



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 315 399**

51 Int. Cl.:

A61K 31/365 (2006.01)

C07D 313/00 (2006.01)

C07D 417/06 (2006.01)

C07D 407/04 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02767418 .3**

96 Fecha de presentación : **22.08.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1420780**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.05.2004**

54 Título: **Análogos de epotilona ciclobutilo y ciclopropilo.**

30 Prioridad: **23.08.2001 US 314698 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2009

73 Titular/es: **Novartis AG.**
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

72 Inventor/es: **Nicolaou, Kyriacos, Costa;**
Namoto, Kenji;
Ritzen, Andreas;
Ulven, Trond;
Shoji, Mutsuru y
Altmann, Karl-Heinz

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

ES 2 315 399 T3

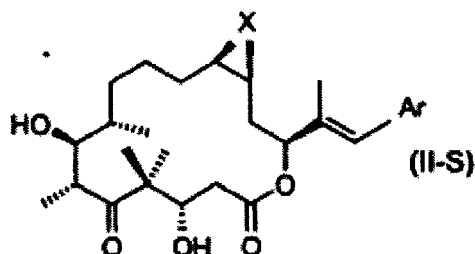
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

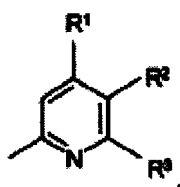
Análogos de epotilona ciclobutilo y ciclopropilo.

5 La invención se relaciona con análogos de epotilona. Más particularmente, la invención se dirige a análogos de epotilonas *cis*- y *trans*- 12,13- ciclopropilo y 12,13-ciclobutilo.

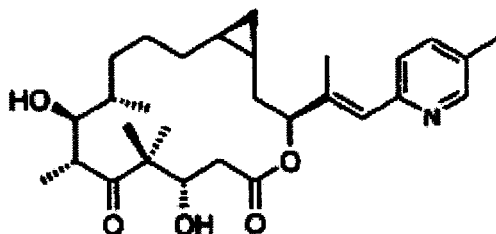
Un aspecto de la invención se dirige a compuestos representados por cualquiera de las siguientes estructuras:



20 en las anteriores estructuras, X es un diradical seleccionado del grupo que consiste de $-C(Y^1)(Y^2)-$, y $-C(Y^1)(Y^2)-C(Y^1)(Y^2)-$. Y^1 y Y^2 cada uno son radicales seleccionados independientemente del grupo que consiste de $-H$, $-F$, $-Cl$ y $-Br$. Ar es un radical representado por la siguiente estructura:



35 en la anterior estructura, R^1 forma una primera estructura de anillo fusionada con R^2 o es un radical seleccionado de $-H$ y un alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representado por $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))_n$, donde $1 \leq n \leq 6$. Z^1 , Z^2 , y Z^3 son cada uno un radical seleccionado independientemente del grupo que consiste de $-H$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-OH$, $-NH_2$, y $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))$. Sin embargo, existe una condición en que, si uno cualquiera de Z^1 , Z^2 , o Z^3 es $-OH$ o $-NH_2$, entonces cada uno de los Z^1 , Z^2 , y Z^3 restantes se seleccionan independientemente del grupo que consiste de $-H$ y $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))$. De manera similar, R^2 forma la primera estructura de anillo fusionada con R^1 o forma una segunda estructura de anillo fusionada con R^3 o es un radical seleccionado del grupo que consiste de $-H$ y un alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representada por $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))_n$, donde $1 \leq n \leq 6$. Z^1 , Z^2 , y Z^3 son como se definió anteriormente. De manera similar, R^3 forma la segunda estructura de anillo fusionada con R^2 o es un radical seleccionado del grupo que consiste de $-H$ y un alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representado por $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))_n$, donde $1 \leq n \leq 6$. De nuevo, Z^1 , Z^2 , y Z^3 son como se definió anteriormente. La primera o segunda estructura de anillo fusionada es un anillo aromático o heteroaromático de 5 o 6 miembros fusionado con o sin sustituyentes alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6. Las especies preferidas de este aspecto de la invención incluyen los siguientes ejemplos:



60 Otro aspecto de la invención se dirige a un reactivo antineoplásico que comprende cualquiera de los compuestos descritos anteriormente disueltos o suspendidos en un disolvente fisiológico adecuado para administración a un paciente. El compuesto tiene una concentración dentro del disolvente fisiológico suficiente para ser citotóxico a una célula neoplásica.

65 Otro aspecto de la invención se dirige a un proceso para matar una célula neoplásica que comprende la etapa de poner en contacto la célula neoplásica con una solución que contiene una concentración citotóxica de cualquier compuesto anteriormente descrito.

ES 2 315 399 T3

Adicionalmente, la presente invención pertenece al uso de un compuesto de la fórmula II-S o una sal o un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable de tal compuesto, en un método para el tratamiento del cuerpo humano o animal.

5 Adicionalmente, la presente invención pertenece al uso de un compuesto de la fórmula III-S o una sal o un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable de tal compuesto, para la preparación de un producto farmacéutico para el tratamiento de una enfermedad neoplásica.

10 El término “enfermedad neoplásica” se relaciona en particular con enfermedades de tumor líquido, como leucemia, y enfermedades de tumor sólido.

15 El término “enfermedad de tumor sólido” significa especialmente cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer del colon y en general el cáncer gástrico que incluye el tracto GI, cáncer de cuello uterino, carcinoma bronco pulmonar, por ejemplo cáncer bronco pulmonar de célula pequeña y cáncer bronco pulmonar de célula no pequeña, cáncer de páncreas, cáncer renal, glioma, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer de tiroides, cáncer hepatocelular, cáncer de próstata y sarcoma de Kaposi.

20 Más aún, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de una enfermedad neoplásica, que comprende administrar un compuesto de la fórmula II-S o una sal o un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable de tal compuesto, en una cantidad efectiva contra dicha enfermedad, a un animal de sangre caliente que requiera tal tratamiento.

25 Adicionalmente, la presente invención se relaciona con una preparación farmacéutica, que comprende un compuesto de la fórmula II-S o una sal o un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable de tal compuesto, y por lo menos un portador farmacéuticamente aceptable que sean adecuados para administración tópica, entérica, por ejemplo oral o rectal, o parenteral que pueda ser inorgánico u orgánico, sólido o líquido. Se utilizan para administración oral especialmente tabletas o cápsulas de gelatina que comprenden el ingrediente activo junto con diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, manitol, y/o glicerol, y/o lubricantes y/o polietilenglicol. Las tabletas también pueden comprender aglutinantes, por ejemplo silicato aluminio magnesio, almidones, tal como almidón de maíz, trigo o arroz, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona, y, si se desea, desintegrantes, por ejemplo almidones, agar, ácido alginico o una sal de éstos, tal como alginato de sodio, y/o mezclas efervescentes, o adsorbentes, tintes, saborizantes y endulzantes. También es posible utilizar los compuestos farmacológicamente activos de la presente invención en la forma de composiciones parenteralmente administrables o en la forma de soluciones de infusión. Las composiciones farmacéuticas se pueden esterilizar y/o pueden comprender excipientes, por ejemplo, preservantes, estabilizadores, agentes humectantes y/o emulsificantes, solubilizantes, sales para regular la presión osmótica y/o amortiguantes. Las presentes composiciones farmacéuticas, que pueden, si se desea, comprender otras sustancias farmacológicamente activas se preparan de una forma conocida *per se*, por ejemplo por medio de procesos convencionales de mezclado, granulación, confección, disolución o liofilización, y comprenden aproximadamente del 1% al 95%, especialmente desde aproximadamente 1% a aproximadamente 20%, ingrediente(s) activo(s).

40 La dosificación del ingrediente activo depende de una variedad de factores que incluyen tipo, especie, edad, peso, sexo y condición médica del paciente; la severidad de la afección que se va a tratar; la ruta de administración; la función renal y hepática del paciente; y el compuesto particular empleado. Un médico clínico o veterinario medianamente experto en la técnica pueden determinar y prescribir fácilmente la cantidad efectiva del fármaco requerido para evitar, contrarrestar o detener el progreso de la afección. La precisión óptima en alcanzar la concentración del fármaco dentro del rango que produce la eficacia sin toxicidad requiere un régimen basado en las cinéticas de la disponibilidad del fármaco en los sitios objetivo. Esto involucra una consideración de la distribución, equilibrio, y eliminación del fármaco.

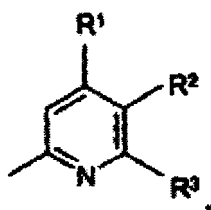
50 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar solos o en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticos, la terapia de combinación posible toma la forma de combinaciones fijas o la administración de un compuesto de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticos que se suministra en etapas o se da independientemente uno del otro, o la administración combinada de combinaciones fijas y uno o más de otros agentes terapéuticos. En particular, los compuestos de la presente invención se pueden administrar por ejemplo en el caso de terapia de tumor en combinación con quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia, intervención quirúrgica, o una combinación de estas. La terapia a largo plazo es igualmente posible como es la terapia adyuvante en el contexto de otras estrategias de tratamiento, como se describió anteriormente. Otros tratamientos posibles son la terapia para mantener el estado del paciente después de la regresión del tumor, o aún terapia quimiopreventiva, por ejemplo en pacientes en riesgo. Agentes terapéuticos para la combinación posible son especialmente uno o más compuestos antiproliferativos, citoestáticos o citotóxicos, por ejemplo un agente quimioterapéutico o varios agentes seleccionados del grupo que incluye, pero no se limita a, un inhibidor de biosíntesis de poliamina, un inhibidor de una proteína cinasa, especialmente de una proteína cinasa serina/treonina, tal como proteína cinasa C, o de una proteína cinasa tirosina, tal como el receptor tirosina cinasa EGF, por ejemplo, PKI166, el receptor de tirosina cinasa VEGF, por ejemplo, PTK787, o el receptor de tirosina cinasa PDGF, por ejemplo, STI571, una citocina, un regulador del factor de crecimiento negativo, tal como TGF- β o IFN- β , un inhibidor aromataasa, por ejemplo, letrosol o anastrozol, un inhibidor de la interacción del dominio SH2 con una proteína fosforilada, antiestrógenos, inhibidores de topoisomerasa I, tal como irinotecan, inhibidores de topoisomerasa II, agentes activos microtúbulo, por ejemplo, paclitaxel, discodermolida o una epitolona, agentes de alquilación, antimetabolitos antineoplásicos, tal como gemcitabina o capecitabina, compuestos de platino,

ES 2 315 399 T3

tal como carboplatina o cisplatina, compuestos anti-angiogénicos, agonistas de gonadorelina, anti-andrógenos, bifosfonatos, por ejemplo, AREDIA® o ZOMETA®, y trastuzumab. La estructura de los agentes activos identificados por los números de código genéricos o nombres comerciales se pueden tomar de la edición actual del compendio estándar "The Merck Index" o de bases de datos, por ejemplo, Patents International (por ejemplo, IMS World Publications). El contenido correspondiente de éstos se incorpora aquí como referencia.

Otro aspecto de la invención es un proceso para sintetizar cualquiera de los compuestos descritos anteriormente o sus intermedios, como se describe en esta especificación, en particular

(a) un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula I, en donde X es un diradical seleccionado del grupo que consiste de -O-, -C(Y¹)(Y²)-, y -C(Y¹)(Y²)-C(Y¹)(Y²)-, Y¹ y Y² son cada uno radicales seleccionados independientemente del grupo que consiste de -H, -F, -Cl y -Br; y Ar es un radical representado por la siguiente estructura:

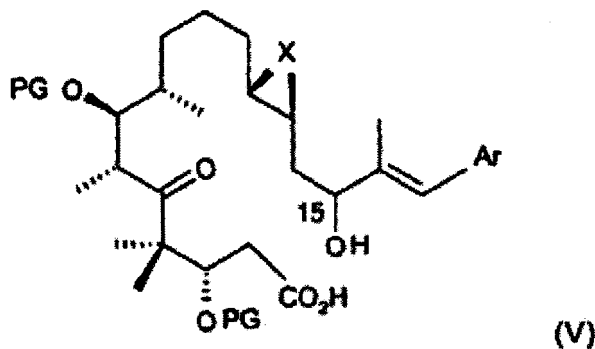


en donde

R¹ forma una primera estructura de anillo fusionada con R² o es un radical seleccionado de -H y un alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representado por -(C(Z¹)(Z²)(Z³))_n, donde 1 ≤ n ≤ 6 y Z¹, Z², y Z³ cada uno es un radical seleccionado independientemente del grupo que consiste de -H, -F, -Cl, -Br, -OH, -NH₂, y -(C(Z¹)(Z²)(Z³)), con una condición que, si uno cualquiera de Z¹, Z², o Z³ es -OH o -NH₂, entonces cada uno de los Z¹, Z², y Z³ restantes se seleccionan independientemente del grupo que consiste de -H y -(C(Z¹)(Z²)(Z³));

R² forma la primera estructura de anillo fusionada con R¹ o forma una segunda estructura de anillo fusionada con R³ o es un radical seleccionado del grupo que consiste de -H y un alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representado por -(C(Z¹)(Z²)(Z³))_n, donde 1 ≤ n ≤ 6 y Z¹, Z², y Z³ cada uno es un radical seleccionado independientemente del grupo que consiste de -H, -F, -Cl, -Br, -OH, -NH₂, y -(C(Z¹)(Z²)(Z³)), con una condición que, si uno cualquiera de Z¹, Z², o Z³ es -OH o -NH₂, entonces cada uno de los Z¹, Z², y Z³ restantes se seleccionan independientemente del grupo que consiste de -H y -(C(Z¹)(Z²)(Z³));

R³ forma dicha segunda estructura de anillo fusionada con R² o es un radical seleccionado del grupo que consiste de -H y un alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representado por -(C(Z¹)(Z²)(Z³))_n, donde 1 ≤ n ≤ 6 y Z¹, Z², y Z³ cada uno es un radical seleccionado independientemente del grupo que consiste de -H, -F, -Cl, -Br, -OH, -NH₂, y -(C(Z¹)(Z²)(Z³)), con una condición que, si uno cualquiera de Z¹, Z², o Z³ es -OH o -NH₂, entonces cada uno de los Z¹, Z², y Z³ restantes se seleccionan independientemente del grupo que consiste de -H y -(C(Z¹)(Z²)(Z³)); dicha primera o segunda estructura de anillo fusionada es un anillo aromático o heteroaromático fusionado de 5 o 6 miembros con o sin sustituyentes alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6; y el centro estereogénico en la posición 15 puede tener una configuración R o S, en donde un compuesto de la fórmula V



en donde X y Ar tienen el significado como se definió anteriormente para un compuesto de la fórmula I y PG es un grupo protector para una función hidroxilo, en una primera etapa se condensa mediante una reacción de esterificación, opcionalmente en la presencia de un catalizador, y en una segunda etapa el grupo protector se desprende presentando así una lactona de la fórmula I; y

ES 2 315 399 T3

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 ilustra la estructura de las epotilonas y análogos de epotilona preferidos.

5 La Figura 2 ilustra el análisis retrosintético utilizado para la síntesis química de los análogos de epotilona 12,13-cicloalcano tiazol 3-8 diseñados.

La Figura 3 ilustra un esquema que muestra la preparación del elemento fundamental 13.

10 La Figura 4 ilustra un esquema que muestra la síntesis de aldehído 14.

La Figura 5 ilustra un esquema para la síntesis de aldehídos de elemento fundamental 15 y 16.

15 La Figura 6 ilustra un esquema que ilustra la síntesis de yoduro de vinilo tiazol 17.

La Figura 7 y 8 ilustran un esquema que muestra la síntesis de análogos de epotilona 3, 5 y 7.

La Figura 9 y 10 ilustra un esquema que muestra la síntesis de los análogos de epotilona cis-ciclobutilo 4 y 6.

20 La Figura 13 ilustra el análisis retrosintético de fragmentos clave para análogos de epotilona 9-12.

La Figura 14 ilustra un esquema para la síntesis de alcoholes 85 y 86.

25 La Figura 15 ilustra la síntesis del yoduro de piridino 87.

La Figura 16 y 17 ilustran un esquema para la síntesis de aldehídos precursores 107 y 113.

La Figura 18 y 19 ilustran la síntesis de análogos de piridino ciclopropilo de epotilona 9, 10, 11 y 12.

30

Síntesis Química

Análogos de Epotilona Piridino. Algunos de los análogos de epotilona más activos preparados hasta la fecha incluyen dentro de sus estructuras una cadena lateral piridino como un reemplazo para el grupo funcional tiazol de sustancias de ocurrencia natural (Nicolaou, K. C.; *et al.* Chem. Biol. 2000, 7, 593-599). Dados los resultados preliminares promisorios con el análogo de epotilona ciclopropano 3, pensamos que al combinar estas dos modificaciones estructurales puede resultar en compuestos altamente activos a pesar de la ausencia del oxígeno epóxido. Tales compuestos (por ejemplo, 9-12, Figura 1) pueden ser metabólicamente más estables que conducen a mayor tiempo de vida *in vivo* y menor toxicidad. En un esfuerzo para mejorar la síntesis general de estos compuestos, y con el fin de acomodar la preparación futura de otros análogos de cadena lateral modificados por vía de una estrategia convergente, se diseña un esquema ligeramente diferente para su síntesis total basado en el análisis retrosintético mostrado en el Esquema 9. La estrategia concebida para la construcción de las epotilonas cicloalcano piridino (9-12) es similar a aquella utilizada para la síntesis total de sus contrapartes tiazol excepto para la reversión del orden de acoplamiento de los fragmentos. Así, la reacción aldol de elementos fundamentales 84 y 85 con cetona 18 precederán ahora el acoplamiento Nozaki-Hiyama-Kishi con yoduro de vinilo 86.

Los elementos fundamentales requeridos 85 y 86 se preparan como se muestran en el Esquema 10. Una reacción Wittig entre el ylid derivado de la sal de fosfonio enantioméricamente pura 21 y NaHMDS-TMSCl, y el aldehído comercialmente disponible 87 (68% de rendimiento), seguido por protección del alcohol resultante 88 como su éter TBDPS (TBDPSCI-imid.), produce el alcano 89 con 89% de rendimiento. La hidrogenación del enlace doble en 89 con la división concomitante del bencil éter da el alcohol primario 90 con 75% de rendimiento. Este compuesto (90) se convierte luego en el yoduro correspondiente (91) con 93% de rendimiento por exposición al I₂/PPH₃. El acoplamiento de 92 con el alquino 92 (*n*-BuLi, 72% de rendimiento), seguido por remoción del grupo TBS (BF₃·OEt₂) del alquino resultante 93, produce el alcohol propargílico 94 (89% de rendimiento). Este compuesto se utiliza como un precursor común para preparar ambos análogos de epotilona *cis*- y *trans*-ciclopropil piridino (9-12). La síntesis de las series *cis* de compuestos comienza con una reducción de boruro de níquel (Taber, D. F.; *et al.* J. Org. Chem. 1997, 62, 194-198) de alquino 94 para dar olefina *cis* 95 con 95% de rendimiento (Esquema 10), mientras que el alqueno *trans* correspondiente (97) se prepara del mismo intermedio (94) por vía de reducción con LiAlH₃(OMe) (Ashby, E. C.; *et al.* J. Am. Chem. Soc. 1975, 97, 3158-3162)(83% de rendimiento). La ciclopropanación Charette (Charette, A. B.; *et al.* J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 11943-11952) de 95 y 97 produce los ciclopropanos 96 (99% de rendimiento) y 98 (93%) en >95% de, como se juzga por análisis espectroscópico ¹H RMN de los ésteres Mosher correspondientes (Dale, J. A.; Dull, D. L.; Mosher, H. S. J. Org. Chem. 1969, 34, 2543-2549; Dale, J. A.; Mosher, H. S. J. Am. Chem. Soc. 1973, 95, 512-519). Posterior a la bencilación del grupo hidroxilo primario, seguido por la remoción del grupo sililo en el otro extremo de la molécula conduce a los alcoholes primarios deseados 85 y 86, respectivamente.

65 El yoduro de vinilo de cadena lateral indispensable 87 se sintetiza como se muestra en el Esquema 11. Un acoplamiento Sonogashira de 5-metil-2-bromopiridino 99 con propino (Arcadi, A.; *et al.* Tetrahedron 1994, 50, 437-452) produce el alquino 100 con 98% de rendimiento. Éste se hidroestancia luego, y el estaño se intercambia por yodo (86%

ES 2 315 399 T3

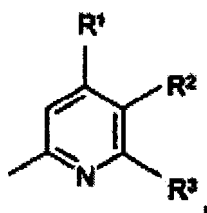
para las dos etapas) mediante el mismo método como aquel empleado para preparar el precursor de cadena lateral tiazol 17 (Esquema 5), produciendo así el yoduro 87 por vía de estano 101 (100% de rendimiento).

Las etapas finales de la síntesis de los análogos piridina objetivo se describen en los Esquemas 12 y 13. La oxidación de los alcoholes 85 y 86 con periodinano Dess-Martin es seguido por el acoplamiento aldol estereoselectivo con cetona 18 (Nicolaou, K. C.; *et al.* J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 7974-7991) previamente empleada (*vide supra*). Este acoplamiento se desarrolla de acuerdo con nuestro procedimiento general (Nicolaou, K. C.; *et al.* Chem. Eur. J. 2000, 6, 2783-2800), que produce aldoles 102 (75% de rendimiento) y 108 (89% de rendimiento) con un dr de *ca.* 10:1 (por espectroscopia ^1H RMN) en ambos casos. La elaboración adicional de estos compuestos (102 y 108) involucran la protección TBS de sus alcoholes secundarios, la remoción selectiva del grupo TBS primario (HF·py), la oxidación del alcohol primario resultante (DMP; NaClO_2), y metilación del ácido carboxílico así obtenido, que conduce los compuestos 104 y 110, como se muestra en el Esquema 12. La hidrogenólisis del bencil éter de 104 y 110 es seguido por la oxidación de los alcoholes primarios resultantes (105 y 111) para los aldehídos correspondientes (DMP) y la homologación para instalar el átomo de carbono C15, produciendo así aldehídos 107 y 113 por vía de éteres enol 106 y 112, respectivamente.

El *cis*-aldehído 107 se somete luego al acoplamiento Nozaki-Hiyama-Kishi con yoduro de vinilo 87 para producir metil éster 114 (43%, no optimizado), que se hidroliza al ácido correspondiente (115) con 76% de rendimiento (Esquema 13). La hidrólisis éster (114 \rightarrow 115) es extremadamente lenta, requiere 4 días para terminación. Cuando la misma secuencia se aplica al compuesto *trans* 113, éste probó imposible hidrolizar el metil éster correspondiente en una tasa práctica después del acoplamiento Nozaki-Hiyama-Kishi. Claramente, se necesita otro grupo protector para el ácido carboxílico C1, y optamos por tratar un éster trimetilsililetilo (TMSE) en cambio de metil éster. En el caso, en que el aldehído 113 se reduce al éster hidroxilado 118 (NaBH_4 , 72% de rendimiento), que se podría hidrolizar ahora al ácido hidroxilado correspondiente y protegido (TMSE-OH, EDC, 4-DMAP), que produce el éster TMSE 119 con 81% de rendimiento. La hidrólisis de aldehído directa 113 no es exitosa, que dicta la adopción del anterior plan que requiere reducción para el alcohol antes de hidrólisis. La reoxidación de 119 con periodinano Dess-Martin da el aldehído 120 (93% de rendimiento), que experimenta levemente el acoplamiento Nozaki-Hiyama-Kishi con 87 para dar éster hidroxilado 121 con 71% de rendimiento. La división del éster TMSE con TBAF procede ahora ligeramente, dando ácido hidroxilado 122 en alto rendimiento. Ambos isómeros *cis* y *trans* 115 y 122 se ciclizan utilizando el protocolo Yamaguchi (Inanaga, J.; *et al.* Bull. Chem. Soc. Jpn. 1979, 52, 1989-1993; Mulzer, J.; *et al.* Synthesis 1992, 215-228; Nicolaou, K. C.; *et al.* Chem. Eur. J. 2000, 6, 2783-2800) (70% de rendimiento), después de lo cual los epímeros C15 se separan cromatográficamente, produciendo los compuestos 116, 117, 123 y 124. La desililación de estos compuestos produce finalmente las epitolonas ciclopropilo 9-12 deseadas en excelentes rendimientos.

Los materiales de partida utilizados aquí están comercialmente disponibles o se pueden preparar en una forma conocida *per se*.

En las Figuras 13, 14, y 16 a 19 la preparación de un compuesto de la fórmula I o II se describe en donde X es CH_2 y Ar es un radical representado por la siguiente estructura:



50

en donde R_1 y R_3 son H y R_2 es metilo.

Los compuestos de fórmula I, en donde dicho radical R^1 forma una primera estructura de anillo fusionado con R^2 o es un radical seleccionado de -H y un alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representado por $-(\text{C}(\text{Z}^1)(\text{Z}^2)(\text{Z}^3))_n$, donde $1 \leq n \leq 6$ y Z^1 , Z^2 , y Z^3 cada uno es un radical seleccionado independientemente del grupo que consiste de -H, -F, -Cl, -Br, -OH, -NH₂, y $-(\text{C}(\text{Z}^1)(\text{Z}^2)(\text{Z}^3))$, con una condición que, si uno cualquiera de Z^1 , Z^2 , o Z^3 es -OH o -NH₂, entonces cada uno de los Z^1 , Z^2 , y Z^3 restantes se seleccionan independientemente del grupo que consiste de -H un $-(\text{C}(\text{Z}^1)(\text{Z}^2)(\text{Z}^3))$;

60

R^2 forma la primera estructura de anillo fusionada con R^1 o forma una segunda estructura de anillo fusionada con R^3 o es un radical seleccionado del grupo que consiste de -H y un alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representado por $-(\text{C}(\text{Z}^1)(\text{Z}^2)(\text{Z}^3))_n$, donde $1 \leq n \leq 6$ y Z^1 , Z^2 , y Z^3 cada uno es un radical seleccionado independientemente del grupo que consiste de -H, -F, -Cl, -Br, -OH, -NH₂, y $-(\text{C}(\text{Z}^1)(\text{Z}^2)(\text{Z}^3))$, con una condición que, si uno cualquiera de Z^1 , Z^2 , o Z^3 es -OH o -NH₂, entonces cada uno de los Z^1 , Z^2 , y Z^3 restantes se seleccionan independientemente del grupo que consiste de -H y $-(\text{C}(\text{Z}^1)(\text{Z}^2)(\text{Z}^3))$;

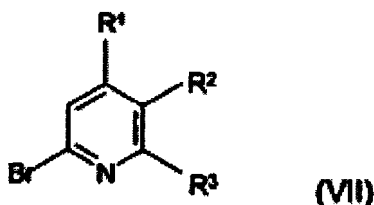
65

ES 2 315 399 T3

R^3 forma dicha segunda estructura de anillo fusionada con R^2 o es un radical seleccionado del grupo que consiste de -H y un alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representado por $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))_n$, donde $1 \leq n \leq 6$ y Z^1 , Z^2 , y Z^3 cada uno es un radical seleccionado independientemente del grupo que consiste de -H, -F, -Cl, -Br, -OH, -NH₂, y $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))$, con una condición que, si uno cualquiera de Z^1 , Z^2 , o Z^3 es -OH o -NH₂, entonces cada uno de los Z^1 , Z^2 , y Z^3 restantes se seleccionan independientemente del grupo que consiste de -H y $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))$;

dicha primera o segunda estructura de anillo fusionada es un anillo aromático o heteroaromático de 5 o 6 miembros fusionado con o sin sustituyentes alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6; se puede obtener, por ejemplo, al hacer reaccionar primero un derivado piridino de fórmula VII

10

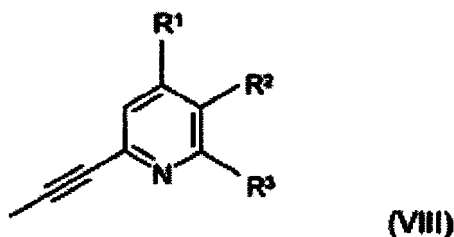


15

20

en donde R^1 , R^2 y R^3 tienen los significados como se definió anteriormente, en un disolvente adecuado con HCCCH₃ en la presencia de un catalizador Pd(II) y yoduro de cobre (I), que presenta un derivado piridino de fórmula VIII,

25



30

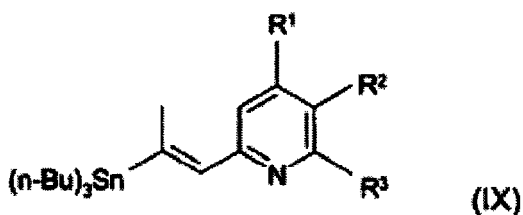
35

en donde R^1 , R^2 y R^3 tienen los significados como se definió anteriormente,

40

hidroestannilar el producto obtenido de la fórmula VIII en una segunda etapa con el fin de obtener un derivado piridino de fórmula IX.

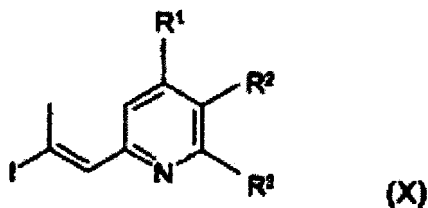
45



50

en donde R^1 , R^2 y R^3 tienen los significados como se definió anteriormente, cuyo derivado piridino de fórmula IX se transforma en la tercera etapa mediante la reacción con yodo dentro del yoduro correspondiente de la fórmula X

55



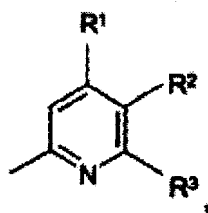
60

65

en donde R^1 , R^2 y R^3 tienen los significados como se definió anteriormente. Dicho yoduro de fórmula X se puede emplear entonces en la secuencia de reacción ilustrada en las Figuras 18 y 19 en cambio del compuesto del número 87.

ES 2 315 399 T3

Adicionalmente, dicho yoduro de la fórmula X puede, por ejemplo, también ser empleado en la secuencia de reacción ilustrada en las Figuras 11, 12 en cambio del yoduro del número 17 dando así los compuestos de fórmula I, en donde X es un diradical de la fórmula $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ y Ar es un radical representado por la siguiente estructura:



En donde R₁, R₂ y R₃ tienen los significados suministrados para un compuesto de fórmula X.

El término “grupos protectores para un grupo hidroxilo” como se utiliza aquí se refieren a grupos protectores lábiles ácidos para un grupo hidroxilo, cuyos grupos son conocidos como tales. Es una característica de los grupos protectores que ellos se prestan a sí mismos fácilmente, es decir, sin reacciones secundarias no deseadas, para la remoción, típicamente mediante solvolisis, reducción, fotólisis o también mediante actividad de enzima, por ejemplo bajo condiciones análogas a las condiciones fisiológicas, y que ellos no están presentes en los productos finales. Los especialistas saben, o pueden establecer fácilmente, cuales grupos protectores son adecuados con las reacciones mencionadas anteriormente o a continuación.

La protección de los grupos hidroxilo por los grupos protectores, los grupos protectores mismos, y sus reacciones de división se describen por ejemplo en los trabajos de referencia estándar, tales como J. F. W. McOmie, “Protective Groups in Organic Chemistry”, Plenum Press, London and New York 1973, in T.W. Greene, “Protective Groups in Organic Synthesis”, Wiley, New York 1981, in “The Peptides”; Volume 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, in “Methoden der organischen Chemie” (Methods of organic chemistry), Houben Weyl, 4th edition, Volume 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, in H.-D. Jakubke and H. Jescheit, “Aminosäuren, Peptide, Proteine” (Amino acids, peptides, proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982, and in Jochen Lehman, “Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate” (Chemistry of carbohydrates: monosaccharides and derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974.

Los grupos protectores preferidos son silil éteres que son lábiles ácidos como el *tert*-butil-dimetil-silil (TBS) éter, trietilsilil (TES) éter, triisopropilsilil (TIPS) éter, dietilsopropilsilil (DEIPS) éter, isopropildimetilsilil (IPDMS) éter o texildimetilsilil (TDS) éter.

Biología química

Las actividades biológicas de las epotilonas sintetizadas se evaluaron a través de la citotoxicidad y de ensayos de polimerización de tubulina. La citotoxicidad se evaluó primero en un conjunto de líneas celulares de carcinoma de ovario, que incluyen una línea celular parenteral (IA9) y tres líneas celulares resistentes a fármaco, hasta ver las líneas celulares resistentes a paclitaxel (Giannakakou, P.; *et al.* J. Biol. Chem. 1997, 272, 17118-17125) IA9/PTX10 y IA9/PTX22 y la línea celular resistente de epotilona (Giannakakou, P.; *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2000, 97, 2904-2909) 1 A91A8. Estas líneas celulares resistentes poseen diferentes mutaciones adquiridas de β -tubulina que afectan la interacción del fármaco tubulina y dan como resultado una polimerización afectada de tubulina impulsada por taxano y epotilona. Los resultados de estas investigaciones biológicas se resumen en la tabla 1. Los estudios de citotoxicidad adicionales fueron hechos utilizando un conjunto de líneas celulares cancerosas epidermoides humanas, que incluyen una línea celular parenteral (KB-31), y una línea celular resistente a paclitaxel (debido a la sobre expresión de P-gp) (KB-8511). Los resultados de estos estudios se resumen en la Tabla 2.

De acuerdo con los reportes previos (Nicolaou, K.C.; *et al.* ChemBioChem 2001, 1, 69-75; Johnson, J.; *et al.* Org. Lett. 2000, 2, 1537-1540), encontramos que la ciclopropilo epotilona A (3) inhibe ligeramente mas potentemente el crecimiento celular del IA9 y el KB-31 que la epotilona del compuesto padre A (1). La 15S-ciclobutil epotilona A (4) retiene buena actividad pero es menos potente que cualquiera de la 1 o la 3. Es notorio que el isómero 15R (5 y 6) de ambos compuestos son inactivos a bajas concentraciones contra las células sensibles parenterales IA9 y KB-31. De manera interesante, aun las epotilonas (12R, 13S)-*trans*-sustituidas 7 y 8 mostraron buena actividad, de nuevo siendo el análogo del ciclopropilo el mas potente. Estos resultados están de acuerdo con nuestro reporte previo con relación los análogos de *trans*-epóxido de epotilona A y B (Nicolaou, K. C.; *et al.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1997, 36, 2097-2103). En otro estudio (Nicolaou, K. C.; *et al.* Chem. Biol. 1998, 5, 365-372), encontramos que las (13R)-ciclopropilo epotilona 125 y 126 (ver figura 2), originalmente de manera incorrecta asignadas como (13S)-diastereómeros, fueron inactivas. Así, hemos preparado ahora y probado todos los cuatro posibles diastereómeros de la 12, 13-ciclopropilo epotilona, y sobre la base de estos resultados, parecería que mientras que la configuración en C12 tiene relativamente poca influencia en la citotoxicidad, es esencial la configuración 13S.

Es notorio que los compuestos activos (3, 4, 7, 8, 9 y 11) despliegan un perfil de citotoxicidad similar contra los mutantes de β -tubulina comparados con la epotilona A (1) (ver Tabla 1). En otras palabras estos compuestos pierden

ES 2 315 399 T3

alguna actividad contra los clones PTX10 (β 270) y A8 (β 274) que sugieren que los residuos 270 y 274 son importantes para la unión de estos análogos de la tubulina. Sin embargo, el análogo más activo (11) retiene aun el $IC_{50} < 10$ nM para todas estas líneas celulares. Adicionalmente, encontramos que en el estudio habitual, y de acuerdo con los reportes previos (Nicolaou, K. C.; *et al.* ChemBioChem 2001, 1, 69-75; Giannakakou, P.; *et al.* J. Biol. Chem. 1997, 272, 17118-17125; Giannakakou, P.; *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2000, 97, 2904-2909) que el clon seleccionado paclitaxel PTX22 (β 364) retiene la sensibilidad a las epotilonas, especialmente en el caso de los análogos más activos (9 y 11) donde los valores de resistencia relativa (RR) son < 1 .

El análisis de citotoxicidad se suplemento con datos provenientes de dos ensayos de polimerización de tubulina *in vitro* independientes. En un ensayo, se determinó la fracción de la tubulina polimerizada en microtúbulos luego de la exposición a una concentración dada del compuesto respectivo (ver Tabla 2). En el otro ensayo, se determina las cinéticas de polimerización de la tubulina luego de la exposición a los compuestos respectivos utilizando tubulina de cerebro de rata a través de la medición de la absorbancia a 350 nm (ver figura 3). Para este análisis, el paclitaxel, epotilona A (1) y la epotilona B (2) se utilizaron como controles mientras que los compuestos 9, 11 y 12 se seleccionaron para análisis *in vitro*. El compuesto 12 no tuvo actividad *in vitro* consiste con la falta de actividad citotóxica de este compuesto (Tabla 1). Los compuestos 9 y 11 exhibieron buena actividad *in vitro* aunque el máximo grado de polimerización de tubulina inducida por estos compuestos fue más pequeño comparado con el inducido por la epotilona A (1). Si embargo, la actividad citotóxica creciente de los compuestos 9 y 11 con relación a la epotilona A (1) podría ser potencialmente explicada por las cinéticas más rápidas de polimerización inducidas por los compuestos 9 y 11 [tiempo a $A_{350} = 0.25$ es < 1 min para los compuestos 9 y 11, y 2 min para la epotilona A (1)].

Finalmente, los productos de polimerización de la tubulina de estos compuestos se examinó mediante microscopia electrónica (figura 4) para reglamentar el incremento potencial en la absorbancia debido a la formación de polímeros no microtúbulo. Como se ve en la figura 4, todos los compuestos probados indujeron la formación de polímeros microtúbulo con la excepción del compuesto 12 donde no se observaron microtúbulos.

Descripción detallada de las figuras

La figura 1 muestra las estructuras de una serie de los análogos de ciclopropilo y ciclobutilo epotilona (3-12). Los estudios biológicos con los compuestos sintetizados condujeron a la identificación de los análogos de epotilona 3, 4, 7, 8, 9 y 11 como potentes promotores de polimerización de tubulina y agentes citotóxicos con (12R, 13S, 15S)-ciclopropil 5-metilpiridina epotilona A (11) como el compuesto más poderoso cuya potencias ($IC_{50} = 0.6$ nM contra la línea celular del carcinoma del ovario 1A9) aproximaciones a aquellas de la epotilona B. Estas investigaciones condujeron a un número de relaciones de actividad de estructura importante, incluyendo la conclusión de que ni el epóxido ni la estereoquímica en C12 son esenciales, mientras que la estereoquímica tanto en C13 como en C15 son cruciales para la actividad biológica. Estos estudios también confirmaron la importancia de los grupos funcionales ciclopropilo y 5-metilpiridina a conferir propiedades biológicas potentes y potencialmente clínicamente útiles a el andamiaje de la epotilona.

La figura 2 ilustra el análisis retrosintético utilizado para la síntesis química de los análogos de epotilona 12, 13-cicloalcano tiazol epotilona 3-8. el acoplamiento Nozaki-Hiyama-Kishi (Takai, K.; *et al.* Tetrahedron Lett. 1983, 24, 5281-5284; Jin, H.; *et al.* J. Am. Chem. Soc. 1986, 108, 5644-5646), una reacción de aldol y la lactonización de Yamaguchi (Inanaza, J.; *et al.* Bull. Chem. Soc. Jpn. 1979, 52, 1989-1993; Mulzer, J.; *et al.* Synthesis 1992, 215-228; Nicolaou, K. C.; *et al.* Chem. Eur. J. 2000, 6, 2783-2800; Nicolaou, K. C.; *et al.* J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 7974-7991) se emplearon para desconectar los tres enlaces estratégicos como se indica, revelando los elementos fundamentales 13-16, 17 y 18. El montaje y elaboración de estos elementos fundamentales para los objetivos finales es seguir el orden mostrado en el esquema 1. Así, el acoplamiento del fragmento de aldehído C7-C15 con el vinil yoduro heterocíclico, seguido por la elaboración y reacción aldol con el segmento de cetona C1-C6 conduciría, luego de elaboración ulterior, a un ácido seco-hidróxido deseado. La ciclización de acuerdo con la estrategia de Yamaguchi previa (Inanaza, J.; *et al.* Bull. Chem. Soc. Jpn. 1979, 52, 1989-1993; Mulzer, J.; *et al.* Synthesis 1992, 215-228; Nicolaou, K. C.; *et al.* Chem. Eur. J. 2000, 6, 2783-2800; Nicolaou, K. C.; *et al.* J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 7974-7991) conduciría, luego de la desprotección, a los análogos de epotilona deseados.

La figura 3 es un esquema que muestra la preparación del elemento fundamental 13. Reactivos y condiciones: (a) $(COCl)_2$ (1.5 equiv), DMSO (2.0 equiv), Et_3N (5.0 equiv), CH_2Cl_2 , $-78^\circ C$; (b) $MeOCH_2PPh_3Cl$ (1.5 equiv), NaHMDS (1.4 equiv), THF, $-78^\circ C$; (c) cat. HCl, acetona: agua 9:1 $65^\circ C$, 1 h, 85% sobre tres pasos; (d) 21 (1.5 equiv), n-BuLi (3.0 equiv), THF, $-78^\circ C$, 78%; (e) $(NCO_2K)_2$ (20 equiv), HOAc (40 equiv), MeOH, py, $25^\circ C$, 48 h, 94%; (f) Ac_2O (1.1 equiv), Et_3N (1.2 equiv), 4-DMAP (0.1 equiv), CH_2Cl_2 , $25^\circ C$, 0.5 h, 88%; (g) 20% Pd(OH)₂/C, H_2 (1 atm), EtOAc:EtOH 1:1, $25^\circ C$, 2 h, 76%; (h) TPAP (0.05 equiv), NMO (1.5 equiv), MS 4^a, CH_2Cl_2 , $25^\circ C$, 1 h, 89%; (i) $MeOCH_2PPh_3Cl$ (1.2 equiv), NaHMDS (1.1 equiv), THF, $0^\circ C$, 71%; (j) cat. HCl, acetona:agua 9:1, $55-60^\circ C$, 2 h, 87%. 4-DMAP = 4-dimetil-aminopiridina, NaHMDS = hexametildisilazida de sodio, NMO = N-metilmorfolino N-óxido, py = piridina, TPAP = tetra-n-propil amonio perrutenato.

La figura 4 es un esquema que muestra la síntesis del aldehído 14. reactivos y condiciones: (a) DME (2.2 equiv), Et_2Zn (2.2 equiv), CH_2I_2 , (4.4 equiv), 28 (1.2 equiv) CH_2Cl_2 , 98% rendimiento, $>90\% ee$; (b) Et_3N (6.0 equiv), $SO_3 \cdot py$ (3.0 equiv), CH_2Cl_2 : DMSO 4:1, $0^\circ C$, 2h; (c) $MeOCH_2PPh_3Cl$ (1.5 equiv), NaHMDS (1.3 equiv), THF, -40 a $25^\circ C$, 12 h, 81% sobre dos pasos; (d) TBAF (1.5 equiv), THF, $25^\circ C$, 2 h; (e) NaH (1.5 equiv), BnBr (2.0 equiv), THF:DMF 5:1, 0 a $25^\circ C$, 10 h; (f) cat. HCl, acetona:agua 9:1, $50^\circ C$, 5 h; (g) 21 (1.5 equiv), NaHMDS (2.8 equiv), TMSCl (1.5 equiv),

ES 2 315 399 T3

THF, 58% sobre cuatro pasos; (h) (NCO₂K)₂ (20 equiv), HOAc (40 equiv), MeOH, py, 25°C, 7 h; (i) Ac₂O (2.0 equiv), Et₃N (5.0 equiv), 4-DMAP (0.1 equiv), CH₂Cl₂, 0°C, 20 min; (j) 20% Pd(OH)₂/C, H₂ (1 atm), EtOAc:EtOH 1:1, 25°C, 6 h, 98% sobre tres pasos; (k) DMP (1.2 equiv), CH₂Cl₂, 0 a 25°C, 40 min. 4-DMAP = 4-dimetilaminopiridina, DMP = Dess-Martin periodinano, NaHMDS = hexametildisilazida de sodio, py = piridina.

5

La Figura 5 es un esquema para la síntesis de los aldehídos de elemento fundamental 15 y 16. Reactivos y Condiciones: (a) DMP (1.2 equiv), NaHCO₃ (5.0 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 3 h, 95%; (b) iniciando con alcohol 33: (COCl)₂ (1.1 equiv), DMSO (2.2 equiv), Et₃N (5.0 equiv), CH₂Cl₂, -78°C; entonces Et₃N, 25°C, 5 días, 88% sobre 2 etapas; (c) MeOCH₂PPh₃Cl (1.15 equiv), NaHMDS (1.10 equiv), THF, -78 a 25°C, 89%; (d) 0.12 N HCl (aq):acetona (1:9),
10 reflujó, 1 h, 98% (35), 94% (40); (e) 21 (2.0 equiv), NaHMDS (3.8 equiv), THF, 0°C, 2 h; luego TMSCl (2.0 equiv), 25°C, 20 min; entonces 35 (o 40), THF, -78 a 25°C, 20 h, 59% (36), 83% (41); (f) (NCO₂K)₂ (20 equiv), AcOH (40 equiv), py:MeOH (5:1), 25°C, 48h; entonces PtO₂ (0.05 equiv), H₂ (1 atm), MeOH, 25°C, 20 min, 82%; (g) 10% en peso de Pt sobre carbono (0.02 equiv), EtOAc, 25°C, 8 h, 96%; (h) TBSOTf (1.0 equiv), 2,6-lutidina (2.5 equiv), CH₂Cl₂, -78 a 0°C, 20 min; (i) DIBAL (2.0 equiv), CH₂Cl₂, -78°C, 5 min, 99% (38), 90% (43) para 2 etapas; (j) DMP
15 (1.2 equiv), NaHCO₃ (5.1 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 3 h, 94%; (k) (COCl)₂ (1.1 equiv), DMSO (2.2 equiv), Et₃N (5.0 equiv), CH₂Cl₂, -78 a 25°C, 97%; (l) MeOCH₂PPh₃Cl (1.15 equiv), NaHMDS (1.10 equiv), THF, -78 a 25°C; (m) 0.12 N HCl (aq):acetona (1:9), reflujó, 1 h; (n) Ac₂O (1.1 equiv), Et₃N (2.5 equiv), 4-DMAP (0.02 equiv), CH₂Cl₂, 0°C, 20 min, 60% (15), 62% (16) para 3 etapas, DIBAL= hidruro de diisobutilaluminio, 4-DMAP= 4-dimetilamino-piridina, DMP= Dess-Martin periodinano, NaHMDS= hexametildisilazida de sodio, py = piridina, TMSCl = clorotrimetil-
20 silano.

La Figura 6 es un esquema que ilustra la síntesis de vinil yoduro de tiazol 17. Reactivos y Condiciones: (a) PPh₃ (4.0 equiv), CBr₄ (2.0 equiv), CH₂Cl₂, 0°C, 4 h, 88%; (b) NaHMDS (1.0 equiv), MeLi (2.0 equiv), MeI (5.0 equiv), -78 a 25°C, 12 h, 97%; (c) n-BuLi (4.0 equiv), (n-Bu)₃Sn₂ (4.0 equiv), CuCN (2.0 equiv), MeOH (110 equiv), THF, 87%; (d) I₂ (1.1 equiv), CH₂Cl₂, 0°C, 99%. NaHMDS= hexametildisilazida de sodio.

Las Figuras 7 y 8 son esquemas que muestran las síntesis de los análogos de epotilona 3, 5, y 7. Reactivos y Condiciones: (a) 17 (1.5-2.0 equiv), CrCl₂ (10-13 equiv), NiCl₂ (0.02-0.13 equiv), DMSO, 25°C, 6-12 h, 56% (48), 91% de 32; (b) DMP (1.2 equiv), CH₂Cl₂, 0 a 25°C, 0.5 h, 83%; (c) (-)-DIPCI (3.0 equiv), Et₂O, -15 a 25°C, 18 h, 84%;
30 (d) TBSOTf (1.1-2.0 equiv), 2,6-lutidina (2.5 equiv), CH₂Cl₂, -78°C, 0.5-1 h, 91-100%; (e) DIBAL (2.0-3.1 equiv), CH₂Cl₂, -78°C, 15 min-1 h, 93-96%; (f) DMP (1.2 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 1.5h; (g) LDA (1.3 equiv), 18(3.0 equiv), THF, -78°C, 4 min, 63% (51), 70%(60); (h) TBSOTf (2.0 equiv), 2,6-lutidina (2.5 equiv), CH₂Cl₂, -20 a 25°C, 1.5-12 h, 86% (52), 94% (61); (i) HF:py, py, 0-25°C, 3-4 h; (j) DMP (1.2-1.5 equiv), NaHCO₃ (1.5 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 15 min-2 h; (k) NaClO₂ (5.0 equiv), 2-metil-2-butenó (7.5 equiv), NaH₂PO₄ (2.5 equiv), t-BuOH:H₂O 4:1, 25°C, 10-12
35 min; (l) TBAF (12 equiv), THF, 25°C, 16-26 h, 46% sobre 4 etapas (53); (m) 2,4,6-triclorobenzoilcloruro (2.4 equiv), Et₃N (6.0 equiv), THF, 0°C, 1h, entonces 4-DMAP (2.2 equiv), tolueno, 75°C, 3-11 h, 42% (54), 27% (55), 53% sobre 5 etapas (63); (i) 20% TFA en CH₂Cl₂, 0°C, 2 h, 78% (3), 65% (5); (o) 25% TFA en CH₂Cl₂, 25°C, 7 h, 73%. DIBAL = hidruro de diisobutilaluminio, DIPCI = diisopinocmfeil cloroborano, 4-DMAP = 4-dimetilaminopiridina, DMP = Dess-Martin periodinano, LDA = diisopropilamida de litio, NaHMDS = hexametildisilazida de sodio, py =
40 piridina, TBAF = fluoruro de tetrabutilamonio.

Las Figuras 9 y 10 son esquemas que muestran la síntesis de los análogos de cis-ciclobutil epotilona 4 y 6. Reactivos y Condiciones: 17 (1.5 equiv), CrCl₂ (12.6 equiv), NiCl₂ (0.13 equiv), DMSO, 25°C, 6 h, (89%, 2:3 mezcla de efimeros C15); (b) TBSOTf (1.0 equiv), 2,6-lutidina (2.5 equiv), CH₂Cl₂, -78 a 0°C, 20 min; (c) DIBAL (2.0 equiv), CH₂Cl₂,
45 -78°C, 5 min, 99% para 2 etapas; (d) DMP (1.2 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 1.5 h; (e) LDA (3.1 equiv), 18 (3.0 equiv), THF, -78°C, 4 min, 67% para 2 etapas; (f) TBSOTf (2.0 equiv), 2,6-lutidina (2.5 equiv), CH₂Cl₂, -20 a 25°C, 1.5 o 12 h, 96%; (g) HF:py, py, THF, 0 a 25°C, 3 h, 91%; (h) DMP (1.2-1.5 equiv), NaHCO₃ (1.5 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 15 min o 2 h; (i) NaClO₂ (5.0 equiv), 2-metil-2-butenó (7.5 equiv), NaH₂PO₄ (2.5 equiv), t-BuOH:H₂O 4:1, 25°C, 10-20 min, 93% para 2 etapas; (j) TBAF (12 equiv), THF, 25°C, 16-26 h, 54%; (k) 2,4,6-triclorobenzoilcloruro (2.4 equiv),
50 Et₃N (6.0 equiv), THF, 0°C, 1 h, entonces 4-DMAP (2.2 equiv), tolueno, 75°C, 3 u 11 h, 21% (73), 38% (74); (l) 20 v/v% TFA en CH₂Cl₂, 25°C, 1 u 8 h, 61% (4), 60% (6). 4-DMAP = 4-dimetilamino-piridina, DMP = Dess-Martin periodinano, LDA = diisopropilamida de litio, py = piridina, TBAF = fluoruro de tetrabutilamonio.

La Figura 13 muestra el análisis retrosintético y fragmentos clave para los análogos de epotilona 9-12. La estrategia
55 divisada para la construcción de las cicloalcano epotilonas de piridina (9-12) es similar a aquella utilizada para la síntesis total de sus contrapartes de tiazol excepto para la reversa del orden de acoplamiento de los fragmentos. Así, la reacción de aldol de los elementos fundamentales 84 y 85 con cetona 18 precederá ahora el acoplamiento Nozaki-Hiyama-Kishi con vinil yoduro 86.

La Figura 14 es un esquema para la síntesis de los alcoholes 85 y 86. Reactivos y Condiciones: (a) NaHMDS (2.1 equiv), TMSCl (1.1 equiv), THF, -78 a 25°C, 6 h, 68%; (b) TBPDSiCl (1.1 equiv), imidazol (2.0 equiv), DMF, 25°C, 1 h, 89%; (c) 10% Pd/C, H₂ (1 atm), MeOH:THF 5:1, 50°C, 10 h, 75%; (d) PPh₃ (1.4 equiv), 4-DMAP (0.01 equiv), I₂ (1.5 equiv), imidazol (2.0 equiv), MeCN/Et₂O, 25°C, 1 h, 93%; (e) n-BuLi (3.3 equiv), 3-(terc-butildimetilsililoxi)propino (3.5 equiv), THF/HMPA, -78 a -30°C, 2.5 h, 72%; (f) BF₃·OEt₂ (2.0 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 1.5 h, 89%; (g) NiCl₂ (1.0 equiv), NaBH₄ (1.0 equiv), EDA (3.0 equiv), H₂ (1 atm), EtOH, 0°C, 1 h, 95%; (h) LiAlH₄ (1.0 equiv), MeOH (1.0 equiv), THF, 50°C, 0.5 h, 83%; (i) DME (2.2 equiv), Et₂Zn (2.2 equiv), CH₂I₂ (4.4 equiv), 28 (1.2 equiv), CH₂Cl₂,
65 -15 a 25°C, 6 h, 99% (96), 93% (98); (j) Ag₂O (3.0 equiv), BnBr (2.6 equiv), TBAI (0.1 equiv), tolueno, 24 h, 25 a 50°C; (k) TBAF (5.0 equiv), THF, 25°C, 4 h, 83% (85), 85% (86) sobre 2 etapas. 4-DMAP = 4-dimetilamino-piridina,

ES 2 315 399 T3

DME = dimetoxietano, DMP = Dess-Martin periodinano, EDA = etilenodiamina, HMPA = hexametilfosforamida, NaHMDS = hexametildisilazida de sodio, TBAF = fluoruro de tetrabutilamonio, TBAI = yoduro de tetrabutilamonio.

La Figura 15 muestra la síntesis del vinil alcohol de piridina 87. Un acoplamiento de Sonogashira de 5-metil-2-bromopiridina 99 con propino (Arcadi, A.; *et al.* Tetrahedron 1994, 50, 437-452) produjo alquino 100 con 98% de rendimiento. Éste fue entonces hidroestaniado, y el estaño se intercambió por yodo (86% para dos etapas) mediante el mismo método que se empleó para preparar el precursor de la cadena lateral de tiazol 17 (Esquema 5), produciendo así yodo 87 por vía de estano 101 (100% de rendimiento). Reactivos y Condiciones: Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0.01 equiv), CuI (0.02 equiv), propino (1 atm), DMF/(i-Pr)₂NH, 25°C, 3 h, 98%; (b) n-BuLi (4.0 equiv), (n-Bu₃Sn)₂ (4.0 equiv), CuCN (2.0 equiv), MeOH (110 equiv), THF, -10°C, 15 h, 86%; (c) I₂ (1.05 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 5 min, 100%.

Las Figuras 16 y 17 son esquemas que muestran la síntesis de los aldehídos 107 y 113. Reactivos y Condiciones: (a) DMP (1.2 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 1.5 h; (b) LDA (2.5 equiv), 18 (2.4 equiv), THF, -78°C, 4 min, 75% (102), 89% (108) sobre 2 etapas, (c) TBDPSOTf (4.0 equiv), 2,6-lutidina (5.0 equiv), CH₂Cl₂, -20 a 25°C, 1 h, 93% (103), 100% (109); (d) HF·py, py, 25°C, 2 h; (e) DMP (1.2 equiv), NaHCO₃ (1.5 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 6 h; (f) NaClO₂ (5.0 equiv), 2-metil-2-butenol (7.5 equiv), NaH₂PO₄ (2.5 equiv), *t*-BuOH:H₂O 4:1, 25°C, 10 min; (g) TMSCHN₂ (2.0 equiv), MeOH:benceno 1:1, 92% (104), 88% (110) sobre 4 etapas; (h) 20% Pd(OH)₂/C, H₂ (1 atm), EtOAc:EtOH 1:1, 25°C, 6 h, 93% (105), 80% (111); (i) DMP (1.2 equiv), NaHCO₃ (1.5 equiv), CH₂Cl₂, 25°C, 1.5 h; (j) MeOCH₂PPh₃Cl (1.5 equiv), NaHMDS (1.3 equiv), THF, -40 a 25°C, 70% (106), 79% (112); (k) TsOH (20 equiv), dioxano:H₂O 10:1, 50°C, 5 h; luego la silylación como en (c), 61% (107), 76% (113). DMP = Dess-Martin periodinano, NaHMDS = hexametildisilazida de sodio, py = piridina.

Las Figuras 18 y 19 muestran la síntesis de los análogos de ciclopropil piridina de la epotilona 9, 10, 11, y 12. Reactivos y Condiciones: (a) NaBH₄ (1.1 equiv), CH₂Cl₂/EtOH, -78°C, 1 h, 72%; (b) LiOH, H₂O/*t*-BuOH, 40°C, 48 h, 98%; (c) EDC (2.0 equiv), 4-DMAP (0.5 equiv), TMSE-OH:CH₂Cl₂ 2:1, 25°C, 2 h, 83%; (d) DMP (2.5 equiv), py (10 equiv), CH₂Cl₂, 0°C, 2.5 h, 93%; (e) 87 (2.0 equiv), CrCl₂ (10 equiv), NiCl₂ (0.02 equiv), DMSO, 25°C, 12 o 36 h, 43% (114), 71% (121); (f) LiOH, H₂O:*t*-BuOH 2:3, 25°C, 4 días, 76%; (g) TBAF (18 equiv), THF, 0°C, 2 h; (h) 2,4,6-triclorobenzoilcloruro (9.0 equiv), Et₃N (22 equiv), THF, 0°C, 1 h, entonces 4-DMAP (3.0 equiv), tolueno, 75°C, 3 h, 38% (116), 32% (117), 31% (123), 39% (124); (i) 20% TFA en CH₂Cl₂, 25°C, 2-22 h, 60% (9), 59% (10), 89% (11), 74% (12). 4-DMAP = 4-dimetilamino-piridina, DMP = Dess-Martin periodinano, EDC = clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, py = piridina, TBAF = fluoruro de tetrabutilamonio, TMSI = 2-(trimetilsilil)etilo.

La Tabla 1 es una tabla que despliega la citotoxicidad de las epotilonas 1 a 12 y el paclitaxel contra las células de carcinoma del ovario humano 1A9 y las líneas celulares mutantes de β -tubulina seleccionadas con paclitaxel o epotilona A. ^a Los efectos antiproliferativos de los compuestos probados contra el 1A9 parenteral y los clones resistentes a fármaco seleccionado de paclitaxel y epotilona (PTX10, PTX22 y A8, respectivamente) se evaluaron en un ensayo de inhibición con crecimiento de 72 h utilizando el ensayo SRB (sulforhodamina-B) (Skehan, P.; *et al.* J. Natl. Cancer Inst. 1990, 82, 1107-1112). Los valores IC₅₀ para cada compuesto se dan en nM y representan la media de 3-5 experimentos independientes \pm error estándar de la media. La resistencia relativa (RR) se calcula como un valor IC₅₀ para cada sublínea resistente dividida por aquella de la línea celular parenteral (1A9). ^b Los datos de referencia 3.CP = ciclorpropilo, CB = ciclobutilo, na = no aplicable, nd = no determinado, py = cadena lateral de 5-metilpiridina.

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 315 399 T3

Citotoxicidad de las epotilonas 1 a 12 y el paclitaxel contra las células de carcinoma de ovario humano y las líneas celulares mutantes de β -tubulina seleccionadas con paclitaxel o epotilona A.^a

		Línea celular						
		1A9	A8 (β 274)		PTX10 (β 270)		PTX22 (β 364)	
Compuesto		IC50	IC50	RR	IC50	RR	IC50	RR
5								
10	Epotilona A (Epo A) 1	2.37 \pm 0.433	117 \pm 27.01	49.3	23.35 \pm 1.85	9.9	5.21 \pm 0.344	2.2
15	Epotilona B (Epo B) 2	0.095 \pm 0.007	2.14 \pm 0.072	22.5	0.548 \pm 0.156	5.8	0.163 \pm 0.02	1.7
20	paclitaxel (Taxol [®])	1.77 \pm 0.0227	17.95 \pm 3.08	10.14	52.75 \pm 9.4	29.9	28.5 \pm 2.75	16.1
25	cis-(15S)-CP- epo 3	1.60 \pm 0.124	23.43 \pm 4.29	14.6	10.9 \pm 1.4	6.8	2.6 \pm 0.2	1.6
30	cis-(15S)-CB- epo 4	8.8 \pm 0.00	196 \pm 0.00	22.2	62 \pm 0.00	7.1	20 \pm 0.00	2.3
35	cis-(15R)-CP- epo 5 ^b	225	>300 (inactivo)	na	>300 (inactivo)	na	>300 (inactivo)	na
40	cis-(15R)-CB- epo 6 ^b	180	>300 (inactivo)	na	>300 (inactivo)	na	>300 (inactivo)	na
45	trans- (15S)-CP-epo 7	2.7 \pm 0.100	48 \pm 0.00	17.8	14.4 \pm 0.00	5.3	3.7 \pm 0.00	1.4
50	trans- (15S)-CB-epo 8	25.5 \pm 1.50	>300 (inactivo)	>11.7	146 \pm 0.00	5.7	63 \pm 0.00	2.5
55	cis-(15S)-CP- py-epo 9	1.40 \pm 0.453	53.5 \pm 14.57	38.2	8.15 \pm 0.565	5.8	1.17 \pm 0.94	0.84
60	cis-(15S)-CP- py-epo 10	>300 (inactivo)	>300 (inactivo)	na	>300 (inactivo)	na	>300 (inactivo)	na
65	trans- (15S)-CP-py- epo 11	0.625 \pm 0.175	9.5	15.2	3.49 \pm 0.00	5.6	0.39 \pm 0.00	0.63
	trans- (15R)-CP-py- epo 12	>300 (inactivo)	>300 (inactivo)	na	>300 (inactivo)	na	nd	na
<p>^a Los efectos antiproliferativos de los compuestos probados contra el 1A9 parental y los clones resistentes a fármacos seleccionados con paclitaxel y epotilona (PTX10, PTX22 y A8, respectivamente) se evaluaron en un ensayo de inhibición de crecimiento de 72 h utilizando el ensayo SRB (sulfurodamina-B) (Skehan, P.; et al. J. Natl. Cancer Inst. 1990, 82, 1107-1112). Los valores IC₅₀ para cada compuesto se dan en nM y representan la media de los experimentos independientes 3-5 \pm el error estándar de la media. La resistencia relativa (RR) se calcula como un valor IC₅₀ para cada sublínea resistente dividida por aquella para la línea celular parental (1A9). ^b Datos de Nicolaou, K. C.; et al. ChemBioChem 2001, 1, 69-75. CP = ciclopropilo, CB = ciclobutilo, na = no aplicable, nd = no determinado, py = cadena lateral de 5-metilpiridina.</p>								

ES 2 315 399 T3

La tabla 2 es una tabla de la potencia^a y la citotoxicidad^b de la polimerización de tubulina de las epotilonas 1 a 12 y el paclitaxel contra las líneas celulares de cáncer epidermoide humano. ^a% superior = porcentaje de tubulina polimerizado después de la incubación de la tubulina con una concentración conocida del compuesto (típicamente 3 μ M). ^b Citotoxicidad hacia las líneas celulares de cáncer humano como los valores IC₅₀ dados en nM. KB-31: sensible al Taxol[®] epidermoide, KB-8511: resistente al Taxol[®] epidermoide (debido a la sobre expresión de P-gp).

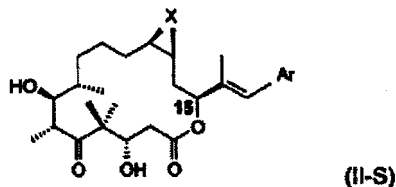
Potencia^a y citotoxicidad^b de polimerización de tubulina de las epotilonas 1 a 12 y el paclitaxel contra las líneas celulares de cáncer epidermoide humano

Compuesto	%TP ^a	KB-31 ^b	KB-8511 ^b
Epoilona A (Epo A) 1	69	2.15	1.91
Epotilona B (Epo B) 2	90	0.19	0.18
Paclitaxel (Taxol [®])	49	2.92	626
Cis-(15S)-CP-epo 3	83	0.838	0.408
Cis-(15S)-CB-epo 4	79	60.7	29.7
Cis-(15R)-CP-epo 5 ^b	26	159.5	66.7
Cis-(15R)-CB-epo 6 ^b	29	378	156
<i>trans</i> -(15S)-CP-epo 7	100	0.971	0.641
<i>trans</i> -(15S)-CB-epo 8	82	23.1	11.5
<i>cis</i> -(15S)-CP-py-epo 9	100	0.618	0.446
<i>cis</i> -(15S)-CP-py-epo 10	6	>1000	>1000
<i>trans</i> -(15S)-CP-py-epo 11	94	0.835	0.676
<i>trans</i> -(15R)-CP-py-epo 12	<10	930	>1000

^a %TP = porcentaje de tubulina polimerizado después de la incubación de tubulina con una concentración conocida del compuesto (típicamente 3 μ M). ^b Citotoxicidad hacia las líneas celulares de cáncer humano, los valores IC₅₀ en nM. KB-31: sensible al Taxol[®] epidermoide, KB-8511: resistente al Tarxol[®] epidermoide (debido a la sobre expresión de P-gp).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de formula II donde el centro estereogénico en la posición 15 tiene configuración S, representando así un compuesto de formula II-S,

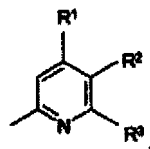


en donde

X es un radical seleccionado del grupo que consiste de $-C(Y^1)(Y^2)-$, y $((Y^1)(y^2)-C(Y^1)(Y^2)-$

Y^1 y Y^2 son cada uno radicales independientes seleccionados del grupo que consiste de $-H$, $-F$, $-Cl$ y $-Br$; y

Ar es un radical representado por la siguiente estructura:



en donde:

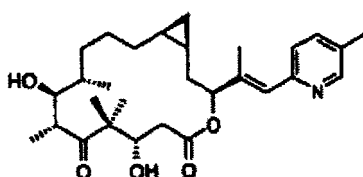
R^1 forma una primera estructura de anillo fusionada con R^2 o es un radical seleccionado de $-H$ y un alquilo de cadena ramificada o recta C1-C6 representado por $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))_n$, en donde $1 \leq n \leq 6$ y Z^1 , Z^2 y Z^3 son cada uno un radical independientemente seleccionado del grupo que consiste de $-H$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-OH$, $-NH_2$, y $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))$, con la condición de que, si cualquiera de Z^1 , Z^2 , o Z^3 es $-OH$ o $-NH_2$, entonces cada uno de los restantes Z^1 , Z^2 , y Z^3 son independientemente seleccionados del grupo que consiste de $-H$ y $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))$;

R^2 forma la primera estructura de anillo fusionada con R^1 o forma una segunda estructura de anillo fusionada con R^3 o es un radical seleccionado del grupo que consiste de $-H$ y de alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representado por $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))_n$, donde $1 \leq n \leq 6$ y Z^1 , Z^2 y Z^3 son cada uno un radical independientemente seleccionado del grupo que consiste de $-H$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-OH$, $-NH_2$, y $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))$, con la condición de que, si cualquiera de Z^1 , Z^2 , o Z^3 es $-OH$ o $-NH_2$, entonces cada uno de los restantes Z^1 , Z^2 , y Z^3 son independientemente seleccionados del grupo que consiste de $-H$ y $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))$;

R^3 forma dicha segunda estructura de anillo fusionada con R^2 o es un radical seleccionado del grupo que consiste de $-H$ y un alquilo de cadena recta o ramificada C1-C6 representado por $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))_n$, donde $1 \leq n \leq 6$ y Z^1 , Z^2 y Z^3 son cada uno un radical independientemente seleccionado del grupo que consiste de $-H$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-OH$, $-NH_2$, y $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))$, con la condición de que, si cualquiera de Z^1 , Z^2 , o Z^3 es $-OH$ o $-NH_2$, entonces cada uno de los restantes Z^1 , Z^2 , y Z^3 son independientemente seleccionados del grupo que consiste de $-H$ y $-(C(Z^1)(Z^2)(Z^3))$;

dicha primera o segunda estructura de anillo fusionada es un anillo fusionado de 5 o 6 miembros aromático o heteroaromático con o sin los sustituyentes de alquilo de cadena recta o ramificada según C1-C6 o una sal de estos.

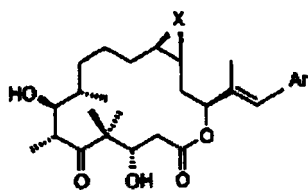
2. Un compuesto de formula II-S de acuerdo con la reivindicación 2 representado por la siguiente estructura:



ES 2 315 399 T3

3. Un proceso para la preparación de un compuesto de formula II-S,

5



10

(II-S)

en donde

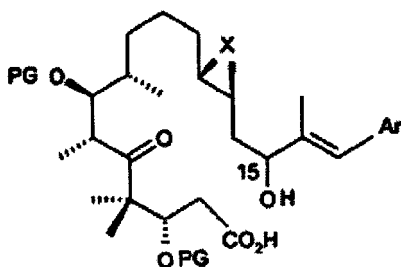
el X y el Ar se definen como la reivindicación 1; y

15

el centro estereogénico en la posición 15 de la configuración S,

en donde un compuesto de formula V

20



25

(V)

30

en donde X y Ar tienen los significados como se definió anteriormente para un compuesto de formula II-S y PG es un grupo protector para una función hidroxilo,

35

en una primera etapa se condensa mediante una reacción de esterificación, opcionalmente en la presencia de un catalizador,

y en una segunda etapa el grupo protector se separa desarrollando así una lactona de formula II-S.

40

4. Uso de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 para el tratamiento de una célula cancerosa.

5. Uso de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una célula cancerosa.

45

6. Una preparación farmacéutica, que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato, y por lo menos otro portador farmacéuticamente aceptable.

50

55

60

65

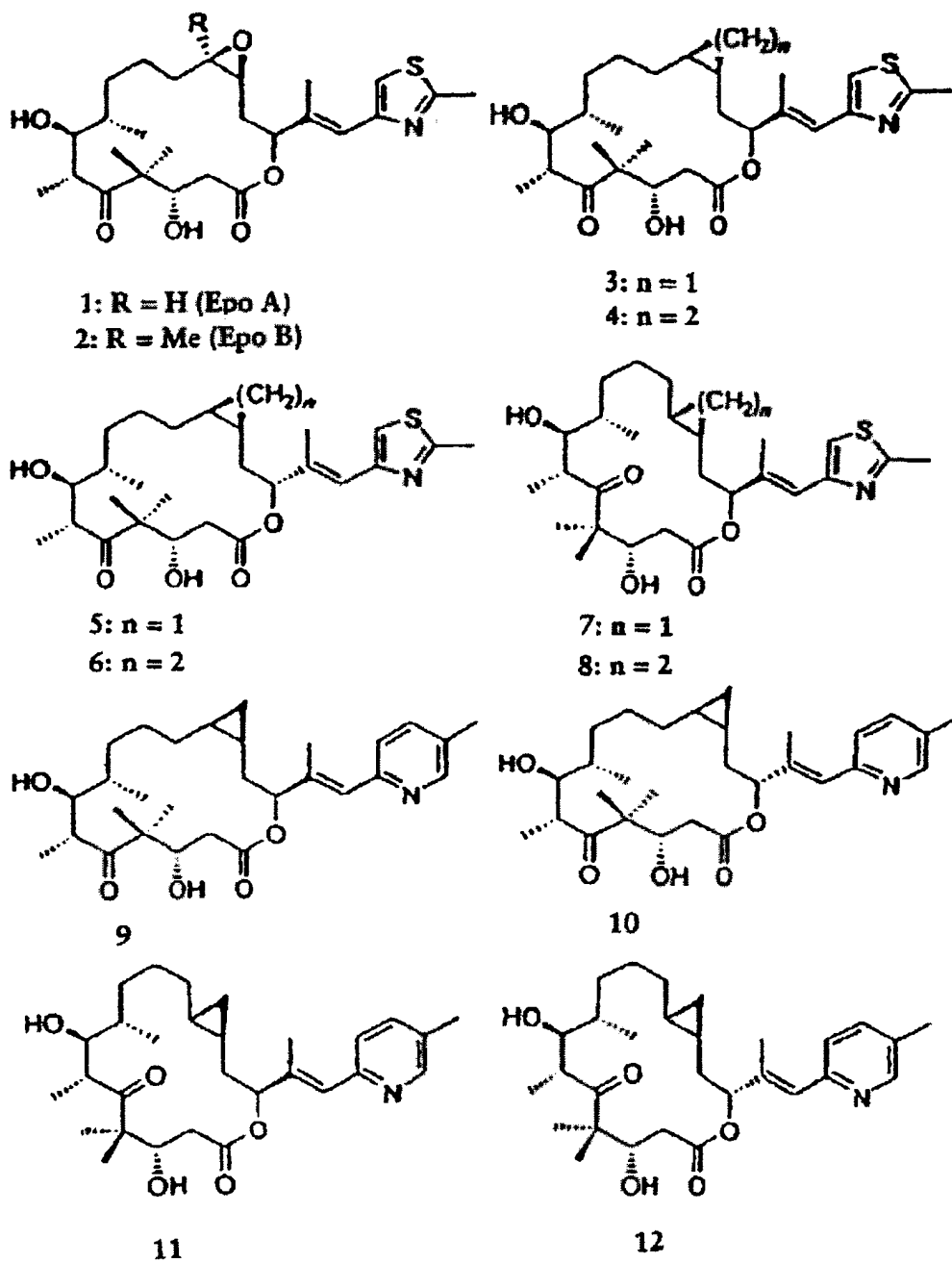


Figura 1/19

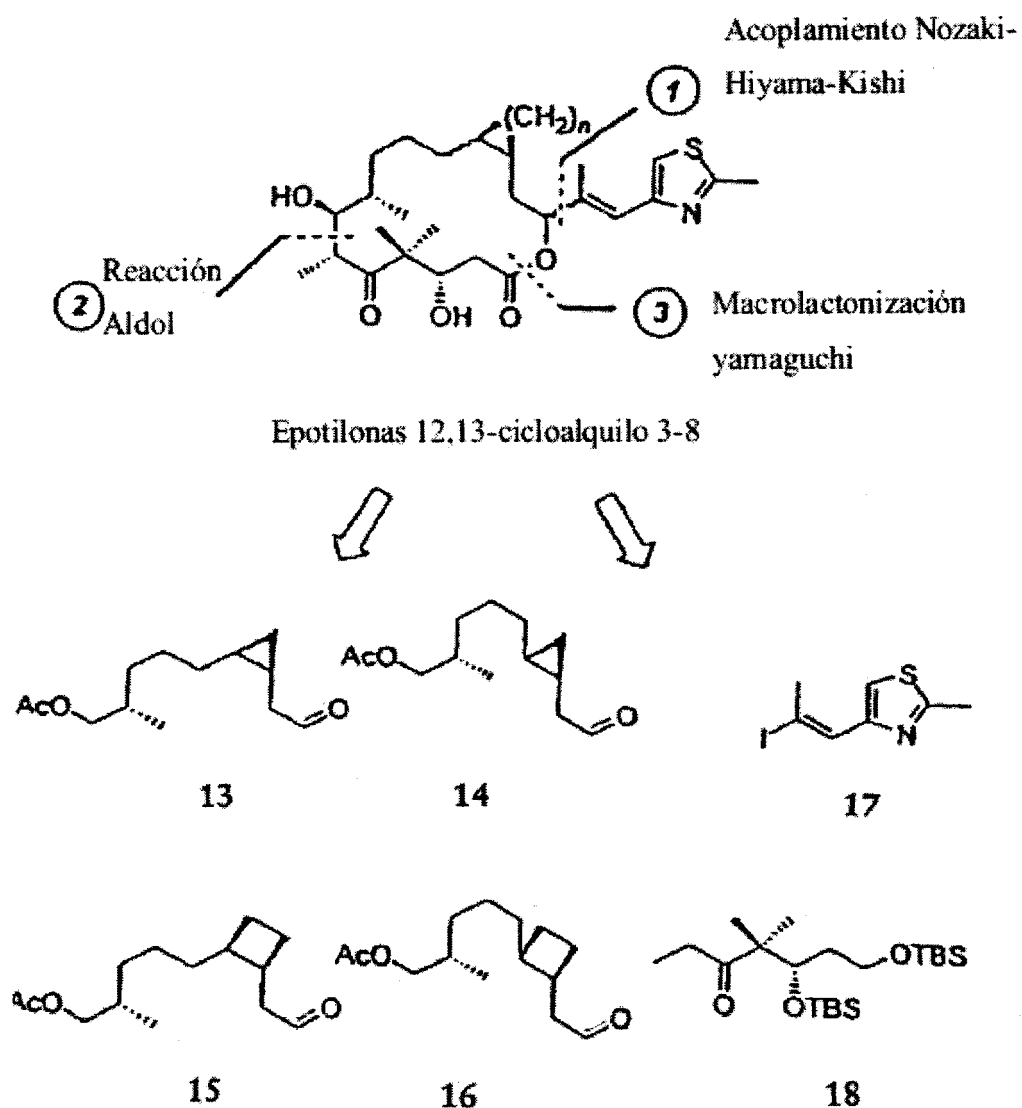


Figura 2/19

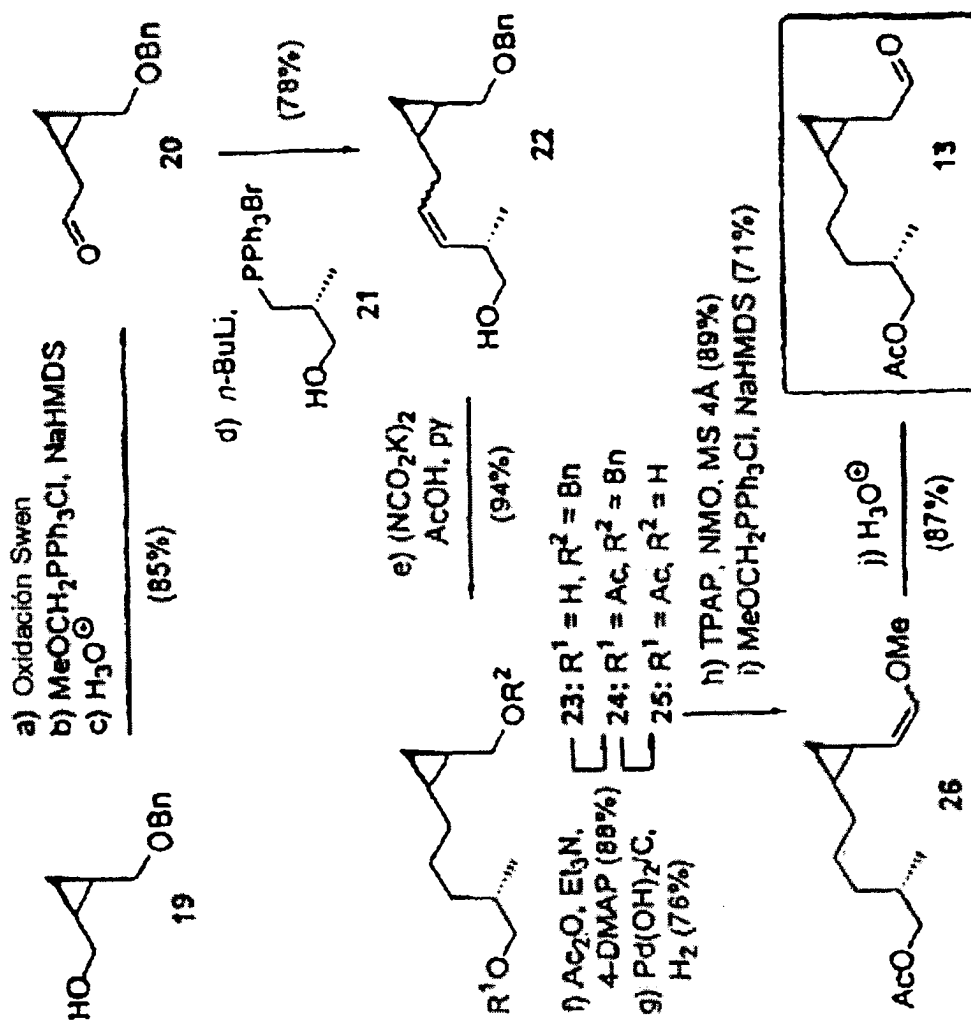


Figura 3/19

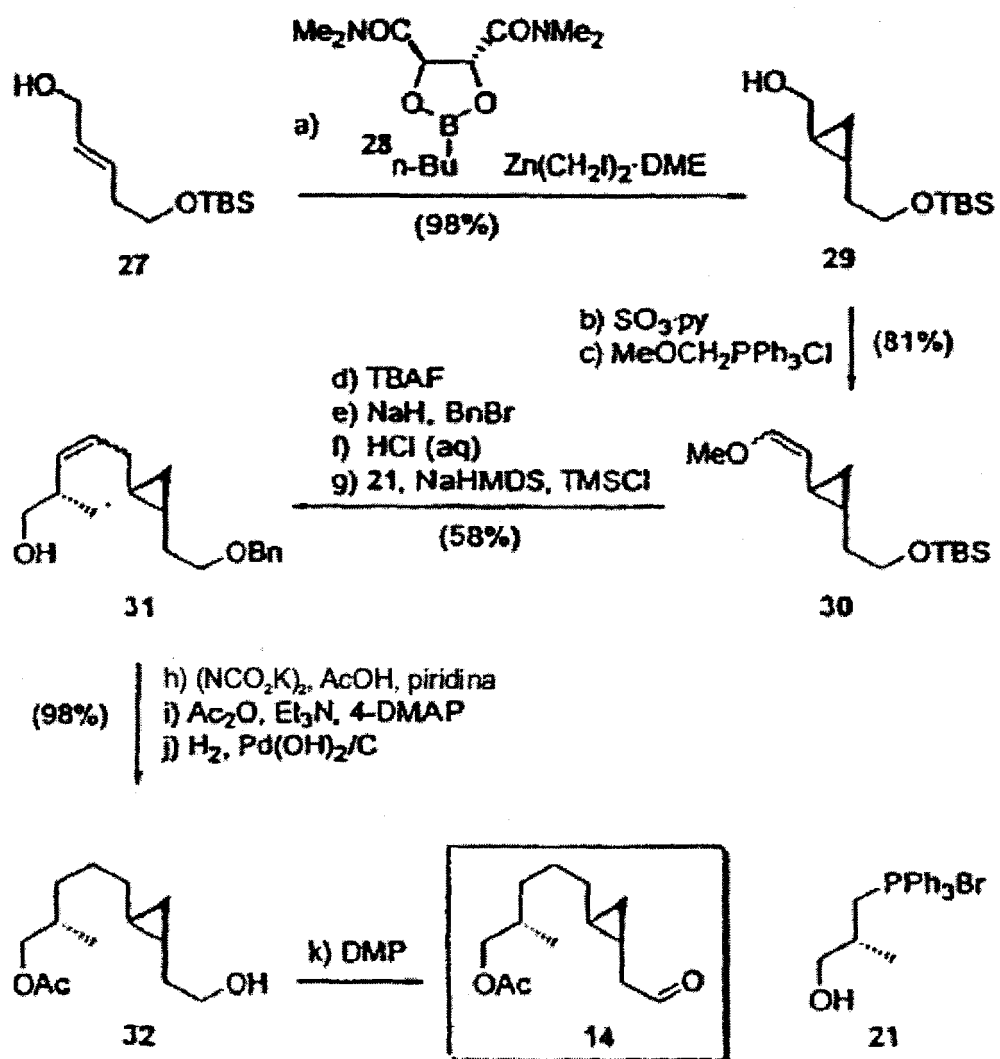


Figura 4/19

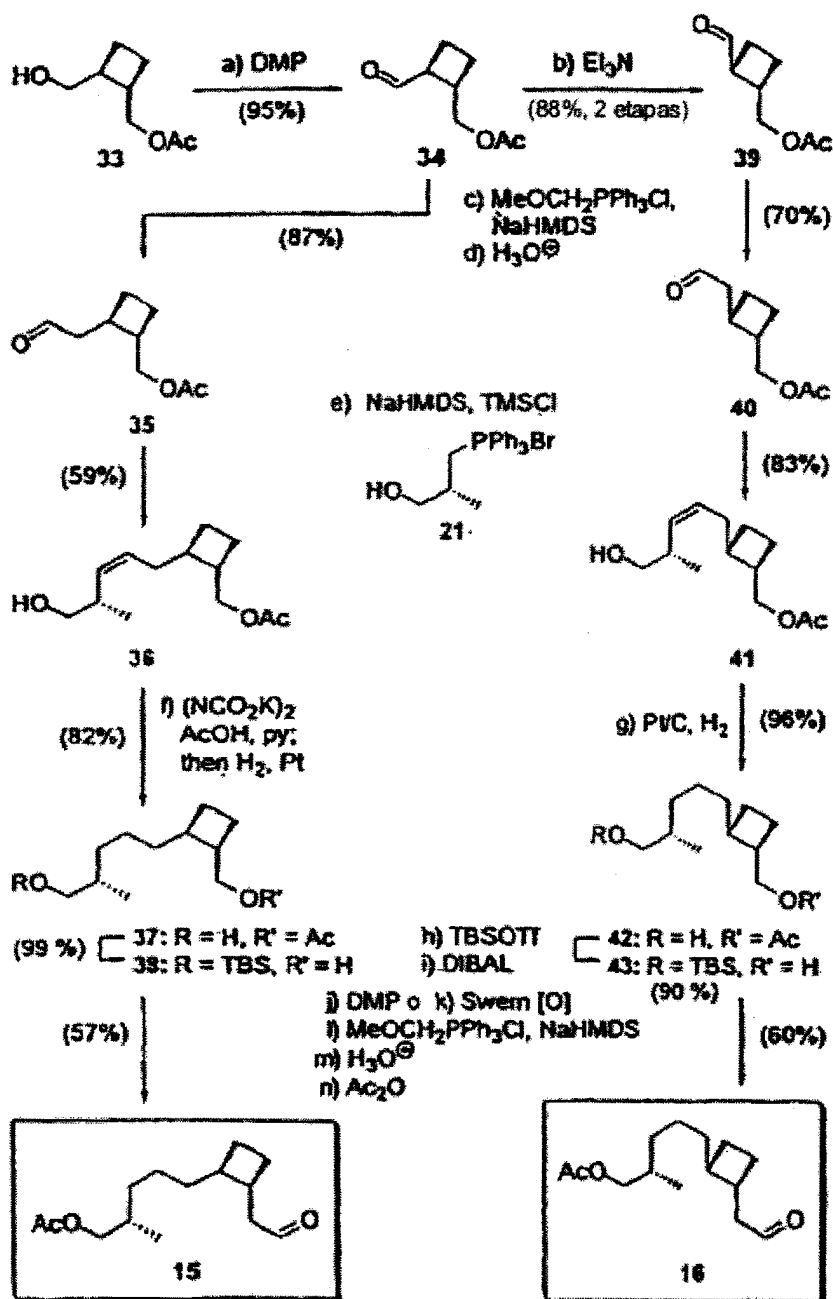


Figura 5/19

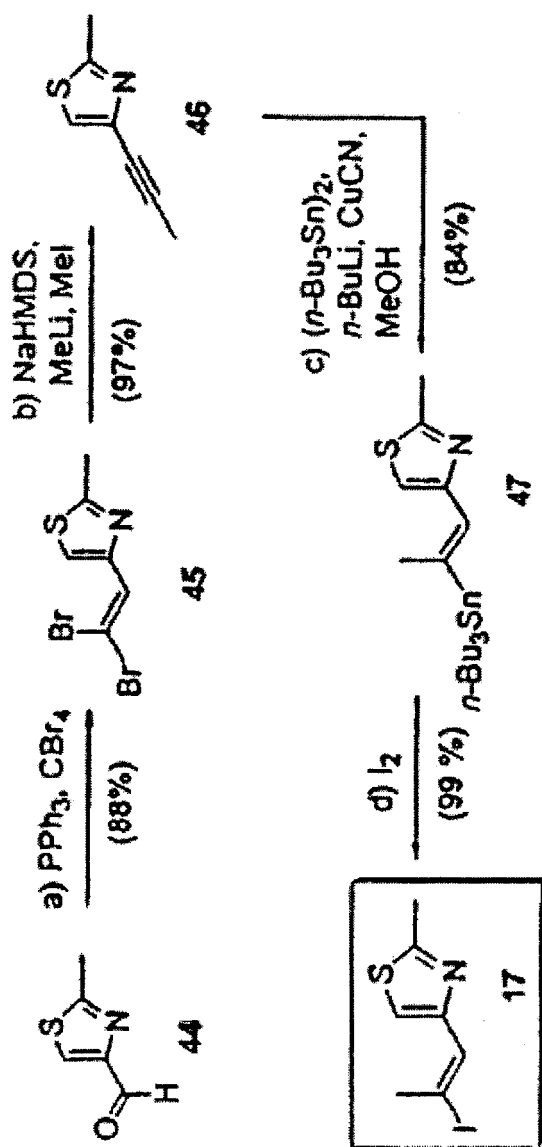


Figura 6/19

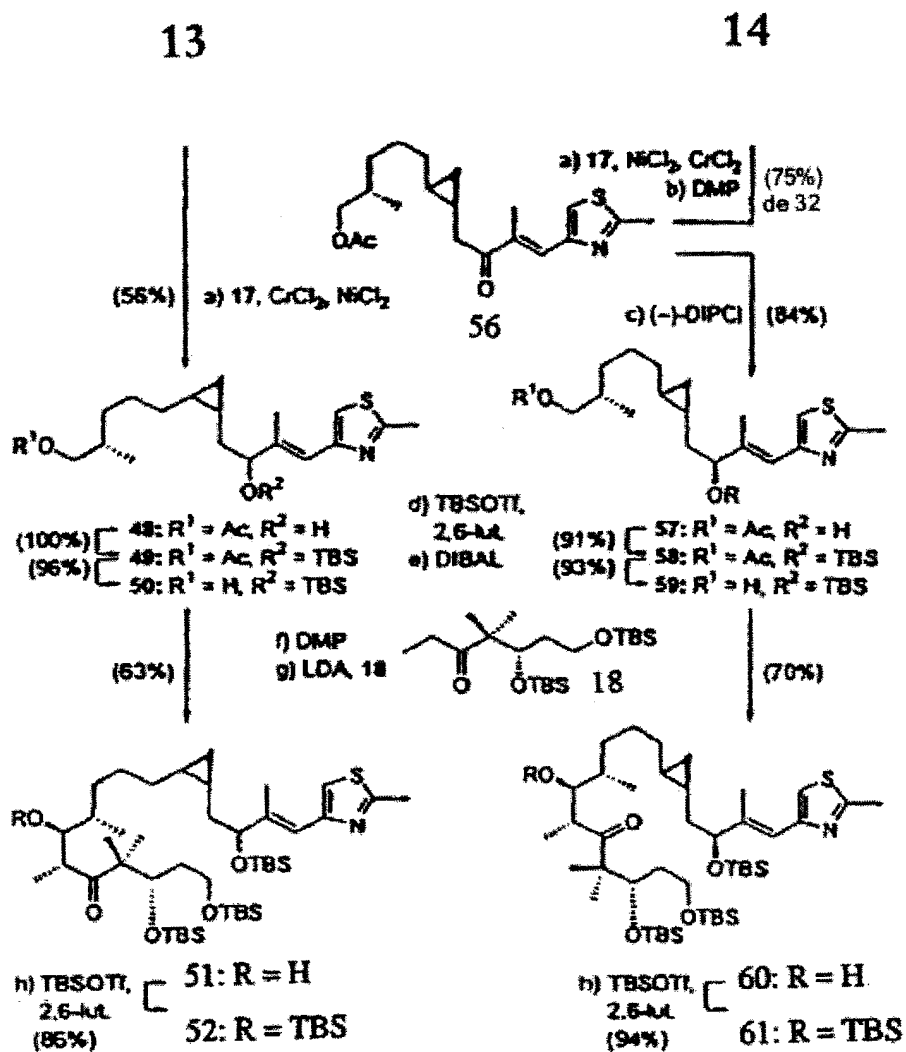


Figura 7/19

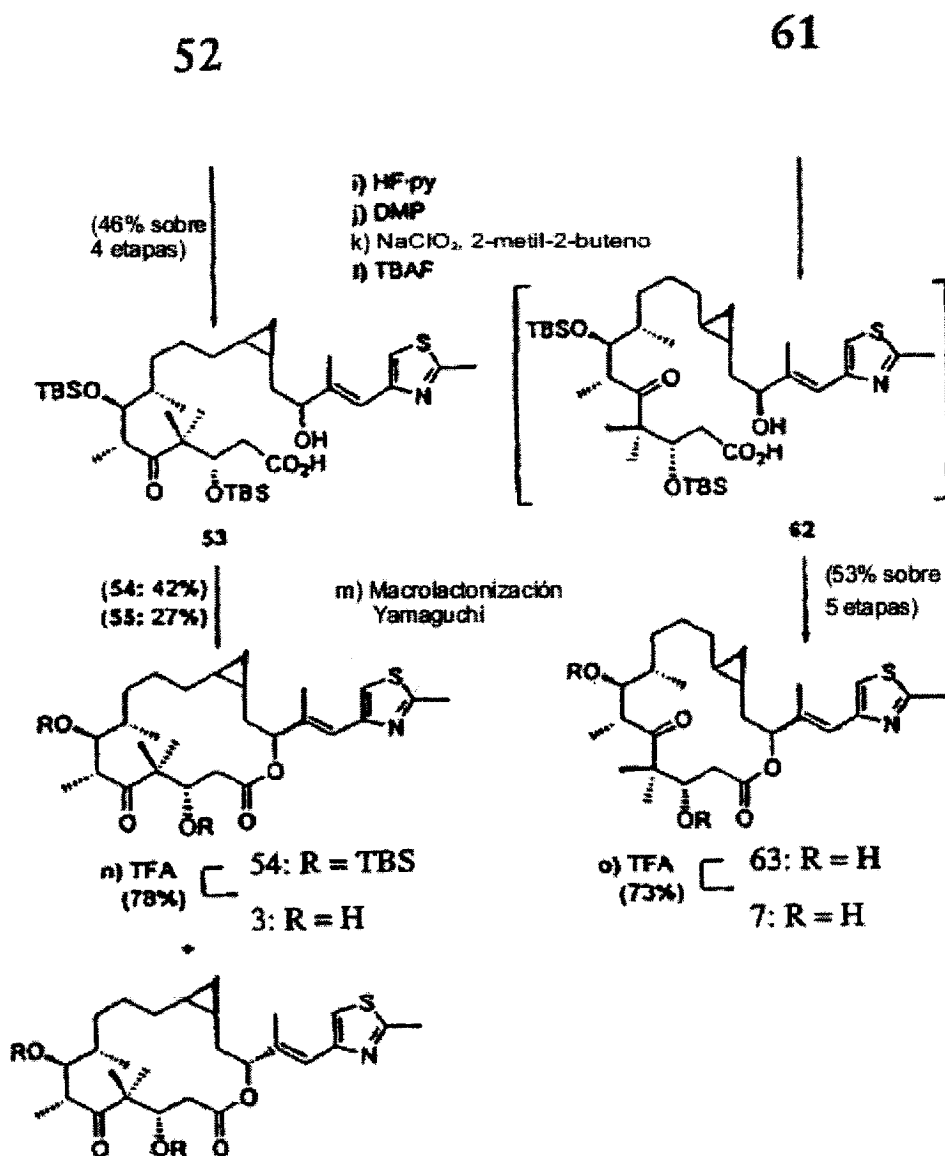


Figura 8/19

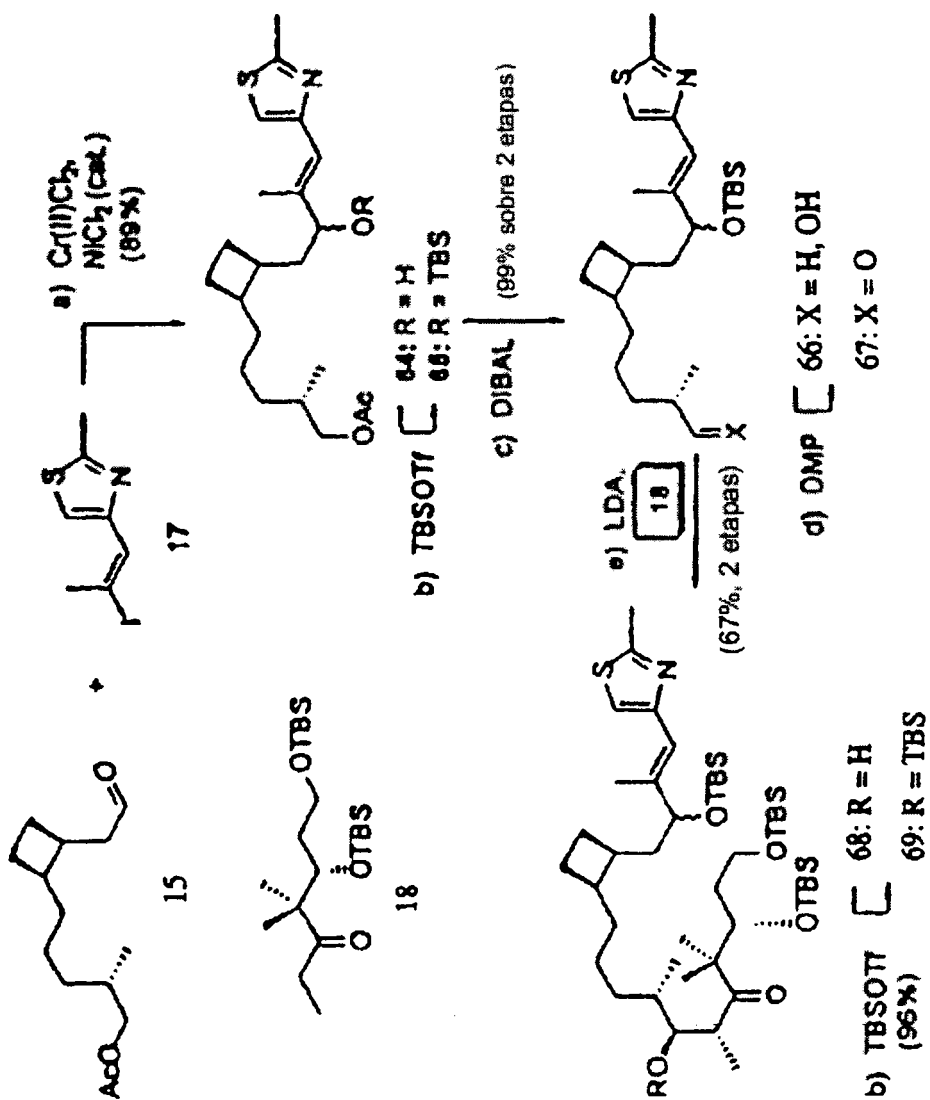


Figura 9/19

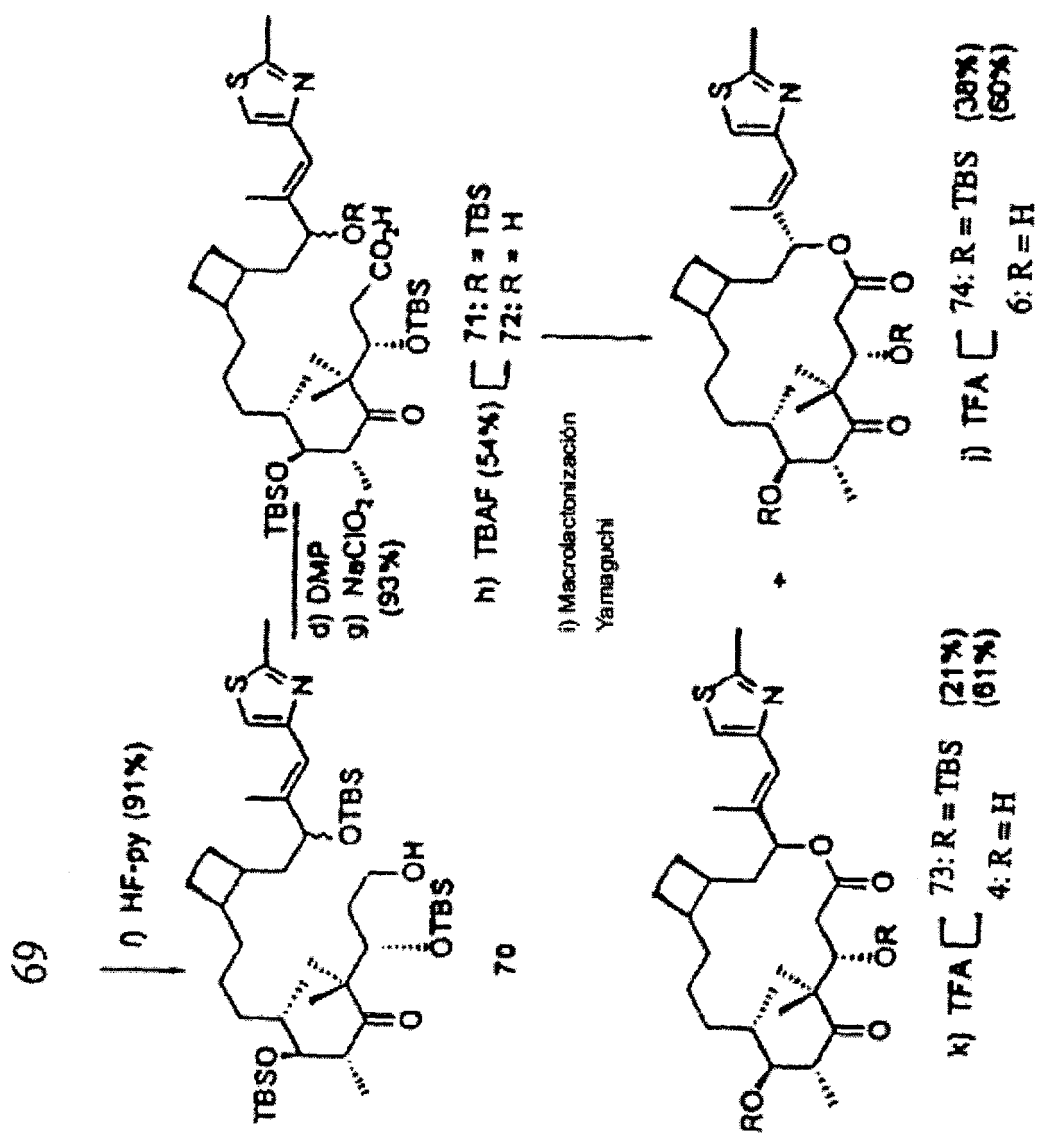


Figura 10/19

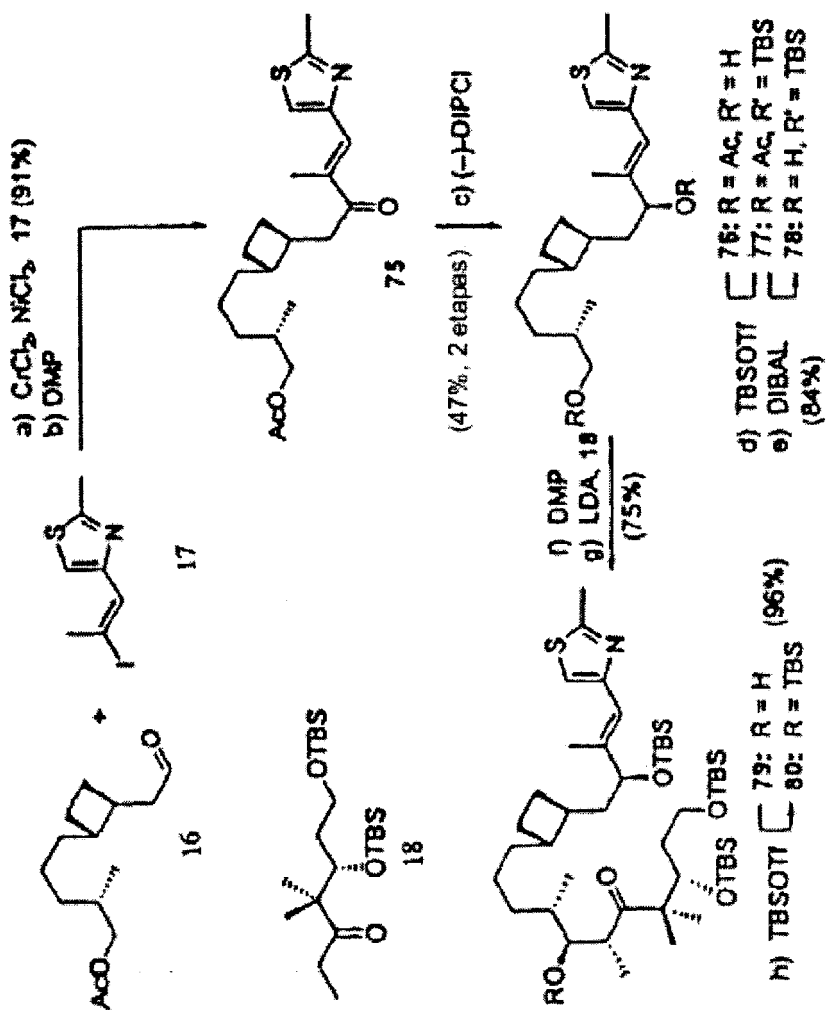


Figura 11/19

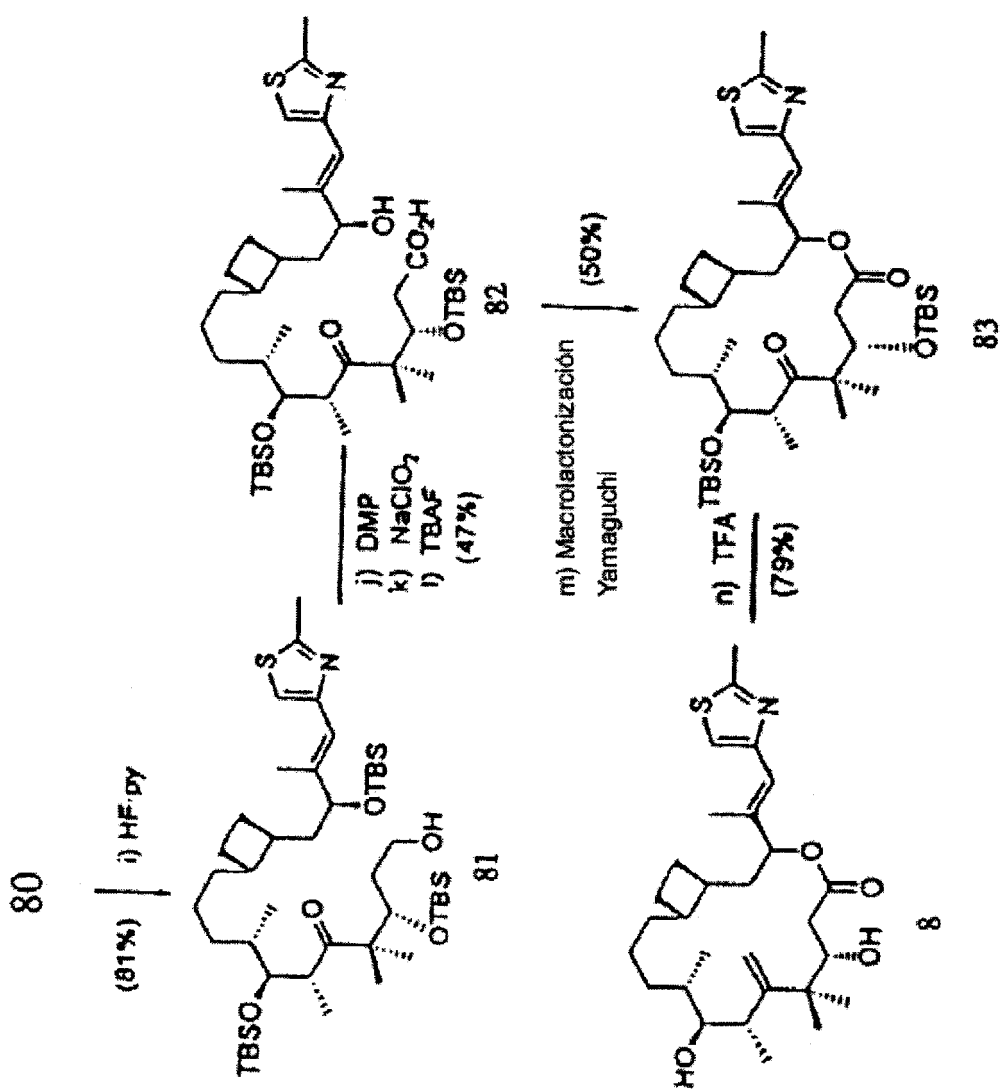
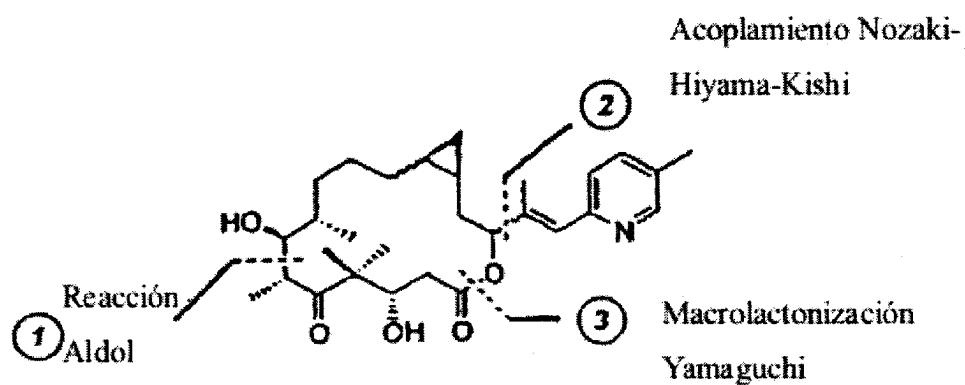


Figura 12/19



Epotilonas 9-12 cicloalquilo 12,13

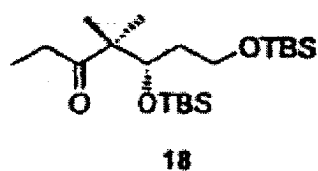
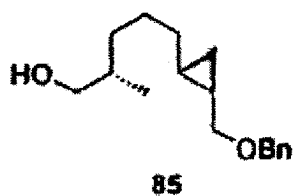
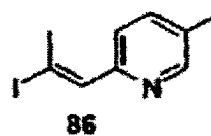
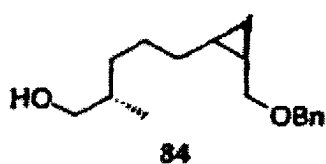


Figura 13/19

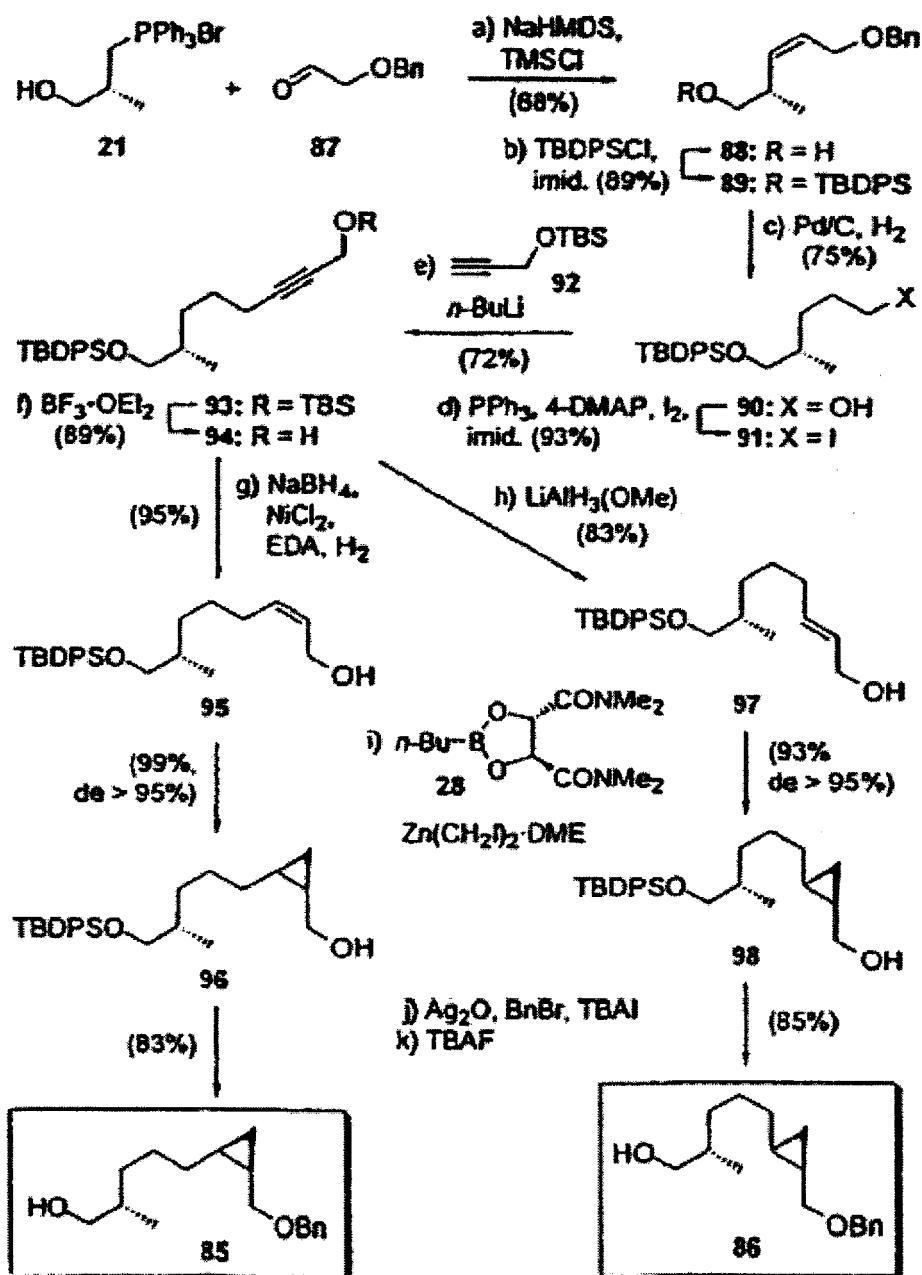


Figura 14/19

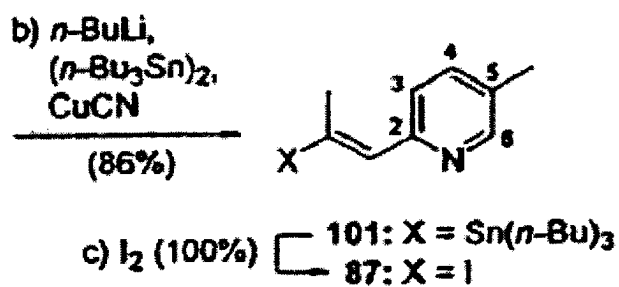
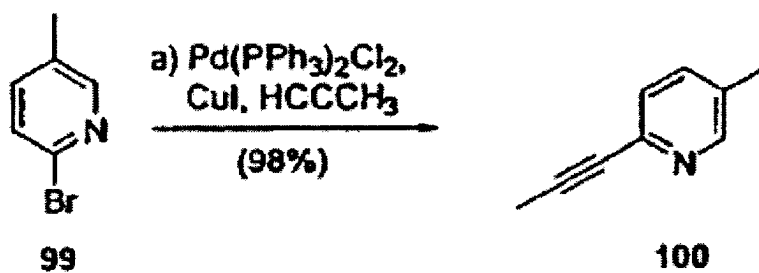


Figura 15/19

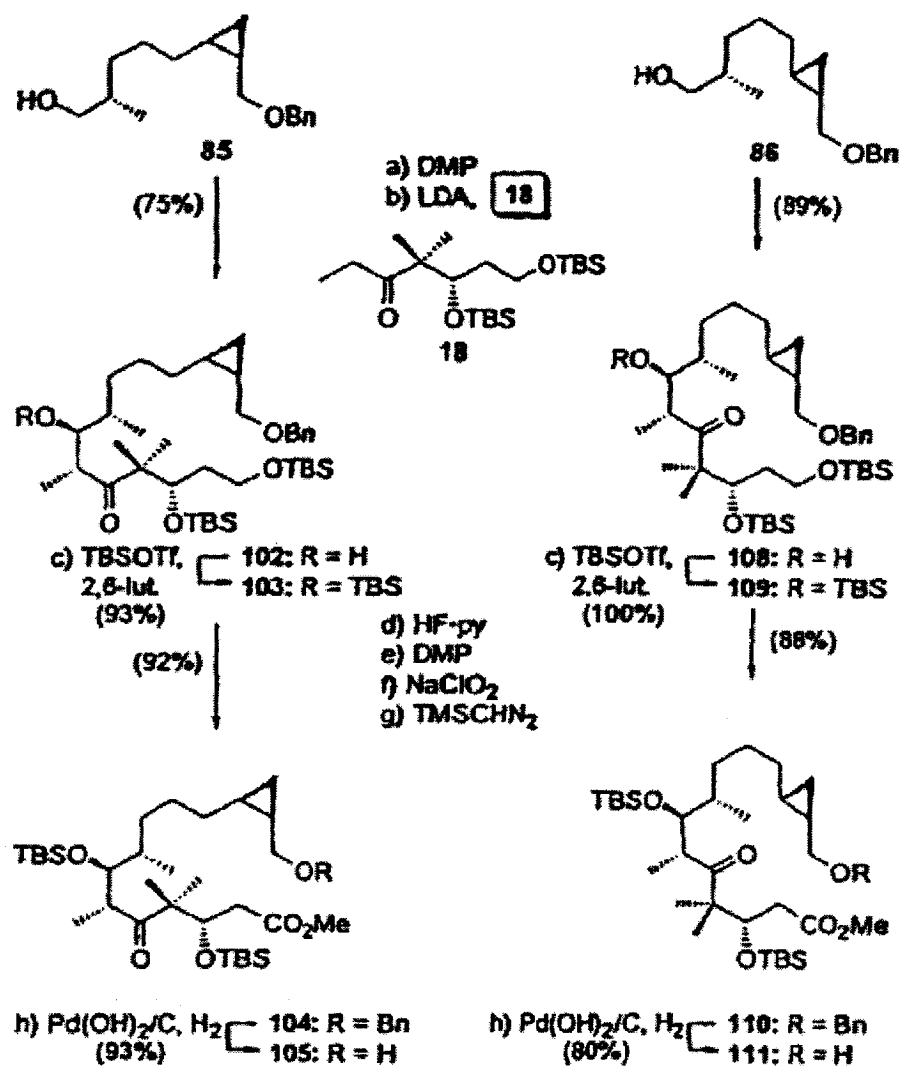


Figura 16/19

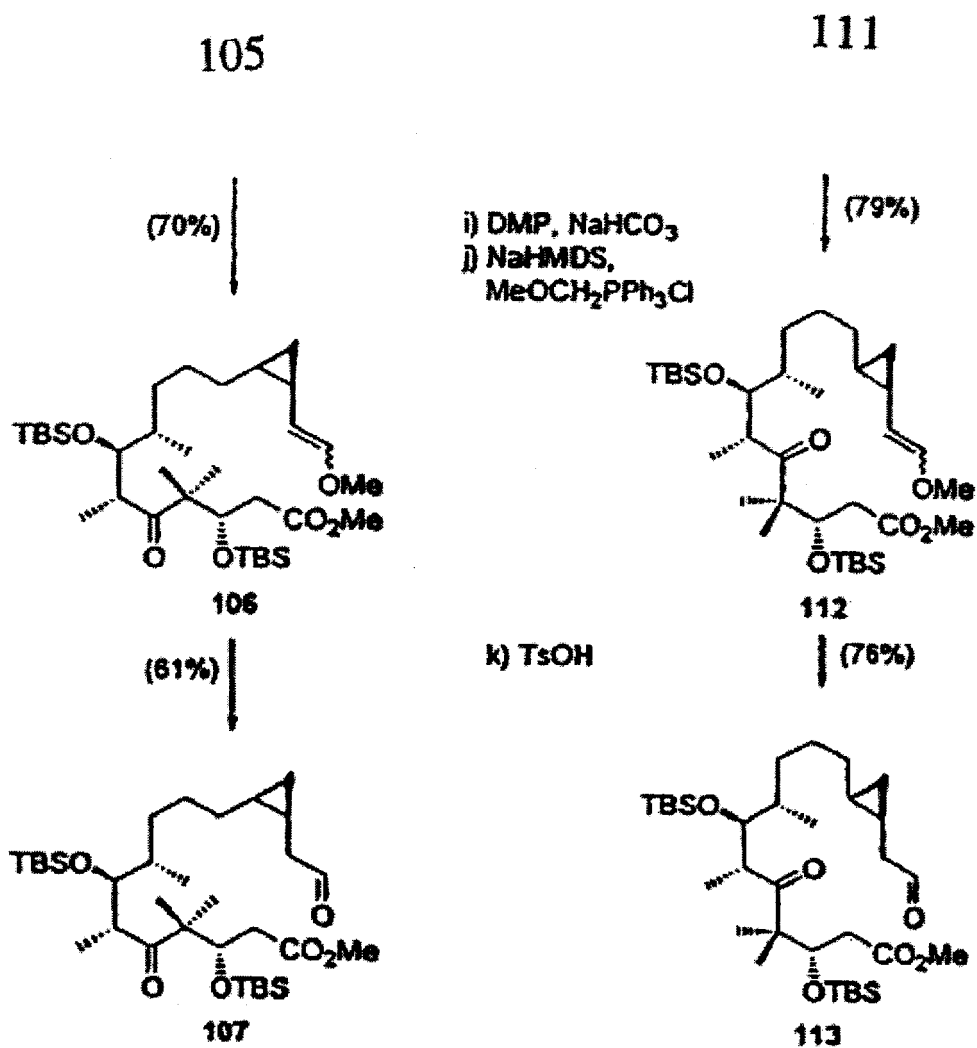


Figura 17/19

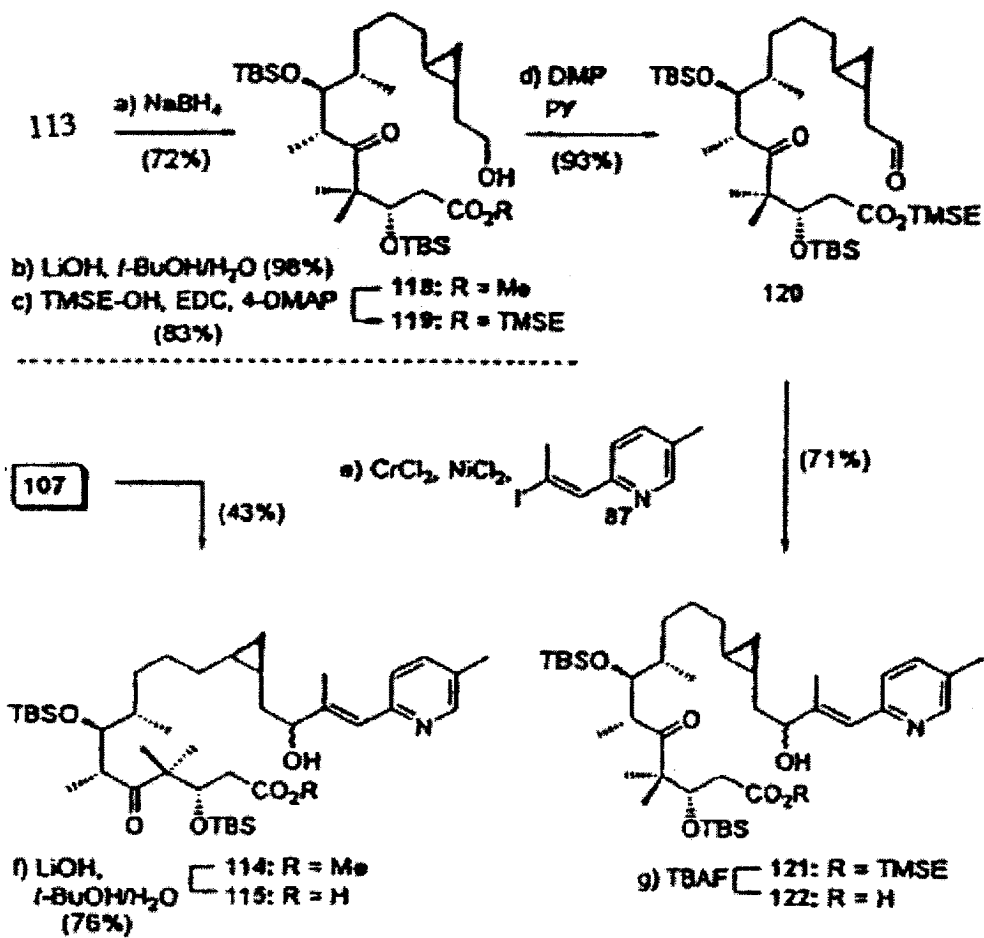


Figura 18/19

115

122

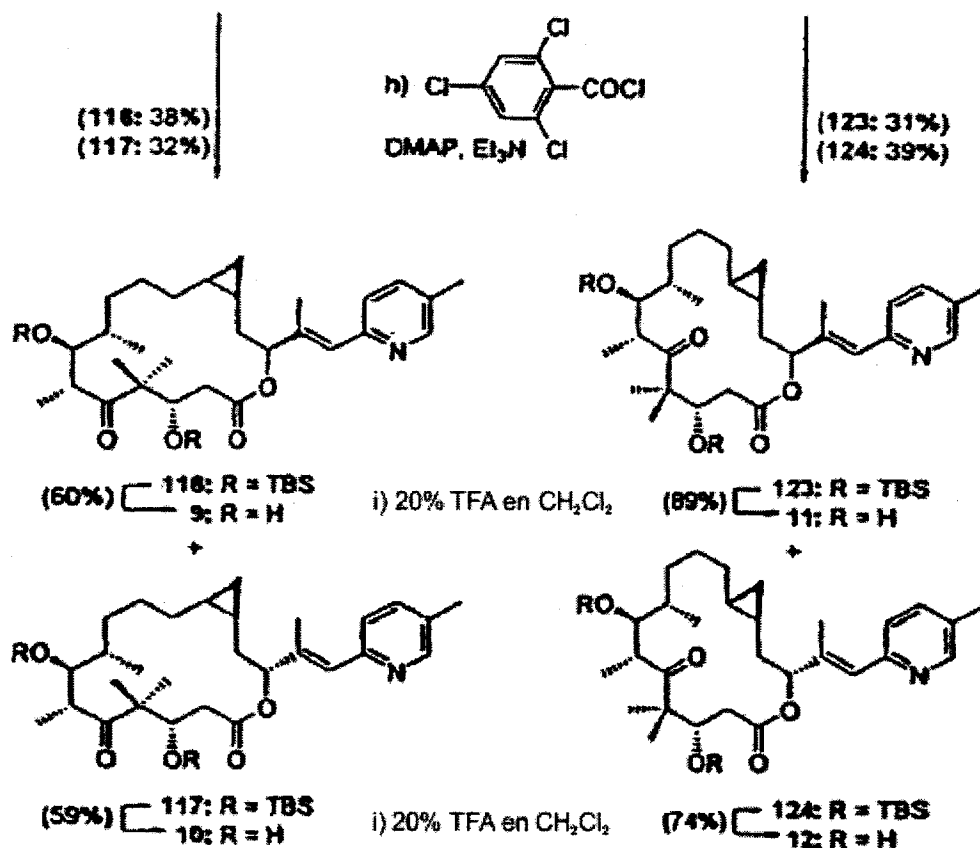


Figura 19/19