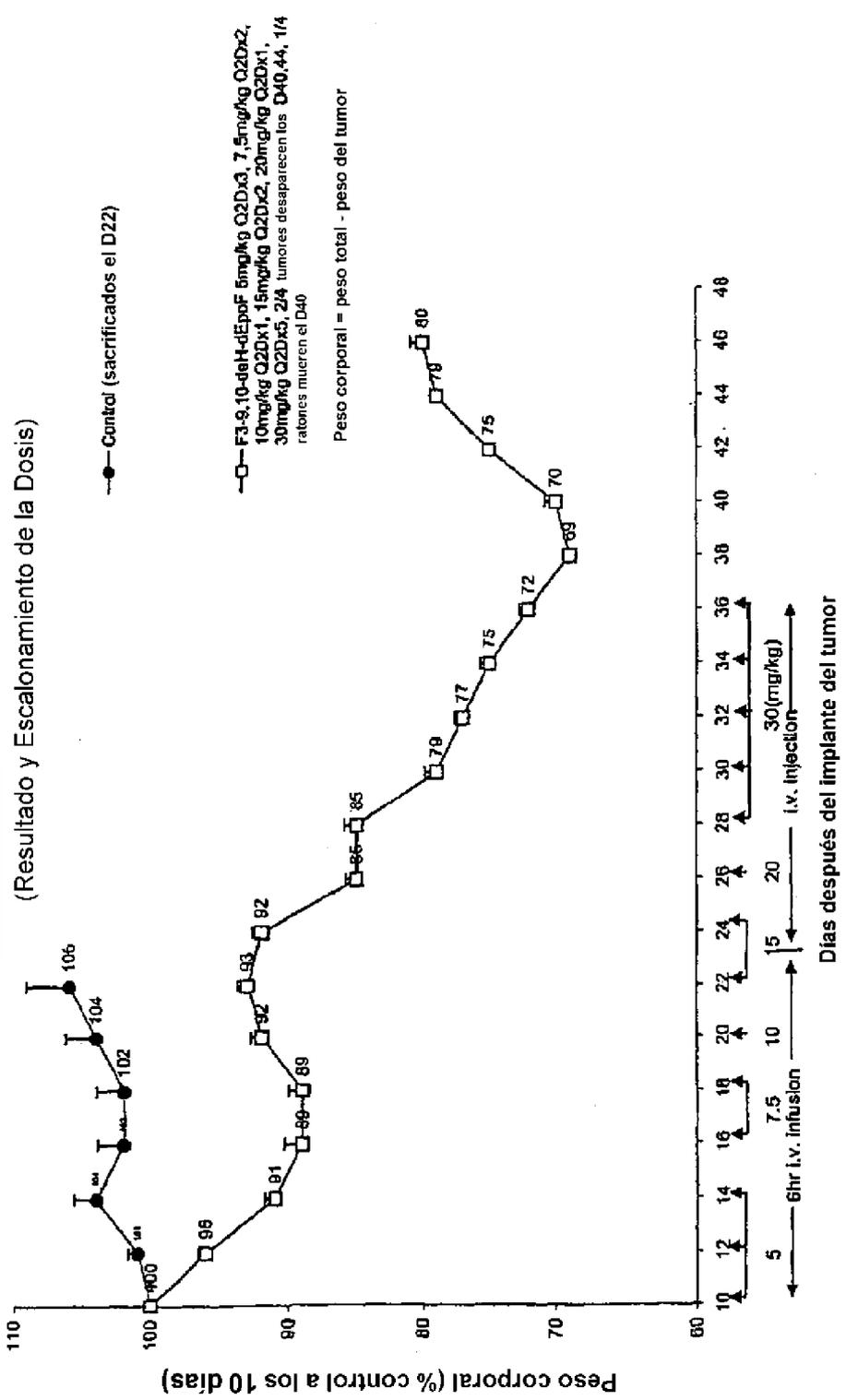


FIG. 77