



INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

(11) Número de Publicação: **PT 1089998 E**

(51) Classificação Internacional:
C07D 417/06 (2006.01) **C07D 493/04** (2006.01)
A61K 31/425 (2006.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **1999.06.21**

(30) Prioridade(s): **1998.06.22 US 0102602**

(43) Data de publicação do pedido: **2001.04.11**

(45) Data e BPI da concessão: **2006.10.25**
001/2007

(73) Titular(es):

THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE
10550 NORTH TORREY PINES ROAD LA JOLLA,
CA 92037 **US**

NOVARTIS AG **CH**

(72) Inventor(es):

KYRIACOS COSTA NICOLAOU **US**

NIGEL PAUL KING **GB**

MAURICE RAYMOND VERSCHOYLE FINLAY **GB**

YUN HE **US**

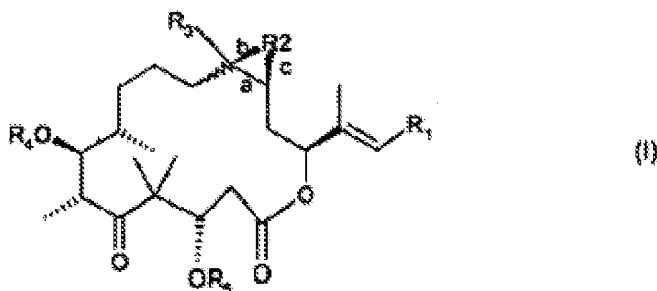
FRANK ROSCHANGAR **US**

(74) Mandatário:

ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS
RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE EPOTILONA E SUA SÍNTESE E UTILIZAÇÃO**

(57) Resumo:

RESUMO"DERIVADOS DE EPOTILONA E SUA SÍNTESE E UTILIZAÇÃO"

A invenção relaciona-se com análogos de epotilona representado pela fórmula (I) onde (i) R_2 está ausente ou oxigénio; "a" pode ser ou uma ligação simples ou uma ligação dupla, "b" pode ou estar ausente ou ser uma ligação simples; e "c" pode estar ausente ou ser uma ligação simples, com a condição de que se R_2 é oxigénio então "b" e "c" são ambas uma ligação simples e "a" é uma ligação simples; se R_2 está ausente então "b" e "c" estão ausentes e "a" é uma ligação dupla; e se "a" é uma ligação dupla, então R_2 , "b" e "c" estão ausentes; R_3 é um radical seleccionado de um grupo consistindo de hidrogénio; alquilo inferior- $\text{CH}=\text{CH}_2$; $-\text{C}=\text{CH}$; CH_2F ; $-\text{CH}_2\text{Cl}$; $\text{CH}_2\text{-OH}$; $\text{CH}_2\text{-O}-(\text{C}_1\text{-C}_6\text{alquilo})$; e $-\text{CH}_2\text{S}-(\text{C}_1\text{-C}_6\text{alquilo})$; R_4 e R_5 são independentemente seleccionados de hidrogénio; metilo ou um grupo protector; e R_1 é como definido na especificação, ou um sal de um composto de fórmula (I) onde o grupo que forma o sal está presente. Um aspecto adicional da invenção está relacionado com a síntese de epotilona E. Estes compostos tem actividade de inibição de despolimerização de microtubo *inter ali* e são e.g. úteis contra doenças proliferativas.

DESCRIÇÃO

"DERIVADOS DE EPOTILONA E SUA SÍNTESE E UTILIZAÇÃO"

Sumário da invenção

A presente invenção relaciona-se com análogos da epotilona com modificações na cadeia lateral e com métodos para produção desses compostos, sua utilização na terapia de doenças ou para a manufactura de preparações farmacêuticas para o tratamento de doenças, assim como com novos intermediários utilizados na síntese de tais análogos e novos métodos de síntese.

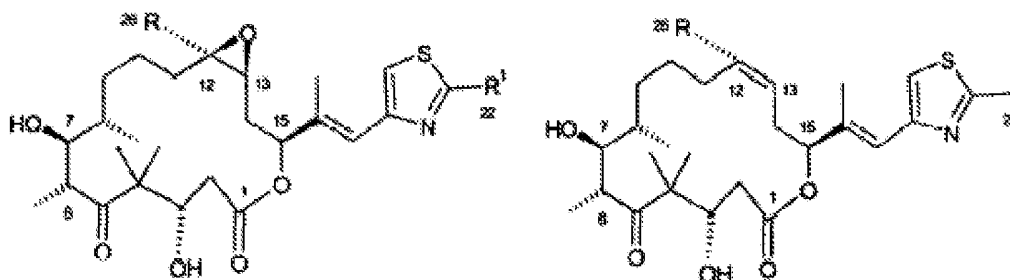
Direitos do Governo

Esta invenção foi efectuada com o suporte do governo com uma Bolsa CA 46446 ganha pelo Instituto Nacional de Saúde. O governo dos U.S. tem certos direitos nesta invenção.

Antecedentes da invenção

As epotilonas (1-5) são substâncias naturais que exibem citotoxicidade mesmo contra células de tumores resistentes a paclitaxel através da promoção da polimerização de sub-unidades α - e β -tubulina e estabilizando as

ligações de microtubos resultantes. As epotilonas deslocam o paclitaxel (o princípio activo do TAXOL™) dos seus sítios de ligação ao microtubo e são referidos como sendo mais potentes do que o paclitaxel no que respeita á estabilização dos microtubos.



1: R=H, R¹=Me: epotilona A

2: R=Me, R¹=Me: epotilona B

3: R=H, R¹=CH₂OH: epotilona E

4: R=H: epotilona C

5: R=Me: epotilona D

O que é necessário são análogos da epotilona A e B que exhibe propriedades farmacológicas superiores, especialmente uma ou mais das seguintes propriedades: um aumento do índice terapêutico (e.g. um maior intervalo de doses citotóxicas contra e.g. doenças proliferativas sem toxicidade para as células normais), melhores propriedades fármaco-cinéticas, melhores propriedades farmacodinâmicas, melhor solubilidade em água, melhor eficiência contra tipo de tumores que são ou se tornam resistentes a elementos de formulações e.g. melhor solubilidade em solventes polares, especialmente aqueles compreendendo água, aumento de estabilidade, manufactura conveniente desses compostos, inibição melhorada da proliferação ao nível celular,

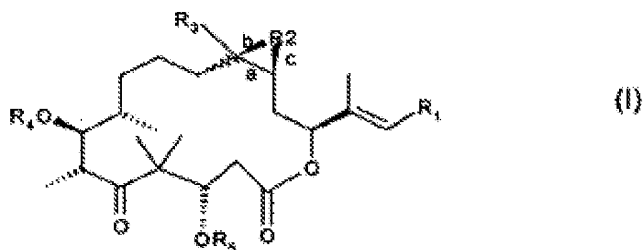
elevados níveis de efeitos de estabilização de microtubos, e/ou perfil farmacológico específico.

WO98/25929A descreve análogos de epotilona e biblioteca de análogos de epotilona e suas sínteses. Demonstrou-se que vários dos análogos têm uma actividade citotóxica superior para induzir a polimerização e estabilização de microtubos.

Descrição detalhada da invenção:

A presente invenção relaciona-se com novos compostos que surpreendentemente tem uma ou mais das vantagens acima mencionadas.

Um aspecto maior da invenção relaciona-se com um composto análogo de epotilona representada pela fórmula I



onde

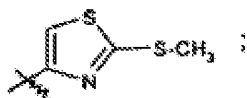
a ligação ondulada indica que a ligação "a" está representada pela forma cis ou trans; (i) R_2 está ausente ou é oxigénio; "a" pode ser ou uma ligação simples ou dupla; "b" pode estar ausente ou é uma ligação simples; e "c" pode estar ausente ou ser uma ligação simples, com a condição de

que quando R_2 é oxigénio então "b" e "c" são ambos uma ligação simples e "a" é uma ligação simples; se R_2 está ausente então "b" e "c" estão ausentes e "a" é uma ligação dupla; e se "a" é uma ligação dupla, então R_2 , "b" e "c" estão ausentes;

R_3 é um radical seleccionado de um grupo consistindo de hidrogénio; alquilo inferior, especialmente metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, *terc*-butilo, n-pentilo, n-hexilo; $-CH=CH_2$; $-C\equiv CH$; $-CH_2F$; $-CH_2Cl$; $-CH_2-OH$; $-CH_2-O-(C_1-C_6\text{-alquilo})$, especialmente $-CH_2-O-CH_3$; e $-CH_2-S(C_1-C_6\text{alquilo})$, especialmente $-CH_2-S-CH_3$;

R_4 e R_5 são independentemente seleccionados de hidrogénio, metilo ou um grupo protector, preferencialmente hidrogénio, e

R_1 é um radical seleccionado das seguintes estruturas:



ou um sal de um composto de formula I onde um grupo que forma sal está presente.

Os termos gerais utilizados anteriormente preferencialmente tem dentro do contexto desta descrição os seguintes significados, salvo indicação em contrário:

O termo "inferior" significa que o radical respectivo preferencialmente tem até e incluindo 7, mais preferencialmente até e incluindo 4 átomos de carbono.

O alquilo inferior pode ser linear ou ramificado uma ou mais vezes e tem preferencialmente até e incluindo 7 átomos de carbono, mais preferencialmente até e incluindo 4 átomos de carbono. Preferencialmente, o alquilo inferior é metilo, etilo, n-propilo, isso-propilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo ou ainda n-pentilo ou n-hexilo.

Um grupo protector é preferencialmente um grupo protector padrão. Se existir um ou mais grupos funcionais, por exemplo carboxilo, hidroxilo, amino, ou mercapto ou necessitar de ser protegido num composto de formula I, porque estes não devem tomar parte da reacção, estes são grupos que são normalmente utilizados na síntese de compostos de péptidos, e também de cefalosporinas e penicilinas, assim como derivados de ácidos nucleicos e açúcares.

Os grupos protectores podem estar já presentes nos precursores e devem proteger os grupos funcionais no que respeita a reacções secundárias indesejadas, tais como acilação, eterificação, esterificação, oxidações, solvólise, e reacções similares. Uma característica dos grupos protectores é a destes se adaptarem prontamente, i.e. sem reacções secundárias indesejadas, para remover, tipicamente por solvólise, redução, fotólise ou também por actividade

enzimática, por exemplo sob condições análogas às condições fisiológicas, e que estes não estão presentes nos produtos finais. Os especialistas sabem, ou podem estabelecer facilmente, qual os grupos protectores que são adequados com as reacções mencionadas aqui anteriormente e daqui em diante.

A protecção de tais grupos funcionais por grupos protectores, os grupos protectores eles mesmos, e as reacções de remoção destes estão descritas por exemplo em trabalhos de referência, tais como J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London e New York 1973, em T.W. Greene "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, New York 1981, em "The peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross e J. Meienhofer);, Academic press, London e New York 1981, em "Methoden der Organischen Chemie" (Methods of organic chemistry), Houben Weyl, 4ª edição, Volume 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, em H. D. Jakubke e H. Jescheit, "Aminosäuren, peptide, Protein" (Amino acids, peptides, proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, e Basel 1982, e em Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate; Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of carbohydrates: monosaccharides and derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Os grupos protectores especialmente preferidos são grupos protectores de hidroxilo, tais como *tert*-butildimetilsililo ou tritilo.

R₄ e **R₅** são preferencialmente hidrogénio.

A ligação ondulada que começa no carbono que suporta R_3 significa que uma ligação "a" está presente na forma *trans* ou preferencialmente na forma *cis*.

Os sais são especialmente os sais farmacêuticamente aceitáveis de compostos de fórmula I.

Tais sais são formados, por exemplo, como sais de adição de ácidos, preferencialmente com ácidos orgânicos ou inorgânicos, de compostos de fórmula I com um átomo de azoto básico, especialmente os sais farmacêuticamente aceitáveis. Os ácidos inorgânicos adequados são, por exemplo, ácidos de halogéneos, tais como ácido clorídrico, ácido sulfúrico, ou ácido fosfórico. Os ácidos orgânicos adequados são por exemplo, ácidos carboxílicos, fosfônicos, sulfônicos ou ácidos sulfâmicos, por exemplo ácido acético, ácido propiónico, ácido octanóico, ácido decanóico, ácido dodecanoico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, aminoácidos, tais como ácido glutâmico ou ácido aspártico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido ciclo-hexanocarboxílico, ácido adamantanocarboxílico, ácido benzóico, ácido salicílico, 4-amino-salicílico, ácido ftálico, ácido fenilacético, ácido mandélico, ácido cinâmico, ácido metano- ou etanossulfônico, ácido etano-1,2-dissulfônico, 2-, 3- ou 4-metilbenzenosulfônico, ácido metil-sulfúrico, ácido etil-sulfúrico,

ácido dodecilsulfúrico, *N*-ciclo-hexilsulfâmico, ácido *N*-metil-, *N*-etil- ou *N*-propil-sulfâmico, ou outros ácidos orgânicos protônicos tais como ácido ascórbico.

Com o objectivo de isolamento ou purificação é também possível utilizar sais farmacologicamente não aceitáveis, por exemplo picratos ou percloratos. Para utilização terapêutica, apenas são empregues sais farmacologicamente aceitáveis ou compostos livres (quando aplicáveis na forma de preparações farmacêuticas), e estes são por isso preferidos.

No que respeita à próxima relação entre os novos compostos na forma livre e aqueles na forma de seus sais, incluindo aqueles sais que podem ser utilizados como intermediários, por exemplo na purificação ou identificação de novos compostos, qualquer referência aos compostos livres anteriormente referidos e daqui em diante, deve ser entendido como referindo-se também aos sais correspondentes, como apropriado e conveniente.

O termo "cerca" em ligação com valores numéricos, e.g. "cerca de 2 vezes de excesso molar" ou semelhante, é preferencialmente entendido como significando que o valor numérico dado pode desviar do número dado por até 10%, mais preferencialmente por até \pm 3%; mais preferencialmente, o valor numérico é exactamente o valor dado.

Especialmente preferido é ou um composto de fórmula na forma livre I, ou um seu sal.

Bioactividade: Os composto(s) da invenção podem ser utilizados para o tratamento de uma doença proliferativa, especialmente cancro, como cancro dos pulmões, especialmente carcinoma de pulmão de células de pulmão que não são pequenas, ou da próstata, dos intestinos, e.g. cancros colorectais, tumores epidermóides, tais como tumores na cabeça e/ou pescoço, ou cancro da mama, ou outros cancros como cancros da bexiga, pâncreas ou cérebro ou melanoma, incluindo especialmente o tratamento de cancros que são multiresistentes a drogas (e.g. devido à expressão de p-glicoproteína =P-gp) e/ou reprimidas no tratamento com paclitaxel (e.g. na forma de TAXOL).

Avaliação Biológica:

A capacidade dos compostos da presente invenção para bloquear a despolimerização de microtubos pode ser mostrada pelo seguinte ensaio:

Os ensaios de microtubos foram efectuados seguindo os procedimentos da literatura e os compostos sintetizados foram avaliados quanto à sua capacidade de formar microtubos estáveis. Os estudos citotóxicos foram também efectuados.

Os compostos de fórmula I são testados para a sua acção no ensaio de tubulina utilizando tubulina purificada com um ensaio desenvolvido para amplificar as diferenças

entre os compostos mais activos do que o Taxol. Verificou-se que os compostos de fórmula I mostraram um nível elevado de citotoxicidade e actividade de polimerização de tubulina, quando comparados com Epotilonas A e B. (Lin et. al. *Câncer Chemother. Pharmacol.* 38, 136-140 (1996); Rogan et. al. *Science* 244, 994-996 (1984))

Ensaio Colorimétrico de Filtração

A proteína tubulina (0,25 mL de 1 mg/mL) é colocada num tubo de ensaio e adiciona-se 2,5 µL de composto teste. A amostra é misturada e incubada a 37°C durante 30 minutos. A amostra (150 µL) é transferida para uma placa de filtração com tamanho de poro de 0,22 µm hidrofílica Dupore Multiscreen Millipore de 96 poços que foi previamente lavado com 200 µL de tampão MEM sob vácuo. O poço é em seguida lavado com 200 µL de tampão MEM. Para corar a proteína retida na placa, adiciona-se 50 µL de solução negra de amido [0,1% naftol azul escuro (Sigma)/45% metanol/10% ácido acético] ao filtro durante 2 minutos; em seguida é aplicado novamente o vácuo. Adiciona-se por duas vezes 200 µL de solução que descora o negra de amido (90% metanol/2% ácido acético) para remover o corante não ligado. O sinal é quantificado pelo método de Schaffner and Weissmann et. al. *Anal. Biochem.*, 56: 502-514, 1973 como segue: adiciona-se 200 µL de solução eluente (25 mM NaOH-0,05 mM EDTA-50% etanol) ao poço e a solução é misturada com uma pipeta após 5 minutos. Seguindo um período de 10 minutos de incubação à temperatura ambiente, 150 µL da

solução eluente são transferidos para o poço da placa de 96 poços e a absorvância é medida num Dispositivo Molecular de Leitor de Microplaca.

As experiências de citotoxicidade com linhas de células 1A9, 1A9PTX10 (α -tubulina mutante), e 1A9PTX22 (α -tubulina mutante) revelaram actividade citotóxica dos composto de fórmula I. Tal como as epotilonas de origem natural **1** e **2**, os composto de fórmula I mostraram uma actividade significativa contra a alterada α -tubulina-expressa em linhas de células 1A9PTX10 e 1A9PTX22. Para os compostos de fórmula I, aos valores preferidos de CI50 (concentração onde metade das células do tumor sofre inibição de crescimento em comparação com um controlo sem adição de inibidor de fórmula I) podem estar no intervalo de 1 a 1000 nM, preferencialmente desde 1 a 200 nM.

A capacidade dos compostos da presente invenção para inibir o crescimento do tumor pode ser mostrada pelos seguintes ensaios com as seguintes linhas de células:

Ensaio Colorimétrico de Citotoxicidade para filtrar as Drogas Anti-cancerisnas

Ensaio Colorimétrico de Citotoxicidade utilizado é adaptado de Skehan et.al. (Journal of National Cancer Inst 82: 1107-1112, 19901). O procedimento proporciona um método rápido, sensível, e económico para medir o conteúdo de proteína celular de culturas de adesão e suspensão em

placas de microtítulo de 96 poços. O método é adequado para as doenças do Instituto Nacional do Cancro orientado para filtrar a descoberta de drogas anti-cancro.

Em particular, as culturas fixas com ácido tricloroacético são coradas durante 30 minutos com 0,4% (p/v) sulforodamina B (SRB) dissolvida em 1% de ácido acético. O corante não ligado é removido por quatro lavagens com ácido acético a 1%, e o corante ligado à proteína é extraído com base Tris não tamponada 10mM [Tris(hidroximetil)aminometano] para determinação da densidade óptica num computador com interface, leitor de placa de microtítulo de 96 poços. Os resultados do ensaio SRB são não lineares com o número de células e com os valores para as medidas de proteína celular pelos ensaios de Lowry e Bradford com densidades em intervalos desde escasso subconflente até multicamada supraconflente. A razão sinal-ruído a 564 nm é aproximadamente 1,5 com 1,000 células por poço.

O ensaio SRB proporciona um ponto final calorimétrico que é não destrutivo, estável indefinidamente, e visível a olho nu. Este proporciona uma medição sensível da citotoxicidade induzida pela droga. A SRB é fortemente fluorescente com excitação no laser a 488 nm e pode ser medida quantitativamente no nível de célula-única por citometria de fluorescência estática (Skehan et. al. (Journal of National Cancer Inst 82:1107-1112, 1990)).

Alternativamente, a eficiência dos compostos de fórmula I como inibidores de despolimerização de microtubos pode ser demonstrada como se segue:

São preparadas soluções de estoque dos compostos teste e guardadas a -20°C . A proteína-microtubule é obtida a partir do cérebro do porco por dois ciclos de temperatura dependente despolimerização/polimerização, como descrito (ver (Weingarten et. al., Biochemistry 1974; 13: 5539-37). As soluções de trabalho guardadas de proteína microtubule (significa tubulina mais microtubuli-proteínas associadas) são guardadas a -70°C . O grau de polimerização de proteína microtubuli induzida por um composto teste é medida essencialmente como conhecido na literatura (ver Lin et. al.; Câncer Chem. Pharm. 1996; 38: 136-140). Rapidamente, $5\mu\text{L}$ de solução estoque de composto teste são pré-misturados na concentração 20 vezes a concentração final desejada com $45\mu\text{L}$ de água à temperatura ambiente, e a mistura é em seguida colocada em gelo. Uma alíquota de solução de trabalho de proteína microtubuli de cérebro de porco é descongelada rapidamente e em seguida diluída a 2 mg/mL com gelo 2 x tampão MEM (200 mL MES , 2mM EGTA , 2mM MgCl_2 , $\text{pH } 6,7$) (MES = ácido 2-morfolinoetanosulfónico, EGTA = etilenoglicol-bis-2(2-aminoetil)-tetra-acético). A reacção de polimerização é em seguida iniciada pela adição de $50\mu\text{L}$ de cada vez de proteína microtubuli no composto teste, seguido de incubação da amostra num banho de água com temperatura ambiente. Em seguida as misturas reaccionais são colocadas numa micro-centrífuga Eppendorf e incubadas

mais 15 minutos à temperatura ambiente. As amostras são em seguida centrifugadas durante 20 minutos a 14000 rpm à temperatura ambiente para separação da proteína microtubuli polimerizada da não polimerizada. Como medida indirecta para polimerização-tubulina a concentração do sobrenadante (que contém o resto de proteína de microtubo solúvel não polimerizada,) é determinada de acordo com o método Lowry (DC Assay Kit, Bio-Rad Laboratories, hércules, CA), e a densidade óptica (OD) da reacção de cor é determinada a 750 nm num espectrómetro (SpectraMax 340, Molecular Devices, Sunnyvale, CA). As diferenças nos OD entre amostras tratadas com um composto teste e os controlos tratados com veículo são comparados com aqueles dos testes de incubação que contém Epotilona B 25 μ M (controlos positivos). O grau de polimerização que é induzido pelo composto teste é expresso relativamente aos controlos positivos (100%). Por comparação com várias concentrações pode ser determinada a EC50 (concentração para a qual se obtém 50% da polimerização máxima) para os compostos de formula I o EC50 fica preferencialmente no intervalo de 1 até 200, preferencialmente 1 a 50 μ M. A indução da polimerização de tubulina do composto teste de formula I numa concentração 5 μ M como percentagem em comparação com epotilona B 25 μ M fica preferencialmente no intervalo de 50 a 100%, especialmente 80 a 100%.

A eficiência contra células de tumores pode ser também mostrada da seguinte maneira:

As soluções de estoque de compostos teste de fórmula I (10 mM em DMSO) são preparadas e guardadas a -20°C. Células de carcinoma epidermóide humano KB-31 (multiresistente a drogas, expressão excessiva Pgp 170) KB-8511 são do Dr M. Baker, Roswell Park Memorial Institute (Buffalo, NY, USA) (para descrição ver também Akiyama et. al., Somat. Cell. Mol. Genetics 11, 117-126 (1985) e Fojo A. Et. al., Cancer Res. 45, 3002-3007 (1985) - KB-31 e KB-8511 ambos são derivados de linhas de células KB (América Type Culture Collection) e são células de carcinomas epidermóides humanos as células. As células KB-31 podem ser cultivadas em monocamadas utilizando soro de bovino (M. A. Bio-products), L-glutamina (Flow), penicilina (50 unidades/mL) e esteptomicina (50 µg/mL (Flow); estas em seguida crescem com uma taxa duas vezes superior em cerca de 22 horas, e a eficiência relativa do seu plaqueamento fica em cerca de 60%. As células KB-8511 são uma variante derivada de uma linha de células KB-31 que foi obtida por tratamento em ciclos com colchicina, e apresenta uma resistência 40 vezes superior contra a colchicina em comparação com as células KB-31). As células são incubadas a 37°C numa incubadora com 5% de CO₂ v/v e a 80% de humidade atmosférica relativa em meios MEM alfa que contém ribonucleósidos e desoxiribonucleósidos (Gibco BRL), complementado com 10 IU de penicilina, 10 µg/mL streptomicina e 5% de soro fetal de bovino. As células são espalhadas numa quantidade de 1,5 x 10³ células/poço em placas de microtítulo de 96 poços e incubadas de um dia para o outro. Várias diluições dos compostos teste no meio de cultura são adicionadas no dia

1. As placas são em seguida incubadas por um período de mais quatro dias, ao fim dos quais as células são fixadas utilizando glutaraldeído 3,3% lavadas com água e finamente coradas com 0,05 % p/v de azul de metileno. Após mais uma lavagem, o corante é eluído com HCl a 3% e a densidade óptica a 665 nm é medida com um SpectaMax 340 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Os valores de CI50 são determinados por ajuste matemático dos dados às curvas utilizando o programa SoftPro2.0 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) e a fórmula

$$[(\text{OD tratado}) - (\text{OD de partida})] / [(\text{OD controlo}) - (\text{OD partida})] \times 100.$$

A CI50 é definida como a concentração de um composto teste no fim do período de incubação que conduz a 50% do número de células em comparação com controlos sem composto teste (concentração a metade da inibição de crescimento máxima das células). Os compostos de fórmula I apresentam preferencialmente aqui CI50 no intervalo desde $0,1 \times 10^{-9}$ até 500×10^{-9} M, preferencialmente entre 0,1 e 60 nM.

Os testes comparáveis podem também ser efectuados com outras linhas de células tumorais, tais como A459 (plumão; ATCC CCL 185), NClH₄₆₀ (plumão), Colo 205; ATCC N° CCL 222) (HCT-15 (colon; ATCC CCL 225 - ATCC = American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA)), HCT-116 (cólón), Du145 (prostata; ATCC No. HTB 81; ver também Cancer Res. 37, 4049-58 [1978]), PC-3M (derivados insensíveis a

hormona-prostata do Dr. I. J. Fidler (MD Anderson Câncer Center, Houston, TX, USA) e derivados de PC-3 que é uma linha de células disponível a partir de ATCC (ATCC CRL 1435), MCF-7 (mama; ATCC HTB 22) ou MCF-7/ADR (mama, multi-resistente a drogas; para descrição ver Blobe G. C. et. al., J. Biol. Chem. (1983), 658-664; a linha de células é altamente resistente (360- a 3400 vezes) a doxorubicina e alcalóides Vinca comparadas com células MDR-7 "tipo desordenado") para as quais foram obtidos resultados semelhantes como células KB-31 e KB-8511. os compostos de formula I apresentam preferencialmente aqui CI50 num intervalo desde $0,1 \times 10^{-9}$ até 500×10^{-9} M, preferencialmente entre 0,1 e 60 nM.

Com base nestas propriedades, os compostos de formula I (também os seus sais) são apropriados para o tratamento de doenças proliferativas, tais como doenças tumorais, incluindo também metástases quando presentes, por exemplo em tumores sólidos, tais como tumor dos pulmões, cancro da mama, cancro colo-rectal, cancro da prostata, melanoma, tumor cerebral, tumor do pâncreas, tumor da cabeça e pescoço, cancro da bexiga, neuroblastoma, tumor da faringe, ou também de doenças proliferativas de células do sangue, tais como leucemia, ou ainda para o tratamento de outras doenças que respondem ao tratamento com inibidores de despolimerização de microtubos, tais como psoríase. Os compostos de fórmula I, ou seus sais, são também apropriados para cobertura de implantes médicos (úteis na profilaxia de restenosis) (ver WO 99/16416, prioridade 29 Setembro de 1997).

A actividade *in vivo* de um composto da invenção pode ser demonstrada com o seguinte modelo animal:

Ratinhos fêmea ou macho BALB *nu/nu* (atímicos) são mantidos em condições esterilizadas (10 a 20 ratinhos por gaiola Tipo III) com livre acesso a comida e água. O peso do ratinho está entre 20 e 25 g na altura do implante do tumor. Os tumores são estabelecidos por injeção subcutânea de células (mínimo 2×10^6 células em 100 μ L PBS ou meio) num ratinho veículo (4-8 ratinhos por linha de células). Os tumores resultantes são passados em série num mínimo de três implantes consecutivos antes de se iniciar o tratamento. Os fragmentos do tumor (aproximadamente 25 mg) são implantados s.c. no flanco esquerdo dos animais com uma agulha trocarer calibre-13 enquanto o ratinho é exposto a anestesia com Forene (Abbot, Switzerland).

O crescimento do tumor e o peso corporal é monitorizado uma a duas vezes por semana. Todos os tratamentos são administrados intravenosamente (i.v.) e são iniciados quando um volume médio de tumor se aproxima de 100 a 250 mm^3 , dependendo do tipo de tumor. Os volumes do tumor são determinados utilizando a fórmula $(L \times D \times \pi)/6$ (ver Cancer Chemother. Pharmacol. 24: 184-154, [1989]). Os tratamentos com epotilonas de fórmula I variam a dose e a frequência de administração. Os agentes de comparação são administrados de acordo com o regime de tratamento óptimos previamente determinados. Adicionalmente as alterações presentes nos

volumes de tumor no decorrer do tratamento, actividade anti-tumor é expressa como T/C% (aumento do volume médio do tumor doas animais tratados dividido pelo aumento do volume médio de tumor nos animais de controlo multiplicado por 100). A regressão do tumor (%) representa o volume médio mais pequeno do tumor no início do tratamento, de acordo com a fórmula de regressão (%) = $(1 - V_{fim}/V_{inicio}) \times 100$ (V_{fim} = média do volume final de tumor), V_{inicio} = volume médio do tumor no inicio do tratamento.

Com este modelo, o efeito inibitório de um composto da invenção no crescimento e.g. dos tumores derivam da seguinte linha de células que podem ser testadas:

Linha de células HCT-15 de adenocarcinoma coloretal humano (ATCC CCL 225) é da colecção de culturas tipo americana (Rockville, MD, USA), e as células são cultivadas *in vitro* como recomendado pelo fornecedor. HCT-15 é uma linha de células semelhante a epiteliais (Câncer Res. 39: 1020-25 [1979]) que é multi-resistente a drogas devido a expressão excessiva de P-glicoproteína (P-gp, gp170, MDR-1; Anticancer Res. 11: 1309-12 [1991]; J. Biol. Chem. 264: 18031-40 [1989]; Int. J. Câncer 1991; 49: 696-703 [1991]) e mecanismos de resistência dependente de glutathione (Int. J. Cancer 1991; 49: 688-95 [1991]). A linha de células Colo 205 é também uma linha de células de carcinoma do cólon humano (ATCC N° CCL 222; ver também Cancer Res. 38, 1345-55 [1978] que foi isolada do fluido ascítico de um paciente,

apresenta morfologia semelhante a células epiteliais e é geralmente considerada como sendo sensível a drogas. A linha de células humanas de cancro da prostata independente de androgénio é utilizada para estabelecer modelos subcutâneos e ortotópicos em ratinhos. O carcinoma da prostata metastático humano PC-3M é obtido a partir do Dr I. J. Fidler (MD Anderson Câncer Center, Houston, TX, USA) e é cultivado em meio Ham F12K suplementado com 7% v/v FBS. A linha de células PC-3M é o resultado do isolamento de metástases do fígado produzidas num ratinho atímico subsequente a uma injeção intrasplénica de células PC-3 [ATCC CRL 1435; American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA)], e estas podem crescer em meio Eagle MEN suplementado com 10% de soro fetal de bovino, piruvato de sódio, aminoácidos não essenciais, L-glutamina, uma solução dupla de vitamina (Gibco Laboratories, Long Island, N. Y.) e penicilina-estreptomicina (Flow Laboratories, Rockville, Md.). A linha de células PC-3M é insensível a hormonas (isto é, presumivelmente deriva da linha de células PC-3M). A PC-3M é uma linha de células disponível a partir de ATCC (ATCC CRL 1435) e corresponde a um adenocarcinoma prostático de grau IV isolado de um homem de raça caucasiana de 62 anos de idade; as células exibem baixa actividade de ácido fosfatase e testoterona-5- α -redutase. As células são quase triplóides com um número nodal de 62 cromossomas. Não podem ser detectados cromossomas normais Y pela análise de banda-Q. O adenocarcinoma do pulmão A549 (ATCC CCL) 185; isolado como cultura extraída do tecido do carcinoma do pulmão de uma mulher de raça caucasiana de 58 anos); mostra morfologia epitelial e pode

sintetizar lecitina com uma percentagem de ácidos gordos insaturados utilizando o mecanismo de citidina difosfolina; um cromossoma marcador subtelocêntrico envolvendo o cromossoma 6 e o braço longo do cromossoma 1 é encontrado em todas as metafases. O carcinoma humano da mama ZR-75-1 (ATCC CRL 1500; isolado de um efusão ascítica maligna de uma mulher de raça caucasiana de 63 anos de idade com carcinoma de infiltração ductal); é de origem epitelial mamária; as células possuem receptores de estrogênio e outras hormonas esteroides e tem um número de cromossoma hiper-triplóide. Uma linha de células KB-8511 de carcinoma (boca) epidermal humano (uma linha de células de expressão excessiva P-gp derivado de linha de células carcinoma KB-31 (boca) epidermóide I é obtida pelo Dr. R. M. Baker, Roswell Park Memorial Institute (Buffalo, N. Y., USA) (para descrição ver Akiyama et. al.; Somat cell. Mol. Genetics 11, 117-126 (1985) e Fojo A., et. al. Cancer Res. 45, 3002-3007 (1985)) e é cultivada como descrito previamente (Meyer, T., et. al. Int. J. Câncer 43, 851-856 (1989)). As células KB-8511, como KB-30, são derivadas da linha de células KB (ATCC) e são células de carcinoma epidermal humanas; as células KB-31 podem crescer em monocamada utilizando um meio de Dulbecco Eagle modificado (D-MEM) com 10% de soro fetal de bovino (M.A. Bioproducts), L-glutamina (Flow), penicilina (50 unidades/mL) e esteptomicina (50 mg/mL (Flow)); estas podem em seguida crescer com o dobro do tempo de 22h, e a sua eficiência de plaqueamento relativa é de aproximadamente 60%. As células KB-8511 são uma linha de células derivadas da linha de células KB-31 através da utilização de ciclos de tratamento com colchicina; mostra

cerca de 40 vezes de resistência relativamente á resistência contra colchicina quando comparadas com células KB-31; podem crescer nas mesmas condições das KB-31."

Solubilidade: A solubilidade em água é determinada como se segue; por exemplo: os compostos de fórmula I, ou os seus sais, são agitados com água à temperatura ambiente até não se dissolver mais composto (cerca de 1 h). As solubilidades encontradas são preferencialmente entre 0,01 e 1% em peso.

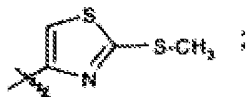
Dentro dos grupos dos compostos preferidos de fórmula I anteriormente mencionados, as definições dos substituintes a partir das definições gerais mencionadas anteriormente podem ser utilizadas razoavelmente, por exemplo, para substituir definições gerais com mais definições específicas ou especialmente com definições caracterizadas como sendo preferidas.

A invenção também se relaciona preferencialmente com um composto de fórmula I onde R_2 está ausente ou é oxigénio; "a" pode ser ou uma ligação simples ou uma ligação dupla; "b" pode ser ou ausente ou ser uma ligação simples; e "c" pode ser ou estar ausente ou ser uma ligação simples, com a condição de se R_2 é oxigénio então "b" e "c" são ambos uma ligação simples e "a" é uma ligação simples; se R_2 está ausente então "b" e "c" estão ausentes e "a" é uma ligação dupla; e se "a" é uma ligação dupla, então R_2 , "b" e "c" estão ausentes,

R₃ é um radical seleccionado de um grupo consistindo de alquilo inferior, especialmente metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, n-hexilo; -CH=CH₂; -C=CH; -CH₂F; -CH₂Cl; CH₂-OH; -CH₂-O-(C₁-C₆-alquilo), especialmente -CH₂-O-CH₃; e -CH₂-S-(C₁-C₆-alquilo); especialmente -CH₂-S-CH₃;

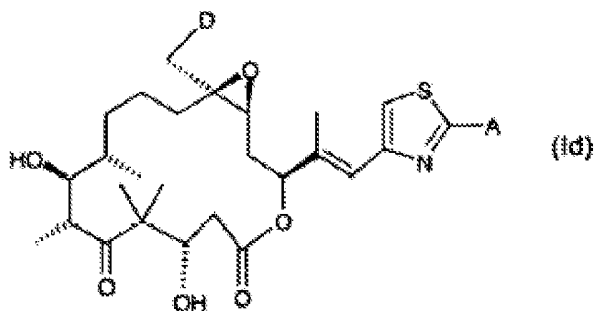
R₄ e **R₅** são independentemente seleccionados de hidrogénio, metilo ou um grupo protector, preferencialmente hidrogénio, e

R₁ é um radical seleccionado das estruturas seguintes



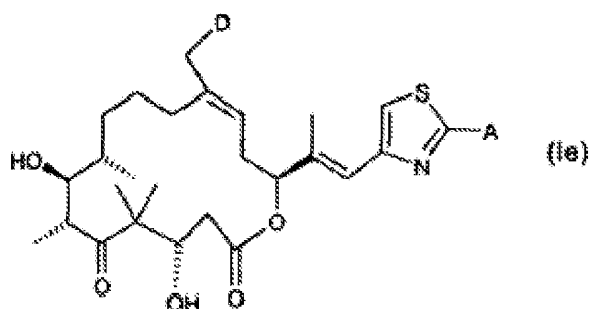
ou um seu sal onde um ou mais grupos que formam sais estão presentes.

A invenção mais especificamente também se relaciona com um composto de fórmula Id



onde A é etilo, fluorometilo, metoxilo, metiltio ou etenilo (-CH=CH₂) e D é hidrogénio, fluoro, hidroxilo ou metilo, especialmente hidrogénio.

A invenção mais especificamente também se relaciona com um composto de fórmula Ie



onde A é etilo, fluorometilo, metoxilo, metiltio ou etenilo (-CH=CH₂) e D é hidrogénio, fluoro, hidroxilo ou metilo.

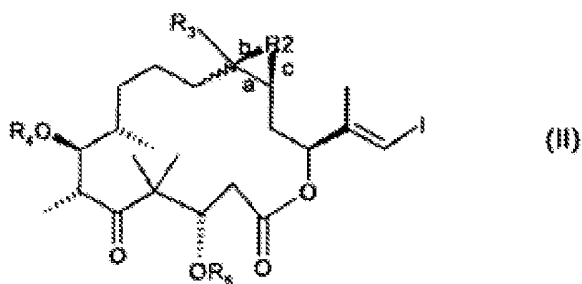
A invenção mais especificamente relaciona-se com os compostos de fórmula I dado nos exemplos, ou seus sais farmacologicamente aceitáveis onde um ou mais grupos que formam sais estão presentes.

Mais preferencialmente, a invenção relaciona-se com um composto seleccionado de um grupo consistindo de composto **18b** (ver Exemplo 2), composto **19b** (ver Exemplo 2), ou um seu sal farmacologicamente aceitável se um ou mais grupos que formam sais estiverem presentes.

Os compostos da invenção podem ser sintetizados

utilizando métodos em analogia com métodos conhecidos na técnica, preferencialmente por um método caracterizado por:

a) reacção de um iodeto de fórmula II,

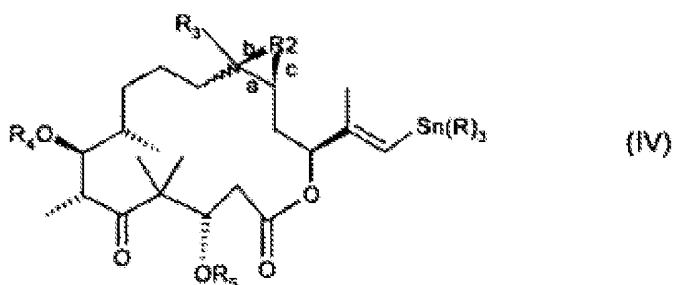


onde R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , a , b e c e a ligação ondulada tem os significados dados para a formula I, com um composto de estanho de fórmula III,



onde R_1 tem o significado dado para a formula I e R é alquilo inferior, especialmente metilo ou n-butilo, ou

b) reacção de um composto de estanho de fórmula IV



onde R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , a , b e c e a ligação ondulada têm os

significados dados para a formula I, com um iodeto de fórmula V



onde R_1 tem o significado dado para a formula I;

e, se desejável, um produto resultante de fórmula I é convertido num composto diferente de fórmula I, um composto livre de fórmula I é convertido num sal do composto de fórmula I, e/ou um sal resultante de um composto de fórmula I é convertido num composto de fórmula I livre ou num sal diferente de um composto de fórmula I, e/ou uma mistura estereoquímica de compostos de fórmula I é separado nos isómeros correspondentes.

Descrição detalhada das condições dos processos preferidos

Em todos os materiais de partida, sempre que requerido, grupos funcionais que não devem participar na reacção estão protegidos por grupos protectores, especialmente grupos protectores padrão. Os grupos protectores, a sua introdução e clivagem são conhecidas na técnica, por exemplo, eles estão descritos em referências padrão acima mencionadas.

Reacção a): A reacção (um acoplamento de Stille (melhorado preferencialmente)) tem preferencialmente lugar em condições padrão; mais preferencialmente, a reacção tem lugar (i) num solvente apropriado, e.g. tolueno, a

temperaturas elevadas, especialmente cerca de 90 até cerca de 100°C, preferencialmente com um excesso de um composto de estanho de fórmula III, preferencialmente em 1,1 até 3-, e.g. 1,5- até 2- vezes de excesso molar; e uma quantidade catalítica, preferencialmente de cerca de 1 até 30%, preferencialmente 5 até 10%, de Pd(PPh₃)₄; ou

ii) num solvente apropriado, e.g. dimetilformamida (DMF), a temperaturas desde 10 até 40°C, especialmente a 25°C, preferencialmente com um excesso de um composto de estanho de fórmula III, preferencialmente num excesso molar de 1,1 até 3-, e.g. o excesso molar de 1,5- até 2,3; na presença de uma quantidade catalítica, preferencialmente de 10 até 50 %, especialmente 20 até 30%, de Pd(MeCN)₂Cl₂. As condições alternativas para este acoplamento também compreende a utilização dos seguintes reagentes e/ou condições:

(iii) 2-tiofenocarboxilato de cobre, *N*-metil-2-pirrolidina.

(iv) PdCl₂(MeCN)₂ (cat.), DMF, 50-150°C (com ou sem adição de uma base terciária).

(v) Pd(PPh₃)₄/CuI (cat), DMF, 50-150°C (com ou sem adição de uma base terciária).

Reacção b): a reacção (um acoplamento de Stille melhorado) preferencialmente tem lugar em condições padrão; mais preferencialmente, a reacção tem lugar num solvente

apropriado, especialmente DMF, a temperaturas desde 50 até 100°C, preferencialmente desde 85 até 85°C, preferencialmente com um excesso de iodeto de fórmula V, na presença de uma quantidade catalítica de AsPh_3 , preferencialmente cerca de 0,4 equivalentes, CuI , preferencialmente cerca de 0,1 equivalentes, e $\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2$, preferencialmente cerca de 0,2 equivalentes.

Especialmente preferidas são as condições reaccionais mencionadas nos exemplos.

Conversão de compostos/sais

Compostos de fórmula I podem ser convertidos em diferentes compostos de fórmula I por métodos padrão ou métodos novos.

Por exemplo, um composto de fórmula I onde R_2 está ausente, **b** e **c** estão ausentes e **a** é uma ligação dupla, e outras unidades são descritas para compostos de fórmula I, podem ser convertidos no correspondente epóxido onde R_2 é O e **b** e **c** estão presentes enquanto **a** é uma ligação simples. Preferencialmente, a epoxidação tem lugar na presença de (+)-D-tartarato de dietilo ((+)-DET) (preferencialmente cerca de 0,5 equivalentes), $\text{Ti}(\text{i-PrO})_4$ (preferencialmente cerca de 0,5 equivalentes), hidroxiperóxido de terc-butilo (preferencialmente cerca de 2,2 equivalentes) e peneiros moleculares, especialmente peneiros moleculares de 4 Å, num solvente apropriado, e.g. diclorometano e opcio-

nalmente um alcano, tal como decano, a baixa temperatura, preferencialmente -78 até 0°C, especialmente cerca de -40°C;

Ou na presença de peróxido de hidrogénio (preferencialmente cerca de 30 equivalentes), acetonitrilo (preferencialmente cerca de 60 equivalentes), uma base, especialmente KHCO_3 (preferencialmente cerca de 10 equivalentes) num solvente apropriado, e.g. um álcool, preferencialmente metanol, a temperaturas preferidas entre 10 e 40°C, e.g. a cerca de 25°C.

Um composto de fórmula I onde R_3 é hidroximetilo pode ser convertido num composto de fórmula I onde R_3 é fluorometilo, e.g. tratamento com DAST (preferencialmente 1,05 até 1,4 equivalentes) num solvente apropriado, e.g. diclorometano, a baixa temperatura, preferencialmente de -95°C até 0°C, especialmente a cerca de -78°C. DAST é de dimetilamino-sulfurotrifluoreto

Um composto de fórmula I onde R_3 é iodometilo pode ser convertido num composto de fórmula I onde R_3 é metilo, e.g. por tratamento com cianoboro-hidreto (preferencialmente cerca de 10 equivalentes) em HMPA (triamida-hexametilfosfórico) a temperaturas elevadas, e.g. a 40 até 45°C.

Outras conversões podem ser efectuadas de acordo com procedimentos conhecidos, e.g. aqueles dados no Pedido

de Patente PCT WO 98/25929, o qual é aqui incorporado por referência.

Os sais de um composto de fórmula I com um grupo que forma um sal pode ser preparado numa maneira conhecida *per se*. Os sais de adição ácida de compostos de fórmula I podem assim ser obtidos por tratamento com um ácido ou com um reagente adequado de troca de anião.

Os sais podem ser convertidos em compostos livres, *e.g.* por tratamento com agentes básicos adequados, por exemplo com carbonatos de metais alcalinos, hidrogenocarbonatos de metais alcalinos, ou hidróxidos de metais alcalinos, tipicamente carbonato de potássio ou hidróxido de sódio.

Os compostos livres resultantes podem então, se desejável, ser convertidos em diferentes sais como descrito para a formação de sais a partir de compostos livres.

As misturas estereoisoméricas, *e.g.* misturas de diastereoisómeros, podem ser separadas nos seus isómeros correspondentes de um modo conhecido *per se* através de métodos de separação adequados. As misturas diastereoisoméricas por exemplo podem ser separadas nos seus diastereoisómeros individuais por cristalização fraccionada, cromatografia, distribuição de solventes, e procedimentos semelhantes. Esta separação pode ter lugar ou ao nível do material de partida ou mesmo num composto de

fórmula I. Os enantiómeros podem também ser separados através da formação de sais diastereoisoméricos, por exemplo por formação de sais com um enantiómero ácido quiral - puro, ou através de cromatografia, por exemplo por HPLC, utilizando substratos com ligandos quirais.

Materiais de partida

Os materiais de partida e intermediários são conhecidos na técnica, comercialmente disponível, e/ou preparado de acordo com métodos conhecidos na técnica ou em seus análogos.

Os compostos de fórmula II e fórmula III podem, por exemplo, ser sintetizados como descrito no pedido de patente PCT WO 98/25929, que é aqui incorporada por referência, ou como descrito ou em analogia com os métodos nos exemplos.

Os compostos de formula IV são acessíveis por reacção dos respectivos compostos de formula II, por exemplo por reacção de um composto de fórmula II com $(R_6)Sn_2$, onde R é alquilo inferior, especialmente metilo ou *n*-butilo, na presença de uma base de azoto, e.g. base Hünig, e na presença de quantidades catalíticas (preferencialmente cerca de 0,1 equivalentes) de $Pd(PPh_3)_4$ num solvente apropriado, e.g. tolueno, a temperaturas elevadas, e.g. 30 até 90°C, especialmente 80 até 85°C.

Os iodetos de fórmula V são conhecidos e podem ser obtidos de acordo com procedimentos da literatura, ou podem estar disponíveis comercialmente. Por exemplo, 2-iodo-6-metil-piridina pode ser obtido de acordo com Klei, E.; Teuben, J. H., *J. Organomet. Chem.* 1981, 214, 53-64; 2-iodo-5-metilpiridina de acordo com Talik, T.; Talik, Z. *Rocz. Chem.* 1968, 42, 2061-76, Yamamoto, Y.; Yanagi, A. *Heterocycles* 1981, 16, 1161-4 ou Katritzky, A. R.; eweiss, N. F.; Nie, P.-L. *JCS, perkin Trans I* 1979, 433-5. Os compostos hidroxí-substituídos de fórmula V correspondentes estão disponíveis por exemplo por oxidação do metilo dos grupos iodeto mencionados acima com SeO_2 e redução subsequente, e.g. com NaBH_4 ou DIBALH) de um aldeído ou por oxidação do grupo metilo para formar o ácido (por exemplo KMnO_4) e redução subsequente do éster e.g. com DIBAL.

Preferencialmente, materiais de partida novos ou conhecidos e intermediários podem ser preparados de acordo com ou por analogia com os métodos descritos nos exemplos, onde as quantidades, temperatura e as respectivas reacções semelhantes podem ser modificadas, e.g. por variação num intervalo de $\pm 99\%$, preferencialmente $\pm 25\%$, e podem ser utilizados outros solventes e reagentes apropriados.

A invenção também se relaciona com todos os intermediários, especialmente aqueles mencionados nos Exemplos.

Preparações Farmacêuticas

A presente invenção também se relaciona com a utilização de um composto de fórmula I para manufactura de uma formulação farmacêutica para utilizar contra doenças proliferativas como definido acima; ou com uma formulação farmacêutica para o tratamento da referida doença proliferativa compreendendo um composto da invenção e um veículo farmacêuticamente aceitável.

Os compostos de fórmula I são daqui em diante chamados de princípio activo.

A invenção relaciona-se também com uma composição farmacêutica que é adequada para administração num animal de sangue quente, especialmente em humanos, para o tratamento de uma doença proliferativa como definido anteriormente, compreendendo uma quantidade de um princípio activo, que é eficaz para o tratamento da referida doença proliferativa, juntamente com pelo menos um veículo farmacêuticamente aceitável. As composições farmacêuticas de acordo com a invenção são aquelas para administração parentérica, tal como nasal, rectal ou oral, preferencialmente parentérica, tal como administração intramuscular ou intravenosa, administração a um animal de sangue quente (humano ou animal) que compreende uma dose eficaz de um princípio activo farmacologicamente, sozinho ou juntamente com uma quantidade significativa de um veículo farmacêuticamente aceitável. A dose do princípio activo depende das espécies de animal de sangue quente, do peso corporal, da idade e do

estado de saúde do indivíduo, dados fármaco-cinéticos do indivíduo, da doença a ser tratada e do modo de administração; preferencialmente, a dose é uma ou as doses preferidas como definido abaixo, sendo ajustadas apropriadamente quando se pretende tratamento pediátrico

As composições farmacêuticas compreendem cerca de 0,00002 até cerca de 95%, especialmente (e.g. no caso de diluições de infusão que estão prontas a utilizar) de 0,0000 até 0,02%, ou (por exemplo no caso de infusões concentradas) desde cerca de 0,1% até cerca de 95%, preferencialmente desde cerca de 20% até cerca de 90%, princípio activo (peso por peso, em cada caso). As composições farmacêuticas de acordo com a invenção podem ser, por exemplo, na forma de dose única, tal como em formas de ampolas, frascos, supositórios, drageias, comprimidos ou cápsulas.

As composições farmacêuticas da presente invenção são preparadas numa maneira conhecida *per se*, por exemplo por meio de processos de dissolução convencional, liofilização, mistura, granulação ou processos de confecção.

As soluções do princípio activo, e também suspensões, e especialmente soluções aquosas isotónicas ou suspensões, são preferencialmente utilizadas, sendo se possível, por exemplo no caso de composições liofilizadas que compreendem o princípio activo sozinho ou juntamente com um veículo farmacêuticamente aceitável, por exemplo manitol, para as soluções ou suspensões a serem preparadas antes de ser utilizadas. As composições farmacêuticas podem

ser esterilizadas e/ou podem compreender excipientes, por exemplo preservativos, estabilizantes, molhantes e/ou agentes emulsionantes, solubilizantes, sais para regulação da pressão osmótica e/ou tampões, e são preparadas de uma maneira *per se*, por exemplo através de processos de dissolução convencional ou liofilização. As referidas soluções ou suspensões podem compreender substâncias para aumentar a viscosidade, tais como carboximetilcelulose de sódio, carboximetilcelulose, dextran, polivinilpirrolidina ou gelatina.

As suspensões em óleo compreendem como componente óleo os óleos vegetais, sintéticos ou semi-sintéticos habituais para fins de injeção. Podem ser mencionados como tal especialmente esteres de ácidos gordos líquidos que contem como componente ácido um ácido gordo de cadeia longa com desde 8 até 22, especialmente desde 12 até 22, átomos de carbono, por exemplo ácido laurico, ácido tridecíclico, ácido mirístico, ácido pentadecíclico, ácido palmítico, ácido marggarico, ácido esteárico, ácido araquídico, ácido beénico ou os correspondentes ácidos insaturados, por exemplo ácido oleico, ácido elaidico, ácido erucico, ácido brasídico ou ácido linoleico, se desejável com adição de antioxidantes, por exemplo vitamina E, betacaroteno ou 3,5-di-terc-butil-4-hidroxitolueno. O componente álcool dos esteres daqueles ácidos gordos tem um máximo de 6 átomos de carbono e é um mono- ou pli-hidroxi, por exemplo um mono-, di- ou tri-hidroxi, álcool, por exemplo metanol, etanol, propanol, butanol ou pentanol ou os seus isómeros, mas especialmente glicol e glicerol.

A injeção ou composições de infusão compreendem um princípio activo e um solvente orgânico farmacêuticamente aceitável.

Preferida é uma formulação de infusão compreendendo um componente activo e um solvente orgânico farmacêuticamente aceitável

O solvente farmacêuticamente aceitável utilizado na formulação de acordo com a invenção pode ser escolhido de qualquer solvente orgânico conhecido na técnica. Preferencialmente o solvente é seleccionado de um álcool, e.g. etanol absoluto ou etanol/água, mais preferencialmente 70% etanol, polietilenoglicol 300, polietilenoglicol 400, polipropilenoglicol ou N-metilpirrolidina, mais preferencialmente polipropilenoglicol ou 70% etanol ou polietilenoglicol 300.

O componente activo pode preferencialmente estar presente na formulação numa concentração de cerca de 0,01 até cerca de 100 mg/mL, mais preferencialmente cerca de 0,1 até cerca de 100 mg/ml, ainda mais preferencialmente cerca de 1 até cerca de 10 mg/mL (especialmente em concentrados de infusão)

O componente activo pode ser utilizado como substância pura ou como uma mistura com outro componente activo. Quando utilizado como substância pura é preferen-

cialmente empregar uma concentração de componente activo de 0,01 até 100, mais preferencialmente 0,05 até 50, mais preferencialmente ainda 1 até 10 mg/mL (este numero é referência especialmente para um concentrado de infusão que, antes do tratamento, é diluído de modo adequado, ver abaixo).

Tais formulações são convenientemente guardadas em frascos ou ampolas. Tipicamente os frascos ou ampolas são feitos de vidro, e.g. vidro borosilicato ou cal sodada. Os frascos ou ampolas podem ter qualquer volume convencional na técnica, preferencialmente eles tem um tamanho suficiente para acomodar 0,5 até 5 mL de formulação. A formulação é estável por períodos de armazenamento de 12 até 24 meses a temperaturas de pelo menos 2 a 8°C.

As formulações podem ser diluídas num meio aquoso adequado para administração intravenosa antes da formulação do componente activo ser administrada ao paciente.

A solução de infusão preferencialmente deve ter a mesma ou essencialmente a mesma pressão osmótica do fluido do corpo. Deste modo, o meio aquoso contém preferencialmente um agente isotónico que tem o efeito de manter a pressão osmótica da solução de infusão na mesma ou essencialmente a mesma do fluido do corpo.

O agente isotónico pode ser seleccionado que qualquer um dos conhecidos na técnica, e.g. manitol, dextrose, glucose e cloreto de sódio. Preferencialmente o

agente isotónico é glucose ou cloreto de sódio. Os agentes isotónicos podem ser utilizados em quantidades que transmitam a uma solução de infusão a mesma ou essencialmente a mesma pressão osmótica como fluido do corpo. As quantidades precisas necessárias podem ser determinadas por experimentação de rotina e dependerá da composição da solução de infusão e da natureza do agente isotónico. A selecção de um agente isotónico particular é efectuada tendo em conta as propriedades do agente activo.

A concentração do agente isotónico no meio aquoso depende da natureza do agente isotónico particular. Quando a glucose é utilizada é preferencialmente utilizado numa concentração de desde 1 até 5% m/v, mais particularmente 5% m/v. Quando o agente isotónico é cloreto de sódio é preferencialmente empregue em quantidades até 1% m/v, em particular 0,9% m/v.

A formulação de infusão pode ser diluída com meio aquoso. A quantidade de meio aquoso empregue como diluente é escolhida de acordo com a concentração desejada do componente activo na solução de infusão. Preferencialmente a solução de infusão é efectuada por mistura num frasco ou ampola de concentrado de infusão anteriormente mencionado com um meio aquoso, perfazendo o volume entre 20 mL até 200 mL, preferencialmente entre cerca de 50 até cerca de 100 mL, com meio aquoso.

As soluções de infusão podem conter outros

excipientes vulgarmente empregues em formulações a serem administradas intravenosamente. Os excipientes incluem antioxidantes. As soluções de infusão podem ser preparadas por mistura de uma ampola ou frasco da formulação com um meio aquoso, e.g. uma solução a 5% m/v de glucose em WFI ou especialmente 0,9% de solução de cloreto de sódio num contentor adequado, e.g. um saco de infusão ou garrafa. A solução de infusão, uma vez formada, é preferencialmente utilizada imediatamente ou dentro de um curto período de tempo de se formada, e.g. dentro de 6 horas. Os contentores para guardar as soluções de infusão devem ser escolhidos de qualquer contentor convencional que é não reactivo com a solução de infusão. Os contentores de vidro feitos daqueles vidros anteriormente mencionados são adequados apesar de serem preferível a utilização de recipientes de plástico, e.g. sacos plásticos de infusão.

A invenção também se relaciona com um método de tratamento de um animal de sangue quente, especialmente humanos, que está com necessidade de tal tratamento, especialmente de tratamento de uma doença proliferativa, compreendendo a administração de um composto de fórmula I, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, ao referido animal de sangue quente, especialmente humano, numa quantidade que é suficiente para o referido tratamento, especialmente eficaz contra doenças proliferativas.

As formas de dosagem podem ser convenientemente administradas intravenosamente numa dosagem de desde 0,01 mg até 100g/m² de componente activo, preferencialmente

desde 0,1 até 20 mg/m² de componente activo. A dosagem exacta requerida e a duração da administração dependem da gravidade do estado do doente e da taxa de administração. A dose pode ser administrada diariamente ou preferencialmente com intervalos de alguns dias ou semanas, por exemplo todas as semanas ou de três em três semanas. Como a dose pode ser libertada intravenosamente, a dose recebida e a concentração no sangue podem ser determinadas com exactidão com base nos conhecimentos de técnicas *in vivo* e *in vitro*.

As composições farmacêuticas para administração oral podem ser obtidas por combinação do componente activo com veículos sólidos, se desejável a mistura resultante, e o processamento da mistura, após a adição de excipientes apropriados, em comprimidos, drageias cores ou cápsulas. É possível para estes serem incorporados em veículos plásticos que permitem que os componentes activos se difundam ou sejam libertados em quantidades medidas.

Os compostos da invenção podem ser utilizados sozinhos ou em combinação com outras substâncias farmacologicamente activas, e.g. com outros quimio-terapêuticos, tais como citostáticos clássicos. No caso de combinações com outro quimioterapêutico, uma combinação fixa de dois ou mais componentes ou dois ou mais formulações independentes (e.g. num conjunto de partes) são preparados como descrito acima, ou os outros quimioterapêuticos são utilizados em formulações padrão que são comercializadas e conhecidas pelos especialistas na

técnica, e o composto da presente invenção e qualquer outro quimioterapêutico são administrados em intervalos que permitem para um vulgar, adicional ou preferencial efeito sinérgico para o tratamento de tumores.

Os seguintes exemplos pretendem ilustrar a presente invenção sem se pretender limitar o âmbito da invenção.

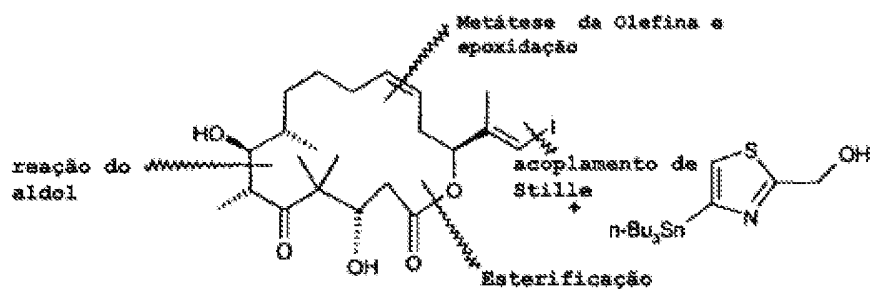
Materiais de partida:

Exemplo 1. Síntese total de Epotilona E e análogos relacionados de cadeia lateral via estratégia baseada no acoplamento de Stille

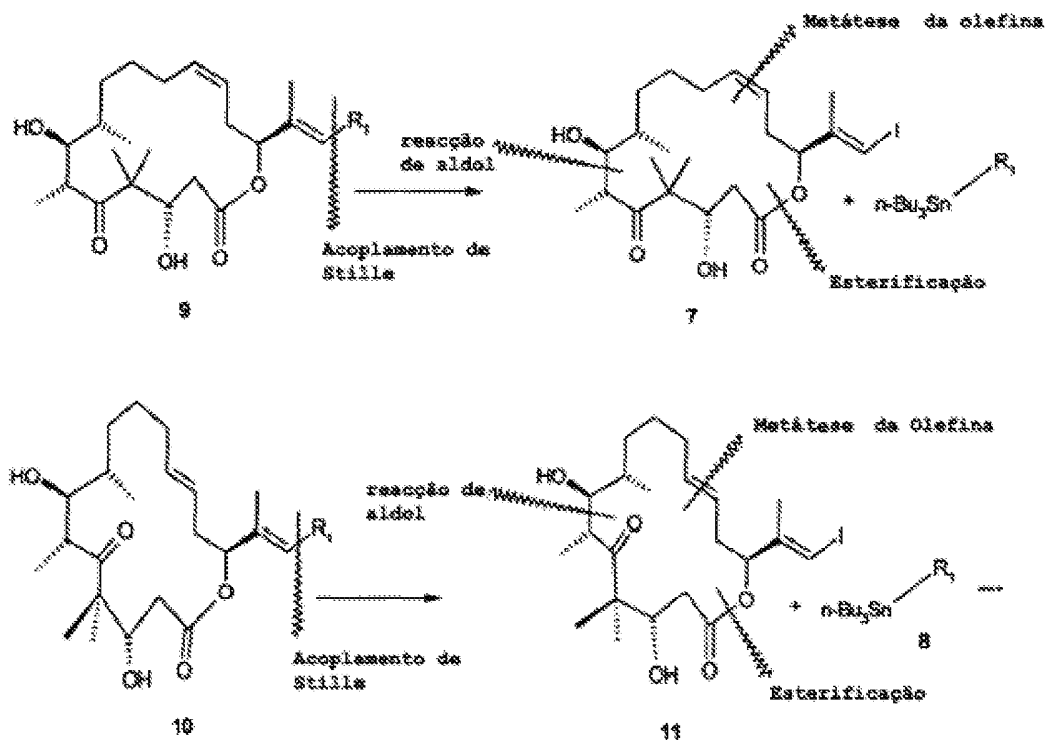
A primeira síntese total de epotilona E (**3**) é acompanhada de uma estratégia na qual a chave do passo é acoplamento de Stille (Stille *et. al.* *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1986, 25, 508-524; Farina *et. Al.* *J. Org. React.* 1997, 50, 1-65) entre iodeto de vinilo **7** e a unidade tiazole (**8h**, **Esquema 2a**). O fragmento do núcleo da macrolactona **7**, que é preparado *via* metátese do fecho do anel da olefina (RCM), e subsequentemente utilizado para proporcionar acesso conveniente e flexível a uma variedade de análogos modificados na cadeia lateral (**9**) para avaliação biológica (**Esquema 2b**). A reacção de RCM utilizada para aceder a **7** também proporciona *trans*-macrolactona (**11**, **Esquema 2b**) que serve como modelo alternativo para o acoplamento de Stille e proporciona uma lista adicional de análogos **10**.

---Esquema 2:

a) Análise retrossintética e estratégia para a síntese total de epotilona E.



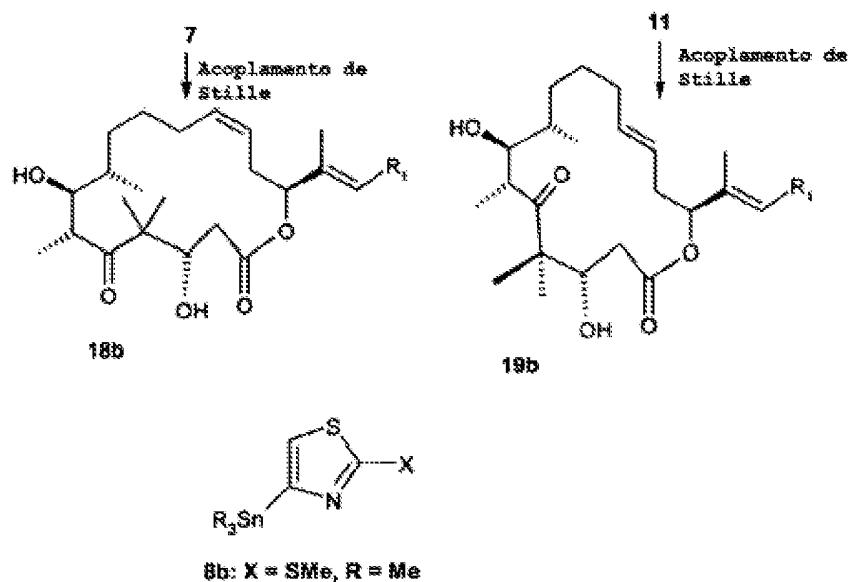
b) Análogos de cadeia lateral de epotilona C (9) e seus $\Delta^{12,13}$ *trans*-isómero (10)



A síntese química dos iodetos de vinilo **7** necessários e **11** é delineada no Pedido de Patente PCT WO 98/25929.

Os parceiros de acoplamento a estano utilizados na reacção de Stille são apresentados no **Esquema 3**.

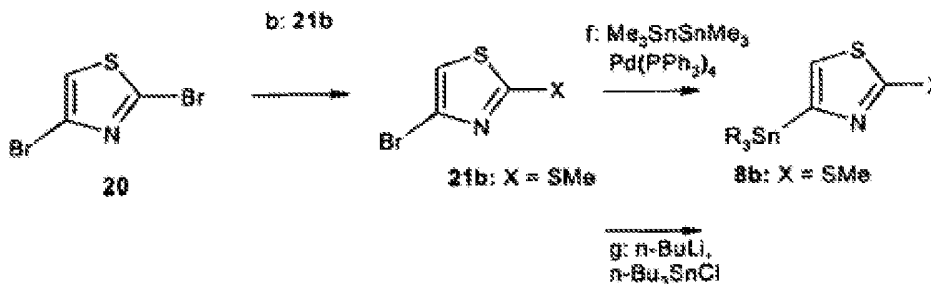
---Esquema 3:



Acoplamento de Stille: Procedimento A: 2,0 equiv. de **8**, 5-10% em moles de Pd(PPh₃)₄, tolueno, 90-100°C, 15-40 min, 39-88%; procedimento B: 2,0 - 2,2 equiv. de **8**, 20-30% em moles de Pd(MeCN)₂Cl₂, DMF, 25°C, 12-13h, 49-94%.

Os parceiros do acoplamento **8b** acessíveis a partir de 2,4-dibromotiazole (**20**) via monobrometos (**21**) como delineado no Esquema 4 e 5.

---Esquema 4:



Preparação de A) estananos **8b**. Reagentes e condições: (b) 3,0 equiv. de NaSMe, EtOH, 25°C, 2h, 92%; (d) 13 equiv. de NaOH, EtOH, 25°C, 30 h, 91%; (e) 13 equiv. de NaOH, MeOH, 25°C, 16h, 82%; (f) 5-10 equiv. de $\text{Me}_3\text{SnSnMe}_3$, 5-10% em moles de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ tolueno, 80-100°C, 0,5-3h, 81-100%; (g) 1,1 equiv. de n-BuLi, 1,2 equiv. de nBu_3SnCl , -78 a 25°C, 30 min., 98%;

O sulfureto **21b** é obtido com rendimento de 92% por substituição do substituinte 2-bromo de **20** com a unidade tiometilo utilizando tiometóxido de sódio (EtOH, 25°C). O brometo (**21b**) é então transformado no tri-etilestanano desejado com hexametildiestanho em condições catalisadas por paládio [$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, tolueno, 80-100°C]

Com os componentes necessários na mão, são investigados os acoplamentos críticos de Stille. Dois conjuntos de condições alternativas provaram ser adequadas (**Esquema 3**). O procedimento A envolve o aquecimento de uma solução do desejado iodeto de vinilo (**7** ou **11**) em tolueno com o estanano **8** apropriado na presença de quantidades catalíticas de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, a 80-100°C durante 15 e 40 minutos. O protocolo é utilizado para acoplar o estanano **8b**.

A síntese total é completada pela epoxidação com ácido metilperoxicarboximídico gerado *in situ* (H_2O_2 ; $KHCO_3$, MeCN, MeOH, $25^\circ C$; Chaudhuri et. Al. J. J. Org. Chem. 1982, 47, 5196-5198) dando a epotilona E (3) (66% com base em 50% de conversão), que exhibe características físicas idênticas (1H RMN, $[\alpha]_D$) aos publicados na técnica.

A abordagem do acoplamento de Stille é então estendida para proporcionar um acesso fácil a uma variedade de análogos de epotilona B de cadeia lateral modificada (2), tanto em C-26 como na cadeia lateral. A análise retróssintética dos análogos da epotilona possuindo estas duplas modificações é apresentada no Esquema 6b e requer a preparação crucial de um fragmento do núcleo de iodeto de vinilo 24. Pensa-se que a estratégia similar de macro-lactonização para essa utilização na nossa síntese de epotilona B e de uma variedade de análogos de epotilona é a mais adequada para esta tarefa.

---Esquema 6b:

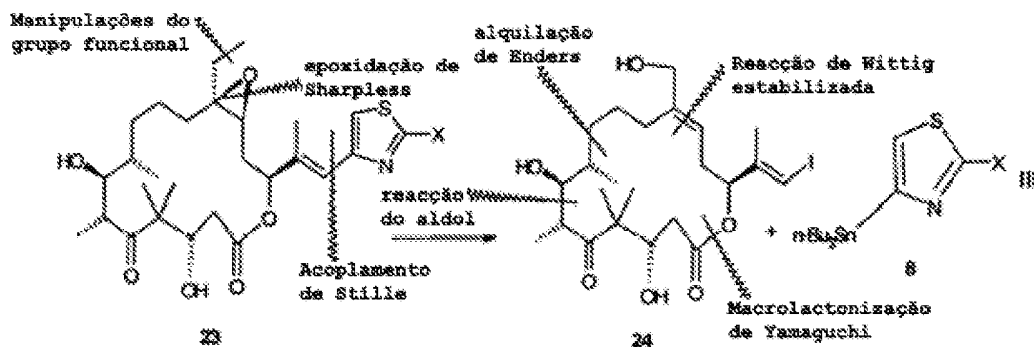
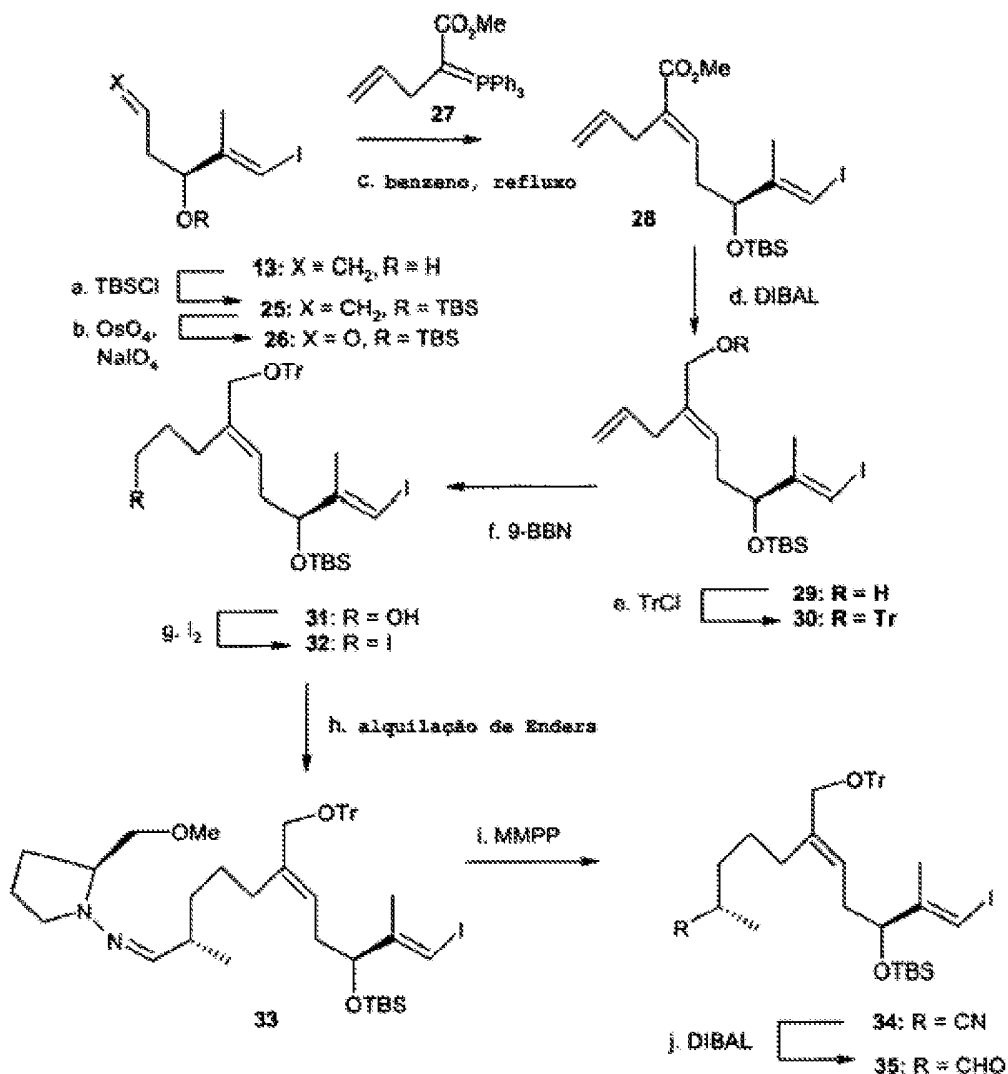


Ilustração de uma análise retrossintética de análogos de epotilona possuindo modificações em C26 e unidades de cadeia lateral

A síntese começa a partir do iodeto de vinilo **13** (**Esquema 7**) utilizado na preparação de epotilona E e análogos relacionados (**Esquema 3**).

---Esquema 7:



Síntese estereosselectiva do aldeído **35**.
Reagentes e condições: (a) 1,7 equiv. de TBSCl, 2,8 equiv. de imidazole, DMF, 0 a 25°C, 7 h, 84%; (b) i. 1,0% em moles de OsO₄, 1,1 equiv. NMO, THF: t-BuOH:H₂O (5::1), 0 a 25°C, 13 h, 89%; ii. 6,0 equiv. de NaIO₄, MeOH: H₂O (2:1), 0°C, 30 min, 92%; (c) 2,4 equiv. de **27**, benzeno, refluxo, 1,2 h, 98%; (d) 3,0 equiv. de DIBAL, THF, -78°C, 2,5 h, 100%. (e) 1,4 equiv. de TrCl, 1,7 equiv. de 4-DMAP, DMF, 80°C, 21h, 95%; (f) 1,4 equiv. de 9-BBN, THF, 0°C, 9h; então NaOH aquoso 3N e 30% H₂O₂, 0°C, 1h, 95%; (g) 2,6 equiv. de I₂, 5,0 equiv. imidazole, 2,5 equiv. de Ph₃P, Et₂O: MeCN (3:1), 0°C, 45 min, 97%; (h) 1,3 equiv. de SMAP hidrazona do propionaldeído, 1,4 equivalente de LDA, THF, 0°C, 16 h; então -100 °C e adiciona-se 1,0 equiv. de **32** em THF, -100 até -20°C, 71%, (i) 2,5 equiv. de MMPP, MeOH: tampão fosfato pH 7 (1:1), 0°C, 3,5 h, 89%; (j) 3,0 equiv. de DIBAL, tolueno, -78°C, 1 h, 88%. 9-BBN = 9-borabicyclo-[3.3.1]nonano; DIBAL = hidreto de diisobutilalumínio; 4-DMAP = 4-dimetilaminoipiridina; LDA = diisopropilamideto de lítio; NMO = N-óxido de 4-metilmorfolina; SAMO = (S)-(-)-1-amino-2-(metoximetil)pirrolidina; MMPP = ácido monoperoxidiftálico, sal de magnésio.

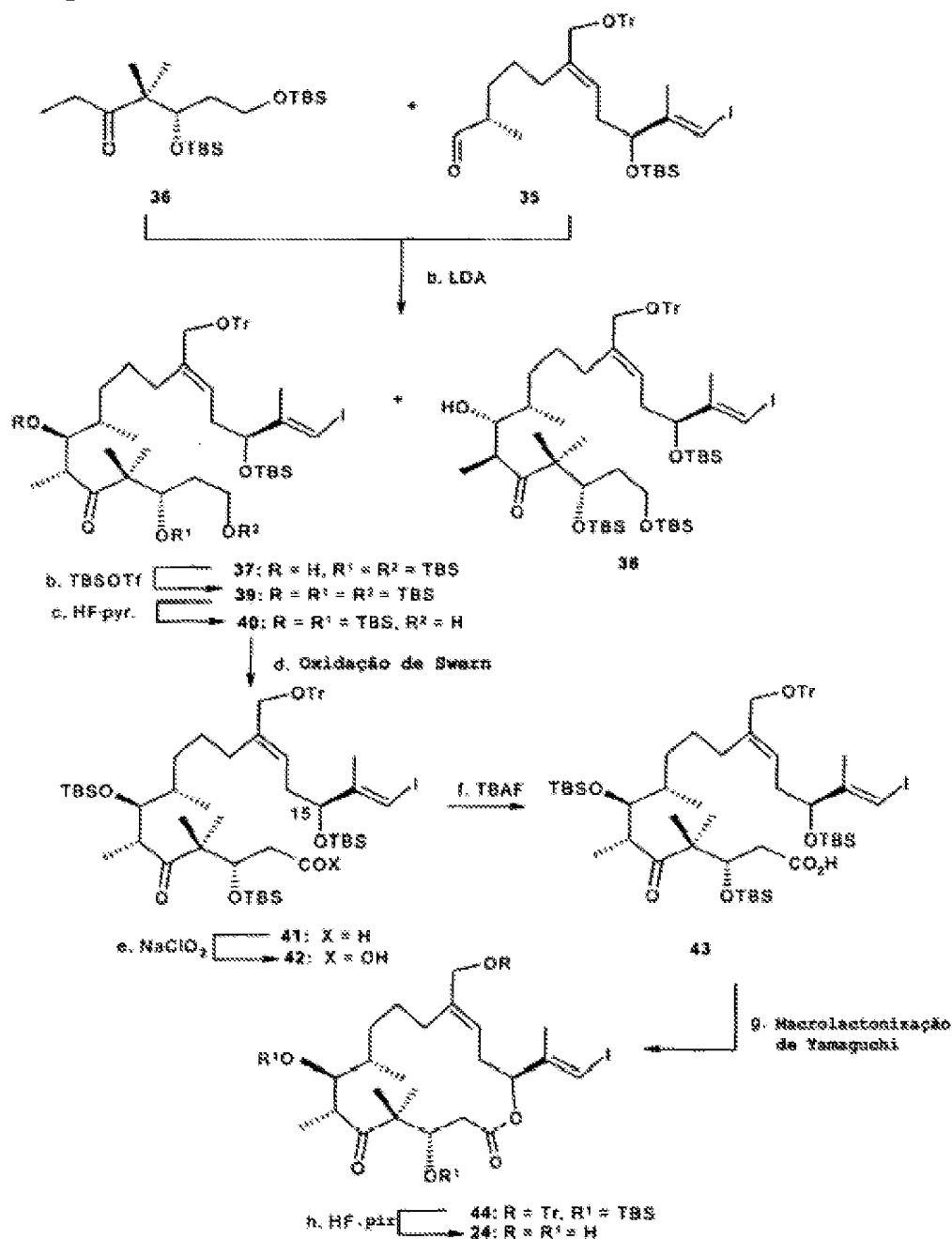
A protecção do grupo hidroxilo alílico (TBSCl, imidazole, DMF, 0 a 25°C) dá o éter silílico **25** (84%) que é transformado no aldeído **26** por uma sequência de clivagem de glicol por di-hidroxilação em dois passos (OsO₄, NMO, THF/t-BuOH/H₂O, 0 a 25°C; então NaIO₄, MeOH/H₂O, 0°C, 82% para os dois passos). Numa reacção de Wittig estereo-

selectiva com o intermediário **27** estabilizado (benzeno, refluxo; Marshall et. al. *J. Org. Chem.*, 1986, 51, 1735-1741; Bestmann et. al. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1965, 4, 645-660) dá o éster **28** como um isómero geométrico simples com rendimento de 98%. A redução do último composto (DIBAL, THF, -78°C) dá o álcool **29**, que é protegido como derivado trifenilmetilo (tritilo) **30** (TrCl, 4-DMAP, DMF, 70°C, 95%).

A elaboração da olefina terminal é então conseguida por hidroboração-oxidação selectiva para dar o álcool **31** (9-BBN, THF, 0°C; então NaOH, H₂O, 0°C) que é transformado adicionalmente num di-iodeto **32** (I₂, imidazole, Ph₃P, 0°C) com um rendimento total de 92%. A introdução do estereocentro C₈ é então conseguida utilizando um protocolo de alquilação de Ender (SAMP hidrazona do propionaldeído, LDA, THF, 0°C; então -100°C e adiciona-se **32** em THF; Enders et. al. *Asymmetric Synthesis* 1984; Morrison, J. D.; Ed.; Academic Press, Orlando, Vol 3, p. 275-339; nós agradecemos ao Prof. Enders pelo seu generoso contributo de SAMP) resultando na formação da hidrazona SAMP **33** com rendimento de 71%). A conversão em nitrilo **34** (MMPP, MeOH/tampão fosfato pH 7, 0°C, 89%) e ensuing redução (DIBAL, tolueno, -78°C) dá o aldeído desejado **35** com rendimento de 88%.

A transformação do aldeído **35** no núcleo macrocíclico da epotilona desejada **24** é sumariada no **Esquema 8**.

---Esquema 8



Síntese estereo-selectiva do iodeto de vinilo **24**.
 Reagentes e condições: (a) 1,45 equiv. de LDA, THF, $-78^\circ C$, então 1,4 equiv. de 36 em THF, $-78^\circ C$, 1,5 h então; $-40^\circ C$, 0,5h; então 1,0 equiv. de 35 em THF a $-78^\circ C$ (66% rendimento combinado, ca. razão 1,5:1 de **37:38**); (b) 3,2 equiv. de TBSOTf, 4,3 equiv. de 2,6-lutidina, CH_2Cl_2 , $-20^\circ C$ a $0^\circ C$, 2,5

h, 90%); (c) HF•pir., THF, 0°C, 3h, 84%; (d) 2,0 equiv. de (COCl)₂, 4,0 equiv. de DMSO, 6,0 de Et₃N, CH₂Cl₂, -78 a 0°C, 1,5 h, 98%; € 5,0 equiv. de NaClO₂, 75 equiv. de 2-mwtíl-2-buteno, 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 cloreto de 2,4,6-triclorobenzoilo, THF, 0°C, 1,5 h; então adiciona-se a uma solução de 2,2 equiv. de 4-DMAO em tolueno (0,005M baseado em **43**), 75°C, 2,5 h, 84%; (h) HF•pir. 25% v/v em THF 0 a 25°C, 15 h, 86%. TBAF = fluoreto de tetra *n*-butilamónio.---

A reacção aldólica de cetona **36**, previamente utilizada na nossa síntese de epotilona B e análogos (LDA, THF, -78°C a -40°C) e aldeído **35**, dá os álcoois **37** e **38** com 66% de rendimento total, com a selectividade modesta para o desejado diastereoisómero 6*R*,7*S* (**37**). A separação e sililação (TBSOTf, 2,6-lutidina, CH₂Cl₂, -20 a 0°C) do produto aldol **37** correcto proporciona o tris-éter silílico **39** com 90% de rendimento. A remoção selectiva do grupo protector éter silílico primário (HF•pir. em piridina/THF, 0°C) dá o álcool **40** (84%), que é oxidado a ácido **42** via aldeído **41** por um procedimento de dois passos (Swern; então NaClO₂, 2-metil-2-buteno, NaH₂PO₄, t-BuOH/H₂O, 25°C, 98% para os dois passos). A remoção do grupo protector silícico em C15 (TBAF, THF, 0 a 25°C) proporciona o hidroxí-ácido **43** (95%) e prepara a base para o processo de macrolactonização. Este passo chave é conseguido sob condições de Yamaguchi (cloreto de 2,4,6-triclorobenzoílo, Et₃N, THF; em seguida adicionado a uma solução de 4-DMAP em tolueno, 0,005M, 75 °C, Inanaga et. al. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1979,

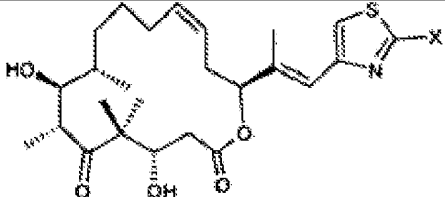
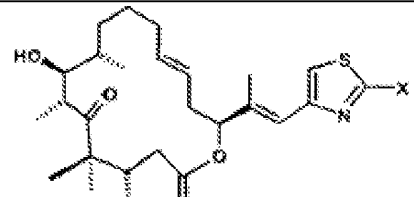
52, 1989; Mulzer et. al. Synthesis 1992, 215-228, Nicolaou et. al. Chem Eur. J. 1996, 2, 847-868) para dar o núcleo de epotilona protegida **44** com 88% de rendimento. A desprotecção global (HF•pir., THF, 0 a 25°C, 86%) completa a síntese do intermediário chave iodeto de vinilo **24**.

Com o intermediário 24 na mão, o protocolo de Stille é então empregue para ligar a desejada unidade heterocíclica.

A química descrita neste exemplo assenta numa estratégia de acoplamento de Stille para construir uma série de análogos de epotilona com diversidade na cadeia lateral ou em ambas as cadeias laterais e C-26 a partir de um intermediário macrocíclico comum.

Exemplo 2: Formulação de compostos de acordo com a invenção:

Tabela: Fórmulas de compostos de acordo com a invenção

Entrada	Composto
4	 <p>18b. X= SMe</p>
8	 <p>19b. X= SMe</p>

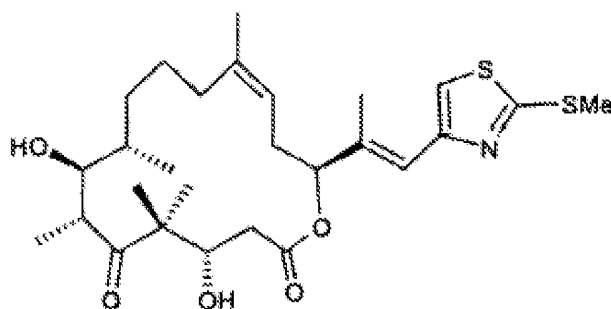
Exemplo 3: resultados biológicos

De acordo com os métodos descritos acima (inibição da despolimerização da tubulina por um composto de fórmula I é medida utilizando microtubos de cérebro de porco, comparando com epotilona B 25 μ M; os ensaios em células são análogos aos descritos acima para as células KB-31.

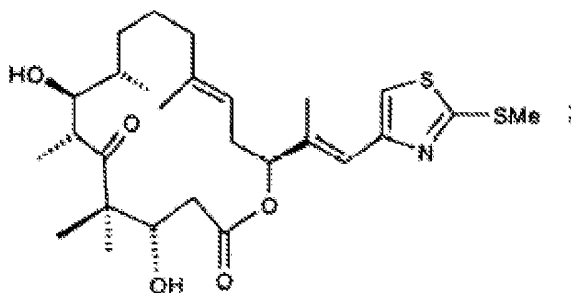
Exemplo 4: Mais compostos de fórmula I

Em métodos análogos dos métodos descritos acima e abaixo, os compostos que caem dentro da fórmula I são preparados para ter a seguinte formula.

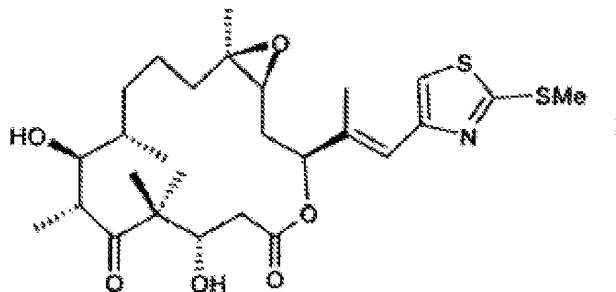
Exemplo 4 (i)



Exemplo 4 (ii)



Exemplo 4 (ix)

Protocolos de síntese.

Geral: todas as reacções são efectuadas sobre atmosfera de árgon com solventes secos destilados de fresco sob condições anidras, salvo indicação em contrário. O tetra-hidrofurano (THF) e éter dietílico (éter) são destilados com sódio-benzofenona, e o diclorometano (CH₂Cl₂), benzeno (phH), e tolueno a partir de hidreto de cálcio. Os solventes anidros são também obtidos passando através de colunas de alumina activadas disponíveis comercialmente. Os rendimentos referem-se a materiais homogéneos cromatograficamente e espectroscopicamente (¹H RMN), salvo indicação em contrário. Todas as soluções utilizadas no processamento da reacção são saturadas salvo indicação em contrário. Todos os reagentes são comprados com elevada qualidade comercial e utilizados sem purificação adicional salvo indicação adicional. Todas as reacções são monitorizadas por cromatografia em camada fina em placas de sílica gel de 0,25 mm d E. Merck (60F-254) utilizando luz ultravioleta como agente de visualização e de solução de ácido molibdénico em etanol a 7% ou solução de *p*-anisaldeído e

aquecidas como agentes reveladores. A sílica gel E. Merck (60, tamanho de partícula 0,040-0,063 mm) é utilizada para cromatografia em coluna "flash". As separações por cromatografia de camada fina preparativa são efectuadas em placas de sílica gel E. Merck com 0,25, 0,50 ou 1 mm. Os espectros de RMN são efectuados num aparelho Bruker DRX-600, AMX-500, AMX-400 ou AC-250 e calibrados utilizando solvente não deuterado residual como referência interna. As abreviaturas seguintes são utilizadas para explicar as multiplicidades: s, singelete; d, duplete; t, triplete, q., quarteto, m, multiplete; banda, vários sinais sobrepostos; b, largo, os espectros de IV foram efectuados num espectrómetro da Perkin-Elmer 1600 da série FT-IR. As rotações ópticas foram registadas num polarímetro Perkin-Elmer 241. Os espectros de massa de alta resolução (HRMS) são registados num espectrómetro de massa VG ZAB-ZSE em condições de bombardeamento de átomos rápidos (FAB).

cis-Macrolactona diol 7 como ilustrado no Esquema

3. A uma solução de iodo 16 (305 mg, 0,491 mmol) em THF (8,2 mL, 0,06 M) a 25°C é adicionado HF•pir. (2,7 mL) e a solução resultante é agitada à mesma temperatura durante 27 h. A reacção é então desactivada através da adição cuidadosa de uma mistura de uma solução aquosa saturada de NaHCO₃ (100 mL) e EtOAc (100 mL), e a mistura de duas fases resultantes é agitada a 25°C durante 2 h. Os extractos são então separados e a fase orgânica é lavada com solução aquosa saturada de NaHCO₃ (100 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (100 mL), e em seguida seca (MgSO₄). A

purificação por cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 20 a 50% EtOAc em hexano), dá o diol **7** (208 mg, 84%). $R_f = 0,21$ (sílica gel, 25% EtOAc em hexano); $[\alpha]^{22}_D -53,1$ (c 1,37, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{\max} 3499 (br), 2930, 1732, 1688, 1469, 1379, 1259, 1149, 1093, 1048, 1006, 732 cm^{-1} ; $^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6,43 (s, 1H, ($\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$)), 5,44 (ddd, $J = 10,5, 10,5, 4,5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 5,34 (dd, $J = 9,5, 2,0$ Hz, 1H, CHOCO), 5,32 (ddd, $J = 10,5, 10,5, 5,5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 4,07 (ddd, $J = 11,0, 6,0, 3,0$ Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OH})$), 3,73 (ddd, $J = 2,5, 2,5, 2,5$ Hz, 1H, $\text{CHO}(\text{CHCH}_3)$), 3,10 (qd, $J = 7,0, 2,5$ Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,84 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CHOHCH}(\text{CH}_3)$), 2,66 (ddd, $J = 15,0, 9,5, 9,5$ Hz, 1H, $=\text{CHCH}_2\text{CHO}$), 2,51 (dd, $J = 15,5, 11,0$ Hz, 1H, CH_2COO), 2,42 (dd, $J = 15,5, 3,0$ Hz, 1H, CH_2COO), 2,35 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$), 2,21-2,12 (m, 2H), 2,05-1,97 (m, 1H), 1,88 (s, 3H, $\text{ICH}=\text{CCH}_3$), 1,76-1,70 (m, 1H), 1,70-1,62 (m, 1H), 1,32 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,18 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 1,10 (s, 3H $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,35-1,05 (m, 3H), 0,99 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3CHCH_2); HRMS (FAB), calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{IO}_5$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$) 639,0584, encontrado 639,0557.

trans-Macrolactona diol 11 como ilustrado no Esquema 3. Uma solução de iodo **17** (194 mg, 0,313 mmol) em THF (5,2 mL, 0,06 M) é tratada com HF.pir. (1,7 mL) de acordo com o procedimento descrito para a preparação do diol **7** para dar, após cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 20 a 50% EtOAc em hexano), diol **11** (134 mg, 85%), $R_f = 0,16$ (sílica gel, 25% EtOAc em hexano); $[\alpha]^{22}_D -$

20,0 (c 1,15, CHCl₃); IV (filme fino) ν_{\max} 3478, 2930, 1732, 1693 cm⁻¹; ¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 6,37 (d, J = 1,5 Hz, 1H, ICH=C(CH₃)), 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 (ddd, J= 8,0, 3,5 Hz, 1H, CH₃CCH(OTBS)), 3,85 (bs, 1H, (CHOH(CHCH₃))), 3,38 (bs, 1H, CHOH(CHCH₃)), 3,18 (qd, J= 7,0, 6,5 Hz, 1H, CH₃CH(C=O)), 2,68-2,34 (m, 4H), 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, 2H), 1,48-1,42 (m, 1H), 1,31-0,99 (m, 2H), 1,22 (d, J= 7,0 Hz, 3H, CH₃CH(C=O)), 1,44 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,09 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,02 (d, J = 7,0 Hz, 3H, CH₃CHCH₂), 0,84 (s, 9H, SiC(CH₃)₃/CH₃)₂), 0,08 (s, 3H, SiC(CH₃)₃(CH₃)₂), -0,01 (s, 3H, SiC(CH₃)(CH₃)₂); HRMS (FAB) calculado para C₂₂H₃₅IO₅ (M+Cs⁺) 639,0584, encontrado 639,0606.

2-tiometil-4-bromotiazole 21b como ilustrado no Esquema 4. O 2,4-dibromotiazole **20** (82 mg, 0,34 mmol, 1,0 equiv.) é dissolvido em etanol (2,3 mL, 0,15 M) e tratado com tio-metóxido de sódio (75 mg, 1,02 mmol, 3,0 equiv.). A reacção é agitada a 25°C durante 2 h, ao fim deste tempo é estabelecida por ¹H RMN a altura em que reacção está completa e a mistura é vertida em água (85 mL) e extraída com éter (2 x 5 mL). As fracções orgânicas combinadas são secas (MgSO₄), os solventes evaporados e o resíduo purificado por cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 5% EtOAc em hexano) para dar 2-tiometil-4-bromotioazole **21b** (77 mg, 92%. R_f = 0,58 (sílica gel, 10% EtOAc em hexano); IV (filme) ν_{\max} 3118, 2928, 1459, 1430, 1388, 1242, 1040, 966,

876, 818 cm^{-1} ; ^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 7,07 (s, 1H, ArH), 2,69 (s, 3H, SCH_3); GC/MS (EI) calculado para $\text{C}_4\text{H}_4\text{BrNS}_2$ (M^+) 209/211, encontrado 209/211.

2-tiometil-4-trimetilestaniltiazole 8b como **ilustrado no Esquema 3**. a uma solução de bromotiazole 21b (51 mg, 0,24 mmol, 1,0 equiv.) em tolueno desarejado (4,9 mL, 0,1M) adiciona-se hexametildiostanho (498 L, 2,4 mmol, 10 equiv.) e $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (14 mg, 0,012 mmol, 0,05 equiv.) e a mistura reacional é aquecida a 80°C durante 3 horas. Em seguida a reacção é arrefecida a 25°C e dá, após cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 5% Et_3N em hexano), estanano **8b** (71 mg, 100%). $R_f = 0,67$ (sílica gel; pré-tratamento com Et_3N , 10% EtOAc); IV (filme) ν_{max} 2981, 2924, 1382, 1030, 772 cm^{-1} ; ^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3) 7,25 (s, 1H, ArH), 2,70 (s, 3H, SCH_3), 0,32 (s, 9H, $\text{Sn}(\text{CH}_3)_3$); HRMS (FAB), calculado para $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NS}_2\text{Sn}$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 295,9588 encontrado 295,9576.

Epotilona E (3) como ilustrado nos Esquemas 2 e 3. A uma solução de lactona **18h** (10,0 mg, 0,002 mmol, 1,0 equiv.) em metanol (600 μL , 0,03 M) é adicionado acetonitrilo (32 μL , 0,606 mmol, 30 equiv), KHCO_3 (10 mg, 0,102 mmol, 5 equiv.) e peróxido de hidrogénio (27 μL , 35% p/p em água, 0,303 mmol, 15 equiv.) e a mistura reacional é agitada a 25°C durante 3h. Adiciona-se mais acetonitrilo (32 μL , 0,606 mmol, 30 equiv), KHCO_3 (10 mg, 0,102 mmol, 5 equiv.) e peróxido de hidrogénio (27 μL , 35% p/p em água, 0,303 mmol, 15 equiv.) e a agitação continua durante mais

3 h. A mistura reaccional é então passada directamente através de um pequeno leito de sílica gel, eluindo com éter, e o filtrado é concentrado sob pressão reduzida. Por cromatografia fina em camada preparativa (placas de 250 mm sílica gel, 50% EtOAc em hexano) dá o material de partida que não reagiu **18b** (5,0 mg, 50%) e epotilona E (3) (3,4 mg, 33%). $R_f = 0,56$ (sílica gel, 60% EtOAc em hexano); $[\alpha]_{D}^{22} = -27,5$ (c 0,20, CHCl_3); IV (filme) ν_{Max} 3413, 2928, 2867, 1731, 1689, 1462, 1375, 1257, 1152, 1061, 978, 756 cm^{-1} ; ^1H -RMN (600 MHz, CDCl_3) δ 7,13 (s, 1H, ArH), 6,61 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,46 (dd, $J = 8,1, 2,4$, 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_3COO), 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), calculado $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_7\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 510,2525, encontrado 510,2539.

Macrolactona cis **18b** como ilustrado no Esquema 3.

Uma solução de iodeto de vinilo **7** (9,2 mg, 0,018 mmol, 1,0 equiv.), estanhato **8b** (10,7 mg, 0,036 mmol, 2,0 equiv.) e $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2,1 mg, 0,0018 mmol, 0,1 equiv.) em tolueno

desarejado (180 L, 0,1 M) é aquecida a 100°C durante 40 min., de acordo com o procedimento descrito para a síntese da lactona **18h**, para dar, após cromatografia em camada fina preparativa (placas de 250 mm sílica gel, 75% éter em hexano), macrolactona **18b** (4,1 mg, 44%). $R_f = 0,50$ (sílica gel, 50% EtOAc em hexano); $[\alpha]_D^{22} -38,6$ (c 0,21, CHCl₃); IV (filme fino) ν_{\max} 3444, 2925, 1732, 1682, 1259, 1037, 756 cm⁻¹; ¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 6,99 (s, 1H, CH=C(CH₃)), 6,52 (bs, 1H, ArH), 5,45 (ddd, J = 10,5, 10,5, 4,0 Hz, 2H, CH=CHCH₂), 5,39 (ddd, J = 10,5, 10,5, 4,0 Hz, 1H, CH=CHCH₂), 5,29 (d, J = 8,0 Hz, 1H, CHOCO), 4,20 (ddd, J = 8,0 Hz, 1H, CHOH(CHCH₃)), 3,13 (qd, J = 6,5, 2,0 Hz, 1H, CH₃CH(C=O)), 2,98 (d, J = 2,0 Hz, 1H, CHOH(CHCH₃)), 2,93 (d, J = 6,5, 2,0 Hz, 1H, (CH₃)₂CCH(OH)), 2,71 (ddd, J 15,0, 10,0, 10,0 Hz, 1H, CH=CHCH₂), 2,70 (s, 3H, SCH₃), 2,51 (dd, J 15,5, 11,5 Hz, 1H, CH₂COO), 2,30 (dd, J = 15,0, 2,5 Hz, 1H, CH₂COO), 2,28-2,16 (m, 2H), 2,13 (d, J 1,0 Hz, 3H, CH=CCH₃), 2,06-1,98 (m, 1H), 1,79-1,60 (m, 3H), 1,33 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,19 (1,19 (d, J 7,0 Hz, 3H, CH₃CH(C=O)), 1,09 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,00 (d, J = 7,0 Hz, 3H, CH₃CHCH₂); HRMS (FAB) calculado C₂₆H₃₉NO₅S₂ (M+Cs⁺) 642,1324, encontrado 642,1345.

trans-Macrolactona 19b como ilustrado no Esquema

3. Uma solução de iodeto de vinilo **11** (6,9 mg, 0,014 mmol, 1,0 equiv.), estanhato **8b** (8,2 mg, 0,028 mmol, 2,0 equiv.) e Pd(PPh₃)₄ (1,6 mg, 0,0014 mmol, 0,1 equiv.) em tolueno desarejado (140 μ L, 0,1 M) é aquecida a 100°C durante 40 min., de acordo com o procedimento descrito para a síntese

da lactona **18h**, para dar, após cromatografia em camada fina preparativa (placas de 250 mm sílica gel, 75% éter em hexano), macrolactona **18b** (4,1 mg, 44%). $R_f = 0,47$ (sílica gel, 50% EtOAc em hexano); $[\alpha]_D^{22} -32,9$ (c 0,35, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{max} 3488, 2928, 1728, 1692, 1259, 1036, 757 cm^{-1} ; $^1\text{H-RMN}$ (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, H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 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, $J = 11,0$ Hz, 2,5, 2,5 Hz, 1H, $(\text{CH}_3)\text{CCHOH}$), 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, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 2,01-1,94 (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) calculado $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_5\text{S}_2$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$) 642,1324, encontrado 642,1298.

Éter silílico 25 como ilustrado no Esquema 7. A uma solução de álcool **13** (12,96 g, 54,4 mmol, 1,0 equiv., em DMF (180 mL, 0,3M) a 0°C, é adicionado imidazole (10,2 g, 150 mmol, 2,8 equiv.) seguido de *tert*-butildimetilclorosilano (13,5 g, 89,8 mmol, 1,7 equiv.). Após aquecimento a 25°C durante 7 h, o solvente foi removido sob pressão reduzida e o óleo resultante foi partilhado entre éter (200 mL) e solução aquosa saturada de NH_4Cl (200 mL). A fase aquosa foi extraída com éter (200 mL) e os extractos combinados foram lavados com solução saturada de cloreto de

sódio (500 mL), seca (MgSO_4) e concentrada sob pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 0 a 50% EtOAc em hexano) deu o éter silílico 25 como um óleo (16,03 g, 84%). $R_f = 0,48$ (hexano); $[\alpha]^{22}_D -17,5$ (c 1,65, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{\max} 2954, 2928, 2857, 1472, 1361, 1278, 1252, 1082, 914, 836, 776, 677 cm^{-1} ; 1H-RMN (500 MHz, CDCl_3) 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, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,04 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$);

Aldeído 26 como ilustrado no Esquema 7. A uma solução de olefina **25** (16,0 g, 45,3 mmol, 1,0 equiv.) numa mistura de THF (206 mL), *t*-BuOH (206 mL) e H_2O (41 mL) a 0°C é adicionou-se a *N*-óxido de metilmorfolina (NMO) (5,84 g, 49,8 mmol, 1,1 equiv.) seguido de OsO_4 (5,2 mL, 2,5 % p/v em *t*-BuOH, 0,453 mmol, 0,01 equiv.). A mistura foi agitada vigorosamente 13 h a 25°C e em seguida é desactivada com solução aquosa saturada de Na_2SO_3 (125 mL). A solução resultante é agitada durante 2 h e em seguida partilhada entre EtOAc (150 mL) e água (150 mL). A fase orgânica é separada e a fase aquosa é extraída com EtOAc (2 x 200 mL). Os extractos orgânicos combinados foram secos (MgSO_4), filtrado, e os solventes removidos sob pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 50 a 90 % éter em hexano) proporciona o material de partida que não reagiu (1,0 g, 6%) e os óleos desejados como uma mistura de diastereoisómeros ca 1:1 (15,5 g, 89%). $R_f =$

0,44 (sílica gel, 50% EtOAc em hexano); IV (filme fino) ν_{\max} 3387, 2952, 2928, 1252, 1080, 837, 777 cm^{-1} ; $^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, CDCl_3), 6,28 e 6,26 (singletos, 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 e 3,49-3,39 (m, 2H, total, CH_2OH), 3,33 e 3,15 (2 dupletos, $J=2,0$ e $3,5$ Hz, 1H total, CHOH), 2,46 e 2,45 (tripletos, $J=5,5$ e $5,5$ Hz, CH_2OH), 1,78 e 1,76 (singletos, 3H total), 1,63-1,60 e 1,58-1,53 (m, 2H total, CH_2), 0,88 e 0,87 (singletos, 9H total, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,08 e 0,07 (singletos, 3H total, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,01 e 0,00 (singletos, 3H total, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calculado $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{IO}_3\text{Si}(\text{M}+\text{Na}^+)$ 409,0672 encontrado 409,0662.

Os dióis (obtidos como descrito acima) (23,3 g, 60,2 mmol, 1,0 equiv.) são dissolvidos numa mistura de MeOH (400 mL) e água (200 mL) e a solução é arrefecida a 0°C . Em seguida adiciona-se NaIO_4 (77,2 g, 361,1 mmol, 6,0 equiv.) em pequenas porções durante 5 minutos, e a mistura resultante é agitada vigorosamente durante 30 minutos a 25°C . Uma vez completa a reacção, a mistura é partilhada entre CH_2Cl_2 (500 mL) e água (500 mL) e a fase orgânica separada. A fase aquosa é extraída com CH_2Cl_2 (500 mL) e os extractos orgânicos combinados são lavados com solução saturada de cloreto de sódio (1L), seca (MgSO_4) e concentrado sob pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 17 a 50% éter em hexano) proporciona o aldeído **26** como um óleo (19,6 g, 92%). $R_f = 0,35$ (sílica gel, 20% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} -34,1$ (c 2,8, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{\max} 2954, 2928, 2885, 2856, 1728, 1471, 1279,

1254, 1091, 838, 777, 677 cm^{-1} ; ^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3) 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, (CHO) CH_2), 2,44 (ddd, $J = 16,0, 4,0, 2,5$ Hz, 1H, (CHO) CH_2), 1,80 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,85 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,05 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$; HRMS (FAB) calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{IO}_2\text{Si}(\text{M}+\text{Na}^+)$ 377,0410 encontrado 377,0402.

Éster metílico 28 como ilustrado Esquema 7. Uma mistura de aldeído **26** (19,6 g, 55,2 mmol, 1,0 equiv.) e intermediário estabilizado **27** (50,2 g, 134,0 mmol, 2,4 equiv.) [preparado a partir de 4-bromo-1-buteno por (i) formação do sal fosfônio; (ii) formação do anião com KHMDS; e (iii) desactivação com $\text{MeOC}(\text{OCl})$] (ver Marshall, J. A. *et. al.* J. Org. Chem. 51, 1735-1741 (1986) e Bestmann, H. J., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1965, 645-60) em benzeno (550 mL, 0,1 M) é aquecida a refluxo durante 1,5h. Após arrefecimento a 25°C , a mistura é filtrada e o solvente é removido sob pressão. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 9 a 17% éter em hexano) dá éster metílico 28 (24,5 g, 98%). $R_f = 0,37$ (sílica gel, 20% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} -7,25$ (c 1,6, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{max} 3078, 2952, 2920, 2856, 1720, 1462, 1434, 1276, 1253, 1208, 1084, 836, 776, 672 cm^{-1} ; ^1H -RMN (600 MHz, CDCl_3) 6,81 (dd, $J = 7,4, 7,4$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CCOOCH}_3$), 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, CH_2CHOSi), 1,77 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,85 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB) calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{IO}_3\text{Si}(\text{M}+\text{Cs}^+)$, 583,0142 encontrado 583,0159.

Álcool alílico 29 como ilustrado no Esquema 7. O éster metílico 28 (24,5 g, 54,3 mmol, 1,0 equiv.) é dissolvido em THF (280 mL) e a solução é arrefecida até -78°C . Adiciona-se DIBAL (163,0 mL, 1M em CH_2Cl_2 , 163 mmol, 3,0 equiv.) gota a gota a -78°C durante 50 minutos, e a mistura reaccional é agitada durante mais 80 minutos. A mistura reaccional é desactivada com solução aquosa saturada de tartarato de potássio-sódio (150 mL) e a mistura resultante é deixada a aquecer até 25°C durante 16 h. A fase orgânica foi separada e a fase aquosa é extraída com éter (3 x 250 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de cloreto de sódio (650 mL), secos (MgSO_4) e concentrados sob pressão. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 17 a 50% éter em hexano) dá álcool **29** (22,9 g, 100%). $R_f = 0,11$ (sílica gel, 20% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} -7,25$ (c 1,6, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{max} 3346, 3078, 2954, 2928, 2857, 1637, 1471, 1361, 1276, 1252, 1078, 1005, 836, 775, 674, 558 cm^{-1} ; ^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3) 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, CHSiO), 4,02 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H, CH_2OH), 2,85 (dd, $J = 15,0, 5,1$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2,85 (dd, $J = 15,0, 5,0$ Hz,

1H, CH₂CH=CH₂), 2,27 (ddd, J = 15,0, 6,5, 6,5 Hz, 1H, CH₂CHOSi), 2,25 (ddd, J = 15,0, 6,5, 6,5 Hz, 1H, CH₂CHOSi), 1,78 (s, 3H, CH=CCH₃), 0,88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0,02 (s, 3H, Si(CH₃)₂), -0,02 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB), calculado para C₁₇H₃₁IO₂Si(M+Cs⁺) 555,0192 encontrado 555,0177.

Trifenilmetiléter 30 como ilustrado no Esquema 7.

O álcool 29 (23,5 g, 55,7 mmol, 1,0 equiv.) é dissolvido em DMF (300 mL, 0,15M) e adiciona-se 4.DMAP (11,3g 92,5 mmol, 1,7 equiv.) e cloreto de tritilo (22,1 g, 79,3 mmol, 1,4 equiv.). A mistura reaccional é agitada a 80°C durante 21h, arrefecida à temperatura ambiente e o solvente é removido sob pressão reduzida. O resíduo resultante é purificado por cromatografia em coluna "flash" para dar o éter requerido 30 como um óleo (35,3g, 95%). $R_f = 0,88$ (sílica gel, 20% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} - 0,74$ (c 0,3, CHCl₃); IV (filme fino) ν_{max} 3058, 2927, 2854, 1488, 1470, 1448, 1250, 1082, 836, 702, 632 cm⁻¹; ¹H-RMN (600 MHz, CDCl₃) 7,45-7,43 (m, 5H, Ph), 7,32-7,21 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,61 (m, 2H, CH=CH₂, CH=CH₂), 4,87 (m, 2H, CH=CH₂, CH(C)CH₂OTr), 4,19 (dd, J = 6,8, 6,8 Hz, 1H, CHOSi), 3,46 (s, 2H, CH₂OTr), 2,78 (dd, J = 15,4, 6,7 Hz, 1H, CH₂CH=CH₂), 2,73 (dd, J = 15,4, 6,3 Hz, 1H, CH₂CH=CH₂), 2,33 (ddd, J = 14,5, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH₂CHOSi), 2,31 (ddd, J = 14,5, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH₂CHOSi), 1,80 (s, 3H, CH=CCH₃), 0,87 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0,04 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,00 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB) calculado para C₃₆H₄₅IO₂Si(M+Cs⁺), 797,1288 encontrado 797,1309.

Álcool 31 como ilustrado no Esquema 7. A olefina **30** (35,3 g, 53,1 mmol, 1,0 equiv.) é dissolvida em THF (53 mL, 1,0 M) e a solução é arrefecida a 0°C. O 9-BBN (149 mL, 0,5 M em THF, 74,5 mmol, 1,4 equiv.) é adicionado gota a gota durante 1,5 h e a mistura resultante é agitada durante 9h a 0°C. A solução NaOH aquosa (106 mL de uma solução 3N, 319,0 mmol, 6,0 equiv.) é adicionada, seguida de H₂O₂ (32 mL, 30% p/p em água, 319 mmol, 6,0 equiv.). A agitação é continuada durante 1 h a 0°C, após o que a mistura reaccional é diluída com éter (500 mL) e (água (500mL). A fase orgânica é separada e a fase aquosa é extraída com éter (2 x 500 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de cloreto de sódio (1L), secos (MgSO₄) e concentrado sob pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 60% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22}$ -3,5 (c 0,2, CHCl₃); IV (filme fino) ν_{\max} 3380, 3032, 2926, 2855, 1489, 1449, 1278, 1251, 1078, 835, 706, 632 cm⁻¹; 1H-RMN (500 MHz, CDCl₃) 7,47-7,45 (m, 5H, Ph), 7,32-7,22 (m, 10H, Ph), 6,22 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,58 (dd, J = 7,1 7,1 Hz, 1H, C=CHCH₂), 4,22 (dd, J = 6,8 6,0 Hz, 1H, CHOSi), 3,52 (bm, 2H, CH₂OH), 3,50 (s, 2H, CH₂OTr), 2,33 (dd, J = 14,5, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH₂CHOSi), 2,28 (ddd, J= 14,5, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH₂CHOSi), 2,14 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂OH), 1,82 (s, 3H, CH=CCH₃), 1,46 (m, 2H, CH₂CH₂OH), 0,90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0,06 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,02 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB) calculado para C₃₆H₄₇IO₃Si(M+Cs⁺) 815,1394 encontrado 815,1430.

Iodeto 32 como ilustrado no Esquema 7. Uma solução do álcool **31** (34,6g, 50,73 mmol, 1,0 equiv.) numa mistura de éter (380 mL) e MeCN (127 mL) é arrefecida a 0°C. Adiciona-se imidazole (17,3g, 253,7 mmol, 5,0 equiv.) e PPh₃ (33,3 g, 126,8 mmol, 2,5 equiv.) e a mistura é agitada até os sólidos se dissolverem. Em seguida adiciona-se iodo (33,5 g, 131,9 mmol, 2,6 equiv.) e a mistura é agitada durante 45 minutos durante a 0°C. A reacção é desactivada por adição de solução aquosa saturada de Na₂S₂O₃ (150 mL) e as camadas foram separadas. A fase aquosa é então extraída com éter (2 x 250 mL) e os extractos orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de cloreto de sódio (750 mL), secos (MgSO₄) e concentrados sob pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 5 a 9% éter em hexano) dá o iodeto **32** (39,2 g, 97%). $R_f = 0,88$ (sílica gel, 60% éter em hexano); $[\alpha]^{22}_D -2,9$ (c 2,6, CHCl₃); IV (filme fino) ν_{max} 3057, 2926, 2855, 1481, 1448, 1251, 1083, 939, 836, 774, 706, 632 cm⁻¹; ¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7,49-7,45 (m, 5H, Ph), 7,33-7,23 (m, 10, Ph), 6,23 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,67 (dd, J= 7,2, 7,1 Hz, 1H, CH₂C=CH), 4,22 (dd, J = 6,8, 6,8 Hz, 1H, CHOSi), 3,51 (s, 2H, CH₂OTr), 3,07 (dd, J= 7,1, 7,0 Hz, 2H, CH₂I), 2,34 (ddd, J=14,5, 6,8, 6,8 Hz; 1H, CH₂CHOSi), 2,25 (ddd, J= 14,5, 6,8, 6,8 Hz, CH₂CHOSi), 2,13 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂I), 1,84 (s, 3H, CH=CCH₃), 1,75 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂I), 0,90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0,07 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,02 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB) calculado para C₃₆H₄₆IO₂Si (M+Cs⁺) 925,0411 encontrado 925,0450.

Hidrazona 33 como ilustrado no Esquema 7.

Adiciona-se diisopropilamina (5,6 mL, 35,28 mmol, 1,4 equiv.) a uma solução de *n*-BuLi (22,0 mL, 1,6M em hexano, 35,28 mmol, 1,4 equiv.) em 32 mL de THF a 0°C e agitada durante 1h. A hidrazona SAMP do propionaldeído (5,6 g, 32,76 mmol, 1,3 equiv.) em THF (16 mL), é adicionada a uma solução preparada de fresco de LDA a 0°C. Após agitação aquela temperatura durante 16 h, a solução amarela resultante é arrefecida a -100°C, e a solução de iodeto 32 (20,0g, 25,23 mmol, 1,0 equiv.) em THF (32 mL) é adicionada gota a gota durante 2h. A mistura é deixada aquecer até -20°C durante 20h e em seguida vertida numa solução aquosa saturada de NH₄Cl (50 mL) e extraída com éter (3 x 100 mL). O extracto combinado é seco (MgSO₄), filtrado e evaporado. A purificação por cromatografia em coluna flash de sílica gel (5 a 50% éter em hexano) proporciona a hidrazona **33** (15,0 g, 71%) como um óleo amarelo. $R_f = 0,63$ (sílica gel, 40% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} -22,7$ (c 0,2, CHCl₃); IV (filme fino) ν_{max} 3057, 2927, 2854, 1489, 1448, 1251, 1078, 940, 836, 775, 706, 668, 632 cm⁻¹; ¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7,46-7,44 (m, 5H, Ph), 7,31-7,21 (m, 10H, Ph), 6,40 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H, N=CH), 6,21 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,50 (dd, $J = 7,0, 7,0$ Hz, 1H, CH₂C=CH), 4,20 (dd, $J = 6,0, 6,0$ Hz, 1H, CHOSi), 3,54 (dd, $J = 9,2, 3,5$ Hz, 1H, CH₂OCH₃), 3,45 (s, 2H, CH₂OTr), 3,41 (dd, $J = 9,5, 7,0$ Hz, 1H, CH₂OCH₃), 3,37 (s, 3H, CH₂OCH₃), 3,32-3,30 (m, 2H, CH₂N), 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, CH=CCH₃), 1,38-1,21 (m, 4H), 0,96 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H, CHCH₃), 0,89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0,06 (s, 3H,

Si(CH₃)₂), 0,01 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB) calculado para C₄₅H₆₃IN₂O₃Si (M+Cs⁺) 967,2707 encontrado 967,2740.

Nitrilo 34 como ilustrado no Esquema 7. O sal de magnésio do ácido monoperoxiftálico (MMPP.6H₂O, 80%, 52,4 g, 84,8 mmol, 2,5 equiv.) é adicionado em pequenas porções durante 10 minutos a uma solução de hidrazona **33** (28,3g, 33,9 mmol, 1,0 equiv.) agitada rapidamente numa mistura de MeOH (283 mL), THF (100 mL) e tampão fosfato a pH 7 (283 mL) a 0°C. A mistura é agitada a 0°C durante 1,5h e então mais THF (120 mL) é adicionado em duas porções durante 30 minutos para ajudar a dissolver o material de partida. Após agitação durante mais 1,5h a mistura reaccional é vertida numa solução aquosa saturada de NaHCO₃ (550 mL) e o produto é extraído com éter (750 mL) e em seguida EtOAc (2 x 750 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de cloreto de sódio (1L), seco (MgSO₄) e concentrado a pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 9 a 20% éter em hexano) dá o nitrilo **34** como um óleo incolor (21,8 g, 89%). $R_f = 0,44$ (sílica gel, 20% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} +2,9$ (c 1,2, CHCl₃); IV (filme fino) ν_{max} 3057, 2928, 2855, 2238, 1489, 1490, 1448, 1252, 1081, 836, 775, 707, 632 cm⁻¹; ¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7,47-7,45 (m, 5H, Ph), 7,33-7,23 (m, 10H, Ph), 6,22 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,56 (dd, J= 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH₂C=CH), 4,21 (dd, J= 6,8, 6,8 Hz, 1H, CHOSi), 3,49 (s, 2H, CH₂OTr), 2,48 (m, 1H, CH(CH₃)), 2,29 (ddd, J = 14,5, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH₂CHOSi), 2,24 (ddd, J = 14,5, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH₂CHOSi), 2,07 (m, 2H, CH(C)H₂OTr), 1,82 (s, 3H, CH=CCH₃), 1,58-1,23

(m, 4H), 1,24 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, CHCH₃), 0,90 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0,07 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,0 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB) calculado para C₃₉H₅₀INO₂Si(M+Cs⁺), 852,1710 encontrado 852,1783.

Aldeído 35 como ilustrado no Esquema 7. O nitrilo **34** (7,01 g, 9,74 mmol, 1,0 equiv.) é dissolvido em tolueno (195 mL, 0,005 M) e arrefecido a -78°C. Adiciona-se DIBAL (29,2 mL, 1,0 M em tolueno, 29,2 mmol, 3,0 equiv.) gota a gota a -78°C durante 10 minutos. A mistura reaccional é agitada a -78°C até se verificar que está completa por TLC (1 h). o metanol (10 mL) e HCl (10 mL, 1,0N e, água) são sequencialmente adicionados e a mistura resultante é deixada até atingir os 0°C durante 1h. em seguida são adicionados éter (250 mL) e água (250 mL) e as fases são separadas. A fase orgânica é extraída com éter (2 x 250 mL) e os extractos combinados são lavados com solução saturada de cloreto de sódio (500 mL), seco (MgSO₄) e concentrado sob pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 17 a 33% éter em hexano) dá o aldeído **35** como um óleo (6,18 g, 88%). $R_f = 0,51$ (silica gel, 20% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} +2,0$ (c 0,3, CHCl₃); IV (filme fino) ν_{max} 3057, 2927, 2855, 1726, 1490, 1448, 1251, 1081, 836, 775, 707, 632 cm⁻¹; ¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 9,51 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H, CHO), 7,46-7,45 (m, 5H, Ph), 7,32-7,22 (m, 10H, Ph), 6,20 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,54 (dd, $J = 7,0, 7,0$ Hz, 1H, CH₂C=CH), 4,20 (dd, $J = 6,5, 6,0$ Hz, 1H, CHOSi), 3,47 (s, 2H, CH₂OTr), 2,34-2,20 (m, 3H, CH₂CHOSi e CH(CH₃)), 2,04 (m, 2H, CH₂(C)CH₂OTr), 1,82 (s, 3H, CH=CCH₃), 1,66 (m, 1H),

1,30-1,19 (m, 3H), 1,02 (d, $J=7,0$ Hz, 3 H, CHCH₃), 0,89 (s, 9h, SiC(CH₃)₃), 0,06 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,00 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB), calculado C₃₉H₅₁IO₃Si (M+Cs⁺) 855,1707 encontrado 855,1672.

Tris-(éteres silílicos) 37 e 38 ilustrados no Esquema 8. Uma solução de cetona **36** (ver Nicolau, K. C. et. al. , J. Am. Chem. Soc. 119, 7974-91 (1997) (1,20 g, 2,99 mmol, 1,4 equiv.) em THF (4,3 mL) é adicionada gota a gota durante 5 minutos a uma solução de LDA preparada de fresco [diisopropilamina (424 μ L, 3,03 mmol, 1,45 equiv.) é adicionada a *n*-BuLi (2,00 mL, 1,52 M em hexano, 3,04 mmol, 1,45 equiv.) a 0°C e após 5 min em THF (4,3 mL) é adicionada] a -78°C. Após agitação durante 1,5h a -78°C, a solução é deixada aquecer até -40°C durante um período de tempo de 30 min. A mistura reaccional é então arrefecida a -78°C e a solução do aldeído **35** (1,51 g, 2,09 mmol, 1,0 equiv.) em THF (12,5 mL) é adicionada gota a gota durante 15 minutos. A mistura reaccional resultante é agitada durante 1 h a -78°C, e em seguida desactivada por adição gota a gota de uma solução aquosa saturada de AcOH (3,1 mL de solução 1M em THF, 3,10 mmol, 1,5 equiv.). A mistura é em seguida aquecida a 25°C e partilhada entre éter (25 mL) e solução aquosa saturada de NH₄Cl (25 mL). A fase aquosa é extraída com éter (3 x 25 mL) e os extractos orgânicos combinados são secos (MgSO₄) e concentrados a pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 4 a 20% éter em hexano) proporciona cetona que não reagiu (502 mg, 42%), produto aldol indesejado **38** (705 mg, 27%) e

a mistura do desejado produto aldol **37** e aldeído que não reagiu **35** [1,136 g, (razão **37:35** ca 9:1 por $^1\text{H-RMN}$)] (i.e. 39% de rendimento do **37**). A mistura é utilizada directamente no próximo passo. **37**: (maioritário) (obtido como um óleo incolor a partir da mistura contendo **35**, por cromatografia em coluna flash de sílica gel, (10 a 17% EtOAc em hexano. $R_f = 0,22$ (sílica gel, 10% éter em hexano); $[\alpha]^{22}_D -20,0$ (c 0,3, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{\max} 3486, 2954, 2828, 2856, 1682, 1472, 1448, 1253, 1090, 994, 836, 775, 706, 668, 632 cm^{-1} ; $^1\text{H-RMN}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 7,75-7,43 (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, $\text{CH}(\text{CH}_3)_3$), 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) calculado para $\text{C}_{60}\text{H}_{97}\text{IO}_6\text{Si}_3$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$) 1257,4639 encontrado 1257,4639. **38**: (minoritário) óleo incolor; $R_f = 0,38$ (sílica gel, 20% éter em hexano); $[\alpha]^{22}_D -11,9$ (c 2,9, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{\max} 3501, 2954, 2930, 2856, 1682, 1469, 1254, 1088, 836, 776, 705, 670 cm^{-1} ; $^1\text{H-RMN}$ (500 MHz,

CDCl₃) δ 7,46-7,44 (m, 5H, Ph), 7,31-7,21 (m, 10H, Ph), 6,21 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,52 (dd, J= 7,0, 6,9 Hz, 1H, C=CHCH₂), 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, CH₂OSi), 3,60 (m, 1H, CH₂OSi), 3,46 (s, 2H, CH₂OTr), 3,30-3,21 (m, 2H, CHOH, CH₃CH(C=O)), 2,30-2,25 (m, 2H, C=CHCH₂CHOSi), 2,05-1,93 (m, 2H, CH₂C(CH₂OTr)=CH), 1,81 (s, 3H, CH=C(CH₃)), 1,63 (m, 1H, CH(CH₃)), 1,45 (m, 2H), 1,24 (,2H), (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,05 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,01 (d, J= 6,9 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,92 (s, 18H, SiC(CH₃)₃), 0,89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0,88 (dupleteo pouco definido, 3H, CH(CH₃)), 0,88 (s, 18H, SiC(CH₃)₃), 0,01 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,07 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,06 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,04 (s, 6H, Si(CH₃)₂), 0,01 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB) calculado para C₆₀H₉₇IO₆Si₃ (M+Cs⁺), 1257,4692 encontrado 1257,4749.

Tetra-éter silílico 39 como ilustrado no Esquema

8. O álcool **37** (1,136 g de uma mistura 9:1 com aldeído **35**, 0,933 mmol) é dissolvido em CH₂Cl₂ (5,0 mL), arrefecido a -20°C e tratado com 2,6-lutidina (470 µL, 4,04 mmol, 4,3 equiv.) e terc-butildimetilsililtrifluorometanossulfonato (695 µL, 3,03 mmol, 3,2 equiv.). A mistura é então agitada durante 2,5 h com aquecimento lento a 0°C. A reacção é desactivada com solução aquosa saturada de NaHCO₃ (25mL) e a fase aquosa é extraída com éter (3 x 25 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de cloreto de sódio (250 mL), seca (MgSO₄) e concentrada a pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 4 a 9% de éter em hexano) dá o tetra-sililéster **39**

como um óleo incolor (1,04 g, 90%). $R_f = 0,91$ (silica gel, 20% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} -16,8$ (c 0,7, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{max} 3058, 2951, 2856, 1693, 1471, 1253, 1079, 1004, 836, 706 cm^{-1} ; $^1\text{H-RMN}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 7,46-7,43 (m, 5H, Ph), 0,29-7,19 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,49 (dd, $J = 7,0, 7,0$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CH}(\text{CH}_2)$), 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, $J = 9,6, 4,8$ 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, 24Hm $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), calculado para $\text{C}_{66}\text{H}_{111}\text{IO}_6\text{Si}_4(\text{M}+\text{Cs}^+)$, 1371,5557 encontrado 1371,5523

Álcool 40 como ilustrado no Esquema 8. A uma solução de tetra-siliéter 39 (180 mg, 0,145 mmol) em THF (1,5 mL) a 0°C é adicionado $\text{HF}\cdot\text{pir.}$ numa mistura de piridina/THF (preparada a partir de uma solução contendo 420 μL $\text{HF}\cdot\text{pir.}$, 1,14 mL e 2,00 mL THF) (1,5 mL) e a solução resultante é agitada durante 2h a 0°C . Mais $\text{HF}\cdot\text{pir.}$ em mistura de piridina/THF (0,5 mL) é em seguida adicionada e a agitação continuada por mais 1h a 0°C . A reacção é desactivada com a adição cuidadosa de uma solução aquosa

saturada de NaHCO_3 e o produto é extraído com EtOAc (3 x 25 mL). Os extractos orgânicos combinados são em seguida secos (MgSO_4) e concentrado a pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel 30% de éter em hexano) deu o álcool 40 como um óleo amarelo claro (137 mg, 84%). $R_f = 0,36$ (sílica gel, 40% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} -26,0$ (c 0,3, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{max} 3422, 2928, 2855, 1690, 1490, 1471, 1448, 1360, 1252, 1086, 1004, 986, 836, 774, 706 cm^{-1} ; $^1\text{H-RMN}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 7,44-7,42 (m, 5H, Ph), 7,29-7,20 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,49 (dd, $J=7,1, 7,1$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 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, CH_2OH), 3,45 (d, $J=11,7$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,42 (d, $J=11,7$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,06 (qd, $J=6,9, 6,9$ Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,28 (ddd, $J=14,7, 7,3, 3$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 2,22 (ddd, $J=14,7, 6,3, 6,3$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 1,98 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,79 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,56 (m, 2H), 1,24 (m, 3H), 1,18 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,03 (d, $J=6,9$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,97 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,87 (3 singletos, 27H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,81 (d, $J=6,7$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,10 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,04 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,03 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,00 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB) calculado para $\text{C}_{60}\text{H}_{97}\text{IO}_6\text{Si}_3$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$) 1257,4692 encontrado 1257,4780.

Aldeído 41 como ilustrado no Esquema 8. A uma solução de cloreto de oxalilo (150 μL , 1,72 mmol, 2,0 equiv.) em CH_2Cl_2 (10 mL) a -78°C é adicionado gota a gota DMSO (247 μL , 3,48 mmol, 4,0 equiv.). Após agitação durante

10 minutos a -78°C , uma solução de álcool 40 (960 mg, 0,853 mmol, 1,0 equiv.) em CH_2Cl_2 (810 mL) é adicionada gota a gota. A solução resultante é agitada a -78°C durante 1h, e em seguida adiciona-se Et_3N (714 μL , 5,12 mmol, 6,0 equiv.) e a mistura reaccional é deixada a aquecer até aos 25°C durante 30 minutos. Adiciona-se água (30 mL), e o produto é extraído com éter (3 x 40 mL). Os extractos orgânicos combinados são secos (MgSO_4) e em seguida concentrado sob pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 17 a 50 % éter em hexano) dá o aldeído **41** como um óleo incolor (943 mg, 98%). $R_f = 0,74$ (sílica gel, 40% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} -10,8$ (c 0,1, CHCl_3); IV (filme fino) ν_{max} 2928, 2855, 1728, 1690, 1471, 1448, 1260, 1252, 1085, 987, 836, 774, 706 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 9,74 (dd, $J=2,4, 1,5\text{Hz}$, 1H, CHO), 7,44-7,42 (m, 5H, Ph), 7,29-7,20 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,49 (dd, $J=7,0, 6,8\text{Hz}$, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 4,44 (dd, $J=6,3, 5,0\text{Hz}$, 1H, CHOSi), 4,18 (dd, $J=6,9, 6,4\text{Hz}$, 1H, CHOSi), 3,70 (dd, $J=7,2, 1,8\text{Hz}$, 1H, CHOSi), 3,45 (d, $J=11,4\text{Hz}$, 1H, CH_2OTr), 3,42 (d, $J=11,4\text{Hz}$, 1H, CH_2OTr), 3,05 (qd, $J=7,0, 7,0\text{Hz}$, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,49 (ddd, $J=17,0, 4,5, 1,4\text{Hz}$, CH_2CHO), 2,38 (ddd, $J=17,0, 5,4, 2,8\text{Hz}$, 1H, CH_2CHO), 2,27 (ddd, $J=14,0, 7,1, 7,1\text{Hz}$, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 2,23 (ddd, $J=14,5, 6,5, 6,5\text{Hz}$, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 1,98 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,79 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,27 (m, 4H), 1,19 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,12 (m, 1H), 1,00 (d, $J=6,8\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,98 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,87 (s, 27H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,80 (d, $J=6,7\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,07 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,03 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,03 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,00 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$);

HRMS (FAB), Calculado para $C_{60}H_{95}IO_6Si_3$ ($M+Cs^+$), 1255,4536 encontrado 1255,4561.

Ácido carboxílico 43 como ilustrado no Esquema 8.

A uma solução de aldeído **41** (943 mg, 0,839 mmol, 1,0 equiv.) em *t*-BuOH (38,5 mL) e H₂O (8,4 mL) e adiciona-se 2-metil-2-buteno (31,5 mL, 2M em THF, 63 mmol, 75 equiv.) e NaH₂PO₄ (250 mg, 2,08 mmol, 2,5 equiv.) seguida por NaClO₂ (380 mg, 4,20 mmol, 5,0 equiv.) e a mistura resultante é agitada a 25°C durante 40 minutos. Os voláteis são então removidos sob pressão reduzida e o resíduo é partilhado entre EtOAc (40 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (40 mL) e as fases são separadas. A fase aquosa é então extraída com EtOAc (3 x 40 mL), e os extractos combinados são secos (MgSO₄) e em seguida concentrados sob pressão reduzida. A coluna de cromatografia "flash" (sílica gel, 60% éter em hexano) dá o ácido carboxílico **42** como um óleo (956 mg, 100%). $R_f = 0,47$ (sílica gel, 40% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} -19,6$ (c 0,2, CHCl₃); IV (filme fino) ν_{max} 3389, 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, 10, Ph), 6,19 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,49 (dd, $J = 7,3, 7,1$ Hz, 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 e 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, 27H, Si(CH₃)₃), 0,80 (d, J = 6,8 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,07 (s, 3H, Si(CH₃)), 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) calculado para C₆₀H₉₅IO₇Si₃ (M+Cs⁺), 1271,4485 encontrado 1271,4550

Hidroxi-ácido 43 como ilustrado no Esquema 8. Uma solução de ácido carboxílico **42** (956 mg, 0,839 mmol, 1,0 equiv.) em THF (17 mL) a 0°C é tratada com TBAF (5,0 mL, 1,0 M em THF, 5,00 mmol, 6,0 equiv.) e a mistura é deixada aquecer até 25 °C durante 19 h. A reacção é então desactivada por adição de solução aquosa saturada de NH₄Cl (40 mL) e o produto é extraído com EtOAc (3 x 40 mL). Os extractos orgânicos combinados são secos (MgSO₄) e concentrado sob pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 5% MeOH em CH₂Cl₂) dá o hidroxi-ácido **43** como um óleo amarelo (817 mg, 95%). $R_f = 0,27$ (sílica gel, 5% MeOH em CH₂Cl₂); $[\alpha]_D^{22} -11,4$ (c 0,2, CHCl₃); IV (filme fino) 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= 12,1, 1H, CH₂OTr), 3,48 (d, J= 12,1 Hz, 1H, CH₂OTr), 3,06 (m, 2H, CH₃CH(C=O) e 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, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$), 2,07-1,97 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,85 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,71 (m, 1H), 1,39 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 1,27 (m, 3H), 1,18 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,02 (duplete mal definido, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 1,02 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,87 (s, 18H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,81 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,09 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,07 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,04 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB) calculado para $\text{C}_{54}\text{H}_{81}\text{IO}_7\text{Si}_2$ (M+Cs+), 1157,3620 encontrado 1157,3669.

Macrolactona 44 como ilustrado no Esquema 8. A uma solução de hidróxi-ácido **43** (1,06 g, 1,04 mmol, 1,0 equiv.) em THF (15 mL; 0,07 M) é adicionado Et_3N (870 μL , 0,24 mmol, 6,0 equiv.) e cloreto de 2,4,6-triclorobenzoílo (390 μL , 2,50 mmol, 2,4 equiv.). A mistura reaccional é agitada a 0°C durante 1,5h, e em seguida é adicionada lentamente durante um período de 2 h via uma seringa para puxar uma solução de 4-DMAP (280 mg, 2,29 mmol, 2,2 equiv.) em tolueno (208 mL, 0,005 M baseado em **43**) a 75°C . A mistura é agitada aquela temperatura por mais 0,5h e é em seguida concentrada sob pressão reduzida. O resíduo resultante é filtrado através de um leito de sílica gel eluindo com 50% éter em hexano. A cromatografia de coluna "flash" (sílica gel, 17% éter em hexano) dá macrolactona **44** como uma espuma incolor (877 mg, 84%). $R_f = 0,19$ (sílica gel, 10% éter em hexano); $[\alpha]_D^{22} -7,4$ (c 0,2, CHCl_3); IR (filme fino) 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, 10H, Ph),

6,39 (s, 1H, CH=CCH₃), 5,51 (dd, J= 9,5, 6,8 Hz, 1H, C=CHCH₂), 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, CH₂OTr), 3,42 (d, J= 11,5 Hz, 1H, CH₂OTr), 2,95 (dq, J= 8,7, 7,0 Hz, 1H, CH₃CH(C=O)), 2,72 (m, 2H, C=CHCH₂CHO e CH₂COO), 2,54 (dd, J= 16,2, 9,7 Hz, 1H, CH₂COO), 2,29 (m, 1H, C=CHCH₂CHO), 2,12 (dd, J= 14,3, 5,1 Hz, 1H, CH₂C(CH₂OTr)=CH), 1,98 (m, CH₂C(CH₂OTr)=CH), 1,88 (s, 3H, CH=C(CH₃)), 1,44-1,23 (m, 5H), 1,18 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,10 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1,07 (d, J= 6,8 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,92 (s, 9H, Si(CH₃)₃), 0,82 (d, J, = 6,9 Hz, 3H, CH(CH₃)), 0,72 (s, 9H, Si(CH₃)), 0,08 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,05 (s, 3H, Si(CH₃)₂), 0,05 (s, 3H, Si(CH₃)₂), -0,32 (s, 3H, Si(CH₃)₂); HRMS (FAB) calculado para C₅₄H₇₉IO₆Si₂(M+Cs+), 1139,3514 encontrado 1139,3459.

Triol 24 como ilustrado no Esquema 8. A uma solução de macrolactona **44** (608 mg, 0,604 mmol, 1,0 equiv.) em THF (45 mL) a 0°C e adicionado HF•pir. (15 mL). A mistura resultante é deixada aquecer até 25°C durante 15h e é então arrefecida a 0°C e desactivada por adição cuidadosa de solução aquosa saturada de NaHCO₃ (50 mL). O produto é então extraído com EtOAc (3 x 50 mL), e em seguida os extractos combinados foram secos (MgSO₄), e concentrados sob pressão reduzida. A cromatografia em coluna "flash" (sílica gel, 60% EtOAc em hexanos) dá o triol **24** como uma espuma incolor (280 mg, 86%). $R_f = 0,32$ (sílica gel, 60% EtOAc em hexano); $[\alpha]_D^{22} -32,1$ (c 0,2, CHCl₃); IV (filme fino) v_{max} 3413, 2923, 2857, 1731, 1686, 1461, 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) calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{IO}_6$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$) 669,0689 encontrado 669,0711.

Polimerização de tubulina e ensaios de citotoxicidade.

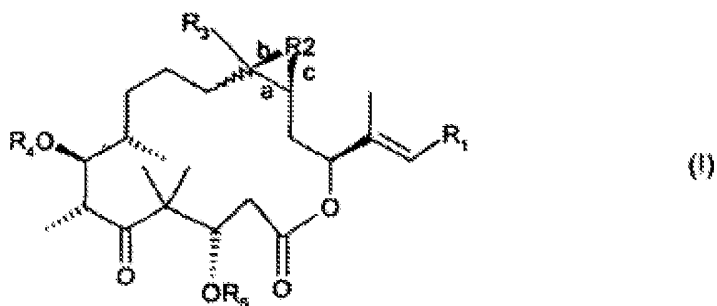
A polimerização de tubulina é determinada pelo método colorimétrico-filtração, desenvolvido por Bollag et Cancer Res. **1995**, 55, 2325-2333. A tubulina purificada (1 mg/mL) é incubada a 37°C durante 30 minutos na presença de cada um dos compostos (20 mM) em tampão MEM [(100mM ácido 2-(N-morfolino)etanossulfônico, pH 6,75, 1mM etilenoglicol bis(β -aminoetiléter), ácido N,N,N',N' -tetraacético, e 1 mM de MgCl_2]; a mistura é em seguida filtrada para remover a tubulina que não polimerizou utilizando uma placa de filtração de tamanho de poro 0,22 μm hidrofílica de 96 poços Durapore Multiscreen Millipore; a tubulina polimerizada recolhida é corada com solução de amido negra e quanti-

ficada pela medição da absorvância da solução do corante num Leitor de Microplacas Molecular Devices. O crescimento de todas as linhas de células é avaliado pela quantificação da proteína nas placas de 96 poços como descrito anteriormente. Rapidamente, são semeadas 500 células em cada poço das placas e incubadas com várias concentrações de epotilonas a 37°C e numa atmosfera húmida com 5% CO₂ durante quatro dias. Após fixação da célula com 50% de ácido tricloroacético, a densidade óptica correspondente à quantidade de proteínas é medida em solução de NaOH 25mM (50% metanol: 50% água) num comprimento de onda de 564 nm. A CI50 é definida como a dose de princípio activo requerida para inibir o crescimento das células em 50%.

Lisboa, 4 de Janeiro de 2007

REIVINDICAÇÕES

1. Composto representado pela formula I



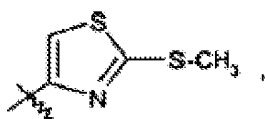
em que

a ligação ondulada indica que a ligação "a" é representada pela forma cis ou trans; (i) R_2 está ausente ou é oxigénio; "a" pode ser ou uma ligação simples ou dupla; "b" pode estar ausente ou ser uma ligação simples; e "c" pode estar ausente ou ser uma ligação simples, com a condição de que quando R_2 é oxigénio então "b" e "c" são ambos uma ligação simples e "a" é uma ligação simples; se R_2 está ausente então "b" e "c" estão ausentes e "a" é uma ligação dupla; e se "a" é uma ligação dupla, então R_2 , "b" e "c" estão ausentes;

R_3 é um radical seleccionado de um grupo consistindo de hidrogénio; alquilo inferior, especialmente metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, *terc*-butilo, n-pentilo, n-hexilo; $-CH=CH_2$; $-C\equiv CH$; $-CH_2F$; $-CH_2Cl$; $-CH_2-OH$; $-CH_2-O-(C_1-C_6\text{-alquilo})$, especialmente $-CH_2-O-CH_3$; e $-CH_2-S(C_1-C_6\text{alquilo})$, especialmente $-CH_2-S-CH_3$;

R_4 e R_5 são independentemente seleccionados de hidrogénio, metilo ou um grupo protector, preferencialmente hidrogénio, e

R_1 é um radical seleccionado das seguintes estruturas:



ou um sal de um composto de formula I onde um grupo que forma sal está presente.

2. Composto de formula I de acordo com a reivindicação 1, em que

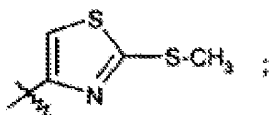
R_2 está ausente ou oxigénio; "a" pode ser ou uma ligação simples ou dupla; "b" pode estar ausente ou ser uma ligação simples; e "c" pode estar ausente ou ser uma ligação simples, com a condição de que quando R_2 é oxigénio então "b" e "c" são ambos uma ligação simples e "a" é uma ligação simples; se R_2 está ausente então "b" e "c" estão ausentes e "a" é uma ligação dupla; e se "a" é uma ligação dupla, então R_2 , "b" e "c" estão ausentes;

R_3 é um radical seleccionado de um grupo consistindo de hidrogénio; alquilo inferior, especialmente metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, *terc*-butilo, n-pentilo, n-hexilo; -CH=CH₂; -C≡CH; -

CH_2F ; $-\text{CH}_2\text{Cl}$; $-\text{CH}_2\text{-OH}$; $-\text{CH}_2\text{-O-(C}_1\text{-C}_6\text{-alquilo)}$, especialmente $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_3$; e $-\text{CH}_2\text{-S(C}_1\text{-C}_6\text{alquilo)}$, especialmente $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_3$;

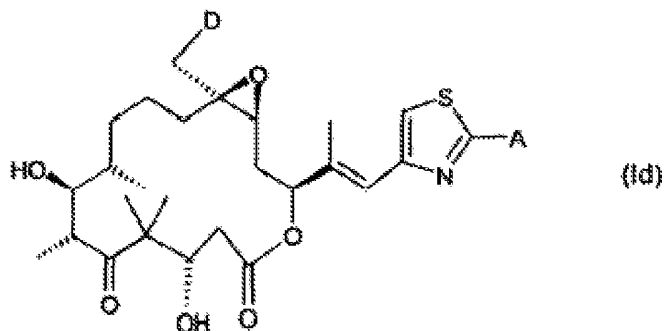
R_4 e R_5 são independentemente seleccionados de hidrogénio, metilo ou um grupo protector, preferencialmente hidrogénio, e

R_1 é um radical seleccionado das seguintes estruturas:



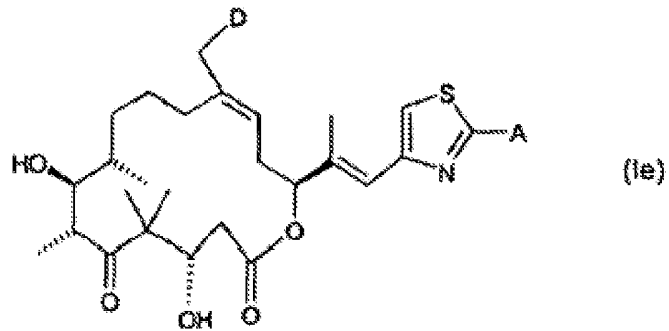
ou um sal de um composto de formula I onde um grupo que forma sal está presente.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1 de formula Id



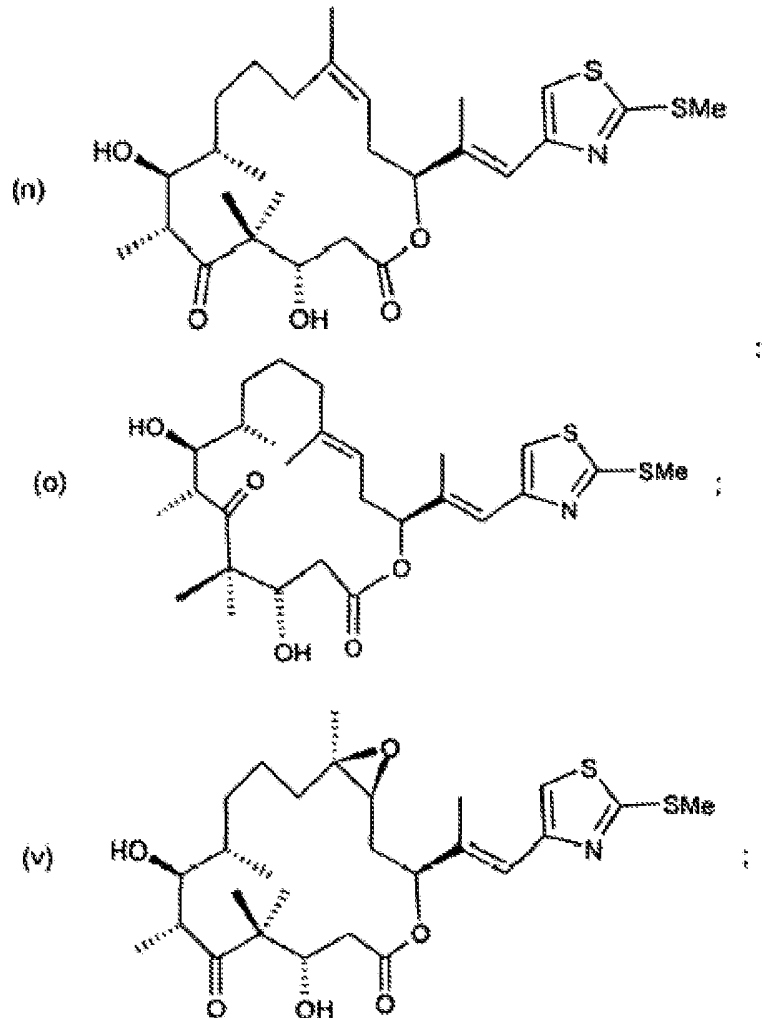
em que A é metiltio e D é hidrogénio, fluoro, hidroxilo ou metilo.

4. Composto de acordo com a reivindicação 1 de fórmula Ie



onde A é metiltio e D é hidrogénio, fluoro, hidroxilo ou metilo.

5. Composto de acordo com a reivindicação 1, seleccionado de um grupo consistindo de compostos com as seguintes fórmulas:



ou um seu sal farmacêuticamente aceitável onde o grupo que forma o sal está presente.

6. Formulação farmacêutica compreendendo um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 5 e um veículo farmacêuticamente aceitável.

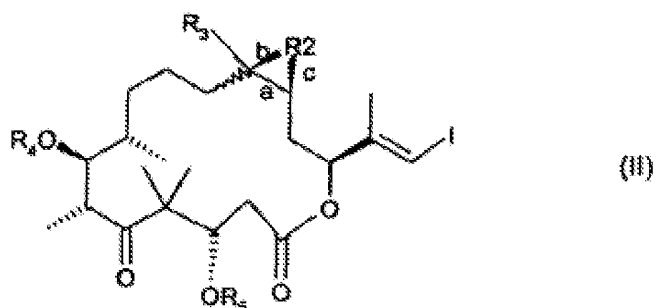
7. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 5 para utilização no tratamento de uma doença proliferativa.

8. Utilização de um composto de fórmula I de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5 para a manufactura de um medicamento para o tratamento de uma doença proliferativa.

9. Utilização de uma composição farmacêutica que é adequada para administração a um animal de sangue quente para o tratamento de uma doença proliferativa, compreendendo uma quantidade de um componente activo de fórmula I de acordo com a reivindicação 1, que é eficiente para o tratamento da referida doença proliferativa, juntamente com pelo menos um veículo farmacêuticamente aceitável.

10. Método para a síntese de um composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 1, compreendendo

a) acoplamento de um iodeto de fórmula II,

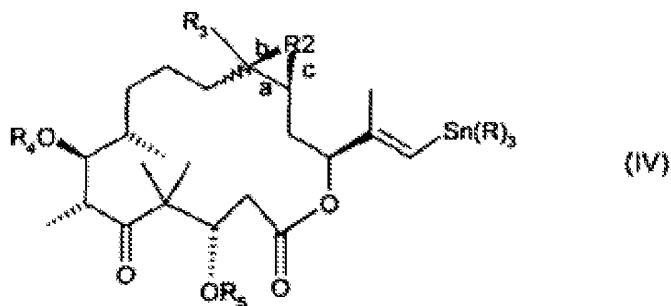


em que R_3 , R_4 , R_5 , a , b e c e a ligação ondulada tem o significado da fórmula I na reivindicação 1, com um composto de estanho de fórmula III,



em que R_1 tem o significado dado na fórmula I e R é alquilo C_1-C_7 , especialmente metilo e n-butilo, ou

b) acoplamento de um composto de estanho de fórmula IV,



em que R_3 , R_4 , R_5 , a , b e c e a ligação ondulada tem o significado da fórmula I, com um iodeto de fórmula V,

R_1 -I

(V)

em que R_1 tem o significado dado para a fórmula I na reivindicação 1;

e, se desejável, se converter um composto de fórmula I num composto diferente de fórmula I, se converter um composto livre resultante de fórmula I num sal de um composto de fórmula I, e/ou se converter um sal resultante de um composto de fórmula I num composto livre de fórmula I ou num sal diferente do composto de fórmula I, e/ou se separar uma mistura estereoisomérica de compostos de fórmula I nos isómeros correspondentes.

Lisboa, 4 de Janeiro de 2007