



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 273 502**

(51) Int. Cl.:

C07D 417/06 (2006.01)

C07D 493/04 (2006.01)

A61K 31/425 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **99931120 .2**

(86) Fecha de presentación : **21.06.1999**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1089998**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **11.04.2001**

(54) Título: **Derivados de epotilona y su síntesis y uso.**

(30) Prioridad: **22.06.1998 US 102602**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.05.2007

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.05.2007

(73) Titular/es: **Novartis AG.**
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH
THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE

(72) Inventor/es: **Nicolaou, Kyriacos, Costa;**
King, Nigel, Paul;
Finlay, Maurice, Raymond, Verschoyle;
He, Yun;
Roschangar, Frank;
Vourloumis, Dionisios;
Vallberg, Hans y
Bigot, Antony

(74) Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

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

Derivados de epotilona y su síntesis y uso.

Resumen de la invención

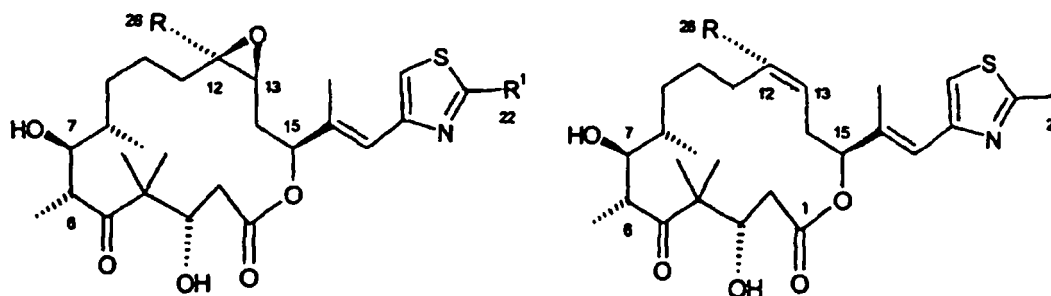
La presente invención se refiere a análogos de epotilona que presentan modificaciones en la cadena lateral y a métodos para la producción de dichos compuestos, a su uso en la terapia de enfermedades o en la obtención de preparados farmacéuticos para el tratamiento de enfermedades, así como a nuevos compuestos intermedios empleados en la síntesis de dichos análogos y nuevos métodos de síntesis.

Derechos del estado

Esta invención se llevó a cabo con el apoyo del estado a través de la Subvención CA 46446 concedida por los Institutos Nacionales de la Salud. El estado U.S. dispone de ciertos derechos sobre la invención.

Antecedentes de la invención

Las epotilonas (1-5) son sustancias naturales que exhiben citotoxicidad incluso contra células tumorales resistentes a paclitaxel al promover la polimerización de subunidades de α - y β -tubulina y estabilizar los conjuntos de microtúbulos resultantes. Las epotilonas desplazan a paclitaxel (el principio activo de TAXOLTM) de su sitio de unión a microtúbulos y sobre las mismas se ha dicho que son más potentes que paclitaxel con respecto a la estabilización de microtúbulos.



1: R = H, R' = Me: epotilona A
 2: R = Me, R' = Me: epotilona B
 3: R = H, R' = CH₂OH: epotilona E

4: R = H: epotilona C
 5: R = Me: epotilona D

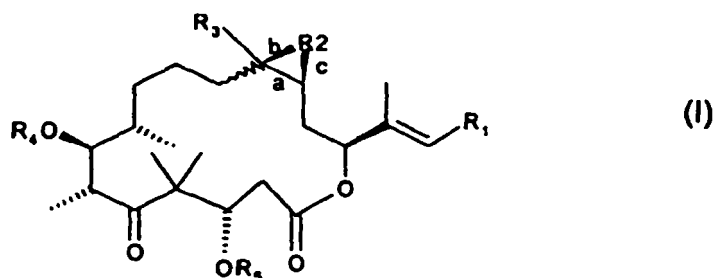
Lo que se necesita son análogos de epotilona A y B que exhiban superiores propiedades farmacológicas, en especial una o más de las siguientes propiedades: un índice terapéutico acentuado (por ejemplo, un intervalo más grande de dosis citotóxicas contra, por ejemplo, enfermedades proliferativas sin toxicidad para las células normales), mejores propiedades farmacocinéticas, mejores propiedades farmacodinámicas, mejor solubilidad en agua, mejor eficacia contra tipos de tumores que son, o llegan a ser, resistentes a la factura de formulaciones, por ejemplo, mejor solubilidad en disolventes polares, especialmente aquellos que comprenden agua, estabilidad mejorada, producción conveniente de los compuestos como tales, inhibición mejorada de la proliferación al nivel celular, altos niveles de efectos estabilizantes de microtúbulos y/o perfiles farmacológicos específicos.

La WO 98/25929A describe análogos de epotilona y librerías de análogos de epotilona y la síntesis de los mismos. Se ha demostrado que varios de los análogos tienen una superior actividad citotóxica para inducir la polimerización y estabilización de microtúbulos.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a nuevos compuestos que de manera sorprendente presentan una o más de las ventajas antes mencionadas.

Un aspecto principal de la invención se refiere a un compuesto análogo de epitolona representado por la fórmula I

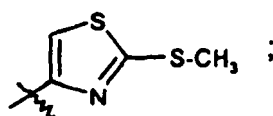


en donde el enlace ondulado indica que el enlace "a" está presente bien en la forma cis o bien en la forma trans; (i) R_2 está ausente o es oxígeno; "a" puede ser un enlace sencillo o doble; "b" puede estar ausente o es un enlace sencillo; y "c" puede estar ausente o es un enlace sencillo, con la condición de que si R_2 es oxígeno, entonces "b" y "c" son ambos un enlace sencillo y "a" es un enlace sencillo; si R_2 está ausente, entonces "b" y "c" están ausentes y "a" es un enlace doble; y si "a" es un enlace doble, entonces R_2 , "b" y "c" están ausentes;

R_3 es un radical seleccionado del grupo consistente en hidrógeno; alquilo inferior, especialmente metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-pentilo, n-hexilo; $-\text{CH}=\text{CH}_2$; $-\text{C}\equiv\text{CH}$; $-\text{CH}_2\text{F}$; $-\text{CH}_2\text{Cl}$; $-\text{CH}_2\text{OH}$; $-\text{CH}_2\text{-O}$ -(alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$), especialmente $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_3$; y $-\text{CH}_2\text{-S}$ -(alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$), especialmente $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_3$;

R_4 y R_5 se eligen independientemente entre hidrógeno, metilo o un grupo protector, preferentemente hidrógeno; y

R_1 es un radical seleccionado entre las siguientes estructuras:



o una sal de un compuesto de fórmula I cuando está presente un grupo formador de sales.

Los términos generales usados anteriormente y de aquí en adelante tienen preferentemente, dentro del contexto de esta descripción, los siguientes significados, salvo que se indique otra cosa:

El término "inferior" significa que el respectivo radical tiene preferentemente hasta 7 inclusive, más preferentemente hasta 4 inclusive átomos de carbono.

Alquilo inferior puede ser lineal o estar ramificado una o más veces y preferentemente tiene hasta 7 inclusive, más preferentemente hasta 4 inclusive, átomos de carbono. Con preferencia, alquilo inferior es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo o además n-pentilo o n-hexilo.

Un grupo protector es con preferencia un grupo protector estándar. Si uno o más grupos funcionales distintos, por ejemplo carboxi, hidroxilo, amino o mercapto, están presentes o necesitan ser protegidos en un compuesto de fórmula I, debido a que los mismos no deberán tomar parte en la reacción, dichos grupos son como los usualmente empleados en la síntesis de compuestos peptídicos, y también de cefalosporinas y penicilinas, así como derivados de ácidos nucleicos y azúcares.

Los grupos protectores ya pueden estar presentes en precursores y deben proteger los grupos funcionales implicados contra reacciones secundarias no deseadas, tales como acilaciones, eterificaciones, esterificaciones, oxidaciones, solvolisis y reacciones similares. Es una característica de los grupos protectores que tienden ellos mismos fácilmente, es decir, sin reacciones secundarias no deseadas, a retirarse, típicamente mediante solvolisis, reducción, fotólisis o también mediante actividad enzimática, por ejemplo bajo condiciones análogas a las condiciones fisiológicas, y no están presentes en los productos finales. El especialista sabe, o puede establecer fácilmente, qué grupos protectores son adecuados para las reacciones mencionadas previamente y más adelante aquí.

La protección de tales grupos funcionales mediante dichos grupos protectores, los propios grupos protectores y sus reacciones de separación se describen, por ejemplo, en trabajos de referencia estándar, tales como J.F.W. McMurry, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Londres y Nueva York 1991, en T.W. Greene, P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2ª edición, John Wiley & Son Inc., 1981, en "The Peptides"; Volumen 3 (E. Gross y J. Meienhofer), Academic Press, Londres y Nueva York 1981, en "Methoden der organischen Chemie", Houben Weyl, 4ª edición, Volumen 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, en H.D. Jakubke y H. Jes-

cheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982 y en Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Grupos protectores especialmente preferidos son grupos hidroxiprotectores, tal como terc-butildimetilsililo o tritilo.

5 R_4 y R_5 son con preferencia hidrógeno.

El enlace ondulado que parte del átomo de carbono que porta R_3 significa que el enlace "a" está presente en la forma trans o preferentemente en la forma cis.

10 Las sales son principalmente las sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de fórmula I.

Tales sales se forman, por ejemplo, como sales de adición de ácidos, preferiblemente con ácidos orgánicos o inorgánicos, a partir de compuestos de fórmula I con un átomo de nitrógeno básico, especialmente las sales farmacéuticamente aceptables. Ácidos inorgánicos adecuados son, por ejemplo, ácidos halogenados, tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico. Ácidos orgánicos adecuados son, por ejemplo, ácidos carboxílicos, fosfónicos, sulfónicos o sulfámicos, por ejemplo ácido acético, ácido propiónico, ácido octanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, aminoácidos, tal como ácido glutámico o ácido aspártico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido ciclohexanocarboxílico, ácido adamantancarboxílico, ácido benzoico, ácido salicílico, ácido 4-aminosalicílico, ácido ftálico, ácido fenilacético, ácido mandélico, ácido cinámico, ácido metano- o etano-sulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 1,5-naftalenodisulfónico, ácido 2-, 3- o 4-metilbencenosulfónico, ácido metilsulfúrico, ácido etilsulfúrico, ácido dodecilsulfúrico, ácido N-ciclohexilsulfámico, ácido N-metil-, N-etil- o N-propilsulfámico, u otros ácidos protónicos orgánicos, tal como ácido ascórbico.

25 Para fines de aislamiento o purificación, también es posible usar sales farmacéuticamente inaceptables, por ejemplo picratos o percloratos. Sólo las sales farmacéuticamente aceptables o los compuestos libres (si se da el caso, en forma de preparados farmacéuticos) alcanzan uso terapéutico y por lo tanto estos se prefieren.

30 En vista de la estrecha relación entre los nuevos compuestos en forma libre y en forma de sus sales, incluyendo las sales que pueden usarse como productos intermedios, por ejemplo en la purificación o la identificación de los nuevos compuestos, previamente y más adelante aquí debe entenderse que cualquier referencia a los compuestos libres se refiere también a las sales correspondientes, según sea apropiado y conveniente.

35 El término "aproximadamente" o "alrededor de" en conexión con valores numéricos, por ejemplo "un exceso aproximadamente dos veces molar" o similar, está destinado preferentemente a indicar que el valor numérico dado puede desviarse del número dado de hasta 10%, más preferentemente hasta 3%; con suma preferencia, el valor numérico es exactamente el indicado.

40 En especial se prefiere un compuesto libre de fórmula I o bien una sal del mismo.

Bioactividad: El compuesto o los compuestos de la invención se pueden emplear para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, especialmente un cáncer, tales como cánceres de pulmón, especialmente carcinoma de pulmón de células de pulmón no microcíticas, de próstata, de intestino, por ejemplo cánceres colorrectales, tumores epiteliales, tales como tumores de cabeza y/o cuello, o cáncer de mama, u otros cánceres tales como cánceres de vejiga, páncreas o cerebro o melanoma, incluyendo especialmente el tratamiento de cánceres que son resistentes a múltiples fármacos (por ejemplo, debido a la expresión de p-glicoproteína = P-gp) y/o refractarios al tratamiento con paclitaxel (por ejemplo, en forma de TAXOL).

50 *Evaluación biológica*

La capacidad de los compuestos de la presente invención para bloquear la despolimerización de microtúbulos se puede demostrar por el siguiente ensayo:

55 Se efectúan ensayos con microtúbulos siguiendo los procedimientos de la bibliografía al respecto y se evalúan los compuestos sintetizados respecto a su capacidad para formar y estabilizar microtúbulos. También se llevan a cabo estudios de citotoxicidad.

Los compuestos de fórmula I son ensayados respecto a su acción sobre el ensamblado de tubulina empleando tubulina purificada con un ensayo desarrollado para amplificar las diferencias entre compuestos más activos que Taxol. Se comprueba que los compuestos de fórmula I tienen un alto nivel de actividad citotóxica y de polimerización de tubulina, en comparación con las epotilonas A y B (Lin *et al.*, Cancer Chemother. Pharmacol. 38, 136-140 (1996); Rogan *et al.*, Science 244, 994-996 (1984)).

65 *Ensayo colorimétrico por filtración*

Se coloca proteína de microtúbulos (0,25 ml de 1 mg/ml) en un tubo de ensayo y se añaden 2,5 μ l del compuesto del ensayo. La muestra se mezcla y se incuba a 37°C durante 30 minutos. Se transfiere la muestra (150 μ l) a un pocillo de

una placa de filtración hidrófila de 96 pocillos con un tamaño de poro de 0,22 μm de Millipore Multiscreen Durapore que previamente había sido lavada con 200 μl de tampón MEM bajo vacío. El pocillo se lava entonces con 200 μl de tampón MEM. Para teñir la proteína retenida sobre la placa, se añaden al filtro, durante 2 minutos, 50 μl de solución negra amido [0,1% de negro azul naftol (Sigma)/45% de metanol/10% de ácido acético]; se aplica entonces de nuevo el vacío. Para separar el colorante no unido se efectúan dos adiciones de 200 μl de solución de destañido negra amido (90% de metanol/2% de ácido acético). La señal de cuantifica por el método de Schaffner y Weissmann *et al.*, Anal. Biochem., 56: 505-514, 1973 como sigue: se añaden al pocillo 200 μl de solución de elución (25 mM NaOH-0,05 mM EDTA-50% etanol) y la solución se mezcla con una pipeta después de 5 minutos. Después de una incubación durante 10 minutos a temperatura ambiente, se transfieren 150 μl de la solución de elución al pocillo de una placa de 96 pocillos y se mide la absorbancia en un Molecular Devices Microplate Reader (Lector de Microplacas).

Los experimentos de citotoxicidad con líneas de células 1A9, 1A0PTX10 (mutante de α -tubulina) y 1A9PTX22 (mutante de α -tubulina) pueden revelar la actividad citotóxica de los compuestos de fórmula I. Al igual que las epotilonas 1 y 2 de origen natural, los compuestos de fórmula I muestra una actividad importante contra las líneas de células alteradas que expresan α -tubulina 1A9PTX10 y 1A0PTX22. Para los compuestos de fórmula I, los valores IC50 preferidos (concentración a la que se encuentra una inhibición del crecimiento semi-máxima de células tumorales en comparación con un control sin inhibidor incorporado de fórmula I) pueden residir en el intervalo de 1 a 1.000 nM, con preferencia de 1 a 200 nM.

La capacidad de los compuestos de la presente invención para inhibir el crecimiento de tumores se puede demostrar por los siguientes ensayos con las siguientes líneas de células:

Ensayo colorimétrico de citotoxicidad para la selección de fármacos anticancerosos

El ensayo colorimétrico de citotoxicidad empleado es un ensayo adaptado a partir de Skehan *et al* (Journal of National Cancer Inst 82: 1107-1112, 19901). El procedimiento proporciona un método rápido, sensible y económico para medir el contenido en proteína celular de cultivos adherentes y en suspensión en placas de microvaloración de 96 pocillos. El método es adecuado para la selección de descubrimientos de fármacos anticancerosos *in vitro* orientados a enfermedad del National Cancer Institute.

En particular, se tiñen durante 30 minutos cultivos fijados con ácido tricloroacético con 0,4% (p/v) de sulforrodamina (SRB) disuelta en 1% de ácido acético. El colorante no unido se separa mediante cuatro lavados con 1% de ácido acético y el colorante unido a la proteína se extrae con 10 mM de base Tris sin tamponar [tris(hidroximetil)aminometano] para la determinación de la densidad óptica en un lector de placas de microvaloración de 96 pocillos, conectado con un ordenador. Los resultados del ensayo SRB son lineales con el número de células y con valores para la proteína celular medidos por los ensayos de Lowry y Bradford a densidades que van desde una subconfluencia esparcida a una supraconfluencia en múltiples capas. La relación de señal a ruido a 564 nm es de aproximadamente 1,5 con 1.000 células por pocillo.

El ensayo SRB proporciona un punto final calorimétrico que es no destructivo, indefinidamente estable y visible a simple vista. Proporciona una medida sensible de la citotoxicidad inducida por fármacos. La SRB fluoresce fuertemente con excitación láserica a 488 nm y se puede medir cuantitativamente al nivel de células individuales mediante citometría de fluorescencia estática (Skehan *et al* (Journal of National Cancer Inst 82: 1107-1112, 19901)).

Alternativamente, la eficacia de los compuestos de fórmula I como inhibidores de la despolimerización de microtúbulos puede probarse como sigue:

Se preparan soluciones madre de los compuestos de ensayo DMSO y se guardan a -20°C . Se extrae proteína de los microtúbulos de cerebro de cerdo mediante dos ciclos de despolimerización/polimerización dependiente de la temperatura, según se sabe (véase Weingarten y otros, Biochemistry 1974; 13:5529-37). Las soluciones madre de trabajo de proteína de microtúbulos (es decir, tubulina más proteínas asociadas con los microtúbulos) se guardan a -70°C . El grado de polimerización inducida por compuesto de ensayo de proteína de microtúbulos se determina básicamente como ya se sabe (véase Lin y otros, Cancer Chem. Pharm. 1996; 38:136-140). En resumen, se mezclan 5 μl de solución madre del compuesto de ensayo en 20 veces la concentración final deseada con 45 μl de agua a temperatura ambiente y a continuación se ponen sobre hielo. Una parte alícuota de trabajo de proteína de microtúbulos de cerebro de cerdo se descongela rápidamente y a continuación se diluye hasta 2 mg/ml en tampón 2 x MEM (200 ml de MES, EGTA 2 mM, MgCl_2 2 mM, pH 6,7) enfriado con hielo [MES = ácido 2-morfolinoetanansulfónico, EGTA = ácido etilenglicol-bis-2-(2-aminoetil)tetraacético]. La reacción de polimerización se comienza añadiendo 50 μl de cada proteína de microtúbulos diluida al compuesto de ensayo, seguido por la incubación de la muestra durante 5 minutos en un baño de agua a temperatura ambiente. A continuación, las mezclas de reacción se ponen en una microcentrífuga de Eppendorf y se incuban durante 15 minutos más a temperatura ambiente. Las muestras se centrifugan a continuación durante 20 minutos a 14.000 rpm a temperatura ambiente, para separar proteína de microtúbulos polimerizada de la no polimerizada. Como una medida indirecta de la polimerización de tubulina, la concentración de proteína del sobrenadante (que contiene la proteína de microtúbulos solubles no polimerizada restante) se determina mediante el método de Lowry (CD Assay Kit, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) y se mide la densidad óptica (DO) de la reacción cromática a 750 nm usando un espectrómetro (SpectraMax 340, Molecular Devices, Sunnydale, CA). La diferencia en DOs entre muestras tratadas con un compuesto de ensayo y controles tratados con vehículo se compara con la obtenida con incubaciones que contienen epotilona B 25 μM (control positivo). El grado de polimerización

ES 2 273 502 T3

inducido por un compuesto de ensayo se expresa con relación al control positivo (100%). Comparando la actividad de varias concentraciones, puede determinarse la EC50 (concentración a la que se produce 50% de la polimerización máxima). Para compuestos de fórmula I, la EC50 está en el intervalo de 1 a 200, preferiblemente en el intervalo de 1 a 50 μM . La inducción de la polimerización de tubulina del compuesto del ensayo de fórmula I en una concentración de 5 μM como porcentaje en comparación con 25 μM de epotilona B reside preferentemente en el intervalo de 50 a 100%, especialmente de 80 a 100%.

La eficacia contra células tumorales puede demostrarse del siguiente modo:

Se preparan soluciones madre de los compuestos de ensayo (10 mM) en DMSO y se guardan a -20°C . Células de carcinoma epidermoide KB-31 y KB-8511 (resistente a múltiples fármacos, que expresa P-gp170) humanas originarias del Dr. M. Baker, Roswell Park Memorial Institute (Buffalo, NY, USA) (descripción: véase también Akiyama y otros, *Somat. Cell. Mol. Genetics* **11**, 117-126 (1985) y Fojo A. y otros, *Cancer Res.* **45**, 3002-3007 (1985) - KB-31 y KB-8511 son ambos derivados de la línea celular KB (ATCC) y son células de carcinoma de epidermis humano. Las células KB-31 pueden cultivarse en monocapas usando medio de Eagle modificado de Dulbecco (D-MEM) con 10% de suero de ternero fetal (M.A. Bioproducts), L-glutamina (Flow), penicilina (50 unidades/ml) y estreptomicina (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Flow)); se hacen crecer a continuación con un tiempo de duplicación de alrededor de 22 horas y su eficacia de cultivo en placas relativa es alrededor de 60%. KB-8551 es una variante derivada de la línea celular KB-31, que se obtuvo usando ciclos de tratamiento con colchicina, y tiene una resistencia relativa a la colchicina de aproximadamente 40 veces en comparación con células KB-31. Las células se incuban a 37°C en una incubadora con CO_2 al 5% v/v y a una humedad relativa de 80% con medio MEM Alpha que contiene ribonucleósidos y desoxirribonucleósidos (Gibco BRL), complementado con 10 UI de penicilina, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de estreptomicina y 5% de suero de ternero fetal. Las células se siembran en una cantidad de $1,5 \times 10^3$ células/pocillo en placas de microvaloración de 96 pocillos y se incuban durante la noche. Se añaden diluciones en serie de los compuestos de ensayo en medio de cultivo el día 1. Las placas se incuban a continuación durante 4 días más, después de lo cual las células se fijan con glutaraldehído al 3,3% v/v, se lavan con agua y se tiñen con azul de metileno al 0,05% p/v. Después de lavar, el colorante se eluye con HCl al 3% y la densidad óptica se mide a 665 nm con un SpectraMax 340 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Los valores de IC50 se determinan mediante adaptación de curvas matemáticas, usando el programa SofrPro2.0 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) y usando la fórmula

$$[(\text{DO tratado}) - (\text{DO inicio})]/[(\text{DO control}) - (\text{DO inicio})] \times 100$$

La IC50 se define como la concentración de un compuesto de ensayo al final del período de incubación, que conducía a 50% del conteo de células por pocillo en comparación con el control (concentración a la inhibición semimáxima del crecimiento celular). Los compuestos de fórmula I muestran así preferiblemente una IC50 en el intervalo de $0,1 \times 10^{-9}$ a 500×10^{-9} M, preferiblemente entre 0,1 y 60 nM.

También pueden llevarse a cabo ensayos comparables con otras líneas de células tumorales, tales como A459 (pulmón; ATCC CCL 185), NC1H460 (pulmón), Colo 205 (colon; ATCC CCL 225 - ATCC = American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA)), HCT-116 (colon), Du145 (próstata; ATCC No. HTB 81; véase también *Cancer Res.* **37**, 4049-58 [1978]), PC-3M (derivado insensible a la hormona de próstata, obtenido de Dr. I.J. Fidler (MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA) y derivado de PC-3, una línea celular que puede obtenerse del ATCC (ATCC CRL 1435)), MCF-7 (mama; ATCC HTB 22) o MCF-7/ADR (mama, resistente a múltiples fármacos; véase también Globe G.C. y otros, *J. Biol. Chem.* (1983), 658-664; la línea celular es en gran extensión resistente (de 360 a 2400 veces) a doxorubicina y alcaloides Vinca en comparación con células de "tipo salvaje" MDR-7)), en donde se obtienen resultados similares como con las células KB-31 y KB-8511. Los compuestos de fórmula I muestran aquí preferentemente un valor IC50 del orden de $0,1 \times 10^{-9}$ a 500×10^{-9} M, preferentemente entre 0,1 y 60 nM.

En base a estas propiedades, los compuestos de fórmula I (significando también las sales de los mismos) son adecuados para el tratamiento de enfermedades proliferativas, tales como especialmente enfermedades tumorales, incluyendo también metástasis cuando esté presente, por ejemplo de tumores sólidos, tales como tumor de pulmón, tumor de mama, cáncer colorectal, cáncer de próstata, melanoma, tumor cerebral, tumor de páncreas, tumor de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, neuroblastoma, tumor faringeal o también de enfermedades proliferativas de células sanguíneas, tal como leucemia; o además para el tratamiento de otras enfermedades que responden al tratamiento de inhibidores de la despolimerización de microtúbulos, tal como psoriasis. Los compuestos de fórmula I, o sus sales, son también adecuados para implantes médicos de recubrimiento (útiles en la profilaxis de restenosis) (véase WO 99/16416, prioridad 29 septiembre 1997).

La actividad *in vivo* de un compuesto de la invención se puede demostrar con el siguiente modelo animal:

Se mantienen ratones BALB/c nu/nu (desnudos) hembras o machos bajo condiciones estériles (10 a 12 ratones por jaula de tipo III) con acceso libre a comida y agua. El peso de los ratones está comprendido entre 20 y 25 g en el momento de la implantación del tumor. Los tumores son establecidos por inyección subcutánea de células (mínimo 2×10^6 células en 100 μl de PBS o medio) en ratones portadores (4-8 ratones por línea celular). Los tumores resultantes son sub-cultivados en serie para un mínimo de tres transplantantes consecutivos antes de iniciar el tratamiento. Se implantan fragmentos de tumor (aproximadamente 25 mg) s.c. en el lomo izquierdo de los animales con una aguja trocar de calibre 13, al tiempo que los ratones se exponen a anestesia con Forene (Abbott, Switzerland).

El crecimiento de los tumores y los pesos corporales se controlan una o dos veces a la semana. Todos los tratamientos se administran intravenosamente (i.v.) y se inician cuando se alcanza un volumen medio de tumor de aproximadamente 100 a 250 mm³, dependiendo del tipo de tumor. Los volúmenes de los tumores se determinan empleando la fórmula $(L \times D \times \pi)/6$ (véase, Cancer Chemother. Pharmacol. 24: 148-154 [1989]). Los tratamientos con epotilonas de fórmula I varían en cuanto a la dosis y frecuencia de administración. Se administran agentes comparadores de acuerdo con los regímenes de tratamiento óptimos previamente determinados. Además de presentar cambios en los volúmenes de los tumores en el transcurso del tratamiento, la actividad antitumoral se expresa como T/C% (incremento medio de volúmenes de los tumores en animales tratados dividido por el incremento medio de volúmenes de los tumores en animales de control multiplicado por 100). La regresión de los tumores (%) representa el volumen medio más pequeño del tumor en comparación con el volumen medio del tumor al inicio del tratamiento, de acuerdo con la fórmula

$$\text{Regresión (\%)} = (1 - \text{VendNstart}) \times 100$$

(Vend = volumen medio final del tumor, Vstart = volumen medio del tumor al inicio del tratamiento).

Con este modelo, se puede ensayar el efecto inhibitor de un compuesto de la invención sobre el crecimiento, por ejemplo, de tumores derivados de las siguientes líneas celulares:

La línea de células de adenocarcinoma colorectal humano HCT-15 (ATCC CCL 225) es de la American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA) y las células se cultivan *in vitro* tal como recomienda el proveedor. La HCT-15 es una línea de células de tipo epitelial (Cancer Res. 39: 1020-25 [1979]), es decir, resistentes a múltiples fármacos en virtud de la sobre-expresión de P-glicoproteína (P-gp, gp170, MDR-1; Anticancer Res. 11: 1309-12 [1991]; J. Biol. Chem. 264: 18031-40 [1989]; Int. J. Cancer 1991; 49: 696-703 [1991]) y mecanismos de resistencia dependiente de glutatona (Int. J. Cancer 1991; 49: 688-95 [1991]). La línea de células Colo 205 es también una línea de células de carcinoma de colon humano (ATCC No. CCL 222; véase también Cancer Res. 38, 1345-55 [1978]) que fue aislada a partir del fluido ascítico de un paciente, exhibe morfología de tipo epitelial y se considera generalmente como sensible a los fármacos. Se emplea una línea de células de cáncer de próstata humano independiente de andrógenos, para establecer modelos subcutáneos y ortópicos en ratones. El carcinoma de próstata metastático humano PC-3M se obtiene Dr. I.J. Fidler (MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA) y se cultiva en medio F12K de Ham suplementado con 7% v/v FBS. La línea de células PC-3M es el resultado del aislamiento a partir de metástasis de hígado producida en ratones desnudos después de la inyección intrasplénica de células PC-3 [ATCC CRL 1435; American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA)] y pueden crecer en MEM de Eagle suplementado con 10% de suero bovino fetal, piruvato sódico, aminoácidos no esenciales, L-glutamina, una solución vitamínica doble (Gibco Laboratories, Long Island, N.Y.) y penicilina-estreptomycin (FloW Laboratories, Rockville, Md.). La línea de células PC-3M es insensible a las hormonas (es decir, crece en ausencia de andrógenos). La línea de células PC-3 es negativa al receptor de andrógenos, como lo es presumiblemente la línea derivada de células PC-3M. La PC-3 es una línea de células disponible en ATCC (ATCC CRL 1435) y corresponde a un adenocarcinoma prostático de grado IV aislado a partir de varón caucasiano de 62 años de edad; las células exhiben baja actividad de fosfatasa ácida y testosterona-5- α -reductasa. Las células son casi triploides con un número modal de 62 cromosomas. No se pueden detectar cromosomas Y normales por análisis de bandas Q. Adenocarcinoma de pulmón humano A549 (ATCC CCL 185; aislado como cultivo de explante a partir de tejido de carcinoma de pulmón de un varón caucasiano de 58 años de edad); muestra morfología epitelial y puede sintetizar lecitina con un alto porcentaje de ácidos grasos desaturados utilizando la vía citidina difosfocolina; en todas las metafases se encuentra un cromosoma marcador subtelocéntrico que implica al cromosoma 6 y al brazo largo del cromosoma 1. El carcinoma de mama humano ZR-75-1 (ATCC CRL 1500; aislado de una efusión ascítica maligna de una mujer caucasiana de 63 años de edad con carcinoma ductal infiltrante); es de origen epitelial mamario; las células poseen receptores para estrógenos y otras hormonas esteroides y presentan un número de cromosomas hipertriploides. La línea de células de carcinoma epidérmico (boca) humano KB-8511 (una línea celular que sobre-expresa P-gp derivada de la línea de células de carcinoma epidermoide (boca) KB-31 se obtiene en Dr. R.M. Baker, Roswell Park Memorial Institute (Buffalo, N.Y., USA) (respecto a la descripción véase Akiyama *et al.*, Somat. Cell. Mol. Genetics 11, 117-126 (1985) y Fojo A., *et al.*, Cancer Res. 45, 3002-3007 (1985)) and is cultured as previously described (Meyer, T., *et al.*, Int. J. Cancer 43, 851-856 (1989)). Las células KB-8511, al igual que KB-31, se derivan de la línea de células KB (ATCC) y son células de carcinoma epidérmico humano; las células KB-31 pueden desarrollarse en mono-capa empleando medio de Eagle modificado según Dulbecco (D-MEM) con 10% de suero vacuno fetal (M.A. Bioproducts), L-glutamina (Flow), penicilina (50 unidades/ml) y estreptomycin (50 mg/ml (Flow)). Las mismas crecen entonces con un tiempo de duplicación de 22 horas y su eficacia de deposición relativa es de aproximadamente 60%. La KB-8511 es una línea celular derivada de la línea celular KB-31 mediante el uso de ciclos de tratamiento con colchicina; muestra aproximadamente una resistencia relativa de 40 veces contra colchicina en comparación con las células KB-31; se puede hacer crecer bajo las mismas condiciones que la KB-31.

Solubilidad: La solubilidad en agua se determina como sigue, por ejemplo: los compuestos de fórmula I, o sus sales, se agitan con agua a temperatura ambiente hasta que ya no se disuelve más compuesto (alrededor de 1 hora). Las solubilidades encontradas están comprendidas preferentemente entre 0,01 y 1% en peso.

Dentro de los grupos de compuestos preferidos de fórmula I mencionados a continuación, se pueden emplear de manera razonable definiciones de sustituyentes a partir de las definiciones generales mencionadas anteriormente, por ejemplo, para reemplazar definiciones más generales por definiciones más específicas o especialmente por definiciones caracterizadas como preferidas.

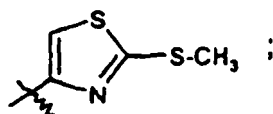
La invención se refiere también preferentemente a un compuesto de fórmula I en donde

R_2 está ausente o es oxígeno; “a” puede ser un enlace sencillo o doble; “b” puede estar ausente o es un enlace sencillo; y “c” puede estar ausente o es un enlace sencillo, con la condición de que si R_2 es oxígeno, entonces “b” y “c” son ambos un enlace sencillo y “a” es un enlace sencillo; si R_2 está ausente, entonces “b” y “c” están ausentes y “a” es un enlace doble; y si “a” es un enlace doble, entonces R_2 , “b” y “c” están ausentes;

R_3 es un radical seleccionado del grupo consistente en alquilo inferior, especialmente metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-pentilo, n-hexilo; $-\text{CH}=\text{CH}_2$; $-\text{C}\equiv\text{CH}$; $-\text{CH}_2\text{F}$; $-\text{CH}_2\text{Cl}$; $-\text{CH}_2\text{OH}$; $-\text{CH}_2\text{O}-(\text{alquilo } \text{C}_1\text{-C}_6)$, especialmente $-\text{CH}_2\text{O-CH}_3$; y $-\text{CH}_2\text{S}-(\text{alquilo } \text{C}_1\text{-C}_6)$, especialmente $-\text{CH}_2\text{S-CH}_3$;

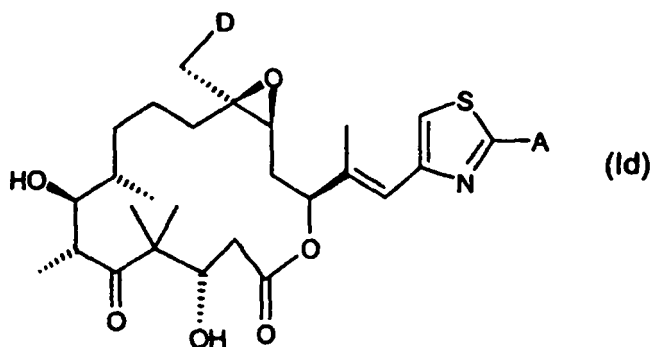
R_4 y R_5 se eligen independientemente entre hidrógeno, metilo o un grupo protector, preferentemente hidrógeno; y

R_1 es un radical seleccionado entre las siguientes estructuras:



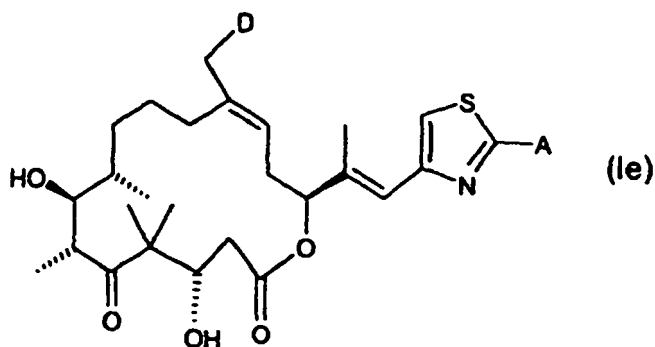
o una sal del mismo cuando están presentes uno o más grupos formadores de sales.

La invención se refiere también de manera más específica a un compuesto de fórmula Id



en donde A es etilo, fluormetilo, metoxi, metiltio o etenilo ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) y D es hidrógeno, fluor, hidroxilo o metilo, especialmente hidrógeno.

La invención se refiere también de manera más específica a un compuesto de fórmula Ie



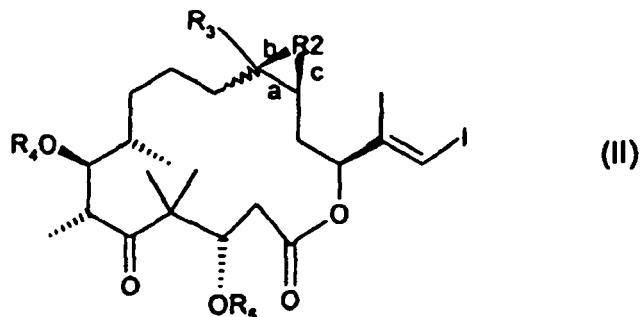
en donde A es etilo, fluormetilo, metoxi, metiltio o etenilo ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) y D es hidrógeno, fluor, hidroxilo o metilo.

La invención se refiere de manera más específica a los compuestos de fórmula I indicados en los ejemplos o a sus sales farmacéuticamente aceptables cuando están presentes uno o más grupos formadores de sales.

Con suma preferencia, la invención se refiere a un compuesto seleccionado del grupo consistente en el compuesto 18b (véase ejemplo 2), compuesto 19b (ejemplo 2) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos en el caso de que estén presentes uno o más grupos formadores de sales.

Los compuestos de la invención se pueden sintetizar empleando métodos de analogía a los métodos ya conocidos en la técnica, preferentemente mediante un método caracterizado porque comprende:

a) reaccionar un yoduro de fórmula II

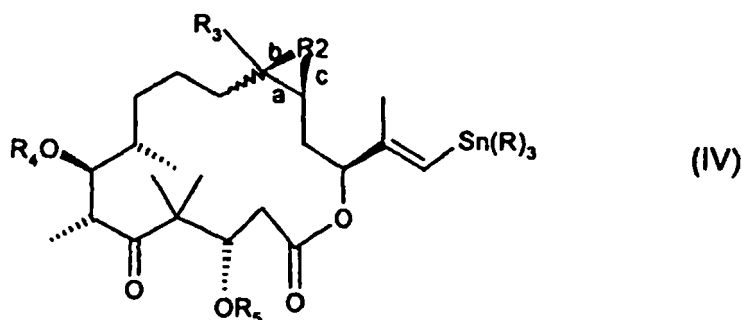


en donde R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , a, b y c y el enlace ondulado tienen los significados indicados para la fórmula I, con un compuesto de fórmula III,



en donde R_1 tiene los significados indicados para la fórmula I y R es alquilo inferior, especialmente metilo o etilo, o

b) reaccionar un compuesto de estaño de fórmula IV



en donde R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , a, b y c y el enlace ondulado tienen los significados indicados para la fórmula I, con un yoduro de fórmula V



en donde R_1 tiene los significados indicados para la fórmula I;

y, si se desea, un compuesto resultante de fórmula I se convierte a un compuesto diferente de fórmula I, un compuesto libre resultante de fórmula I se convierte a una sal de un compuesto de fórmula I y/o una sal resultante de un compuesto de fórmula I se convierte a un compuesto libre de fórmula I o a una sal diferente de un compuesto de fórmula I, y/o una mezcla estereoisómera de compuestos de fórmula I se separa en los correspondientes isómeros.

Descripción detallada de las condiciones preferidas del procedimiento

En todos los materiales de partida, y cuando sea necesario, los grupos funcionales que no deben participar en la reacción se protegen mediante grupos protectores, en especial grupos protectores estándar. Los grupos protectores, su introducción y su escisión son ya conocidos en la técnica, por ejemplo, se describen en las referencias estándar mencionadas anteriormente.

ES 2 273 502 T3

Reacción a): La reacción a) (un acoplamiento de Stille (preferentemente mejorado)) tiene lugar con preferencia bajo condiciones estándar; más preferentemente, la reacción tiene lugar:

5 (i) en un disolvente adecuado, por ejemplo tolueno, a temperatura elevada, en especial de 90 a 100°C aproximadamente, preferentemente con un exceso del compuesto de estaño de fórmula III, con preferencia con un exceso de 1,1 a 3, por ejemplo 1,5 a 2 veces molar; y una cantidad catalítica, con preferencia de 1 a 30% aproximadamente, preferentemente 5 a 10%, de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$; o

10 (ii) en un disolvente adecuado, por ejemplo dimetilformamida (DMF), a temperaturas de 10 a 40°C, especialmente a 25°C, con preferencia con un exceso del compuesto de estaño de fórmula III, preferentemente con un exceso de 1,1 a 3, por ejemplo 1,5 a 2,3 veces molar; en presencia de una cantidad catalítica, preferentemente de 10 a 50%, en especial 20 a 30%, de $\text{Pd}(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2$.

15 Condiciones alternativas para este acoplamiento comprenden también el uso de los siguientes reactivos y/o condiciones:

(iii) 2-tiofencarboxilato cuproso, N-metil-2-pirrolidina;

20 (iv) $\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2$ (cat.), DMF, 50-150° (con o sin adición de base terciaria);

(v) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4/\text{Cul}$ (cat.), DMF, 50-150° (con o sin adición de base terciaria).

25 *Reacción b):* La reacción (un acoplamiento de Stille mejorado) tiene lugar preferentemente bajo condiciones estándar; más preferentemente, la reacción tiene lugar en un disolvente adecuado, en especial DMF, a temperaturas de 50 a 100°C, con preferencia de 80 a 85°C, preferentemente con un exceso del yoduro de fórmula V, en presencia de una cantidad catalítica de AsPh_3 , preferentemente alrededor de 0,4 equivalentes de Cul, con preferencia alrededor de 0,1 equivalentes, y $\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2$, con preferencia alrededor de 0,2 equivalentes.

30 Especialmente preferidas son las condiciones de reacción mencionadas en los ejemplos.

Conversiones de compuestos/sales

35 Los compuestos de fórmula I se pueden convertir a diferentes compuestos de fórmula I mediante métodos estándar o nuevos.

40 Por ejemplo, un compuesto de fórmula I en donde R_2 está ausente, b y c están ausentes y a es un doble enlace, y las otras mitades son como las descritas para los compuestos de fórmula I, se puede convertir al correspondiente epóxido en donde R_2 es O y b y c están presentes mientras que a es un enlace sencillo. Con preferencia, la epoxidación tiene lugar en presencia de (+)-dietil-D-tartrato ((+)-DET) (con preferencia alrededor de 0,5 equivalentes), $\text{Ti}(\text{i-PrO})_4$ (con preferencia alrededor de 0,5 equivalentes), hidroperóxido de terc-butilo (con preferencia alrededor de 0,2 equivalentes) y tamiz molecular, en especial tamices moleculares 4A, en un disolvente adecuado, por ejemplo cloruro de metileno y opcionalmente un alcano tal como decano, a bajas temperaturas, con preferencia de -78 a 0°C, en especial a -40°C aproximadamente;

45 o en presencia de peróxido de hidrógeno (con preferencia alrededor de 30 equivalentes), acetonitrilo (con preferencia alrededor de 60 equivalentes), una base, especialmente KHCO_3 (con preferencia alrededor de 10 equivalentes) en un disolvente adecuado, por ejemplo un alcohol, preferentemente metanol, a temperaturas preferidas entre 10 y 40°C, por ejemplo a 25°C aproximadamente.

50 Un compuesto de fórmula I en donde R_3 es hidroximetilo se puede convertir a un compuesto de fórmula I en donde R_3 es fluormetilo, por ejemplo por tratamiento de DAST (con preferencia 1,05 a 1,4 equivalentes) en un disolvente adecuado, por ejemplo cloruro de metileno, a bajas temperaturas, con preferencia a temperaturas de -95 a 0°C, en especial a -78°C aproximadamente. DAST es trifluoruro de dietilaminoazufre.

55 Un compuesto de fórmula I en donde R_3 es yodometilo se puede convertir a un compuesto de fórmula I en donde R_3 es metilo, por ejemplo por tratamiento con cianoborohidruro (con preferencia alrededor de 10 equivalentes) en HMPA (hexametilfosfotriamida) a temperaturas elevadas, por ejemplo a temperaturas de 40 a 45°C.

60 Se pueden llevar a cabo otras conversiones de acuerdo con procedimientos conocidos, por ejemplo aquellos indicados en la solicitud PCT WO 98/25929, la cual se incorpora aquí solo con fines de referencia.

65 Las sales de compuestos de fórmula I con un grupo formador de sal pueden prepararse de una manera conocida de por sí. Las sales de adición de ácido de los compuestos de fórmula I pueden así obtenerse, por ejemplo, mediante el tratamiento con un ácido o con un reactivo de intercambio aniónico adecuado.

Las sales pueden convertirse habitualmente en compuestos libres, por ejemplo tratando con agentes básicos adecuados, por ejemplo con carbonatos, hidrogenocarbonatos o hidróxidos de metales alcalinos, típicamente carbonato potásico o hidróxido sódico.

Los compuestos libres resultantes pueden ser entonces convertidos, si se desea, a diferentes sales, tal como se ha descrito para la formación de sales a partir de los compuestos libres.

Las mezclas estereoisómeras, por ejemplo mezclas de diastereoisómeros, pueden separarse en sus isómeros correspondientes de una manera conocida de por sí por medio de métodos de separación adecuados. Las mezclas diastereoisómeras pueden separarse así en sus diastereoisómeros individuales por medio de cristalización fraccionada, cromatografía, distribución en disolventes y procedimientos similares. Esta separación puede tener lugar en la fase de uno de los compuestos de partida o en un compuesto de fórmula I de por sí. Los enantiómeros pueden separarse a través de la formación de sales diastereoisómeras, por ejemplo mediante formación de sal con un ácido quirál enantiómeramente puro, o por medio de cromatografía, por ejemplo mediante HPLC, usando substratos cromatográficos con ligandos quirales. (La separación de enantiómeros se efectúa normalmente en la fase intermedia).

Materiales de partida

Los materiales de partida y compuestos intermedios son conocidos en la técnica, son comercialmente disponibles y/o pueden producirse mediante procedimientos conocidos en la técnica o en analogía con los mismos.

Los compuestos de fórmula II y de fórmula III pueden sintetizarse, por ejemplo, como se describe en la solicitud PCT WO 98/25929, la cual se incorpora aquí solo con fines de referencia, o como se describe en, o en analogía a, los métodos de los ejemplos.

Los compuestos de fórmula IV son accesibles a través de la reacción de los respectivos compuestos de fórmula II, por ejemplo por reacción de un compuesto de fórmula II con $(R)_6Sn_2$, en donde R es alquilo inferior, especialmente metilo o n-butilo, en presencia de una base nitrogenada adecuada, por ejemplo, base de Hünig, y en presencia de una cantidad catalítica (con preferencia alrededor de 0,1 equivalentes) de $Pd(PPh_3)_4$ en un disolvente adecuado, por ejemplo tolueno, a temperaturas elevadas, por ejemplo 30 a 90°C, en especial 80 a 85°C.

Los yoduros de fórmula V son conocidos y se pueden obtener de acuerdo con los procedimientos de la bibliografía al respecto, o bien son comercialmente disponibles. Por ejemplo, la 2-yodo-6-metilpiridina se puede obtener de acuerdo con Klei, E.; Teuben, J.H. J. Organomet. Chem. 1981, 214, 53-64; la 2-yodo-5-metilpiridina de acuerdo con Talik, T.; Talik, Z. Roczn. Chem. 1968, 42, 2061-76; y la 2-yodo-4-metilpiridina de acuerdo con Talik, T.; Talik, Z. Roczn. Chem. 1968, 2061-76, Yamamoto, Y.; Yanagi, A. Heterocycles 1981, 16, 1161-4 o Katritzky, A.R.; Eweiss, N.F.; Nie, P.-L. Perkin Trans I 1979, 433-5. Los correspondientes compuestos hidroximetil-sustituidos de fórmula V son disponibles, por ejemplo, por oxidación de los grupos metilo de los yoduros mencionados anteriormente con SeO_2 y posterior reducción, por ejemplo con $NaBH_4$ o DIBALH, del aldehído o por oxidación del grupo metilo para formar el ácido (por ejemplo con $KMnO_4$) y posterior reducción del éster, por ejemplo con DIBAL.

Preferentemente, los materiales de partida nuevos o también conocidos y compuestos intermedios se pueden preparar de acuerdo con, o en analogía a, los métodos descritos en los ejemplos, en donde las cantidades, temperaturas y similares de las reacciones respectivas se pueden modificar, por ejemplo por variación en la cantidad de 99%, preferentemente 25%, y se pueden emplear otros disolventes y reactivos adecuados.

La invención se refiere también a todos los nuevos compuestos intermedios, especialmente aquellos mencionados en los ejemplos.

Preparados farmacéuticos

La presente invención se refiere también al uso de un compuesto de fórmula I en la preparación de una formulación farmacéutica para utilizarse contra una enfermedad proliferativa como anteriormente se ha definido; o a una formulación farmacéutica para el tratamiento de dicha enfermedad proliferativa y que comprende un compuesto de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de fórmula I son referidos de aquí en adelante como el ingrediente activo.

La invención se refiere también a composiciones farmacéuticas que comprenden un ingrediente activo como antes se ha definido, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, especialmente como anteriormente se ha definido, y a la obtención de preparados farmacéuticos para dicho tratamiento.

La invención se refiere también a una composición farmacéutica que es adecuada para administrarse a un animal de sangre caliente, especialmente un ser humano, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa como se ha definido anteriormente, que comprende una cantidad de un ingrediente activo, que es eficaz para el tratamiento de dicha enfermedad proliferativa, junto con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención son aquellas para administración enteral, tal como nasal, rectal u oral, o preferentemente parenteral, tal como intramuscular o intravenosa, a un animal de sangre caliente (humano o animal), que comprenden una dosis eficaz del ingrediente farmacológicamente activo, solo o junto con una cantidad importante de un vehículo farmacéuticamente aceptable. La dosis del ingrediente activo depende de la especie de animal de sangre caliente, peso corporal, edad y estado individual, datos farmacocinéticos del individuo, enfermedad a tratar y modo de administración; preferentemente, la dosis consiste en una de las dosis preferi-

das como las definidas más adelante, pudiéndose adaptar adecuadamente cuando haya de realizarse el tratamiento pediátrico.

Las composiciones farmacéuticas comprenden de 0,00002 a 95% aproximadamente, en especial (por ejemplo, en el caso de diluciones de infusión listas para ser usadas) de 0,0001 a 0,02%, o (por ejemplo, en el caso de concentrados para infusión) de 0,1 a 95% aproximadamente, con preferencia de 20 a 90% aproximadamente, de ingrediente activo (peso/peso, en cada caso). Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden encontrarse, por ejemplo, en forma de unidades de dosificación, tal como en forma de ampollas, viales, supositorios, grageas, comprimidos o cápsulas.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se preparan de una manera conocida de por sí, por ejemplo por medio de procedimientos de mezcla, granulación, revestimiento, disolución o liofilización convencionales.

Se da preferencia al uso de soluciones del ingrediente activo y también a suspensiones, especialmente soluciones o suspensiones acuosas isotónicas, siendo posible, por ejemplo, en el caso de composiciones liofilizadas que contienen el ingrediente activo solo o junto con un vehículo, por ejemplo manitol, que tales soluciones o suspensiones puedan elaborarse antes de su uso. Las composiciones farmacéuticas pueden esterilizarse y/o pueden contener excipientes, por ejemplo conservantes, estabilizantes, agentes humectantes y/o emulsionantes, solubilizantes, sales para regular la presión osmótica y/o tampones y se preparan de una manera conocida de por sí, por ejemplo por medio de procedimientos de disolución o liofilización convencionales. Dichas soluciones o suspensiones pueden contener sustancias que incrementan la viscosidad, tales como carboximetilcelulosa sódica, carboximetilcelulosa, dextrano, polivinilpirrolidona o gelatina.

Las suspensiones en aceite contienen como el componente oleoso los aceites vegetales, sintéticos o semisintéticos habituales para inyección. Con relación a estos, puede hacerse una mención especial a ésteres de ácidos grasos líquidos que contienen como el componente ácido un ácido graso de cadena larga que tiene de 8 a 22, especialmente de 12 a 22, átomos de carbono, por ejemplo ácido láurico, ácido tridecílico, ácido mirístico, ácido pentadecílico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido araquídico, ácido behénico o ácidos insaturados correspondientes, por ejemplo ácido oleico, ácido eláidico, ácido erúico, ácido brasídico o ácido linoleico, si se desea con la adición de antioxidantes, por ejemplo vitamina E, β -caroteno o 3,5-di-terc-butil-4-hidroxitolueno. El componente de alcohol de estos ésteres de ácido graso tiene un máximo de 6 átomos de carbono y es un alcohol mono- o poli-hidroxilado, por ejemplo, mono-, di- o tri-hidroxilado, por ejemplo metanol, etanol, propanol, butanol o pentanol o los isómeros de los mismos, pero especialmente glicol y glicerol.

Las composiciones para inyección o infusión se preparan del modo usual bajo condiciones estériles; lo mismo se puede decir también respecto a la introducción de las composiciones en ampollas o viales y sellado de los recipientes.

Se prefiere una formulación para infusión que comprende un ingrediente activo y un disolvente orgánico farmacéuticamente aceptable.

El disolvente orgánico farmacéuticamente aceptable usado en una formulación de acuerdo con la invención puede seleccionarse entre cualesquiera de tales disolventes orgánicos conocidos en la técnica. Con preferencia, el disolvente se elige entre alcoholes, por ejemplo etanol absoluto o mezclas de etanol/agua, más preferentemente 70% de etanol, polietilenglicol 300, polietilenglicol 400, polipropilenglicol o N-metilpirrolidona, con suma preferencia polipropilenglicol o etanol al 70% o polietilenglicol 300.

El ingrediente activo puede estar presente preferentemente en la formulación en una concentración de alrededor de 0,01 a 100 mg/ml, más preferentemente alrededor de 0,1 a 100 mg/ml, todavía más preferentemente alrededor de 1 a 10 mg/ml (especialmente en concentrados para infusión).

El ingrediente activo se puede emplear como la sustancia pura o como una mezcla con otro ingrediente activo. Cuando se emplea en su forma pura es preferible utilizar una concentración de ingrediente activo de 0,01 a 100, más preferentemente 0,05 a 50, todavía más preferentemente 1 a 10 mg/ml (este número hace referencia especialmente a un concentrado para infusión que, antes del tratamiento, se diluye de manera consecuente, véase a continuación).

Dichas formulaciones se guardan convenientemente en viales o ampollas. En general, los viales o ampollas son de vidrio, por ejemplo vidrio de borosilicato o sosa-cal. Los viales o ampollas pueden ser de cualquier volumen convencional en la técnica, siendo preferentemente de un tamaño suficiente para alojar de 0,5 a 5 ml de formulación. La formulación es estable durante periodos de almacenamiento de hasta 12-24 meses a temperaturas de por lo menos 2 a 8°C.

Las formulaciones han de ser diluidas en un medio acuoso adecuado para administración intravenosa antes de administrar a un paciente la formulación del ingrediente activo.

La solución para infusión debe tener preferentemente la misma o esencialmente la misma presión osmótica que los fluidos corporales. En consecuencia, el medio acuoso contiene preferentemente un agente isotónico que presenta el efecto de hacer que la presión osmótica de la solución para infusión sea la misma o esencialmente la misma que la del fluido corporal.

El agente isotónico puede seleccionarse entre cualquiera de los conocidos en la técnica, por ejemplo, manitol, dextrosa, glucosa y cloruro sódico. Preferentemente, el agente isotónico es glucosa o cloruro sódico. Los agentes isotónicos pueden emplearse en cantidades que impactan a la solución para infusión la misma o esencialmente la misma presión osmótica que el fluido corporal. Las cantidades precisas necesarias se pueden determinar mediante experimentación usual y dependerán de la composición de la solución para infusión y de la naturaleza del agente isotónico. La selección de un agente isotónico particular se lleva a cabo teniendo en cuenta las propiedades del agente activo.

La concentración de agente isotónico en el medio acuoso dependerá de la naturaleza del agente isotónico particular empleado. Cuando se emplea glucosa, la misma se usa preferentemente en una concentración de 1 a 5% p/v, más particularmente 5% p/v. Cuando el agente isotónico es cloruro sódico, este se emplea preferentemente en cantidades de hasta 1% p/v, en particular 0,9% p/v.

La formulación para infusión puede ser diluida con el medio acuoso. La cantidad de medio acuoso empleado como diluyente se elige de acuerdo con la concentración deseada de ingrediente activo en la solución para infusión. Con preferencia, la solución para infusión se prepara mezclando un vial o ampolla del concentrado para infusión antes mencionado con un medio acuoso, llevando el volumen a un valor entre 20 y 200 ml, con preferencia entre 50 y 100 ml aproximadamente, con el medio acuoso.

Soluciones para infusión pueden contener otros excipientes normalmente empleados en formulaciones que han de ser administradas por vía intravenosa. Los excipientes incluyen antioxidantes. Las soluciones para infusión se pueden preparar mezclando una ampolla o vial de la formulación con el medio acuoso, por ejemplo una solución de glucosa al 5% p/v en WFI o especialmente una solución de cloruro sódico al 0,9% en un recipiente adecuado, por ejemplo una bolsita o frasco para infusión. La solución para infusión, una vez formada, se emplea con preferencia inmediatamente o en el plazo de un corto periodo de tiempo después de formarse, por ejemplo en el plazo de 6 horas. Los recipientes para contener las soluciones para infusión se pueden elegir entre cualesquiera recipientes convencionales que no sean reactivos con la solución para infusión. Los recipientes de vidrio producidos a partir de aquellos tipos de vidrio mencionados anteriormente resultan adecuados aunque puede ser preferible emplear recipientes de plástico, por ejemplo bolsitas de plástico para infusiones.

La invención se refiere también a un método de tratamiento de un animal de sangre caliente, en especial un ser humano, que está necesitado de dicho tratamiento, especialmente de tratamiento de una enfermedad proliferativa, que comprende administrar un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a dicho animal de sangre caliente, especialmente un ser humano, en una cantidad que sea suficiente para dicho tratamiento, especialmente eficaz contra dicha enfermedad proliferativa.

Las formas de dosificación se pueden administrar de manera conveniente por vía intravenosa en una dosis de 0,01 mg hasta 100 mg/m² de ingrediente activo, con preferencia de 0,1 a 20 mg/m² de ingrediente activo. La dosis exacta requerida y la duración de la administración dependerán de la severidad del estado, del estado del paciente y del régimen de administración. La dosis se puede administrar diariamente o con preferencia con intervalos de algunos días o semanas, por ejemplo semanalmente o cada 3 semanas. Dado que la dosis se puede suministrar intravenosamente, la dosis recibida y al concentración en sangre se pueden determinar con precisión en base a técnicas *in vivo* e *in vitro* conocidas.

Las composiciones farmacéuticas para administración oral se pueden obtener combinando el ingrediente activo con vehículos sólidos, si se desea granulando la mezcla resultante y elaborando la mezcla, si se desea o es necesario, después de la adición de excipientes adecuados, para formar comprimidos, núcleos de grageas o cápsulas. También es posible su incorporación en recipientes de plástico que permitan la difusión o liberación de los ingredientes activos en cantidades medidas.

Los compuestos de la invención se pueden emplear solos o en combinación con otras sustancias farmacéuticamente activas, por ejemplo con otros compuestos quimioterapéuticos, tales como los citostáticos clásicos. En el caso de combinaciones con otros compuestos quimioterapéuticos, se preparan una combinación fija de dos o más componentes o dos o más formaciones independientes (por ejemplo, en un kit de partes) como se ha descrito anteriormente, o bien los otros compuestos quimioterapéuticos se emplean en formulaciones estándar como las existentes en el mercado y conocidas para el experto en la materia, y el compuesto de la presente invención y cualquier otro compuesto quimioterapéutico se administran en un intervalo que permita un efecto común, adicional o preferentemente sinérgico para el tratamiento del tumor.

Los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar la presente invención sin intentar de manera alguna limitar su alcance.

Materiales de partida

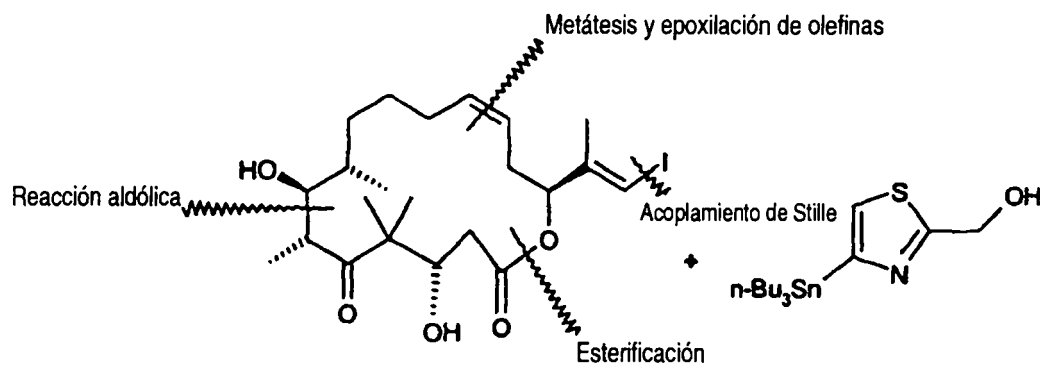
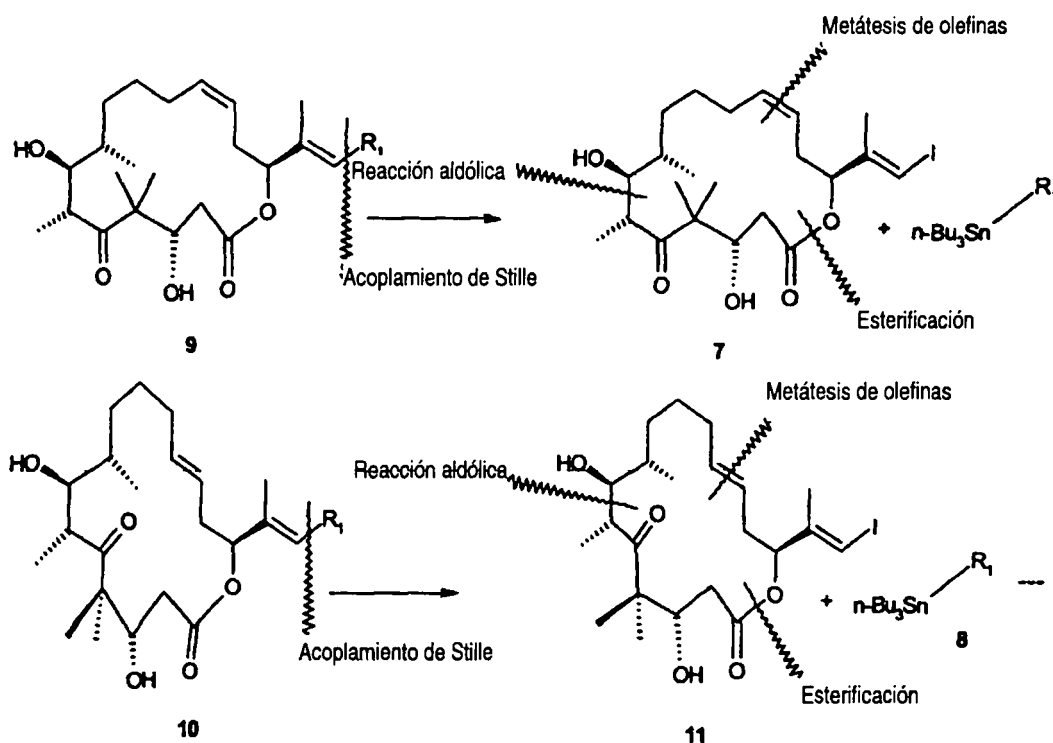
Ejemplo 1

5 Síntesis total de epotilona E y de análogos relacionados modificados en la cadena lateral por vía de una estrategia basada en un acoplamiento de Stille

La primera síntesis total de epotilona E (3) se efectúa mediante una estrategia en donde la etapa clave es un acoplamiento de Stille (Stille *et al.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1986, 25, 508-524; Farina *et al.* J Org. React. 1997, 50, 1-65) entre yoduro de vinilo 7 y la mitad tiazol (8h, esquema 2a). Posteriormente se emplea el fragmento de núcleo de macrolactona 7, que se prepara por vía de metátesis de olefinas por cierre de anillo (RCM), para proporcionar un acceso conveniente y flexible a una variedad de análogos de epotilona modificados en la cadena lateral (9) para evaluación biológica (esquema 2b). La reacción RCM usada para acceder a 7 proporciona también trans-macrolactona (11, esquema 2b) que sirve como una plantilla alternativa para el proceso de acoplamiento de Stille y que proporciona una disposición adicional de análogos 10.

Esquema 2

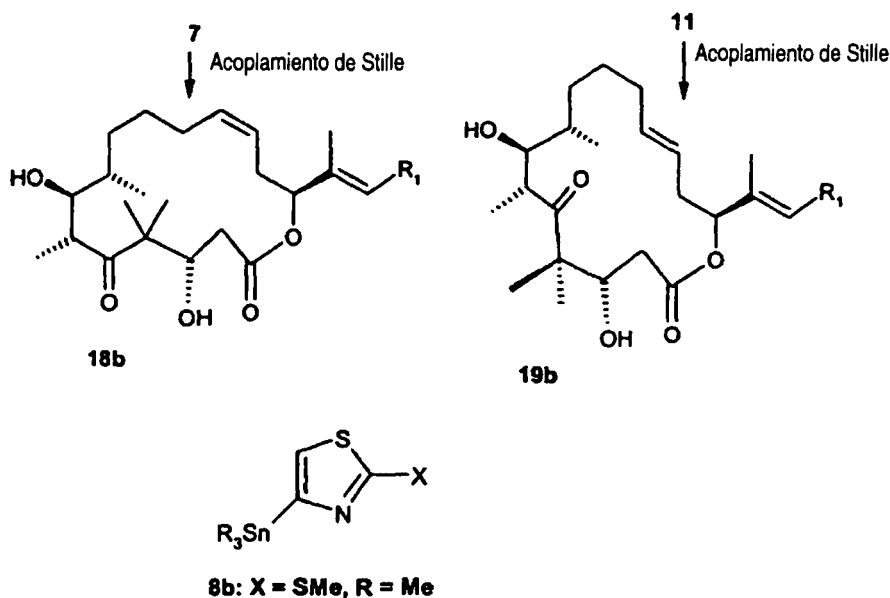
a) Análisis y estrategia de retrosíntesis para la síntesis total de epotilona E

b) Análogos de cadena lateral de epotilona C (9) y su $\Delta^{12,13}$ trans-isómero (10)

La síntesis química de los yoduros de vinilo 7 y 11 requeridos queda delineada en la solicitud PCT WO 98/25929.

En el esquema 3 se muestran los socios del acoplamiento de estannano usados en la reacción de Stille.

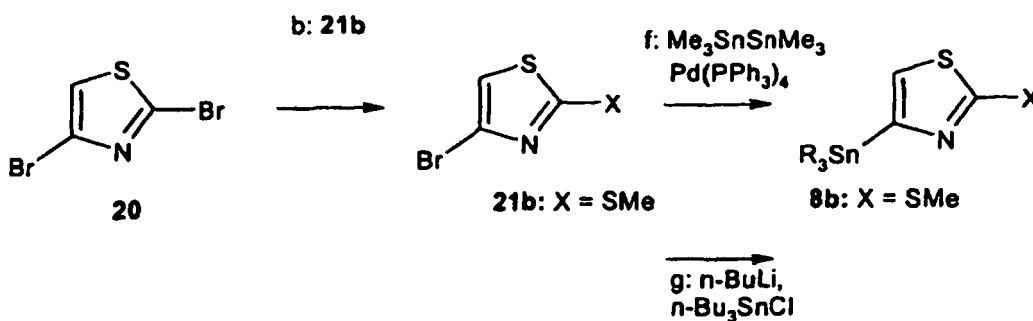
Esquema 3



Acoplamiento de Stille: procedimiento A: 2,0 equivalentes de 8, 5-10 moles% de Pd(PPh₃)₄, tolueno, 90-100°C, 15-40 min, 39-88%; procedimiento B: 2,0-2,2 equivalentes de 8, 20-30 moles% de Pd(MeCN)₂Cl₂, DMF, 25°C, 12-33 horas, 49-94%.

Los socios 8b del acoplamiento son accesibles a través de 2,4-dibromotiazol (20) por vía de monobromuros 21 como se indica en los esquemas 4 y 5.

Esquema 4



Preparación de A) estannanos 8b. Reactivos y condiciones: (b) 3,0 equiv. de NaSMe, EtOH, 25°C, 2 h, 92%; (d) 13 equiv. NaOH, EtOH, 25°C, 30 h, 91%; (e) 13 equiv. NaOH, MeOH, 25°C, 16 h, 82%; (f) 5-10 equiv. de Me₃SnSnMe₃, 5-10 mol% de Pd(PPh₃)₄, tolueno, 80-100°C, 0,5-3 h, 81-100%; (g) 1,1 equiv. de n-BuLi, 1,2 equiv. de n-Bu₃SnCl, -78 a 25°C, 30 min, 98%.

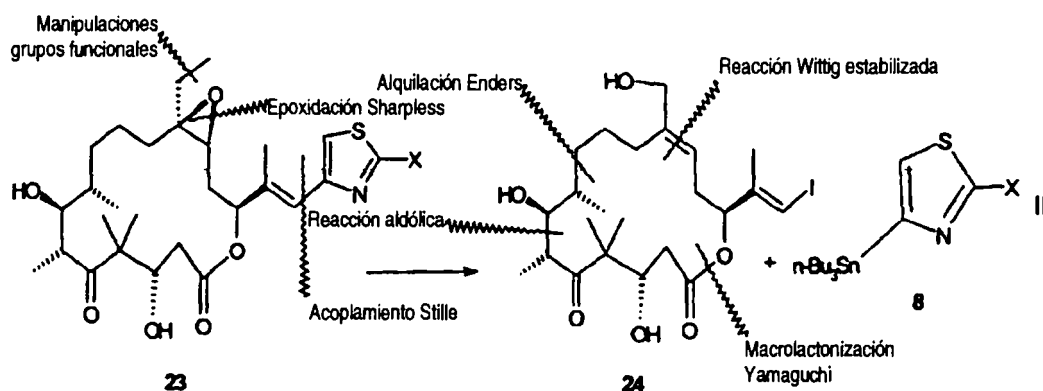
El sulfuro 21b se obtiene en un rendimiento del 92% reemplazando el sustituyente 2-bromo de 20 por la mitad tiometilo empleando tiometóxido sódico (EtOH, 25°C). El bromuro (21b) se transforma entonces al trimetilestannano deseado (8b) con hexametildiestañio bajo condiciones catalizadas con paladio [Pd(PPh₃)₄, tolueno, 80-100°C].

Teniendo a mano los componentes necesarios, se investigan los acoplamientos críticos de Stille. Dos series alternativas de condiciones de reacción resultan ser adecuadas (esquema 3). El procedimiento A implica el calentamiento de una solución en tolueno del yoduro de vinilo deseado (7 u 11) con el estannano adecuado 8 en presencia de cantidades catalíticas de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ a 80-100°C durante un tiempo comprendido entre 15 y 40 minutos. Este protocolo se emplea para acoplar el estannano 8b.

Las síntesis total se completa por epoxidación con ácido metilperoxycarboximídico generado *in situ* (H_2O_2 , KHCO_3 , MeCN, MeOH, 25°C; Chaudhuri *et al.* J.J. Org. Chem. 1982, 47, 5196-5198) para suministrar epotilona E (3) (66% basado en una conversión del 50%), que exhibe características físicas idénticas (^1H NMR, $[\alpha]_D$) a las publicadas en la técnica.

Se prolonga entonces la técnica de acoplamiento de Stille para proporcionar un fácil acceso a una variedad de análogos modificados en la cadena lateral de epotilona B (2), tanto en C-26 como en la cadena lateral. El análisis retrosintético de análogos de epotilona que poseen estas modificaciones dobles se muestra en el esquema 6b y requiere la preparación del fragmento de núcleo de yoduro de vinilo crucial. Se cree que lo más adecuado para esta tarea es una estrategia de macrolactonización similar a la usada en nuestra síntesis de epotilona B y de una variedad de análogos de epotilona.

Esquema 6b



ustración de un análisis retrosintético de análogos de epotilona que poseen mitades modificadas en C-26 y en la cadena lateral.

La síntesis comienza a partir del yoduro de vinilo 13 (esquema 7) usado en la preparación de epotilona E y análogos relacionados (esquema 3).

(Esquema pasa a página siguiente)

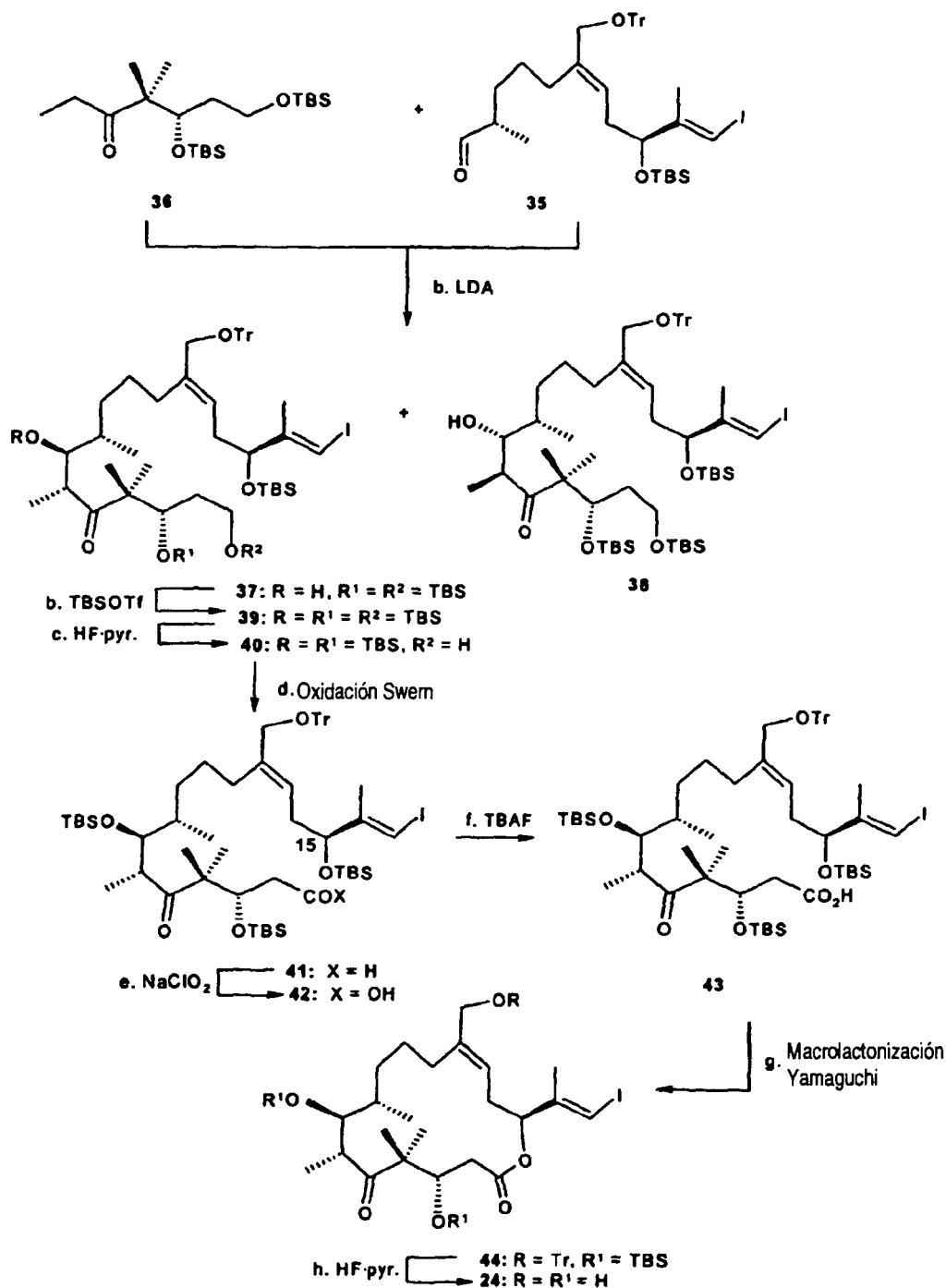


La protección del grupo hidroxilo alílico (TBSCl, imidazol, DMF, 0 a 25°C) proporciona el sililéter 25 (84%) el cual se transforma al aldehído 26 mediante una secuencia en dos etapas de dihidroxilación-glicol-disociación (OsO₄, NMO, THF/t-BuOH/H₂O, 0 a 25°C; luego NaIO₄, MeOH/H₂O, 0°C, 82% para las dos etapas). Una reacción de Wittig estereocontrolada con el iluro estabilizado 27 (benceno, reflujo, Marshall *et al.* J. Org. Chem. 1986, 51, 1735-1741; Bestmann *et al.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1965, 4, 645-660) proporciona el éster 28 como un único isómero geométrico en un rendimiento del 98%. La reducción del último compuesto (DIBAL, THF, -78°C) proporciona el alcohol 29, el cual se protege como el derivado de trifenilmetiló (tritoló) 30 (TrCl, 4-DMAP, DMF, 70°C, 95%).

Se consigue entonces la elaboración de la olefina terminal mediante hidroboración-oxidación selectiva para proporcionar el alcohol 31 (9-BBN, THF, 0°C; luego NaOH, H₂O₂, 0°C) el cual se transforma además al diyoduro 32 (I₂, imidazol, Ph₃P, 0°C) en un rendimiento total del 92%. Se logra entonces la introducción del estereocentro C8 empleando un protocolo de alquilación de Ender (hidrazona SAMP de propionaldehído, LDA, THF, 0°C; luego -100°C y adición de 32 en THF; Enders *et al.* Asymmetric Synthesis 1984; Morrison, J.D., Ed.; Academia Press, Orlando, Vol. 3, p. 275-339; damos aquí las gracias al profesor Enders por su obsequio generoso de SAMP) dando lugar a la formación de hidrazona SAMP 33 en un rendimiento del 71%. La conversión al nitrilo 34 (MMPP, MeOH/tampón fosfato pH 7, 0°C, 89%) y posterior reducción (DIBAL, tolueno, -78°C) proporciona el aldehído deseado 35 en un rendimiento del 88%.

La transformación del aldehído 35 al núcleo macrocíclico deseado de epotilona 24 se resume en el esquema 8.

Esquema 8



Síntesis estereoselectiva de yoduro de vinilo 24. Reactivos y condiciones:

(a) 1,45 equiv. de LDA, THF, -78°C, luego 1,4 equiv. de 36 en THF, -78°C, 1,5 h luego; -40°C, 0,5 h; luego 1,0 equiv. de 35 en THF a -78°C (rendimiento combinado 66%, relación alrededor de 1,5:1 de 37:38); (b) 3,2 equiv. de TBSOTf, 4,3 equiv. de 2,6-lutideno, CH₂Cl₂, -20 a 0°C, 2,5 h, 90%; (c) HF·pir. en pirideno, THF, 0°C, 3 h, 84%; (d) 2,0 equiv. de (COCl)₂, 4,0 equiv. de DMSO, 6,0 equiv. de Et₃N, CH₂Cl₂, -78 a 0°C, 1,5 h, 98%; (e) 5,0 equiv. de NaClO₂, 75 equiv. de 2-metil-2-buten-2-ol, 2,5 equiv. de NaH₂PO₄, t-BuOH:H₂O (4,5:1), 25°C, 40 min, 100%; (f) 6,0 equiv. de TBAF, THF, 0 a 25°C, 19 h, 95%; (g) 6,0 equiv. de Et₃N, 2,4 equiv. de cloruro de 2,4,6-triclorobenzoilo, THF, 0°C, 1,5 h; luego adición a una solución de 2,2 equiv. de 4-DMAP en alueno (0,005 M basado en 43), 75°C, 2,5 h, 84%; (h) 25% v/v HF·pir. en THF 0 a 25°C, 15 h, 86%, TBAF = fluoruro de tetra-n-butilamonio.

La reacción aldólica de la cetona 36, previamente usada en nuestra síntesis de epotilona B y análogos relacionados (LDA, THF, -78° a -40°C) y aldehído 35, proporciona los alcoholes 37 y 38 en un rendimiento total del 66%, con una selectividad modesta para el diastereoisómero 6R,7S deseado (37). La separación y sililación (TBSOTf, 2,6-lutidina, CH₂Cl₂, -20 a 0°C) del producto aldólico correcto 37 proporciona el tris-sililéter 39 en un rendimiento del 90%. La separación selectiva del grupo sililéter primario-protector (HF·pir. en piridina/THF, 0°C) proporciona el alcohol 40 (84%), el cual se oxida al ácido 42 por vía del aldehído 41 mediante un procedimiento en dos etapas [Swern; luego NaClO₂, 2-metil-2-buten-2-ol, NaH₂PO₄, t-BuOH/H₂O, 25°C, 98% para las dos etapas]. La separación del grupo silicio-protector C15 (TBAF, THF, 0 a 25°C) proporciona el hidroxiácido 43 (95%) dejando así la base para el proceso de macrolactonización. Esta etapa clave se consigue bajo las condiciones de Yamaguchi (cloruro de 2,4,6-triclorobenzoilo, Et₃N, THF, luego adición a una solución de 4-DMAP en tolueno, 0,005 M, 75°C; Inanaga *et al.* Bull. Chem. Soc. Jpn. 1979, 52, 1989; Mulzer *et al.* Synthesis 1992, 215-228; Nicolau *et al.* Chem. Eur. J. 1996, 2, 847-868) para proporcionar el núcleo protegido de epotilona 44 en un rendimiento del 84%. La desprotección global (HF·pir., THF, 0 a 25°C, 86%) completa la síntesis del compuesto intermedio clave de yoduro de vinilo 34.

Teniendo a mano el compuesto intermedio 24, se emplea entonces el protocolo de acoplamiento de Stille para unir la mitad heterocíclica deseada.

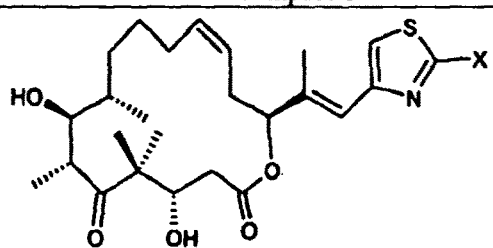
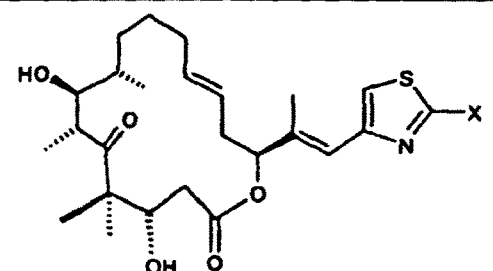
La química descrita en este ejemplo está basada en una técnica de acoplamiento de Stille para construir una serie de análogos de epotilona con diversidad en la cadena lateral o tanto en la cadena lateral como en el sitio C26 a partir de un compuesto intermedio macrocíclico común.

Ejemplo 2

Fórmulas de compuestos de acuerdo con la invención

TABLA

Fórmulas de compuestos de acuerdo con la invención

Entrada	Compuesto
4	 <p>18b: X = SMe</p>
8	 <p>19b: X = SMe</p>

Ejemplo 3

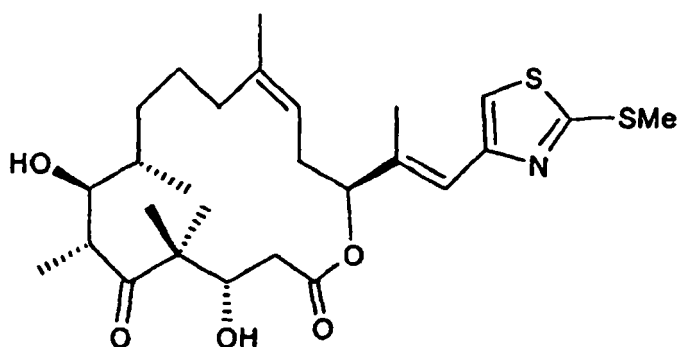
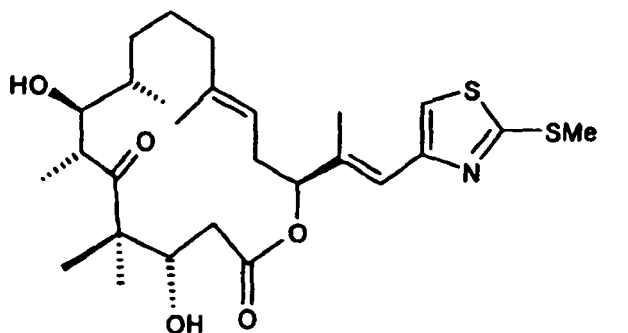
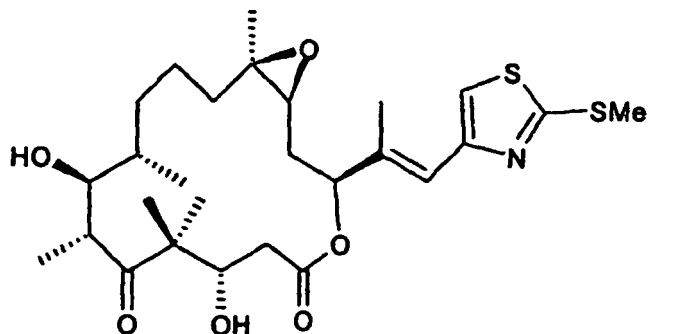
Resultados biológicos

De acuerdo con los métodos descritos anteriormente se mide la inhibición de la despolimerización de tubulina por un compuesto de fórmula I empleando microtúbulos de cerebro de cerdo, en comparación con 25 μ M de epotilona B; los ensayos celulares son análogos a los descritos anteriormente para las células KB-31.

Ejemplo 4

Otros compuestos de fórmula I

En analogía con los métodos descritos anteriormente y a continuación, se preparan los siguientes compuestos pertenecientes a la fórmula I y que tienen las siguientes fórmulas:

Ejemplo 4 (i)**Ejemplo 4 (ii)****Ejemplo 4 (ix)***Protocolos de síntesis*

General: Todas las reacciones se efectúan bajo una atmósfera de argón con disolventes secos, recientemente destilados, bajo condiciones anhidras, salvo que se indique otra cosa. Se destilan tetrahidrofurano (THF) y dietiléter (éter) a partir de benzofenona sódica, y diclorometano (CH_2Cl_2), benceno (PhH) y tolueno a partir de hidruro cálcico. Se obtienen también disolventes anhidros pasándolos a través de columnas de alúmina activa comercialmente disponi-

bles. Los rendimientos se refieren a materiales cromatográfica y espectroscópicamente (^1H NMR) homogéneos, salvo que se indique otra cosa. Todas las soluciones usadas en los procedimientos de trabajo son saturadas salvo que se indique otra cosa. Todos los reactivos son adquiridos con la calidad comercial más alta y empleados sin purificación adicional, salvo que se indique otra cosa. Todas las reacciones son controladas por cromatografía de capa fina efectuada sobre placas de gel de sílice de E. Merck de 0,25 mm (60F-254) empelando UV como agente de visualización y solución etanólica al 7% de ácido fosfomolibdico o p-anisaldehído y calor como agentes de desarrollo. Se emplea gel de sílice E. Merck (60, tamaño de partícula 0,040-0,063 mm) para la cromatografía en columna instantánea. Las separaciones por cromatografía de capa fina preparativa se efectúan en placas de gel de sílice de E. Merck de 0,25, 0,50 o 1 mm (60F-254). Los espectros NMR se registran en instrumentos Broker DRX-600, AMX-500, AMX-400 o AC-250 y calibrados empleando disolvente no deuterado residual como referencia interna. Se emplean las siguientes abreviaturas para explicar las multiplicidades; s, singlete; d, doblete; t, triplete; q, cuartete; m, multiplete; banda, varias señales superpuestas; b, ancho. Los espectros IR son registrados en un espectrómetro Perkin-Elmer 1600 serie FT-IR. Las rotaciones ópticas son registradas en un polarímetro Perkin-Elmer 241. Los espectros de masas de alta resolución (HRMS) son registrados en un espectrómetro de masas VG ZAB-ZSE en condiciones de bombardeo con átomos rápidos (FAB).

Cis-macrolactona diol 7 como se ilustra en el esquema 3. A una solución de yoduro 16 (305 mg, 0,491 mmol) en THF (8,2 ml, 0,06 M) a 25°C se añade HF·pir. (2,7 ml) y la solución resultante se agita a la misma temperatura durante 27 horas. La reacción se enfría entonces por adición cuidadosa a una mezcla de NaHCO_3 acuoso saturado (100 ml) y EtOAc (100 ml) y la mezcla bifásica resultante se agita a 25°C durante 2 horas. Los extractos se separan entonces y la capa orgánica se lava con NaHCO_3 acuoso saturado (100 ml) y salmuera (100 ml) y luego se seca (MgSO_4). La purificación por cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 20 a 50% EtOAc en hexanos) suministra el diol 7 (208 mg, 84%). $R_f = 0,21$ (gel de sílice gel, 25% EtOAc en hexanos); $[\alpha]^{22}_D -53,1$ (c 1,37, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3499 (br), 2930, 1732, 1688, 1469, 1379, 1259, 1149, 1093, 1048, 1006, 732 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6,43 (s, 1H, IC H=C(CH₃)), 5,44 (ddd, J = 10,5, 10,5, 4,5 Hz, 1H, C H=CHCH₂), 5,34 (dd, J = 9,5, 2,0 Hz, 1H, CHOCO), 5,32 (ddd, J = 10,5, 10,5, 5,5 Hz, 1H, C H=CHCH₂), 4,07 (ddd, J = 11,0, 6,0, 3,0 Hz, 1H, (CH₃)₂CC H (OH)), 3,73 (ddd, J = 2,5, 2,5, 2,5 Hz, 1H, C HOH(CHCH₃)), 3,10 (qd, J = 7,0, 2,5 Hz, 1H, CH₃C H(C=O)), 2,84 (d, J = 2,5 Hz, 1H, CH(CH₃)CHOHCH(CH₃)), 2,66 (ddd, J = 15,0, 9,5, 9,5 Hz, 1H, =CHC H₂CHO), 2,51 (dd, J = 15,5, 11,0 Hz, 1H, CH₂COO), 2,42 (dd, J = 15,5, 3,0 Hz, 1H, CH₂COO), 2,35 (d, J = 6,0 Hz, 1H, (CH₃)₂CHO H), 2,21-2,12 (m, 2 H), 2,05-1,97 (m, 1H), 1,88 (s, 3 H, ICH=CCH₃), 1,76-1,70 (m, 1H), 1,70-1,62 (m, 1H), 1,32 (s, 3 H, C (CH₃)₂), 1,18 (d, J = 7,0 Hz, 3H, CH₃CH(C=O)), 1,10 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,35-1,05 (m, 3H), 0,99 (d, J = 7,0 Hz, 3H, CH₃CHCH₂); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{IO}_5$ (M + Cs⁺) 639.0584, encontrado 639.0557.

Trans-macrolactona diol 11 como se ilustra en el esquema 3. Una solución de yoduro 17 (194 mg, 0,313 mmol) en THF (5,2 ml, 0,06 M) se trata con HF·pir. (1,7 ml) según el procedimiento descrito para la preparación del diol 7 para proporcionar, después de la cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 20 a 50% EtOAc en hexanos, el diol 11 (134 mg, 85%). $R_f = 0,16$ (gel de sílice, 25% EtOAc en hexanos); $[\alpha]^{22}_D -53,1$ (c 1,15, CHCl_3); IR (película) ν_{max} 3478, 2930, 1732, 1693 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6,37 (d, J = 1,5 Hz, 1H, ICH=CCH₃), 5,35 (ddd, J = 14,5, 7,0, 7,0 Hz, 1H, CH=CHCH₂), 5,24 (ddd, J = 14,5, 7,0, 7,0 Hz, 1H, CH=CHCH₂), 5,17 (dd, J = 6,5, 3,5 Hz, 1H, CHOCO), 4,41 (dd, J = 8,0, 3,5 Hz, 1H, (CH₃)₂CCH(OTBS)), 3,85 (bs, 1H, CHOH(CHCH₃)), 3,38 (bs, 1H, CHO H (CHCH₃)), 3,18 (qd, J = 7,0, 6,5 Hz, 1H, CH₃CH(C=O)), 2,68-2,34 (m, 4 H), 2,44 (s, 3H, CH₃Ar), 2,19-2,11 (m, 1H), 1,96 (s, 3H, CH₃C=CH), 1,99-1,93 (m, 1H), 1,67-1,52 (m, 2 H), 1,48-1,42 (m, 1H), 1,31-0,99 (m, 2 H), 1,22 (d, J = 7,0 Hz, 3H, CH₃CH(C=O)), 1,14 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,09 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,02 (d, J = 7,0 Hz, 3H, CH₃CHCH₂), 0,84 (s, 9 H, SiC(CH₃)₃(CH₃)₂), 0,08 (s, 3H, SiC(CH₃)₃(CH₃)₂), -0,01 (s, 3H, SiC(CH₃)₃(CH₃)₂); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{IO}_5$ (M + Cs⁺) 639.0584, encontrado 639.0606.

2-tiometil-4-bromotiazol 21b como se ilustra en el esquema 4. Se disuelve 2,4-dibromotiazol 20 (82 mg, 0,34 mmol, 1,0 equiv.) en etanol (2,3 ml, 0,15 M) y se trata con tiometóxido sódico (75 mg, 1,02 mmol, 3,0 equiv.). La mezcla de reacción se agita a 25°C durante 2 horas, tras lo cual se establece el término de la reacción por ^1H NMR. La mezcla se vierte en agua (5 ml) y se extrae con éter (2 x 5 ml). Las fracciones orgánicas combinadas se secan (MgSO_4), se evaporan los disolventes y el residuo se purifica por cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 5% EtOAc en hexanos) para suministrar el 2-tiometil-4-bromotiazol 21b (77 mg, 92%). $R_f = 0,58$ (gel de sílice, 10% EtOAc en hexanos); IR (película) ν_{max} 3118, 2926, 1459, 1430, 1388, 1242, 1040, 966, 876, 818 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,07 (s, 1H, ArH), 2,69 (s, 3H, SCH₃); GC/MS (EI), calcd. para $\text{C}_4\text{H}_4\text{BrNS}_2$ (M⁺) 209/211, encontrado 209/211.

2-tiometil-4-trimetilestanniltiazol 8b como se ilustra en el esquema 3. A una solución de bromotiazol 21b (51 mg, 0,24 mmol, 1,0 equiv.) en tolueno desgasificado (4,9 ml, 0,1 M) se añade hexametildiestañio (498 μl , 2,4 mmol, 10 equiv.) y $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (14 mg, 0,012 mmol, 0,05 equiv.) y la mezcla de reacción se calienta a 80°C durante 3 horas. Se enfría luego la mezcla de reacción a 25°C para proporcionar, después de cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 5% Et₃N en hexanos), el estannano 8b (71 mg, 100%). $R_f = 0,67$ (gel de sílice; pre-tratado con Et₃N, 10% EtOAc); IR (película) ν_{max} 2981, 2924, 1382, 1030, 772 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,25 (s, 1H, ArH), 2,70 (s, 3H, SCH₃), 0,32 (s, 9H, Sn(CH₃)₃); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NS}_2\text{Sn}$ (M + H⁺) 295.9588, encontrado 295.9576.

Epotilona E (3) como se ilustra en los esquemas 2 y 3. A una solución de lactona 18h (10,0 mg, 0,020 mmol, 1,0 equiv.) en metanol. (600 μl , 0,03 M) se añade acetónitrilo (32 μl , 0,606 mmol, 30 equiv.), KHCO_3 (10 mg, 0,102 mmol, 5 equiv.) y peróxido de hidrógeno (27 μl , 35% p/p en agua, 0,303 mmol, 15 equiv.) y la mezcla de reacción se agita a

25°C durante 3 horas. Se añade entonces más acetonitrilo (32 μ l, 0,606 mmol, 30 equiv.), KHCO_3 (10 mg, 0,102 mmol, 5 equiv.) y peróxido de hidrógeno (27 μ l, 35% p/p en agua, 0,303 mmol, 15 equiv.) y se continúa la agitación durante 3 horas. La mezcla de reacción se pasa entonces directamente a través de un papón corto de gel de sílice, eluyendo con éter, y el filtrado se concentra bajo presión reducida. La cromatografía de capa fina preparativa (placa de gel de sílice en 250 mm, 50% EtOAc en hexanos) suministra material de partida sin reaccionar 18h (5,0 mg, 50%) y epitolona E (3) (3,4 mg, 33%). $R_f = 0,56$ (gel de sílice, 66% EtOAc en hexanos); $[\alpha]_D^{22} = -27,5$ (c 0,20, CHCl_3); IR (película) ν_{max} 3413, 2928, 2867, 1731, 1689, 1462, 1375, 1257, 1152, 1061, 978, 756 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7,13 (s, 1H, ArH), 6,61 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,46 (dd, $J = 8,1, 2,4$ Hz, 1H, CHOCO), 4,94 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H, CH_2OH), 4,16-4,12 (m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OH})$), 3,82-3,78 (m, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 3,66 (bs, 1H, OH), 3,23 (qd, $J = 6,8, 5,2$ Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 3,04 (ddd, $J = 8,1, 4,5, 4,5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{CHCH}_2$), 2,91 (ddd, $J = 7,3, 4,5, 4,1$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{CHCH}_2$), 2,61 (t, $J = 5,2$ Hz, 1H, CH_2OH), 2,55 (dd, $J = 14,7, 10,4$ Hz, 1H, CH_2COO), 2,48 (bs, 1H, OH), 2,45 (dd, $J = 14,7, 3,2$ Hz, 1H, CH_2COO), 2,14-2,07 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{CHCH}_2$), 2,11 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,91 (ddd, $J = 15,1, 8,1, 8,1$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{CHCH}_2$), 1,78-1,66 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{CHCH}_2$), 1,52-1,38 (m, 5H), 1,36 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,18 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 1,10 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,01 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3CHCH_2); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_7\text{S}$ ($\text{M} + \text{H}^+$) 510.2525. encontrado 510.2539.

Cis-macrolactona 18b como se ilustra en el esquema 3. Una solución de yoduro de vinilo 7 (9,2 mg, 0,018 mmol, 1,0 equiv.), estannano 8b (10,7 mg, 0,036 mmol, 2,0 equiv.) y $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2,1 mg, 0,0018 mmol, 1,0 equiv.) en tolueno desgasificado (180 μ l, 0,1 M) se calienta a 100°C durante 40 min., de acuerdo con el procedimiento descrito para la síntesis de la lactona 18h, para proporcionar, después de cromatografía en capa fina preparativa (placa de gel de sílice de 250 mm, 75% de éter en hexanos), la macrolactona 18b (4,2 mg, 44%). $R_f = 0,50$ (gel de sílice, 50% EtOAc en hexanos); $[\alpha]_D^{22} = -38,6$ (c 0,21, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3444, 2925, 1732, 1682, 1259, 1037, 756 cm^{-1} ; ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6,99 (s, 1H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 6,52 (bs, 1H, ArH), 5,45 (ddd, $J = 10,5, 10,5, 4,0$ Hz, 2H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 5,39 (ddd, $J = 10,5, 10,5, 4,0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 5,29 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CHOCO), 4,20 (ddd, $J = 11,0, 5,5, 2,5$ Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OH})$), 3,75-3,73 (m, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 3,13 (qd, $J = 6,5, 2,0$ Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,98 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 2,93 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OH})$), 2,71 (ddd, $J = 15,0, 10,0, 10,0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 2,70 (s, 3H, SCH_3), 2,51 (dd, $J = 15,5, 11,5$ Hz, 1H, CH_2COO), 2,30 (dd, $J = 15,0, 2,5$ Hz, 1H, CH_2COO), 2,28-2,16 (m, 2H), 2,13 (d, $J = 1,0$ Hz, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 2,06-1,98 (m, 1H), 1,79-1,60 (m, 2H), 1,40-1,06 (m, 3H), 1,33 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,19 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 1,09 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,00 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3CHCH_2); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_5\text{S}_2$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$) 642.1324. encontrado 642.1345.

Trans-macrolactona 19b como se ilustra en el esquema 3. Una solución de yoduro de vinilo 11 (6,9 mg, 0,014 mmol, 1,0 equiv.), estannano 8b (8,2 mg, 0,28 mmol, 2,0 equiv.) y $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1,6 mg, 0,0014 mmol, 0,1 equiv.) en tolueno desgasificado (140 μ l, 0,1 M) se calienta a 100°C durante 40 min, de acuerdo con el procedimiento descrito para la síntesis de la lactona 18h, para proporcionar, después de cromatografía en capa fina preparativa (placa de gel de sílice de 250 mm, 75% de éter en hexanos), la macrolactona 19b (5,0 mg, 72%). $R_f = 0,47$ (gel de sílice, 50% EtOAc en hexanos); $[\alpha]_D^{22} = -32,9$ (c 0,35, CHCl_3); IR (película) ν_{max} 3488, 2928, 1728, 1692, 1259, 1036, 800, 757 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,00 (s, 1H, ArH), 6,48 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,53 (ddd, $J = 15,0, 7,5, 7,5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 5,40 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CHOCO), 5,39 (ddd, $J = 15,0, 7,5, 7,5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 4,12 (ddd, $J = 11,0, 2,5, 2,5$ Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OH})$), 3,77-3,74 (m, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 3,24 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 3,07 (m, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,70 (s, 3H, SCH_3), 2,61 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 2,59-2,44 (m, 5H), 2,19-2,12 (m, 1H), 2,13 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 2,02-1,94 (m, 1H), 1,70-1,55 (m, 2H), 1,48-1,41 (m, 1H), 1,29 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,18 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 1,08 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,99 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3CHCH_2); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_5\text{S}_2$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$) 642.1324. encontrado 642.1298.

Sililéter 25 como se ilustra en el esquema 7. A una solución de alcohol 13 (12,96 g, 54,4 mmol, 1,0 equiv.) en DMF (180 μ l, 0,3 M) a 0°C, se añaden imidazol (10,2 g, 150,0 mmol, 2,8 equiv.) seguido por terc-butildimetilclorosilano (13,5 g, 89,8 mmol, 1,7 equiv.). Después de calentar a 25°C durante 7 horas, se separa el disolvente bajo presión reducida y el aceite resultante se reparte entre éter (200 ml) y NH_4Cl acuoso saturado (200 ml). La capa acuosa se extrae con éter (200 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (550 ml), se seca (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 0 a 5% EtOAc en hexanos) suministra el sililéter 25 como un aceite (16,03 g, 84%). $R_f = 0,48$ (hexanos); $[\alpha]_D^{22} = -17,5$ (c 1,65, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 2954, 2928, 2857, 1472, 1361, 1278, 1252, 1082, 914, 836, 776, 677 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6,15 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,74-5,66 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,03 (bm, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,01 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,16 (dd, $J = 6,5, 6,5$ Hz, 1H, CHOH), 2,25 (m, 1H, $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2$), 1,77 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,88 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,04 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

Aldehído 26 como se ilustra en el esquema 7. A una solución de olefina 25 (16,0 g, 45,3 mmol, 1,0 equiv.) en una mezcla de THF (206 ml), t-BuOH (206 ml) y H_2O (41 ml) a 0°C se añade N-óxido de 4-metilmorfolina (NMO) (5,84 g, 49,8 mmol, 1,1 equiv.) seguido por OsO_4 (5,2 ml, 2,5% p/p en t-BuOH, 0,453 mmol, 0,01 equiv.). La mezcla se agita vigorosamente durante 13 horas a 25°C y luego se enfría con Na_2SO_3 acuoso saturado (125 ml). La solución resultante se agita durante 2 horas y luego se reparte entre EtOAc (150 ml) y agua (150 ml). La fase orgánica se separa y la fase acuosa se extrae con EtOAc (2 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan (MgSO_4), se filtra y los disolventes se separan bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 50 a 90% de éter en hexanos) proporciona material de partida sin reaccionar (1,0 g, 6%) y los dioles deseados como una mezcla 1:1 aproximadamente de diastereoisómeros (15,5 g, 89%). $R_f = 0,44$ (gel de sílice, 50% EtOAc en hexanos); IR (película fina) ν_{max} 3387, 2952, 2928, 1252, 1080, 837, 777 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6,28 y 6,26 (singletes, 1H total, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 4,47-4,42 (m, 1H, CHOSi), 3,86-3,76 (m, 1H, CHOH), 3,61-3,55 y 3,49-3,39 (m, 2H total, CH_2OH), 3,33

y 3,15 (2 dobletes, $J = 2,0$ y $3,5$ Hz, 1H total, CHOH), 2,46 y 2,45 (triplets, $J = 5,5$ y $5,5$ Hz, CH_2OH), 1,78 y 1,76 (singletes, 3H total), 1,63-1,60 y 1,58-1,53 (m, 2H total, CH_2), 0,88 y 0,87 (singletes, 9H total, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,08 y 0,07 (singletes, 3H total, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,01 y 0,00 (singletes, 3H total, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{IO}_3\text{Si}$ ($\text{M} + \text{Na}^+$) 409.0672 encontrado 409.0662.

5

Los dioles (obtenidos como antes se ha descrito) (23,3 g, 60,2 mmol, 1,0 equiv.) se disuelven en una mezcla de MeOH (400 ml) y agua (200 ml) y la solución se enfría a 0°C . Se añade entonces en porciones, durante 5 minutos, NaIO_4 (77,2 g, 361,1 mmol, 6,0 equiv.) y la suspensión espesa resultante se agita vigorosamente durante 30 minutos a 25°C . Terminada la reacción, la mezcla se reparte entre CH_2Cl_2 (500 ml) y agua (500 ml) se separa la fase orgánica. La capa acuosa se extrae con CH_2Cl_2 (500 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (1 litro), se seca (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 17 a 50% de éter en hexanos) proporciona el aldehído 26 como un aceite (19,6 g, 92%) $R_f = 0,35$ (gel de sílice, 20% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22} -34,1$ (c 2,8, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 2954, 2928, 2885, 2856, 1728, 1471, 1279, 1254, 1091, 838, 777, 677 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 9,73 (dd, $J = 2,5$, $2,5$ Hz, 1H, CHO), 6,34 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 4,70 (dd, $J = 8,0$, $4,0$ Hz, 1H, CHOSi), 2,68 (ddd, $J = 16,0$, $8,3$, $2,5$ Hz, 1H, $(\text{CHO})\text{CH}_2$), 2,44 (ddd, $J = 16,0$, $4,0$, $2,5$ Hz, 1H, $(\text{CHO})\text{CH}_2$), 1,80 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,85 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,05 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{IO}_2\text{Si}$ ($\text{M} + \text{Na}^+$) 377.0410 encontrado 377.0402.

Ester metílico 28 como se ilustra en el esquema 7. Una mezcla del aldehído 26 (19,6 g, 55,2 mmol, 1,0 equiv.) e iluro estabilizado 27 (50,2 g, 134,0 mmol, 2,4 equiv.) [preparado a partir de 4-bromo-1-butenol mediante: (i) formación de la sal fosfonio; (ii) formación del anión con KHMDS ; y (iii) enfriamiento con $\text{MeOC}(\text{O})\text{Cl}$] (véase Marshall, J.A., *et al.*, J. Org. Chem. 51, 1735-1741 (1986) y Bestmann, H.J., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1965, 654-60) en benceno (550 ml, 0,1 M) se calienta a reflujo durante 1,5 horas. Después de enfriar a 25°C , la mezcla se filtra y el disolvente se separa bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 9 a 17% éter en hexanos) suministra el éster metílico 28 (24,5 g, 98%). $R_f = 0,37$ (gel de sílice, 20% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22} -7,25$ (c 1,6, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3078, 2952, 2920, 2856, 1720, 1462, 1434, 1276, 1253, 1208, 1084, 836, 776, 672 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6,81 (dd, $J = 7,4$, $7,4$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CCOCH}_3$), 6,22 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,83-5,75 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,99-4,98 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,96 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,22 (dd, $J = 7,5$, $5,1$ Hz, 1H, CHOSi), 3,72 (s, 3H, COOCH_3), 3,05 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CO}_2\text{Me})$), 2,40 (ddd, $J = 15,0$, $7,5$, $7,5$ Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,33 (ddd, $J = 15,0$, $7,5$, $5,1$ Hz, 1H, CH_2CHOSi), 1,77 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,85 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{IO}_3\text{Si}$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$), 583.0142 encontrado 583.0159.

Alcohol arílico 29 como se ilustra en el esquema 7. Se disuelve el éster metílico 28 (24,5 g, 54,3 mmol, 1,0 equiv.) en THF (280 ml) y la solución se enfría a -78°C . Se añade DIBAL (163,0 ml, 1 M en CH_2Cl_2 , 163,0 mmol, 3,0 equiv.) gota a gota -78°C durante 50 minutos, y la mezcla de reacción se agita durante 80 minutos más. La mezcla de reacción se enfría con tartrato de sodio-potasio acuoso saturado (150 ml) y la mezcla resultante se deja calentar hasta 25°C durante 16 horas. La capa orgánica se separa y la fase acuosa se extrae con éter (3 x 250 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (650 ml), se seca (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 17 a 50% éter en hexanos) suministra el alcohol 29 (22,9 g, 100%) $R_f = 0,11$ (gel de sílice, 20% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22} -7,25$ (c 1,6, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3346, 3078, 2954, 2928, 2857, 1637, 1471, 1361, 1276, 1252, 1078, 1005, 836, 775, 674, 558 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6,16 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,81-5,73 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,45 (dd, $J = 6,5$, $6,5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_2\text{OH}$), 5,03 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,16 (dd, $J = 6,5$, $6,5$ Hz, 1H, CHOSi), 4,02 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H, CH_2OH), 2,85 (dd, $J = 15,0$, $5,1$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2,84 (dd, $J = 15,0$, $5,0$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2,27 (ddd, $J = 15,0$, $6,5$, $6,5$ Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,25 (ddd, $J = 15,0$, $6,5$, $6,5$ Hz, 1H, CH_2CHOSi), 1,78 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,88 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. Para $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{IO}_2\text{Si}$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$), 555.0192 encontrado 555.0177.

Trifenilmetiléter 30 como se ilustra en el esquema 7. Se disuelve el alcohol 29 (23,5 g, 55,7 mmol, 1,0 equiv.) en DMF (300 ml, 0,15 M) y se añaden 4-DMAP (11,3 g, 92,5 mmol, 1,7 equiv.) y cloruro de tritilo (22,1 g, 79,3 mmol, 1,4 equiv.). La mezcla de reacción se agita a 80°C durante 21 horas, se enfría a temperatura ambiente y el disolvente se separa bajo presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna instantánea para proporcionar el éter requerido 30 como un aceite (35,3 g, 95%). $R_f = 0,88$ (gel de sílice, 20% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22} -0,74$ (c 0,3, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3058, 2927, 2854, 1488, 1470, 1448, 1250, 1082, 836, 702, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7,45-7,43 (m, 5H, Ph), 7,32-7,21 (m, 10 H, Ph), 6,19 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,61 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,87 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{CH}(\text{C})\text{CH}_2\text{OTr}$), 4,19 (dd, $J = 6,8$, $6,8$ Hz, 1H, CHOSi), 3,46 (s, 2H, CH_2OTr), 2,78 (dd, $J = 15,4$, $6,7$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2,73 (dd, $J = 15,4$, $6,3$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2,33 (ddd, $J = 14,5$, $6,8$, $6,8$ Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,31 (ddd, $J = 14,5$, $6,8$, $6,8$ Hz, 1H, CH_2CHOSi), 1,80 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,87 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,04 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,00 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{IO}_2\text{Si}$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$), 797.1288 encontrado 797.1309.

60

Alcohol 31 como se ilustra en el esquema 7. Se disuelve la olefina 30 (35,3 g, 53,1 mmol, 1,0 equiv.) en THF (53 ml, 1,0 M) y la solución se enfría a 0°C . Se añade gota a gota, durante 1,5 horas, 9-BBM (149 ml, 0,5 M en THF, 74,5 mmol, 1,4 equiv.) y la mezcla resultante se agita durante 9 horas a 0°C . Se añade NaOH acuoso (106 ml de una solución 3 N, 319,0 mmol, 6,0 equiv.), seguido por H_2O_2 acuoso (32 ml, 30% p/p en agua, 319,0 mmol, 6,0 equiv.). Se continúa la agitación durante 1 hora a 0°C , tras lo cual la mezcla de reacción se diluye con éter (500 ml) y agua (500 ml). La capa orgánica se separa y la fase acuosa se extrae con éter (2 x 500 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (1 litro), se seca (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 9 a 50% éter en hexanos) suministra el alcohol primario 31 (34,6 g, 95%) $R_f = 0,54$ (gel de

65

sílice, 60% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22}$ -3,5 (c 0,2, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3380, 3058, 3032, 2926, 2855, 1489, 1449, 1278, 1251, 1078, 835, 706, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,47-7,45 (m, 5H, Ph), 7,32-7,22 (m, 10 H, Ph), 6,22 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,58 (dd, $J = 7,1, 7,1\text{Hz}$, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 4,22 (dd, $J = 6,8, 6,0\text{ Hz}$, 1H, CHOSi), 3,52 (bm, 2H, CH_2OH), 3,50 (s, 2H, CH_2OTr), 2,33 (dd, $J = 14,5, 6,8, 6,8\text{ Hz}$, 1H, CH_2CHOSi), 2,28 (ddd, $J = 14,5, 6,8, 6,8\text{ Hz}$, 1H, CH_2CHOSi), 2,14 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 1,82 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,46 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 0,90 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,06 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{IO}_3\text{Si}$ (M + Cs^+), 815.1394 encontrado 815.1430.

Yoduro 32 como se ilustra en el esquema 7. Una solución del alcohol 31 (34,6 g, 50,73 mmol, 1,0 equiv.) en una mezcla de éter (380 ml) y MeCN (127 ml) se enfría a 0°C. Se añaden entonces imidazol (17,3 g, 253,7 mmol, 5,0 equiv.) y PPh_3 (33,3 g, 126,8 mmol, 2,5 equiv.) y la mezcla se agita hasta que se disuelven todos los sólidos. Se añade yodo (33,5 g, 131,9 mmol, 2,6 equiv.) y la mezcla se agita durante 45 minutos a 0°C. La reacción se enfría por adición de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ acuoso saturado (150 ml) y las capas se separan. La fase acuosa se extrae entonces con éter (2 x 250 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (750 ml), se seca (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 5 a 9% éter en hexanos) proporciona el yoduro 32 (39,2 g, 97%). $R_f = 0,88$ (gel de sílice, 60% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22}$ -2,9 (c 2,6, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3057, 2926, 2855, 1481, 1448, 1251, 1083, 939, 836, 774, 706, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,49-7,45 (m, 5H, Ph), 7,33-7,23 (m, 10 H, Ph), 6,23 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,67 (dd, $J = 7,2, 7,1\text{Hz}$, 1H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$), 4,22 (dd, $J = 6,8, 6,8\text{ Hz}$, 1H, CHOSi), 3,51 (s, 2H, CH_2OTr), 3,07 (dd, $J = 7,1, 7,0\text{ Hz}$, 2H, CH_2I), 2,34 (ddd, $J = 14,5, 6,8, 6,8\text{ Hz}$, 1H, CH_2CHOSi), 2,25 (ddd, $J = 14,5, 6,8, 6,8\text{ Hz}$, 1H, CH_2CHOSi), 2,13 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,84 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,75 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$), 0,90 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,07 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{I}_2\text{O}_2\text{Si}$ (M + Cs^+), 925.0411 encontrado 925.0450.

Hidrazona 33 como se ilustra en el esquema 7. Se añade diisopropilamina (5,0 ml, 35,28 mmol, 1,4 equiv.) a una solución de n-BuLi (22,0 ml, 1,6 M en hexanos, 35,28 mmol, 1,4 equiv.) en 32 ml de THF a 0°C y se agita durante 1 hora. La hidrazona SAMP de propionaldehído (5,6 g, 32,76 mmol, 1,3 equiv.) en THF (16 ml) se añade a esta solución recientemente preparada de LDA a 0°C. Después de agitar a esa temperatura durante 16 horas, la solución amarilla resultante se enfría a -100°C y se añade gota a gota, durante un periodo de 2 horas, una solución del yoduro 32 (20,0 g, 25,23 mmol, 1,0 equiv.) en THF (32 ml). La mezcla se deja calentar a -20°C durante 20 horas y luego se vierte en NH_4Cl acuoso saturado (50 ml) y se extrae con éter (3 x 100 ml). El extracto orgánico combinado se seca (MgSO_4), se filtra y se evapora. La purificación por cromatografía en columna instantánea sobre gel de sílice (5 a 50% éter en hexanos) proporciona la hidrazona 33 (15,0 g, 71%) como un aceite amarillo. $R_f = 0,63$ (gel de sílice, 40% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22}$ -22,7 (c 0,2, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3057, 2927, 2854, 1489, 1448, 1251, 1078, 940, 836, 775, 706, 668, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,46-7,44 (m, 5H, Ph), 7,31-7,21 (m, 10H, Ph), 6,40 (d, $J = 6,5\text{ Hz}$, 1H, $\text{N}=\text{CH}$), 6,21 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,50 (dd, $J = 7,0, 7,0\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$), 4,20 (dd, $J = 6,0, 6,0\text{ Hz}$, 1H, CHOSi), 3,54 (dd, $J = 9,2, 3,5\text{ Hz}$, 1H, CH_2OCH_3), 3,45 (s, 2H, CH_2OTr), 3,41 (dd, $J = 9,5, 7,0\text{ Hz}$, 1H, CH_2OCH_3), 3,37 (s, 3H, CH_2OCH_3), 3,32-3,30 (m, 2H, CH_2N), 2,60-2,55 (m, 1H), 2,34-2,20 (m, 3H), 2,04-1,95 (m, 1H), 1,98-1,73 (m, 5H), 1,82 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,38-1,21 (m, 4H), 0,96 (d, $J = 6,9\text{ Hz}$, 3H, CHCH_3), 0,89 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,06 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{45}\text{H}_{63}\text{IN}_2\text{O}_3\text{Si}$ (M + Cs^+), 967.2707 encontrado 967.2740.

Nitrilo 34 como se ilustra en el esquema 7. Se añade en porciones, durante 10 minutos, sal de magnesio de ácido monoperóxifáltico ($\text{MMPP} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 80%, 52,4 g, 84,8 mmol, 2,5 equiv.) a una solución rápidamente agitada de hidrazona 33 (28,3 g, 33,9 mmol, 1,0 equiv.) en una mezcla de MeOH (283 ml), THF (100 ml) y tampón fosfato pH 7 (283 ml) a 0°C. La mezcla se agita a 0°C durante 1,5 horas y luego se añade más THF (120 ml) en dos porciones durante 30 minutos, para facilitar la disolución del material de partida. Después de agitar durante 1,5 horas más, la mezcla de reacción se vierte en solución acuosa saturada de NaHCO_3 (750 ml) y el producto se extrae con éter (750 ml) y luego con EtOAc (2 x 750 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (1 litro), se seca (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 9 a 20% éter en hexanos) suministra el nitrilo 34 como un aceite incoloro (21,8 g, 89%). $R_f = 0,44$ (gel de sílice, 20% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22}$ +2,9 (c 1,2, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3057, 2928, 2855, 2238, 1490, 1448, 1252, 1081, 836, 775, 707, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,47-7,45 (m, 5H, Ph), 7,33-7,23 (m, 10 H, Ph), 6,22 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,56 (dd, $J = 6,8, 6,8\text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$), 4,21 (dd, $J = 6,8, 6,8\text{ Hz}$, 1H, CHOSi), 3,49 (s, 2H, CH_2OTr), 2,48 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 2,29 (ddd, $J = 14,5, 6,8, 6,8\text{ Hz}$, 1H, CH_2CHOSi), 2,24 (ddd, $J = 14,5, 6,8, 6,8\text{ Hz}$, 1H, CH_2CHOSi), 2,07 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C})\text{CH}_2\text{OTr}$), 1,82 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,58-1,23 (m, 4H), 1,24 (d, $J = 7,0\text{ Hz}$, 3H, CHCH_3), 0,90 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,07 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,0 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{39}\text{H}_{50}\text{INO}_2\text{Si}$ (M + Cs^+), 852.1710 encontrado 852.1738.

Aldehído 35 como se ilustra en el esquema 7. Se disuelve el nitrilo 34 (7,01 g, 9,74 mmol, 1,0 equiv.) en tolueno (195 ml, 0,05 M) y se enfría a -78°C. Se añade gota a gota a -78°C, durante 10 minutos, DIBAL (29,2 ml, 1,0 M en tolueno, 29,2 mmol, 3,0 equiv.) la mezcla de reacción se agita a -78°C hasta que se verifica el término por TLC (1 hora). Se añaden en secuencia metanol (10 ml) y HCl (10 ml, 1,0 N en agua) y la mezcla resultante se lleva a 0°C durante 1 hora. Se añaden éter (250 ml) y agua (250 ml) y las capas se separan. La fase acuosa se extrae con éter (2 x 250 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (500 ml), se seca (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 17 a 33% éter en hexanos) proporciona el aldehído 35 como un aceite (6,18 g, 88%). $R_f = 0,51$ (gel de sílice, 20% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22}$ +2,0 (c 0,3, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3057, 2927, 2855, 1726, 1490, 1448, 1251, 1081, 836, 775, 707, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 9,51 (d, $J = 1,9\text{ Hz}$, 1H, CHO), 7,46-7,45 (m, 5H, Ph), 7,32-7,22 (m, 10 H, Ph), 6,20 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$),

5,54 (dd, $J = 7,0, 7,0$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$), 4,20 (dd, $J = 6,5, 6,0$ Hz, 1H, CHOSi), 3,47 (s, 2H, CH_2OTr), 2,34-2,20 (m, 3H, CH_2CHOSi y $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 2,04 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C})\text{CH}_2\text{OTr}$), 1,82 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,66 (m, 1H), 1,30-1,19 (m, 3H), 1,02 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, CHCH_3), 0,89 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,06 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,00 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{39}\text{H}_{51}\text{IO}_3\text{Si}$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$), 855.1707 encontrado 855.1672.

5

Tris-(sililéteres) 37 y 38 como se ilustra en el esquema 8. Una solución de la cetona 36 (véase Nicolaou, K.C., *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 119, 7974-91 (1997) (1,20 g, 2,99 mmol, 1,4 equiv.) en THF (4,3 ml) se añade gota a gota durante 5 minutos a una solución recientemente preparada de LDA [diisopropilamina (424 μl , 3,03 mmol, 1,40 equiv.) a $n\text{-BuLi}$ (2,0 ml, 1,52 M en hexanos, 3,04 mmol, 1,45 equiv.) a 0°C y, después de 5 minutos, se añade THF (4,3 ml)] a -78°C . Después de agitar durante 1,5 horas a -78°C , la solución se deja calentar hasta -40°C durante un periodo de 30 minutos. La mezcla de reacción se enfría entonces a -78°C y se añade gota a gota, durante 15 minutos, una solución del aldehído 35 (1,51 g, 2,09 mmol, 1,0 equiv.) en THF (12,5 ml). La mezcla resultante se agita durante 1 hora a -78°C y luego se enfría por adición gota a gota de AcOH acuoso saturado (3,1 ml de una solución 1 M en THF, 3,10 mmol, 1,5 equiv.). La mezcla se calienta entonces a 25°C y se reparte entre éter (25 ml) y NH_4Cl acuoso saturado (25 ml). La fase acuosa se extrae con éter (3 x 25 ml) y los extractos orgánicos combinados se secan (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 4 a 20% éter en hexanos) proporciona cetona sin reaccionar (502 mg, 42%), producto aldólico indeseado 38 (705 mg, 27%) y una mezcla del producto aldólico deseado 37 y aldehído sin reaccionar 35 [1,136 g (relación alrededor de 9:1 de 37:35 según ^1H NMR)] (es decir, un rendimiento del 39% de 37). Esta mezcla se emplea directamente en la siguiente etapa. 37: (principal) (obtenido como un aceite incoloro a partir de una mezcla que contiene 35 por cromatografía en columna instantánea sobre gel de sílice (10 a 17% EtOAc en hexanos). $R_f = 0,22$ (gel de sílice, 10% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22} -20,0$ (c 0,3, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3486, 2954, 2928, 2856, 1682, 1472, 1448, 1253, 1090, 994, 836, 775, 706, 668, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7,45-7,43 (m, 5H, Ph), 7,30-7,19 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,51 (dd, $J = 7,0, 6,9$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 4,18 (dd, $J = 6,3, 6,2$ Hz, 1H, CHOSi), 3,88 (dd, $J = 7,5, 2,6$ Hz, 1H, CHOSi), 3,65 (m, 1H, CH_2OSi), 3,59 (m, 1H, CH_2OSi), 3,46 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,43 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,27 (m, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 3,22 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H, CHOH), 2,32-2,18 (m, 2H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 2,00 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C})\text{CH}_2\text{OTr}$), 1,80 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,66 (m, 2H), 1,46 (m, 2H), 1,27 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 1,19 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,07 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,99 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,89 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,87 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,86 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,71 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,10 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,07 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,04 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,03 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. Para $\text{C}_{60}\text{H}_{97}\text{IO}_6\text{Si}_3$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$), 1257.4692 encontrado 1257.4639. 38: (menor) aceite incoloro; $R_f = 0,38$ (gel de sílice, 20% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22} -11,9$ (c 2,9, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3501, 2954, 2930, 2856, 1682, 1469, 1254, 1088, 836, 776, 705, 670 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,46-7,44 (m, 5H, Ph), 7,31-7,21 (m, 10H, Ph), 6,21 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,52 (dd, $J = 7,0, 6,9$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 4,20 (dd, $J = 6,5, 6,5$ Hz, 1H, CHOSi), 3,88 (dd, $J = 7,5, 2,5$ Hz, 1H, CHOSi), 3,67 (m, 1H, CH_2OSi), 3,60 (m, 1H, CH_2OSi), 3,46 (s, 2H, CH_2OTr), 3,30-3,21 (m, 2H, CHOH , $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,30-2,25 (m, 2H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 2,05-1,93 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,81 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,63 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 1,45 (m, 2H), 1,24 (m, 2H), (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,05 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,01 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,92 (s, 18H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,89 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,88 (obscured d, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,88 (s, 18H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,11 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,07 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,06 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,04 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{60}\text{H}_{97}\text{IO}_6\text{Si}_3$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$), 1257.4692 encontrado 1257.4749.

Tetra-(sililéter) 39 como se ilustra en el esquema 8. Se disuelve el alcohol 37 (1,136 g de una mezcla 9:1 con aldehído 35, 0,933 mmol, 1,0 equiv.) en CH_2Cl_2 (5,0 ml), se enfría a -20°C y se trata con 2,6-lutidina (470 μl , 4,04 mmol, 4,3 equiv.) y trifluormetanosulfonato de terc-butil-dimetilsililo (695 μl , 3,03 mmol, 3,2 equiv.). La mezcla se agita entonces durante 2,5 horas con lento calentamiento a 0°C . La reacción se enfría entonces con NaHCO_3 acuoso saturado (25 ml) y la fase acuosa se extrae con éter (3 x 25 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (250 ml), se seca (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 4 a 9% éter en hexanos) suministra el tetra-(sililéter) 39 como un aceite incoloro (1,04 g, 90%). $R_f = 0,91$ (gel de sílice, 20% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22} -16,8$ (c 0,7, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3058, 2951, 2856, 1693, 1471, 1253, 1079, 1004, 836, 706 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7,46-7,43 (m, 5H, Ph), 7,29-7,19 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,49 (dd, $J = 7,0, 7,0$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 4,18 (dd, $J = 6,3, 6,1$ Hz, 1H, CHOSi), 3,85 (dd, $J = 7,6, 2,5$ Hz, 1H, CHOSi), 3,70 (dd, $J = 6,7, 2,0$ Hz, 1H, CHOSi), 3,67 (ddd, $J = 9,6, 4,8, 4,8$ Hz, 1H, CH_2OSi), 3,59 (ddd, $J = 9,7, 7,9, 7,9$ Hz, 1H, CH_2OSi), 3,45 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,42 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,08 (qd, $J = 6,8, 6,8$ Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,27 (ddd, $J = 14,4, 7,2, 7,2$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 2,23 (ddd, $J = 14,5, 6,2, 6,2$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 1,97 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,79 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,57 (m, 1H), 1,46 (m, 1H), 1,25 (m, 3H), 1,17 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,01 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,95 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,87 (s, 18H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,86 (s, 18H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,09-0,03 (m, 24H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{66}\text{H}_{111}\text{IO}_6\text{Si}_4$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$), 1371.5557 encontrado 1371.5523.

Alcohol 40 como se ilustra en el esquema 8. A una solución de tetra-(sililéter) 39 (180 mg, 0,145 mmol) en THF (1,5 ml) a 0°C se añade HF-pir. en una mezcla de piridina/THF (preparada a partir de una solución madre que contiene 420 μl de HF-piridina, 1,14 ml de piridina y 2,0 ml de THF) (1,5 ml) y la solución resultante se agita durante 2 horas a 0°C . Se añade entonces más HF-pir. en mezcla de piridina/THF (0,5 ml) y se continúa la agitación durante 1 hora más a 0°C . La reacción se enfría por adición cuidadosa de NaHCO_3 acuoso saturado y el producto se extrae con EtOAc (3 x 25 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan entonces (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía instantánea (gel de sílice, 30% éter en hexanos) suministra el alcohol 40 como un aceite amarillo pálido (137 mg, 84%). $R_f = 0,36$ (gel de sílice, 40% éter en hexanos); $[\alpha]_D^{22} -26,0$ (c 0,3, CHCl_3); IR (película fina) ν_{max} 3422, 2928, 2855, 1690, 1490, 1471, 1448, 1360, 1252, 1086, 1004, 986, 836, 774, 706 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3)

δ 7,44-7,42 (m, 5H, Ph), 7,29-7,20 (m, 10 H, Ph), 6,19 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,49 (dd, J = 7,1, 7,1Hz, 1H, C=CHCH₂), 4,17 (dd, J = 6,2, 6,0 Hz, 1H, CHOSi), 4,03 (dd, J = 6,6, 3,7 Hz, 1H, CHOSi), 3,73 (dd, J = 7,2, 1,7 Hz, 1H, CHOSi), 3,65 (m, 2H, CH₂OH), 3,45 (d, J = 11,7 Hz, 1H, CH₂OTr), 3,42 (d, J = 11,7 Hz, 1H, CH₂OTr), 3,06 (qd, J = 6,9, 6,9 Hz, 1H, CH₃CH(C=O)), 2,28 (ddd, J = 14,7, 7,3, 7,3 Hz, 1H, C=CHCH₂CHOSi), 2,22 (ddd, J = 14,7, 6,3, 6,3 Hz, 1H, C=CHCH₂CHOSi), 1,98 (m, 2H, CH₂C(CH₂OTr)=CH), 1,79 (s, 3H, CH=C(CH₃)), 1,56 (m, 2H), 1,24 (m, 3H), 1,18 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,03 (d, J = 6,9 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,97 (s, 3H, C(CH₃)₂), 0,87 (3 singletes, 27H, SiC(CH₃)₃), 0,81 (d, J = 6,7 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,10 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,04 (s, 9H, Si(CH₃)₂), 0,03 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,00 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB), calcd. para C₆₀H₉₇IO₆Si₃ (M + Cs⁺), 1257.4692 encontrado 1257.4780.

10 *Aldehído 41 como se ilustra en el esquema 8.* A una solución de cloruro de oxalilo (150 μ l, 1,72 mmol, 2,0 equiv.) en CH₂Cl₂ (10 ml) a -78°C se añade gota a gota DMSO (247 μ l, 3,48 mmol, 4,0 equiv.). Después de agitar durante 10 minutos a -78°C, se añade gota a gota una solución del alcohol 40 (960 mg, 0,853 mmol, 1,0 equiv.) en CH₂Cl₂ (10 ml). La solución resultante se agita a -78°C durante 1 hora y luego se añade Et₃N (714 μ l, 5,12 mmol, 6,0 equiv.) y se deja calentar la mezcla de reacción a 25°C durante 30 minutos. Se añade agua (30 ml) y el producto se extrae con éter (3 x 40 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan (MgSO₄) y luego se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 17 a 50% éter en hexanos) suministra el aldehído 41 como un aceite incoloro (943 mg, 98%). R_f = 0,74 (gel de sílice, 40% éter en hexanos); [α]_D²² -10,8 (c 0,1, CHCl₃); IR (película fina) ν_{\max} 2928, 2855, 1728, 1690, 1471, 1448, 1260, 1252, 1085, 987, 836, 774, 706 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 9,74 (dd, J = 2,4, 1,5 Hz, 1H, CHO), 7,44-7,42 (m, 5H, Ph), 7,29-7,20 (m, 10 H, Ph), 6,19 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,49 (dd, J = 7,0, 6,8 Hz, 1H, C=CHCH₂), 4,44 (dd, J = 6,3, 5,0 Hz, 1H, CHOSi), 4,18 (dd, J = 6,9, 6,4 Hz, 1H, CHOSi), 3,70 (dd, J = 7,2, 1,8 Hz, 1H, CHOSi), 3,45 (d, J = 11,4 Hz, 1H, CH₂OTr), 3,42 (d, J = 11,4 Hz, 1H, CH₂OTr), 3,05 (qd, J = 7,0, 7,0 Hz, 1H, CH₃CH(C=O)), 2,49 (ddd, J = 17,0, 4,5, 1,4 Hz, CH₂CHO), 2,38 (ddd, J = 17,0, 5,4, 2,8 Hz, 1H, CH₂CHO), 2,27 (ddd, J = 14,0, 7,1, 7,1 Hz, 1H, C=CHCH₂CHOSi), 2,23 (ddd, J = 14,5, 6,5, 6,5 Hz, 1H, C=CHCH₂CHOSi), 1,98 (m, 2H, CH₂C(CH₂OTr)=CH), 1,79 (s, 3H, CH=C(CH₃)), 1,27 (m, 4H), 1,19 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,12 (m, 1H), 1,00 (d, J = 6,8 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,98 (s, 3H, C(CH₃)₂), 0,87 (s, 27 H, Si(CH₃)₃), 0,80 (d, J = 6,7 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,07 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,04 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,03 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,03 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,02 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,00 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB), calcd. para C₆₀H₉₅IO₆Si₃ (M + Cs⁺), 1255.4536 encontrado 1255.4561.

30 *Ácido carboxílico 42 como se ilustra en el esquema 8.* A una solución del aldehído 41 (943 mg, 0,839 mmol, 1,0 equiv.) en t-BuOH (38,5 ml) y agua (8,4 ml) se añade 2-metil-2-butenol (31,5 ml, 2 M en THF, 63,0 mmol, 75 equiv.) y NaH₂PO₄ (250 mg, 2,08 mmol, 2,5 equiv.) seguido pro NaClO₂ 8380 mg, 4,20 mmol, 5,0 equiv.) y la mezcla resultante se agita a 25°C durante 40 minutos. Se separan entonces los volátiles bajo presión reducida y el residuo se reparte entre EtOAc (40 ml) y salmuera (40 ml) y se separan las capas. La fase acuosa se extrae entonces con EtOAc (3 x 40 ml) y los extractos orgánicos combinados se secan (MgSO₄) y luego se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 60% éter en hexanos) suministra el ácido carboxílico 42 como un aceite (956 mg, 100%). R_f = 0,47 (gel de sílice, 40% éter en hexanos); [α]_D²² -19,6 (c 0,2, CHCl₃); IR (película fina) ν_{\max} 3389, 2930, 2856, 1711, 1469, 1254, 1085, 988, 835, 775, 705 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7,44-7,43 (m, 5H, Ph), 7,29-7,20 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,49 (dd, J = 7,3, 7,1Hz, 1H, C=CHCH₂), 4,34 (dd, J = 6,4, 3,3 Hz, 1H, CHOSi), 4,18 (dd, J = 6,2, 6,2 Hz, 1H, CHOSi), 3,72 (dd, J = 7,2, 1,7 Hz, 1H, CHOSi), 3,45 (d, J = 11,4 Hz, 1H, CH₂OTr), 3,41 (d, J = 11,4 Hz, 1H, CH₂OTr), 3,07 (qd, J = 7,0, 7,0 Hz, 1H, CH₃CH(C=O)), 2,46 (dd, J = 16,3, 3,1 Hz, 1H, CH₂CO₂H), 2,32-2,18 (m, 3H, CH₂CO₂H y C=CHCH₂CHOSi), 1,97 (m, 2H, CH₂C(CH₂OTr)=CH), 1,80 (s, 3H, CH=C(CH₃)), 1,31-1,19 (m, 5H), 1,19 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,02 (d, J = 6,9 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,99 (s, 3H, C(CH₃)₂), 0,87 (s, 27 H, Si(CH₃)₃), 0,80 (d, J = 6,8 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,07, (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,04 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,04 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,03 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,02 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,00 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB), calcd. para C₆₀H₉₅IO₇Si₃ (M + Cs⁺), 1271.4485 encontrado 1271.4550.

50 *Hidroxiácido 43 como se ilustra en el esquema 8.* Una solución del ácido carboxílico 42 (956 mg, 0,839 mmol, 1,0 equiv.) en THF (17 ml) a 0°C se trata con TBAF (5,0 ml, 1,0 M en THF, 5,0 mmol, 6,0 equiv.) y la mezcla se deja calentar a 25°C durante 19 horas. La reacción se enfría entonces por adición de NH₄Cl acuoso saturado (40 ml) y el producto se extrae con EtOAc (3 x 40 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan (MgSO₄) y se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 5% MeOH en CH₂Cl₂) suministra el hidroxiácido 43 como un aceite amarillo (817 mg, 95%). R_f = 0,27 (gel de sílice, 5% MeOH en CH₂Cl₂); [α]_D²² -11,4 (c 0,2, CHCl₃); IR (película fina) ν_{\max} 3364, 3057, 2938, 2856, 1712, 1694, 1469, 1254, 1086, 1053, 988, 836, 776, 734, 705 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7,43-7,42 (m, 5H, Ph), 7,30-7,21 (m, 10H, Ph), 6,32 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,46 (dd, J = 7,2, 7,2 Hz, 1H, C=CHCH₂), 4,35 (dd, J = 6,3, 3,2 Hz, 1H, CHOH), 4,21 (dd, J = 6,4, 6,3 Hz, 1H, CHOSi), 3,73 (dd, J = 7,3, 1,2 Hz, 1H, CHOSi), 3,52 (d, J = 12,1Hz, 1H, CH₂OTr), 3,48 (d, J = 12,1Hz, 1H, CH₂OTr), 3,06 (m, 2H, CH₃CH(C=O) y OH), 2,45 (dd, J = 16,4, 3,0 Hz, 1H, CH₂CO₂H), 2,35 (m, 2H, C=CHCH₂CHOH), 2,29 (dd, J = 16,4, 6,5 Hz, 1H, CH₂CO₂H), 2,07-1,94 (m, 2H, CH₂C(CH₂OTr)=CH), 1,85 (s, 3H, CH=C(CH₃)), 1,71 (m, 1H), 1,39 (m, 1H, CH(CH₃)), 1,27 (m, 3H), 1,18 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,02 (oscuro d, 3H, CH(CH₃)), 1,02 (s, 3H, C(CH₃)₂), 0,87 (s, 18 H, Si(CH₃)₃), 0,81 (d, J = 6,8 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,09 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,07 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,04 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,02 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB), calcd. para C₅₄H₈₁IO₇Si₂ (M + Cs⁺), 1157.3620 encontrado 1157.3669.

65 *Macrolactona 44 como se ilustra en el esquema 8.* A una solución del hidroxiácido 43 (1,06 g, 1,04 mmol, 1,0 equiv.) en THF (15 ml, 0,07 M) se añade Et₃N (870 μ l, 0,24 mmol, 6,0 equiv.) y cloruro de 2,4,6-triclorobenzoilo (390 μ l, 2,50 mmol, 2,4 equiv.). La mezcla de reacción se agita a 0°C durante 1,5 horas y luego se añade lentamente

durante un periodo de 12 horas por medio de una bomba de jeringa a una solución de 4-DMAP (280 mg, 2,29 mmol, 2,2 equiv.) en tolueno (208 ml, 0,005 M basado en 43) a 75°C. La mezcla se agita a esa temperatura durante 0,5 horas más y luego se concentra bajo presión reducida. El residuo resultante se filtra a través de un tapón de gel de sílice eluyendo con 50% de éter en hexanos. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 17% éter en hexanos) suministra la macrolactona 44 como una espuma incolora (877 mg, 84%). $R_f = 0,19$ (10% éter en hexanos); $[\alpha]^{22}_D -7,4$ (c 0,2, CHCl_3); IR (película fina) ν_{\max} 2929, 2855, 1742, 1695, 1468, 1381, 1253, 1156, 1065, 985, 834, 774, 733, 706 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7,44-7,42 (m, 5H, Ph), 7,29-7,20 (m, 10 H, Ph), 6,39 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,51 (dd, $J = 9,5$, 6,8 Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 5,07 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H, CHOCO), 4,02 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H, CHOSi), 3,82 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, CHOSi), 3,46 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,42 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H, CH_2OTr), 2,95 (dq, $J = 8,7$, 7,0 Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,72 (m, 2H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHO}$ y CH_2COO), 2,54 (dd, $J = 16,2$, 9,7 Hz, 1H, CH_2COO), 2,29 (m, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHO}$), 2,12 (dd, $J = 14,3$, 5,1 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,98 (m, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,88 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,44-1,23 (m, 5H), 1,18 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,10 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,07 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,92 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,82 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,72 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,08 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,05 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,05 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,32 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{54}\text{H}_{79}\text{IO}_6\text{Si}_2$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$), 1139.3514 encontrado 1139.3459.

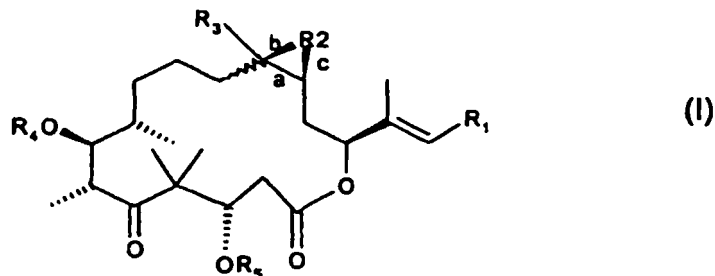
Triol 24 como se ilustra en el esquema 8. A una solución de la macrolactona 44 (608 mg, 0,604 mmol, 1,0 equiv.) en THF (45 ml) a 0°C se añade HF·pir. (15 ml). La mezcla resultante se deja calentar a 25°C durante 15 horas y se enfría luego a 0°C y la reacción se enfría por adición cuidadosa de NaHCO_3 acuoso saturado (50 ml). El producto se extrae luego con EtOAc (3 x 50 ml) y los extractos orgánicos combinados se secan (MgSO_4) y luego se concentra bajo presión reducida. La cromatografía en columna instantánea (gel de sílice, 60% EtOAc en hexanos) proporciona el triol 24 como una espuma incolora (280 mg, 86%). $R_f = 0,32$ (gel de sílice, 60% EtOAc en hexanos); $[\alpha]^{22}_D -32,1$ (c 0,2, CHCl_3); IR (película fina) ν_{\max} 3413, 2923, 2857, 1731, 1686, 1461, 1379, 1259, 1148, 1046, 737 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6,43 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,38 (dd, $J = 9,7$, 5,4 Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 5,29 (dd, $J = 8,8$, 1,9 Hz, 1H, CHOCO), 4,08 (m, 1H, CHOH), 4,06 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H, CH_2OH), 4,00 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H, CH_2OH), 3,69 (dd, $J = 3,5$, 3,4 Hz, 1H, CHOH), 3,12 (qd, $J = 6,9$, 3,1 Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,76 (bs, 1H, OH), 2,67 (ddd, $J = 15,0$, 9,7, 9,7 Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHO}$), 2,45 (dd, $J = 15,4$, 10,6 Hz, 1H, CH_2COO), 2,38 (bs, 1H, OH), 2,33 (dd, $J = 15,4$, 3,0 Hz, 1H, CH_2COO), 2,21 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})=\text{CH}$), 2,06 (m, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHO}$), 1,87 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,71 (m, 1H), 1,66 (m, 1H), 1,32 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,29-1,24 (m, 3H), 1,17 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 1,08 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,99 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$); HRMS (FAB), calcd. para $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{IO}_6$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$), 669.0689 encontrado 669.0711.

Ensayos de polimerización de tubulina y citotoxicidad

La polimerización de tubulina se determina por el método colorimétrico por filtración desarrollado por Bollag et Cancer Res. 1995, 55, 2325-2333. Se incubaba tubulina purificada (1 mg/ml) a 37°C durante 30 minutos en presencia de cada compuesto (20 mM) en tampón MEM [(100 mM ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico, pH 6,75, 1 mM bis(β -aminoetiléter de etilenglicol), ácido N,N,N',N'-tetraacético y 1 mM MgCl_2]; la mezcla se filtra entonces para separar tubulina sin polimerizar mediante el uso de una placa de filtración hidrófila de 96 pocillos Millipore Multiscreen Durapore con un tamaño de poro de 0,22 μm ; la tubulina polimerizada recogida se tiñe con solución negra amido y se cuantifica midiendo la absorbancia de la solución teñida en un Molecular Devices Microplate Reader (Lector de Microplacas). El crecimiento de todas las líneas celulares se evalúa por cuantificación de la proteína en placas de 96 pocillos como se ha descrito anteriormente. De forma resumida, se siembran 500 células en cada pocillo de las placas y se incuban con las diversas concentraciones de las epotilonas a 37°C en una atmósfera humidificada de 5% de CO_2 durante 4 días. Después de fijar las células con ácido tricloroacético al 50%, se mide la densidad óptica correspondiente a la cantidad de proteínas en solución de NaOH 25 mM (50% metanol: 50% agua) a una longitud de onda de 564 nm. La IC50 se define como la dosis de fármaco requerida para inhibir el crecimiento celular en un 50%.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula I

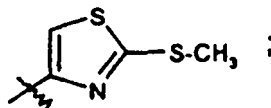


en donde el enlace ondulado indica que el enlace “a” está presente bien en la forma cis o bien en la forma trans; (i) R_2 está ausente o es oxígeno; “a” puede ser un enlace sencillo o doble; “b” puede estar ausente o es un enlace sencillo; y “c” puede estar ausente o es un enlace sencillo, con la condición de que si R_2 es oxígeno, entonces “b” y “c” son ambos un enlace sencillo y “a” es un enlace sencillo; si R_2 está ausente, entonces “b” y “c” están ausentes y “a” es un enlace doble; y si “a” es un enlace doble, entonces R_2 , “b” y “c” están ausentes;

R_3 es un radical seleccionado del grupo consistente en alquilo C_1 - C_7 , especialmente metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-pentilo, n-hexilo; $-CH=CH_2$; $-C\equiv CH$; $-CH_2F$; $-CH_2Cl$; $-CH_2-OH$; $-CH_2-O$ -(alquilo C_1 - C_6), especialmente $-CH_2-O-CH_3$; y $-CH_2-S$ -(alquilo C_1 - C_6), especialmente $-CH_2-S-CH_3$;

R_4 y R_5 se eligen independientemente entre hidrógeno, metilo o un grupo protector, preferentemente hidrógeno; y

R_1 es un radical seleccionado entre las siguientes estructuras:



o una sal de un compuesto de fórmula I cuando está presente un grupo formador de sales.

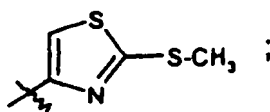
2. Un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, en donde

R_2 está ausente o es oxígeno; “a” puede ser un enlace sencillo o doble; “b” puede estar ausente o es un enlace sencillo; y “c” puede estar ausente o es un enlace sencillo, con la condición de que si R_2 es oxígeno, entonces “b” y “c” son ambos un enlace sencillo y “a” es un enlace sencillo; si R_2 está ausente, entonces “b” y “c” están ausentes y “a” es un enlace doble; y si “a” es un enlace doble, entonces R_2 , “b” y “c” están ausentes;

R_3 es un radical seleccionado del grupo consistente en alquilo C_1 - C_7 , especialmente metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-pentilo, n-hexilo; $-CH=CH_2$; $-C\equiv CH$; $-CH_2F$; $-CH_2Cl$; $-CH_2-OH$; $-CH_2-O$ -(alquilo C_1 - C_6), especialmente $-CH_2-O-CH_3$; y $-CH_2-S$ -(alquilo C_1 - C_6), especialmente $-CH_2-S-CH_3$;

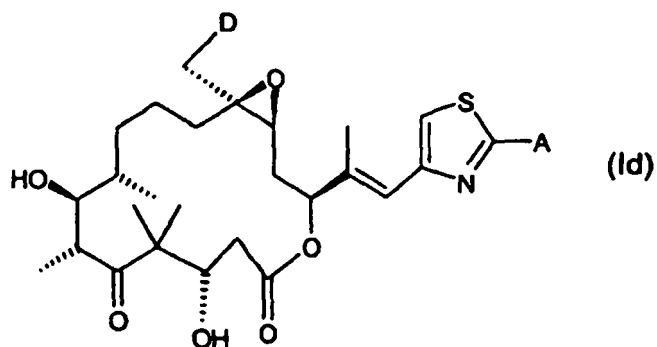
R_4 y R_5 se eligen independientemente entre hidrógeno, metilo o un grupo protector, preferentemente hidrógeno; y

R_1 es un radical seleccionado entre las siguientes estructuras:



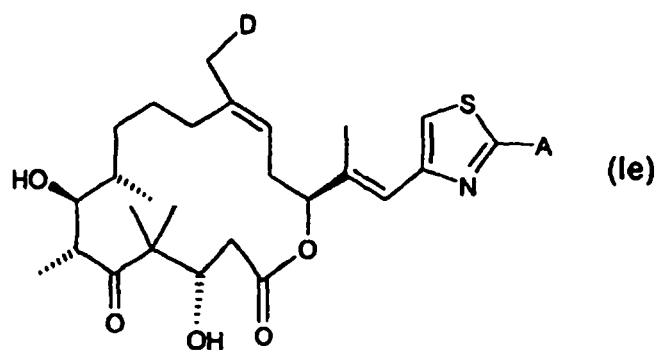
o una sal del mismo cuando están presentes uno o más grupos formadores de sales.

3. Un compuesto según la reivindicación I de fórmula Id



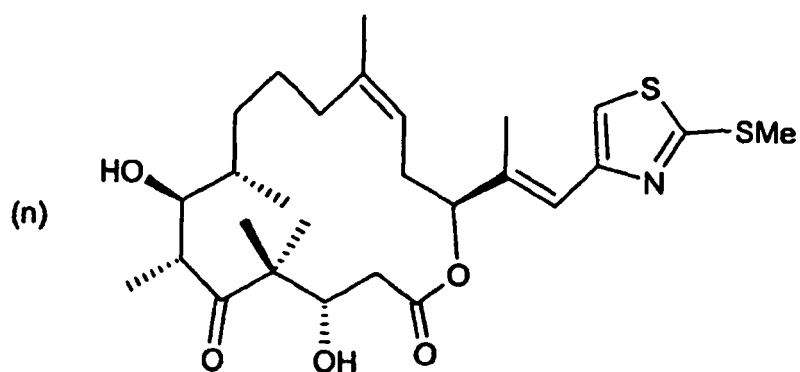
en donde A es metiltilio y D es hidrógeno, fluor, hidroxi o metilo.

4. Un compuesto según la reivindicación I de fórmula Ie

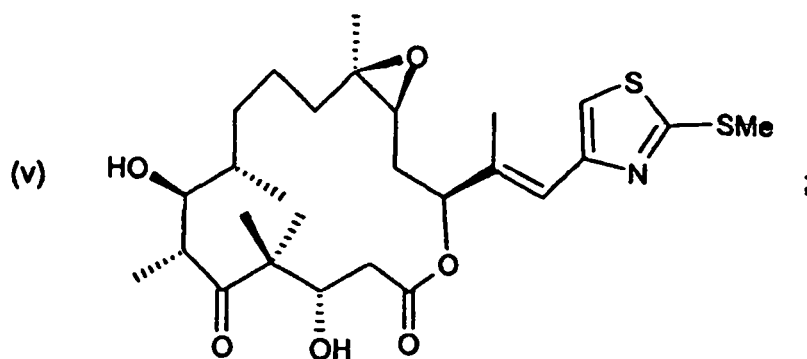
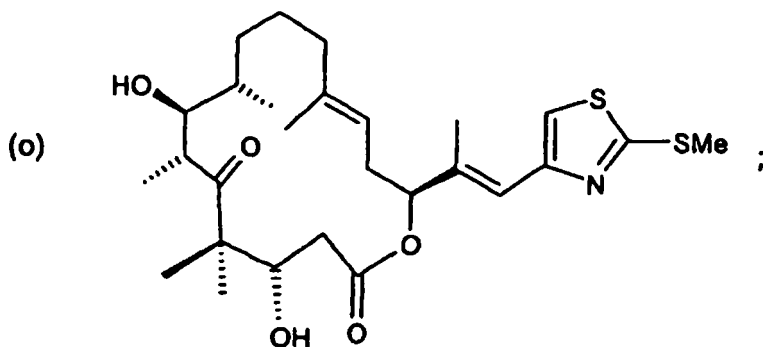


en donde A es metiltilio y D es hidrógeno, fluor, hidroxi o metilo.

5. Un compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo consistente en los compuestos de las siguientes fórmulas:



;



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos cuando esté presente un grupo formador de sales.

6. Una formulación farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

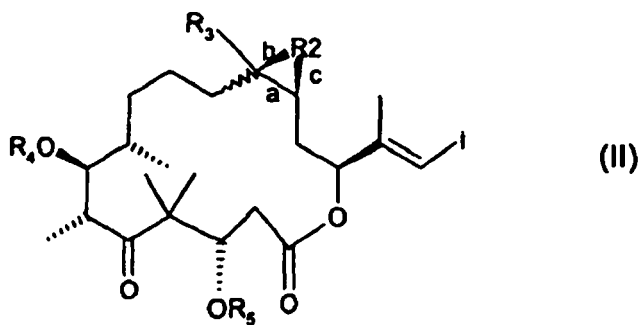
7. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el tratamiento de una enfermedad proliferativa.

8. Uso de un compuesto de fórmula I según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad proliferativa.

9. Una composición farmacéutica que es adecuada para administrarse a un animal de sangre caliente para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, que comprende una cantidad de un ingrediente activo de fórmula I según la reivindicación 1, que es eficaz para el tratamiento de dicha enfermedad proliferativa, junto con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10. Método para la síntesis de un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, que comprende

a) acoplar un yoduro de fórmula II

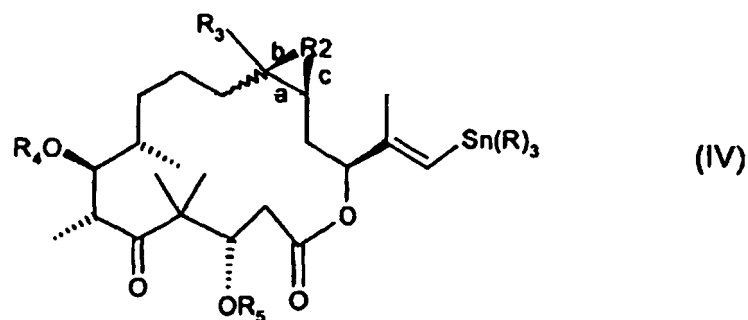


en donde R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , a, b y c y el enlace ondulado tienen los significados indicados para la fórmula I en la reivindicación 1, con un compuesto de fórmula III,



en donde R_1 tiene los significados indicados para la fórmula I y R es alquilo C_1 - C_7 , especialmente metilo o etilo, o

b) acoplar un compuesto de estaño de fórmula IV



en donde R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , a, b y c y el enlace ondulado tienen los significados indicados para la fórmula I, con un yoduro de fórmula V



en donde R_1 tiene los significados indicados para la fórmula I en la reivindicación 1;

y, si se desea, un compuesto resultante de fórmula I se convierte a un compuesto diferente de fórmula I, un compuesto libre resultante de fórmula I se convierte a una sal de un compuesto de fórmula I y/o una sal resultante de un compuesto de fórmula I se convierte a un compuesto libre de fórmula I o a una sal diferente de un compuesto de fórmula I, y/o una mezcla estereoisómera de compuestos de fórmula I se separa en los correspondientes isómeros.