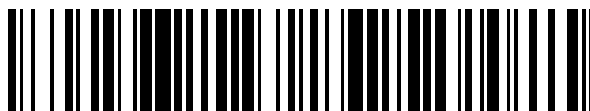


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 368 064**

51 Int. Cl.:
C07C 401/00 (2006.01)
A61K 31/59 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 19/08 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04718886 .7**
96 Fecha de presentación: **10.03.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1601646**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.12.2005**

54 Título: **ANÁLOGOS DE LA VITAMINA D SUSTITUIDOS EN 2 Y USOS TERAPÉUTICOS DE LOS MISMOS.**

30 Prioridad:
10.03.2003 GB 0305332

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
14.11.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
14.11.2011

73 Titular/es:
**K.U. LEUVEN RESEARCH AND DEVELOPMENT
GROOT BEGIJNHOF 58
3000 LEUVEN, BE y
UNIVERSITEIT GENT**

72 Inventor/es:
**BOUILLON, Roger;
VERSTUYF, Annemieke;
VANDEWALLE, Maurits y
DE CLERCQ, Pierre**

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 368 064 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 la vitamina D sustituidos en 2 y usos terapéuticos de los mismos.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevos análogos de vitamina D, más específicamente a análogos de 19-nor-14-epi-1,25(OH)₂D₃ sustituido en 2 y de 19-nor-1,25(OH)₂D₃ sustituido en 2, a su utilización en medicina y a las preparaciones farmacéuticas que contienen los análogos de vitamina D de la invención. La presente invención se refiere además a los métodos de preparación de estos análogos de 19-nor-14-epi-1,25(OH)₂D₃ sustituido en 2 y de 19-nor-1,25(OH)₂D₃ sustituido en 2.

Antecedentes de la invención

10 La vitamina D de origen nutritivo (vitamina D₂ o D₃) o producida en la piel bajo la influencia de la luz ultravioleta se metaboliza en varios tejidos para producir en primer lugar 25-hidroxivitamina D₃ [25(OH)D₃] y después 1 α ,25-dihidroivitamina D₃ [1 α ,25(OH)D₃] y otros numerosos metabolitos de vitamina D. Varias hidroxilasas presentes en diferentes tejidos (p. ej. hígado, riñón, placenta, queratinocitos, fibroblastos, monocitos, células óseas, ...) son responsables tanto de activar como de inactivar las series de reacciones de las moléculas de vitamina D originales.

15 1 α ,25(OH)D₃ se comporta como una hormona esteroide clásica ya que su síntesis es controlada por retroalimentación por varias hormonas, iones y factores humorales para mantener una homeostasis normal del cuerpo de plasma y minerales óseos. Además la(s) hormona(s) de la vitamina D actúa(n) mediante unión y activación de los receptores específicos de la vitamina D, presentes en la mayoría de los tejidos y células. La unión por alta afinidad de 1 α ,25(OH)D₃ al receptor nuclear de vitamina D (VDR), seguido de dimerización del VDR ligado con el receptor X retinoide (RXR) y la unión del heterodímero VDR-RXR a los elementos específicos sensibles de la vitamina D (VDRE) en la región activadora de los genes diana para la vitamina D regula la transcripción de una gran y diversa serie de genes. Además existen algunas pruebas de que la vitamina D, sus metabolitos y análogos actúan por mecanismos no genómicos, ya sea activando canales iónicos u otros relacionados con la membrana o con segundas señales del mensajero. La vitamina D, sus metabolitos y análogos ejercen potentes efectos sobre el metabolismo del calcio y del fosfato, y por consiguiente pueden utilizarse para la prevención y la terapia de la insuficiencia de vitamina D y otros trastornos del plasma y homeostasis mineral ósea (p. ej. osteomalacia, osteoporosis, osteodistrofia renal, trastornos de la función paratiroidea). Por otra parte los receptores de la vitamina D se encuentran en numerosos tejidos y células que no pertenecen a los tejidos diana responsables de la homeostasis del calcio mencionada anteriormente. Los receptores de la vitamina D y la actividad de la vitamina D han sido documentados también en otros tejidos transportadores de calcio aparte de los intestinos y huesos (p. ej. la placenta y glándulas mamarias). Además se ha observado la actuación de los receptores de vitamina D y de la vitamina D en la mayoría de las demás células (p. ej. células del sistema inmunitario, células de la piel, del colon, del cerebro, glándulas endocrinas, células de músculos). Estas células o tejidos pueden ser de tipo benigno, adematoso o maligno. Se descubrió que la hormona es capaz de regular la proliferación y diferenciación de varias células inmunológicas y malignas. 1 α ,25(OH)₂D₃ parece determinar la transición desde un estado de proliferación a un estado de diferenciación. Está implicada en la estimulación de la inmunidad inespecífica de los monocitos y en la inhibición de la inmunidad linfocítica específica así como en la regulación del crecimiento y diferenciación de las células normales (embriogénesis) y de las células cancerosas (inducción de la diferenciación de células de melanoma, cáncer de mama, leucemia mieloide, linfoma y osteosarcoma). Estos efectos de la vitamina D denominados no calcémicos, sus metabolitos y análogos crean la posibilidad de utilizar dichos compuestos para varias aplicaciones terapéuticas tal como la modulación del sistema inmunitario, la modificación de la secreción hormonal, la alteración del transporte del calcio en varios tejidos, la influencia de la concentración del calcio intercelular, la inducción de la diferenciación celular o la inhibición de la proliferación celular. En particular dichos compuestos se ha considerado que son potencialmente útiles en la terapia de trastornos hiperproliferantes [p. ej. psoriasis, cáncer, enfermedades (auto)inmunitarias].

45

Actualmente, las enfermedades asociadas a la vitamina D se clasifican como insuficiencias o excesos en vitamina D. Las insuficiencias en vitamina D son debidas ya sea a la exposición insuficiente a la luz solar combinada con un inadecuado suministro exógeno en los alimentos, o a anomalías del metabolismo de la vitamina D. Las anomalías genéticas se describen en relación con la hidroxilasa renal (1 α -hidroxilasa) o con relación al receptor de la vitamina D (resistencia a la vitamina D). La interferencia con el metabolismo puede producirse también en el curso de varias enfermedades, y especialmente la insuficiencia renal y el hipoparatioidismo, o como resultado de interacciones farmacológicas, por ejemplo con fármacos y corticoides antiinflamatorios.

50

Las manifestaciones clínicas de estas insuficiencias de vitamina D son la mayoría de las veces claramente evidentes a nivel óseo: raquitismo, osteomalacia y posiblemente participación en los fenómenos de osteoporosis. Existen otros trastornos, asociados menos evidentes, por ejemplo una insuficiencia inmunitaria y una incidencia mayor de determinados cánceres y de trastornos vasculares y endocrinos. La mayoría de las insuficiencias se corrigen fácilmente mediante la aportación exógena de vitamina D. Una forma activa, por ejemplo 1 α ,25(OH)₂D₃, debe administrarse si el metabolismo es anormal, en particular en el caso de insuficiencia renal. Sin embargo 1 α ,25(OH)₂D₃ tiene una vida media corta, que con frecuencia justifica la toma de dos dosis al día.

55

Los excesos en vitamina D se encuentran esencialmente durante el envenenamiento con vitamina D, o durante una producción ectópica de metabolitos activos, por ejemplo durante enfermedades granulomatosas (sarcoidosis). El hiperparatoidismo estimula la producción excesiva de 1,25-(OH)₂-vitamina D, que también parece acompañar a la hipercalciuria idiopática familiar. Los derivados activos de la vitamina D empleados terapéuticamente, y esencialmente 1,25-(OH)₂-vitamina D utilizados, en particular, en la insuficiencia renal tienen un índice terapéutico muy estrecho, de modo que el envenenamiento con vitamina es frecuente durante su administración. Por lo tanto, el tratamiento de un envenenamiento con vitamina D es con frecuencia el resultado del tratamiento de una insuficiencia de vitamina D.

El principal inconveniente con respecto a la utilización de 1 α ,25(OH)₂D₃ es su toxicidad asociada a su efecto calcémico, que evita la aplicación de dosis farmacéuticas. La investigación actual está encaminada por consiguiente a la síntesis de análogos con potencia superagonística, pero, en particular al desacoplamiento de los efectos ventajosos de los efectos calcémicos.

Un gran número de análogos que incorpora modificaciones en el anillo A, en el fragmento de anillo CD, y, especialmente, en la cadena lateral se han sintetizado y probado biológicamente. Se ha demostrado bien que la eliminación de la función del 19-exometileno es beneficiosa: la 19-nor-1 α ,25-dioxivitamina D₃ presenta un efecto calcémico más pequeño (10% del de 1 α ,25(OH)₂D₃) a la vez que conserva buenas propiedades de diferenciación celular. Se observó además que, entre otras modificaciones, los 14-epímeros (dados a conocer en primer lugar en la patente de EE.UU. n° 6.017.907) están entre los mejores análogos conocidos hasta la fecha porque presentan efectos hipercalcémicos todavía más pequeños (aproximadamente 0,1% del de 1 α ,25(OH)₂D₃).

Recientemente se ha descubierto una nueva clase de análogos de la vitamina D a saber los análogos de 19-nor-14-epi-1,25(OH)₂D₃ (nuevos análogos estructurales de la vitamina D" (documentos EP 0 972 762 A2, US 6.017.907 Bouillon R., De Clercq P., Vandewalle M.). La experimentación de dichos análogos puso de manifiesto un perfil de actividad con fuerte actividad antiploriferante y muy pocos efectos calcémicos. Estos compuestos podrían utilizarse como agentes terapéuticos para el tratamiento del cáncer o de varios trastornos de la piel.

Los análogos 2 β -hidroxi y alcoxi de 1,25(OH)₂D₃ han sido descritos por Chugai Company en la patente de EE.UU. n° 4.666.634. Los análogos 2-alquil y 2-hidroxi-alquil de 1,25(OH)₂D₃ han sido descritos por Nikagawa *et al.* *Biochem. Pharmacol.* 60, 1937-1947, 2000; Nakagawa *et al.*, *Biochem. Pharmacol.* 59, 691-702, 2000; Takayama *et al.*; *Steroids* 66, 277-285 (2001); Fujishima *et al.* *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 8, 2145-2148, 1998; Suhara *et al.* *J. Org. Chem.* 66, 8760-8771, 2001; Konno *et al.* *J. Med. Chem.* 43, 4247-4265, 2000. La síntesis y la actividad biológica de los análogos 2-hidroxi y 2-alcoxi de 19-nor-1,25(OH)₂D₃ se han descrito en *J. Med. Chem.* 37, 3730-3738, 1994. Se han descrito y examinado análogos 19-nor del anillo A sustituido en 2 tales como los compuestos 2-alquil (US n° 6.127.559) y 2-alquilideno (US n° 5.936.133) de vitamina D. Véase también Sicinski *et al.* *J. Med. Chem.* 45, 3366-338, 2002; Sicinski *et al.* *J. Med. Chem.* 41, 4662-4674, 1998. Solamente se ha descrito ya un análogo de 14-epi-19-nor-1,25(OH)₂D₃ con una sustitución en el carbono 2, a saber 2-metileno-14-epi-19-nor-1,25(OH)₂D₃ en el documento US n° 5.936.105.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a nuevos análogos de la vitamina D y a la utilización de los análogos de la vitamina D con propiedades mejoradas en el tratamiento y prevención de afecciones y enfermedades específicas.

Por lo tanto, un primer aspecto de la invención se refiere a derivados de la vitamina D que tienen un perfil farmacocinético diferente y un índice terapéutico más favorable.

Según un aspecto específico, los análogos de la presente invención permiten que se disocien actividades biológicas diferentes con respecto a las células diana; más específicamente se contempla una disociación de los efectos beneficiosos de la vitamina D a partir de los efectos calcémicos.

Se descubrió sorprendentemente que los compuestos descritos en la presente memoria tienen una actividad selectiva en la función celular, tal como la inhibición de la proliferación celular (células no malignas tales como queratinocitos así como células malignas tales como las células de carcinoma de mama, de osteosarcoma y de leucemia) y/o tienen una gran potencia para la inducción de la diferenciación celular (p. ej. tipos de células como las recién mencionadas) pero por otra parte tienen sorprendentemente menor efecto sobre el calcio y la homeostasis de huesos como se evaluó en pollos raquíuticos (por medición en el suero y en el calcio del hueso, y por medición de dos proteínas dependientes de la vitamina D, osteocalcina sérica y calbindina D duodenal) así como en ratones normales saciados con vitamina D (utilizando puntos finales similares). Por lo tanto, a diferencia de los compuestos de vitamina D clásicos, los nuevos fármacos no presentan los mismos efectos tóxicos sobre el calcio y la homeostasis ósea. Específicamente los nuevos fármacos pueden utilizarse para la terapia o prevención de:

trastornos inmunitarios, tales como las enfermedades autoinmunitarias (tales como, pero sin limitarse a la diabetes mellitus tipo 1, esclerosis múltiple, lupus y trastornos similares al lupus, asma, glomerulonefritis, tiroiditis autoinmunitaria, etc.), disfunciones selectivas del sistema inmunitario (p. ej. SIDA) y prevención del rechazo inmunitario (tales como los rechazos de trasplantes (p. ej. de riñón, corazón, médula ósea, hígado, islotes o páncreas completo, piel, etc.) o la prevención de la enfermedad injerto contra el hospedador] y otras

enfermedades inflamatorias (p. ej. artritis reumatoidea). Los fármacos recién inventados pueden utilizarse solos o combinados con otros fármacos inmunomoduladores conocidos porque interfieren con el sistema inmunitario (p. ej. ciclosporina, FK 506, glucocorticoides, anticuerpos monoclonales, citocinas o factores de crecimiento);

5 trastornos de la piel caracterizados por la hiperplorifelación y/o inflamación y/o reacción (auto)inmunitaria (p. ej. psoriasis, disqueratosis, acné). Además como estos fármacos pueden estimular la diferenciación de las células cutáneas pueden utilizarse para el tratamiento o la prevención de la alopecia de cualquier origen (incluyendo la alopecia debida a la quimioterapia o la irradiación);

10 trastornos hiperploriferantes y cáncer, tales como las enfermedades hiperplorifelantes de la piel (p. ej. psoriasis) y varios tipos de cánceres y sus metástasis (todos los tipos de cánceres que han o pueden ser producidos por tener receptores de la vitamina D tales como, pero sin limitarse a cáncer de mama, leucemia, síndromes mielodisplásicos y linfomas, carcinomas de células escamosas y cánceres gastrointestinales, melanomas, osteosarcoma, etc.). Los fármacos recién inventados pueden utilizarse en combinación con otros fármacos quimioterapéuticos conocidos por ser de valor terapéutico en dichos trastornos. Estos nuevos fármacos pueden ser particularmente ventajosos para dichas enfermedades ya que pueden, al contrario que
15 los agentes quimioterapéuticos clásicos, estimular también la diferenciación celular;

trastornos endocrinos como análogos de la vitamina D pueden modular la secreción hormonal, tal como la secreción aumentada de insulina o la modulación selectiva de la secreción de la hormona del paratiroides (p. ej. en la insuficiencia renal crónica, el hiperparatiroidismo secundario y el hipoparatiroidismo); y

20 enfermedades caracterizadas por la manipulación anormal del calcio intracelular ya que los nuevos fármacos tienen efectos favorables en las células cuyas funciones dependen en gran medida de los movimientos del calcio intracelular (p. ej. células endocrinas, músculo, etc.).

La utilización de los nuevos compuestos puede hallar aplicación también en trastornos humanos como en medicina veterinaria.

25 La cantidad de nuevos compuestos necesaria para su efecto terapéutico puede variar según su indicación, vía de administración y especie (animal/hombre) tratada. Los compuestos pueden administrarse por vía intestinal, parenteral o vía tópica local. En el tratamiento de trastornos dermatológicos una aplicación tópica en forma de pomada, crema o loción debe preferirse sobre el tratamiento generalizado, preferentemente a una dosis de 0,1 a 500 µg/g. La administración generalizada en forma de comprimidos, cápsulas, líquida o en forma de preparación esterilizada en un vehículo, diluyente o disolvente apropiado para inyección parenteral utilizará cantidades en
30 microgramos de los compuestos al día dependiendo de la indicación y de la situación clínica/veterinaria.

Según una realización específica de la invención se describen análogos con aumento de actividad en células formadoras de hueso sin una potencia simultánea en células reabsorbedoras de hueso o viceversa. Dichos análogos son útiles en el tratamiento de trastornos óseos tal como la osteoporosis.

35 Según otra realización específica de la invención se describen análogos que presentan un aumento de potencia para inhibir la proliferación y/o aumentar la diferenciación de células cancerosas (p. ej. células de leucemia o de cáncer de mama) y al mismo tiempo presentan una potencia reducida para influir en la homeostasis del suero, urinaria o del calcio o fosfato de los huesos. Dichos análogos son de interés en el tratamiento del cáncer.

40 Según todavía otro aspecto de la invención, se obtienen efectos aumentados en proliferación y diferenciación combinando análogos de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ con otros fármacos (p. ej. factores de crecimiento o citocinas, otros esteroides, hormonas antiesteroides, ácidos retinoicos o compuestos relacionados, quimioterapéuticos). Asimismo, se contemplan análogos con actividad aumentada en secreción hormonal específica (p. ej. hormona paratiroidea, insulina) sin la misma potencia relativa para las demás actividades de la(s) hormona(s) natural(es) de la vitamina D. Se contemplan análogos con actividad aumentada sobre el sistema inmunitario (linfocitos T activados, células presentadoras al antígeno) para el tratamiento de trastornos inmunitarios. De hecho, análogos de la vitamina D han
45 demostrado ser eficaces en modelos experimentales de diabetes tipo I, rechazo de trasplante sin mayores efectos sobre el metabolismo del calcio y fosfato.

Según otro aspecto de la invención, se contempla la utilización de precursores inactivos, lo cual tiene la ventaja de limitar la actividad directa en el intestino cuando se toma una dosis oral. Pueden activarse a continuación algunos precursores por rutas independientes del metabolismo normal de la vitamina D (los denominados "profármacos"). Dichos bioderivados presentan una biodistribución especial capaz de impartir un efecto biológico selectivo *in vivo*. Algunos de ellos son especialmente muy adecuados para otras vías de administración tal como la administración transcutánea que constituye, por ejemplo, un tratamiento eficaz para la psoriasis.

55 La presente invención se refiere a compuestos de la vitamina D y más específicamente a determinados estereoisómeros de análogos de 14-epi-19-nor-1,25(OH)₂D₃ con n sustituyente alquilo inferior en el carbono 2, estando opcionalmente sustituido con átomos o grupos funcionales, con o sin modificación de la cadena lateral en los carbonos 20 y superiores. En particular se descubrió sorprendentemente que determinadas combinaciones de configuraciones estereoisoméricas en el carbono 1, carbono 2 y carbono 3 proporcionan un perfil de actividad

biológica inesperado, un perfil de toxicidad y un perfil fármaco-cinético para los correspondientes análogos de vitamina D. Por lo tanto, según una forma de realización específica, la presente invención se refiere a determinados estereoisómeros de 14-epi-19-nor-1,25(OH)₂D₃ con sólo un sustituyente alquilo inferior presente en el carbono 2 y preferentemente cuando dicho sustituyente alquilo inferior no tiene más de 1 átomo de carbono, con lo que la selección de una configuración α en dicho carbono 2 puede proporcionar una disminución significativa y útil de efectos secundarios con respecto al estereoisómero correspondiente que tiene una configuración β en dicho carbono 2. Se demuestra que dichos compuestos son capaces de aumentar la concentración de calcio en el hueso, sin dar como resultado una elevación en el calcio de la orina y/o del suero. Por consiguiente el estereoisómero seleccionado (que tiene una configuración α en dicho carbono 2) es de interés preferido en el tratamiento de las osteopatías tal como la osteoporosis.

Según otra realización específica de la invención, se proporciona 14-epi-19-nor-1,25(OH)₂D₃ que tiene solamente un sustituyente alquilo inferior presente en el carbono 2, por lo que el sustituyente alquilo inferior tiene 2 a 5 átomos de carbono que son capaces de proporcionar una relación de especificidad significativamente mayor que los correspondientes análogos con un sustituyente alquilo que tiene por lo menos cinco átomos de carbono en la posición 2. Por consiguiente los análogos seleccionados (que tienen un sustituyente alquilo con 2 a 5 átomos de carbono, que tienen específicamente un sustituyente alquilo con 2 átomos, con una configuración α o una configuración β en dicho carbono 2) son de interés preferido en el tratamiento del cáncer.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a nuevos análogos de vitamina D y a su utilización como medicamento. La presente invención se refiere más en particular a la utilización de compuestos específicos de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer o de otras enfermedades caracterizadas por una hiperproliferación, para la inducción de diferenciación celular, para el tratamiento o prevención de trastornos inmunológicos o inflamatorios y para la mejora de la función de las células en la que el calcio es un agente regulador esencial, tal como para el tratamiento y prevención de la osteoporosis. La presente invención se refiere además a un método de preparación adecuado para los compuestos específicos de la invención en alto rendimiento y pureza.

25 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 representa esquemáticamente un método de síntesis de análogos de la vitamina D de la presente invención.

La figura 2 representa esquemáticamente un método alternativo de síntesis de análogos de la vitamina D de la presente invención.

30 La figura 3 representa esquemáticamente un método alternativo de síntesis de análogos de la vitamina D de la presente invención.

La figura 4 representa esquemáticamente un método de síntesis de precursores útil para preparar análogos de la vitamina D de la presente invención.

35 La figura 5 representa esquemáticamente un método de síntesis de precursores útil para preparar análogos de la vitamina D de la presente invención.

La figura 6 representa esquemáticamente un método de síntesis de precursores útil para preparar análogos de la vitamina D de la presente invención.

La figura 7 presenta las fórmulas detalladas de cada uno de los análogos de la vitamina D de la presente invención.

40 La figura 8 representa esquemáticamente un método alternativo de síntesis de análogos de la vitamina D de la presente invención.

La figura 9 presenta efectos diferenciadores de análogos de la vitamina D de la presente invención en células HL-60.

La figura 10 presenta efectos antiproliferantes de análogos de la vitamina D de la presente invención en células MCF-7.

Definiciones

45 Tal como se utiliza en la presente memoria con respecto al grupo sustituyente y a menos que se exprese de otra manera, las expresiones "alquilo C₁₋₅" y "grupos alquilo de 1 a 5 átomos de carbono" significa radicales o grupos hidrocarbonados monovalentes alicíclicos saturados de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 5 átomos de carbono tales como, por ejemplo, metil, etil, propil, n-butil, 1-metiletil (isopropil), 2-metilpropil (isobutil), 1,1-dimetiletil (terc-butil), 2-metilbutil, n-pentil, dimetilpropil y similares.

50 Tal como se utiliza en la presente memoria con respecto al grupo sustituyente y a menos que se exprese de otra manera, el término "aril" designa cualquier radical hidrocarbonado monovalente mono- o poliaromático que tiene de 6 a 30 átomos de carbono tales como pero sin limitarse a fenil, naftil, antraceni, fenantracil, crisenil, pirenil, bifenil, terfenil, picenil, indenil, indaceni, bencociclobutenil, bencociclooctenil y similares, incluyendo radicales cicloalquil C₅₋₈

condensados con benzo- (siendo estos últimos como se definieron anteriormente) tales como, por ejemplo, indanil, tetrahidronaftil, fluorenil y similares.

5 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "insaturado" se refiere se refiere a radicales hidrocarbonados insaturados alifáticos, es decir radicales hidrocarbonados monovalentes alicíclicos lineales o ramificados que tienen una o más insaturaciones etilénicas o acetilénicas.

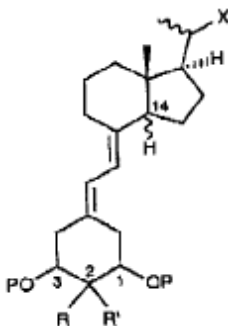
10 Tal como se utiliza en la presente memoria y a menos que se exprese de otra manera, el término "cicloalquil" significa un radical hidrocarbonado monovalente saturado monocíclico que tiene de 3 a 10 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, ciclohexil, cicloheptil, ciclooctil y similares, o un radical hidrocarbonado monovalente saturado policíclico C₇₋₁₀ que tiene de 7 a 10 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, norbornilo, fenchilo, trimetiltricicloheptilo o adamantilo.

15 Tal como se utiliza en la presente memoria con respecto a un grupo sustituyente y a menos que se exprese de otra manera, el término "heterocíclico" significa un radical hidrocarbonado monovalente, saturado o monoinsaturado o poliinsaturado que tiene de 2 a 15 átomos de carbono y que incluye uno o más heteroátomos en uno o más anillos heterocíclicos, teniendo cada uno de dichos anillos de 3 a 10 átomos (y opcionalmente incluyendo además uno o más heteroátomos unidos a uno o más átomos de carbono de dicho anillo, por ejemplo en forma de un grupo carbonilo, tiocarbonilo o selenocarbonilo y/o a uno o más heteroátomos de dicho anillo, por ejemplo en forma de un grupo sulfona, sulfóxido, N-óxido, fosfato, fosfonato u óxido de selenio), seleccionándose cada uno de dichos heteroátomos de entre el grupo constituido por nitrógeno, oxígeno, azufre, selenio y fósforo, incluyendo también radicales en los que se fusiona un anillo heterocíclico a uno o más anillos hidrocarbonados aromáticos por ejemplo en forma de radicales heterocíclicos benzo-fusionados, dibenzo-fusionados y nafto-fusionados.

20 Tal como se utiliza en la presente memoria y a menos que se exprese de otra manera, el término "enantiómero" significa cada forma ópticamente activa de un compuesto o de un intermedio de la invención, que tiene una pureza óptica o exceso enantiomérico (determinado por los métodos estándar en la materia) de al menos 80% (es decir al menos 90% de un enantiómero y al menos 10% del otro enantiómero), preferentemente al menos 90% y más preferentemente al menos 98%.

Descripción detallada de la invención

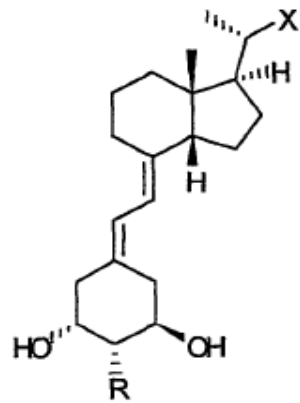
25 Un primer aspecto de la invención se refiere por lo tanto a nuevos compuestos de 19-nor-14-epi-1,25(OH)₂D₃ alquilados en 2. La invención se refiere a la síntesis y evaluación biológica de dichos nuevos compuestos que todavía mantienen algunas de las características esenciales de la acción de la vitamina D pero con un modelo más selectivo (es decir no todas las acciones de la hormona de la vitamina D fisiológica se mantienen con la misma potencia relativa) y con una estructura que está modificada en el anillo A y en la cadena lateral y con sistemas de anillo CD fusionados en cis (es decir, análogos 14-epi) representados en la fórmula general (I) siguiente. La invención se refiere por tanto a compuestos 19-nor-14-epi-1,25(OH)₂D₃ alquilados en 2. En particular la invención se refiere a una 14-epi-19-nor-vitamina D sustituida en 2, de fórmula general (I), y opcionalmente a las sales y/o solvatos opcionalmente farmacéuticamente aceptables de los mismos,



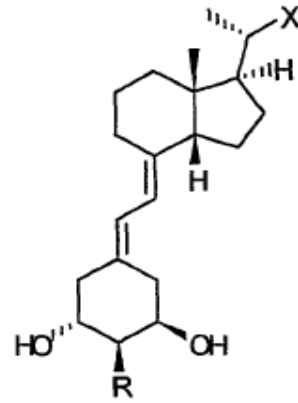
en la que:

- P se selecciona de entre el grupo constituido por hidrógeno, alquilo (preferentemente alquilo C₁₋₇), cicloalquilo (preferentemente cicloalquilo C₃₋₁₀) acilo (preferentemente acilo C₁₋₇) y otros grupos protectores;
- 40 - el átomo de carbono 20 puede tener la configuración R o S;
- el átomo de hidrógeno en el carbono 14 está en la configuración β;
- R' es hidrógeno;
- R se selecciona de entre el grupo constituido por grupos alquilo normales o ramificados que tienen de 1 a 5

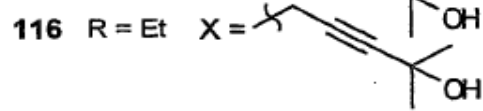
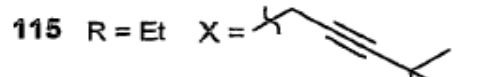
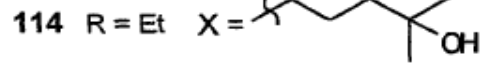
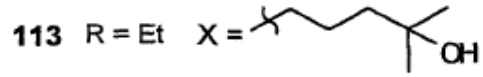
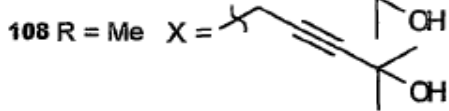
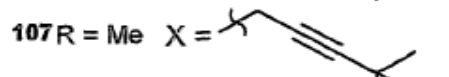
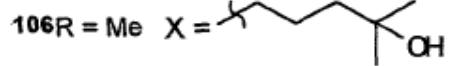
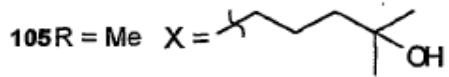
- átomos de carbono; preferentemente 1 a 4 átomos de carbono, más preferentemente 1 a 3 átomos de carbono, y aún más preferentemente 1 o 2 átomos de carbono, y estando opcionalmente sustituido con uno o más átomos o grupos funcionales seleccionados de entre el grupo constituido por flúor, cloro, hidroxil, sulfhidrilo y amino, con tal que cuando R sea un grupo alquilo con sólo un átomo de carbono, dicho grupo está en configuración α en el carbono 2;
- 5
- X representa una cadena lateral de alquilo constituida por 2 a 15 átomos de carbono que puede estar sustituida o funcionalizada de la forma siguiente:
 - sustituyente hidroxilo en una o más posiciones, por ejemplo en la posición 24, 25 y/o 26 y/o
 - sustituyente metilo o etilo en una o más posiciones, por ejemplo en la posición 24, 26 y/o 27 y/o
- 10
- sustituyente(s) del halógeno en una o más posiciones, por ejemplo perfluorado en las posiciones 26 y/o 27 o difluorado en la posición 24, y/o
 - derivados de ésteres o derivados de éter de uno o más sustituyentes de hidroxilo mencionados anteriormente, y/o
- 15
- cambiando uno o más átomos de carbono por un átomo de oxígeno, nitrógeno o azufre, por ejemplo en una o más posiciones 22, 23 y 24, y/o
 - ciclado entre los átomos de carbono 26 y 27 mediante un enlace (ciclopropano) o por intermedio de 1 a 4 átomos de carbono, siendo el anillo resultante saturado, insaturado o aromático y estando opcionalmente sustituido en alguna(s) posible(s) posición o posiciones con uno o más sustituyentes mencionados anteriormente, y/o
- 20
- ciclado en un carbono o entre dos átomos de carbono por 1 a 4 átomos para formar un anillo heterocíclico, incluso aromático, que puede estar sustituido en cualquier posición posible con uno o más sustituyentes mencionados anteriormente, y/o
 - insaturado con uno o más doble(s) o triple(s) enlace(s) carbono-carbono, estando estas cadenas insaturadas opcionalmente sustituidas en cualquier posición posible por uno o más sustituyentes mencionados anteriormente, y/o
- 25
- epoxidado una o más veces entre los átomos de carbono (preferentemente entre 22 y 23, o entre 23 y 24, o entre 24 y 25, o entre 25 y 26), estando saturada(s) o insaturada(s) la(s) cadena(s) epoxidada(s) resultante(s) y, cuando está saturada, opcionalmente sustituida en algunas posiciones posibles con uno o más sustituyentes mencionados anteriormente, y/o
- 30
- estando unidos dos o más de los átomos de carbono de dicha cadena lateral X de alquilo por un enlace simple o por medio de 1 a 5 átomos de carbono, oxígeno, nitrógeno o azufre para formar un anillo carbocíclico (incluso aromático) o heterocíclico, saturado o insaturado de 3 a 7 eslabones que puede estar sustituido en alguna(s) posible(s) posición o posiciones por uno o más sustituyentes mencionados anteriormente, y/o
- 35
- sustituido en una o más posiciones por uno o más anillos carbocíclicos (incluso aromático) o heterocíclicos, saturados o insaturados que pueden estar sustituidos en alguna(s) posible(s) posición o posiciones por uno o más sustituyentes mencionados anteriormente.
 - incluyendo todas las posibles formas isoméricas de dicha cadena lateral X de alquilo.
- En otra realización específica, la invención se refiere a análogos de la vitamina D en los que R' es hidrógeno y R es un grupo alquilo con sólo un átomo de carbono, y además en los que el grupo OP está en configuración α en el carbono 1. En otra realización específica, la invención se refiere a análogos de la vitamina D en los que R' es hidrógeno y R es un grupo alquilo con sólo un átomo de carbono y además en los que el grupo OP está en configuración α en el carbono 3. En otra realización específica, la invención se refiere a análogos de la vitamina D en los que R' es hidrógeno y R es un grupo alquilo con sólo un átomo de carbono, y además en los que el grupo OP está en configuración β en el carbono 3. En otra realización específica, la invención se refiere a análogos de la vitamina D en los que R' es hidrógeno y R es un grupo alquilo con dos átomos de carbono.
- 40
- 45
- En una realización específica la invención se refiere a compuestos con la estructura siguiente:



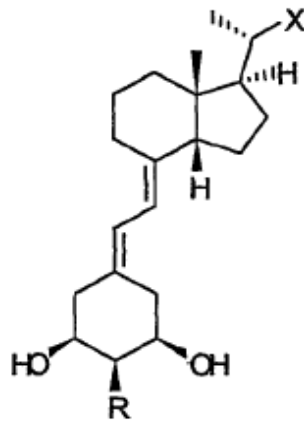
105, 107, 113, 115



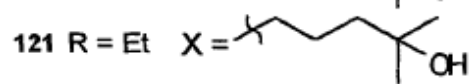
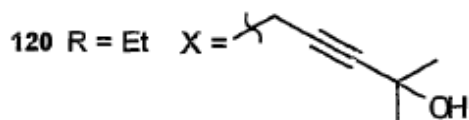
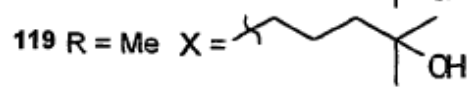
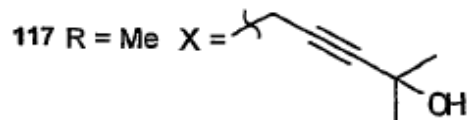
106, 108, 114, 116



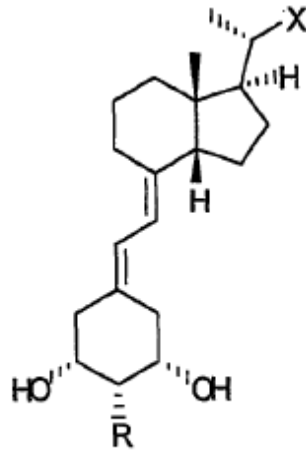
En una realización específica la invención se refiere a compuestos con la estructura siguiente:



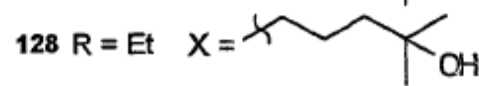
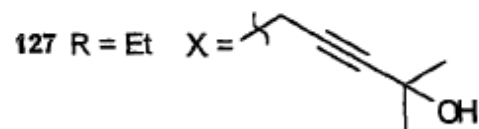
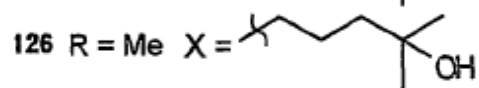
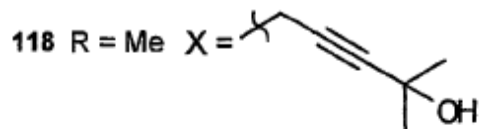
117,119,120,121



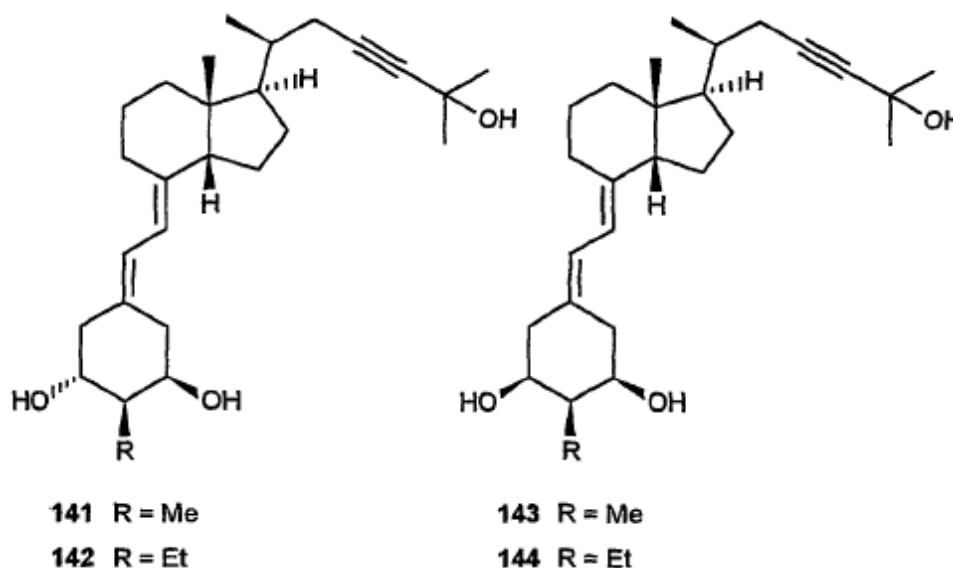
En una realización específica la invención se refiere a compuestos con la estructura siguiente:



118, 126, 127, 128



Otra realización específica de la presente invención se refiere a compuestos con la estructura (configuración 20S)



Un segundo aspecto de la invención se refiere a los compuestos según la fórmula I para utilización como medicamento. La invención se refiere además a los compuestos según la fórmula I para el tratamiento de trastornos hiperproliferantes o para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o tratamiento de trastornos hiperproliferantes tales como cáncer y psoriasis y para la inducción de la diferenciación celular. La invención se refiere además a los compuestos según la fórmula I para el tratamiento de trastornos inmunológicos (tales como alergia, asma, trastornos autoinmunitarios, rechazo del trasplante, etc.) o para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o el tratamiento de trastornos inmunológicos opcionalmente en combinación con un fármaco que interfiere en el sistema inmunitario, enfermedades inflamatorias (es decir artritis reumatoidea), trastornos de la piel tales como la psoriasis y los trastornos hiperproliferantes tal como el cáncer. La invención se refiere además a la utilización de un compuesto de fórmula I para la preparación de un medicamento destinado a la mejora de la función de las células en las que el calcio es un agente regulador esencial, por ejemplo hormona de secreción por las glándulas endocrinas, las células del músculo y las células óseas tales como son necesarias en la osteoporosis.

La invención se refiere también al compuesto de fórmula I, para su utilización como ingrediente farmacéuticamente activo, especialmente como inhibidor de la proliferación celular e/o inductor de la proliferación celular. Por consiguiente, la invención se refiere también a la utilización de un compuesto de fórmula I para la preparación de un medicamento o de una composición farmacéutica que tiene un efecto inhibidor sobre la proliferación celular y/o un efecto inductor sobre la diferenciación celular para la prevención y/o tratamiento de trastornos hiperproliferantes tales como el cáncer y la psoriasis, trastornos inmunológicos, trastornos inflamatorios, enfermedades relacionadas con el calcio tales como la osteoporosis y para la inducción de la diferenciación celular en seres humanos y mamíferos. La invención se refiere también a una preparación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención y un vehículo o diluyente farmacéutica y/o veterinariamente aceptable. Los compuestos de la presente invención pueden utilizarse en un procedimiento de tratamiento de trastornos hiperproliferantes en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende administrar al mamífero necesitado de dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, opcionalmente en una mezcla con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Otro aspecto de la invención se refiere a los procedimientos para la preparación de compuestos de fórmula I, más específicamente a procedimientos para la preparación de los compuestos específicamente dados a conocer en la presente memoria, a las composiciones farmacéuticas que los comprenden mezclados con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, estando opcionalmente el ingrediente activo en un intervalo de concentración de aproximadamente 0,1 a 100% en peso y a la utilización de estos derivados.

Los compuestos de la invención se emplean para el tratamiento o la profilaxis de trastornos hiperproliferantes, trastornos inmunológicos, inflamatorios y relacionados con el metabolismo del calcio. Los compuestos de la invención tienen un efecto inhibidor sobre la proliferación celular tal como en trastornos como el cáncer y la psoriasis. Los compuestos tienen también un efecto positivo en enfermedades inmunológicas y/o inflamatorias tales como los trastornos autoinmunitarios. Los compuestos de la invención tienen además actividad sobre el metabolismo del calcio y son útiles en trastornos como la osteoporosis.

Los compuestos pueden estar presentes en la composición en una cantidad desde aproximadamente 0,1 µg/gm a aproximadamente 100 µg/gm de la composición.

Las dosis previstas dentro del contexto de la invención están comprendidas en el intervalo de 0,1 µg/kg/día a 500 µg/kg/día, particularmente 0,5 µg/kg/día a 100 µg/kg/día, más específicamente de 1,0 µg/kg/día a 10 µg/kg/día.

5 Dependiendo de la enfermedad que debe tratarse y del estado del paciente, dicha cantidad eficaz puede dividirse en una o más subunidades al día o puede administrarse en más de un intervalo al día.

Según una realización específica, los análogos de vitamina D de la presente invención se caracterizan por una mayor especificidad, permitiendo de este modo el tratamiento de un paciente necesitado del mismo con mayores dosis y/o administración más frecuente y/o durante un periodo prolongado sin la aparición de efectos secundarios que, cuando están referidos como toxicidad de la vitamina D. La toxicidad de la vitamina D, principalmente asociada a su efecto calcémico pueden producir síntomas tales como, pero sin limitarse a, náuseas, vómitos, pérdida de apetito, estreñimiento, debilidad y pérdida de peso. Grandes concentraciones de calcio pueden también producir cambios en el estado mental (p. ej. confusión) y anomalías del ritmo cardíaco. La calcinosis, es decir, la deposición del calcio y fosfato en los tejidos blandos como el riñón, puede ser originada por la toxicidad de la vitamina D.

10 La administración de análogos de vitamina D a una dosis mayor que se está utilizando actualmente en las instalaciones clínicas (p. ej. paricalcitol, calcitriol, etc.) son de interés porque los efectos calcémicos de estos análogos están limitados por la dosis, con frecuencia dando como resultado un efecto subóptimo.

La administración prolongada (es decir desde varios meses hasta toda la vida) de los análogos de la presente invención son de particular interés en el tratamiento de insuficiencias metabólicas por la vitamina D. El tratamiento de enfermedades persistentes o estructurales (?) tales como el cáncer, enfermedades autoinmunitarias, enfermedad de Alzheimer y osteoporosis, o la administración a personas sometidas a luz solar reducida durante periodos más prolongados.

20 Además los análogos de la presente invención son de particular utilización en el tratamiento de pacientes necesitados que son sensibles a los efectos calcémicos de la vitamina D, tales como los pacientes que están bajos de peso o con insuficiencias metabólicas o en situaciones donde la administración de la vitamina D está contraindicada tal como en los pacientes con insuficiencia renal grave, pacientes que reciben terapia con glucósidos cardíacos (p. ej., digoxina, digital) o pacientes con sarcoidosis.

Como es habitual en la materia, la evaluación de un efecto sinérgico en una combinación de fármacos puede realizarse analizando la cuantificación de las interacciones entre cada uno de los fármacos, utilizando el principio del efecto medio descrito por Chou *et al.* en *Adv. Enzyme Reg.* (1984) 22:27. En resumen, este principio afirma que las interacciones (sinergismo, aditividad, antagonismo) entre dos fármacos pueden cuantificarse utilizando el índice de combinación (denominado en lo sucesivo IC) definido por la siguiente ecuación:

30
$$CI_x = \frac{ED_x^{1c}}{ED_x^{1a}} + \frac{ED_x^{2c}}{ED_x^{2a}}$$

en la que ED_x es la dosis del primer o segundo fármaco respectivamente utilizado solo (1a, 2a) o en combinación con el segundo o primer fármaco respectivamente (1c, 2c) que se necesita para producir un efecto dado. Dichos primer y segundo fármaco tienen efectos sinérgicos, aditivos o antagonísticos dependiendo de IC<1, IC=1 o IC>1, respectivamente.

35 Este principio puede aplicarse a una combinación de diferentes fármacos de la invención o a una combinación de los fármacos de la invención con otros fármacos que presenten efectos terapéuticos en trastornos hiperproliferantes, trastornos inmunológicos, inflamatorios y relacionados con el metabolismo del calcio. La invención por lo tanto se refiere a una composición farmacéutica o preparación combinada que tiene efectos sinérgicos en trastornos hiperproliferantes, trastornos inmunológicos, inflamatorios y relacionados con el metabolismo del calcio y que contienen:

40 (A) una combinación de:

- 45 (a) dos o más de los compuestos de la presente invención, y
- (b) opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticos o vehículos farmacéuticamente aceptables,

para la utilización simultánea, por separado o sucesiva en el tratamiento o prevención de trastornos hiperproliferantes, trastornos inmunológicos, inflamatorios y relacionados con el metabolismo del calcio, o

(B) una combinación de:

(c) uno o más agentes que tienen un efecto en los trastornos hiperproliferantes (tal como agentes anticancerosos), trastornos inmunológicos, inflamatorios y relacionados con el metabolismo del calcio, y

(d) al menos uno de los compuestos de la presente invención, y

(e) opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticos o vehículos farmacéuticamente aceptables,

5 para la utilización simultánea, independiente o sucesiva en el tratamiento o prevención de trastornos hiperproliferantes, trastornos inmunológicos, inflamatorios y relacionados con el metabolismo del calcio.

La composición farmacéutica o la preparación combinada con actividad sinérgica contra trastornos hiperproliferantes, trastornos inmunológicos, inflamatorios y relacionados con el metabolismo del calcio según la presente invención pueden contener los derivados de 19-nor-14-epi-1,25(OH)₂D₃ de la presente invención en un intervalo de amplio contenido dependiendo de la utilización contemplada y del efecto esperado de la preparación. Generalmente, el contenido de los derivados de 19-nor-14-epi-1,25(OH)₂D₃ de la presente invención de la preparación combinada está comprendido dentro del intervalo de 0,1 a 99,9% en peso, preferentemente de 1 a 99%, más preferentemente de 5 a 99% en peso.

La presente invención proporciona además composiciones veterinarias que comprenden por lo menos un ingrediente activo como se definió anteriormente junto con un vehículo veterinario para el mismo. Los vehículos veterinarios son materiales útiles para la administración de la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que son por lo demás inertes o aceptables en materia veterinaria y son compatibles con el ingrediente activo. Estas composiciones veterinarias pueden añadirse por vía oral, parenteral o por cualquier otra deseada.

Más generalmente, la invención se refiere a los compuestos de fórmula I que son útiles como agentes con actividad biológica o como agentes de diagnóstico. Algunas de las utilidades mencionadas con respecto a la presente invención pueden limitarse a una utilización no médica, a una utilización no terapéutica, a una utilización no de diagnóstico, o exclusivamente a una utilización *in vitro* o una utilización relacionada con las células extraídas de un animal.

Los expertos en la materia reconocerán también que algunos compuestos de la invención pueden existir en diferentes estados de protonación, dependiendo, entre otras cosas, del pH de su entorno. Mientras que las fórmulas estructurales proporcionadas en la presente memoria representan los compuestos únicamente en uno de los varios estados posibles de protonación, debe entenderse que estas estructuras son ilustrativas solamente, y que la invención no se limita a ningún estado de protonación específico, alguna y todas las formas protonadas de los compuestos se piensa que caen dentro del alcance de la invención.

La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" tal como se utiliza en la presente memoria significa las formas salinas no tóxicas terapéuticamente activas que algunos de los compuestos de fórmula I son capaces de formar. Por consiguiente, los compuestos de la presente invención comprenden opcionalmente sales de los compuestos en la presente memoria, especialmente sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables que contienen, por ejemplo, Na⁺, Li⁺, K⁺, Ca⁺² y Mg⁺². Dichas sales pueden incluir las derivadas por combinación de cationes apropiados tales como iones de metales alcalinos y alcalinotérreos o iones de amonio y amino cuaternario con un resto de anión ácido, por lo general un ácido carboxílico. Los compuestos de la invención pueden llevar múltiples cargas positivas o negativas. La carga neta de los compuestos de la invención puede ser positiva o negativa. Cualquiera de los contraiones asociados están por lo general expuestos por los métodos de síntesis y/o aislamiento mediante los cuales los compuestos se obtienen. Los contraiones típicos incluyen, pero no se limitan a amonio, sodio, potasio, litio, haluros, acetato, trifluoroacetato, etc., y mezclas de los mismos. Debe entenderse que la identidad de cualquier contraión asociado no es una característica crítica de la invención, y que la invención comprende los compuestos junto con cualquier tipo de contraión. Además, como los compuestos pueden existir en varias formas diferentes, la invención está pensada para que comprenda no solamente formas de los compuestos que están asociados a contraiones (p. ej., sales anhidras), sino también formas que no están en asociación con contraiones (p. ej. soluciones acuosas u orgánicas). Además, este término también incluye los solvatos cuyos compuestos de fórmula I así como sus sales pueden formar, tal como por ejemplo hidratos, alcoholatos y similares. Por último, debe sobreentenderse que las composiciones en la presente memoria comprenden compuestos de la invención en su forma no ionizada, así como de ión bipolar, y combinaciones con cantidades estequiométricas de agua como en hidratos. También están incluidas dentro del alcance la presente invención las sales de algunos de los compuestos originales con uno o más aminoácidos, especialmente los aminoácidos naturales encontrados como componentes de las proteínas. El aminoácido por lo general es el que lleva una cadena lateral con un grupo básico o ácido, p. ej., lisina, arginina o ácido glutámico, o un grupo neutro tal como glicina, serina, treonina, alanina, isoleucina o leucina.

Los compuestos de la invención incluyen además sales fisiológicamente aceptables de los mismos. Ejemplos de sales fisiológicamente aceptables de los compuestos de la invención incluyen sales derivadas de una base apropiada, tal como de un metal alcalino (por ejemplo, sodio), de un metal alcalinotérreo (por ejemplo, magnesio), amonio y NX⁴⁺ (en la que X es alquilo C₁-C₄). Las sales fisiológicamente aceptables de un compuesto que contiene un grupo hidroxilo incluyen el anión de dicho compuesto combinado con un catión adecuado tal como Na⁺ y NX⁴⁺ (en la que X por lo general se selecciona independientemente de H o un grupo alquilo C₁-C₄). Sin embargo, las sales de

ácidos o bases que no son farmacéuticamente aceptables pueden hallar también utilización, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto fisiológicamente aceptable. Todas las sales, si proceden o no de un ácido o base fisiológicamente aceptable, están comprendidas dentro del alcance de la presente invención.

5 Los términos cis y trans se utilizan en la presente memoria de acuerdo con la nomenclatura del Chemical Abstracts e incluyen una referencia a la posición de los sustituyentes en un resto del anillo. La configuración estereoquímica absoluta de los compuestos de fórmula (I) puede determinarse fácilmente por los expertos en la materia mientras se utilizan métodos bien conocidos tales como, por ejemplo, difracción de rayos X.

10 Los compuestos de la invención pueden formularse con vehículos y excipientes convencionales, que se seleccionarán de acuerdo con la práctica ordinaria. Los comprimidos contendrán excipientes, fluidificantes, cargas, aglutinantes y similares. Las formulaciones acuosas se preparan en forma esterilizada y están destinados al suministro por otra administración aparte de la oral generalmente serán isotónicos. Las formulaciones opcionalmente contienen excipientes tales como los indicados en el "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986) e incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA, carbohidratos tales como dextrina, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmetilcelulosa, ácido esteárico y similares.

15 Ulteriormente, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" tal como se utiliza en la presente memoria significa cualquier material o sustancia con el que se formula el ingrediente activo para facilitar su aplicación o diseminación al lugar que debe tratarse, por ejemplo por disolución, dispersión o difusión de dicha composición, y/o facilitar su almacenamiento, transporte y manipulación sin alterar su eficacia. El vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser un sólido, un líquido o un gas que ha sido comprimido para formar un líquido, es decir las composiciones de la presente invención pueden utilizarse de manera adecuada como concentrados, emulsiones, soluciones, granulados, polvos, atomizadores, aerosoles, suspensiones, pomadas, cremas, comprimidos, granulados o polvos.

20 Los vehículos farmacéuticamente adecuados para su utilización en dichas composiciones farmacéuticas y su formulación son bien conocidos por los expertos en la materia, y no existe ninguna restricción específica para su selección en la presente invención. Pueden incluir también aditivos tales como agentes humectantes, agentes dispersantes, apósitos, adhesivos, agentes emulsionantes, disolventes, recubrimientos, agentes antibacterianos y antimicóticos (por ejemplo, fenol, ácido sórbico, clorbutanol), agentes isotónicos (tales como azúcares o cloruro sódico) y similares, siempre y cuando los mismos sean coherentes con la práctica farmacéutica, es decir vehículos y aditivos que no creen daño permanente a los mamíferos. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden prepararse de cualquier manera conocida, por ejemplo mezclando de manera homogénea, recubriendo y/o moliendo los ingredientes activos, en un procedimiento en una etapa o varias etapas, con el material del vehículo seleccionado y, cuando proceda los demás aditivos tales como agentes tensioactivos pueden prepararse también por micronización, por ejemplo con objeto de obtener en forma de microesferas que normalmente tienen un diámetro de aproximadamente 1 a 10g, es decir para la preparación de microcápsulas para la liberación controlada o prolongada de los ingredientes activos.

25 Los agentes tensioactivos adecuados, conocidos también como emulgentes o emulsionantes, para ser utilizados en las composiciones farmacéuticas de la presente invención son materiales no iónicos, catiónicos y/o aniónicos que tienen buenas propiedades de emulsificación, dispersión y/o humectación. Los tensioactivos aniónicos adecuados incluyen tanto jabones solubles en agua como agentes tensioactivos sintéticos solubles en agua. Los jabones adecuados son sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, sales de amonio y insustituidas o sustituidas de ácidos grasos superiores (C₁₀-C₂₂), p. ej. sales de sodio o potasio de ácido oleico o esteárico, o de mezclas de ácidos grasos naturales obtenibles a partir de aceite de coco o de aceite de sebo. Los tensioactivos sintéticos incluyen sales de sodio o de calcio de ácidos poliacrílicos; sulfonatos y sulfatos grasos; derivados de bencimidazol sulfonados y alquilarilsulfonatos. Los sulfonatos o sulfatos grasos están normalmente en forma de sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, de sales de amonio insaturadas o de sales de amonio sustituidas con un radical alquilo o acilo que tiene de 8 a 22 átomos de carbono, p. ej. la sal sódica o cálcica del ácido lignosulfónico o del ácido dodecilsulfónico o una mezcla de sulfatos de alcoholes grasos obtenidos a partir de ácidos grasos naturales, sales de metales alcalinos o alcalinotérreos de ésteres de ácido sulfúrico o sulfónico (tales como laurilsulfato sódico) y ácidos sulfónicos de aductos de alcohol graso/óxido de etileno. Los derivados de bencimidazol sulfonados adecuados contienen preferentemente de 9 a 22 átomos de carbono. Ejemplos de sulfonatos de alquilarilo son las sales de sodio, calcio o alcalonamina del ácido dodecilsulfónico o del ácido dibutilnaftalensulfónico o de un producto de condensación del ácido naftalensulfónico con formaldehído. Son también adecuados los correspondientes fosfatos, p. ej. sales del éster del ácido fosfórico y un aducto de p-nonilfenol con óxido de etileno y/o propileno o fosfolípidos. Los fosfolípidos adecuados con este fin son los fosfolípidos sintéticos naturales (que se originan a partir de células animales o vegetales) de tipo cefalina o lecitina tal como, p. ej. fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilglicerina, lisolecitina, cardiolipina, dioctanilfosfatidil-colina, dipalmitoilfosfatidil-colina y sus mezclas.

60 Los tensioactivos no iónicos adecuados incluyen derivados polietoxilados y polipropoxilados de alquifenoles, alcoholes grasos, ácidos grasos, aminas o amidas alifáticas que contienen al menos doce átomos de carbono en la molécula, sulfonatos de alquilareno y sulfosuccinatos de dialquilo, tales como derivados del éter poliglicólico de alcoholes alifáticos y cicloalifáticos, ácidos grasos saturados e insaturados y alquifenoles, conteniendo dichos derivados preferentemente de 3 a 10 grupos de éter glicólico y de 8 a 20 átomos de carbono en el resto

- hidrocarbonado (alifático) y 6 a 18 átomos de carbono en el resto alquilo del alquilfenol. Los tensioactivos no iónicos adecuados adicionales son aductos solubles en agua de óxido de polietileno con polipropilenglicol, etilendiaminopolipropilenglicol que contiene de 1 a 10 átomos de carbono en la cadena alquílica, cuyos aductos contienen de 20 a 250 grupos de éter etilenglicólico y/o 10 a 100 grupos de éter propilenglicólico. Dichos compuestos normalmente contienen de 1 a 5 unidades de etilenglicol por unidad de propilenglicol. Ejemplos representativos de tensioactivos no iónicos son nonilfenol-polietoxietanol, éteres poliglicólicos de aceite de ricino, aductos de óxido de polipropileno/polietileno, tributilfenoxipolietoxietanol, polietilenglicol y octilfenoxipolietoxietanol. Ésteres de ácidos grasos de polietileno sorbitán (tal como trioleato de polioxietileno sorbitán), glicerol, sorbitán, sacarosa y pentaeritritol son también tensioactivos no iónicos adecuados.
- 10 Los tensioactivos catiónicos adecuados incluyen sales de amonio cuaternario, particularmente haluros, que tienen cuatro radicales hidrocarbonados opcionalmente sustituidos con halo, fenil, fenil sustituido o hidroxilo; por ejemplo sales de amonio cuaternario que contienen como N-sustituyente al menos un radical alquilo C₈C₂₂ (p. ej., cetil, lauril, palmitil, milistil, oleil y similares) y, como sustituyentes adicionales, radicales alquil inferior insustituido o halogenado, bencil y/o hidroxi-alquil inferior.
- 15 Una descripción más detallada de agentes tensioactivos adecuados con este fin puede encontrarse en "McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" (MC Publishing Corp., Ridgewood, Nueva Jersey, 1981). "Tensid-Taschenbuch", 2º ed. (Hansg. Veriag, Viena, 1981) y "Encyclopaedia of Surfactants, (Chemical Publishing Co., Nueva York, 1981).
- 20 Los compuestos de la invención y sus sales fisiológicamente aceptables (en lo sucesivo denominados en conjunto ingredientes activos) pueden administrarse por cualquier vía apropiada para la enfermedad que se está tratando, incluyendo las vías adecuadas, la oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo por vía transdérmica, ocular, bucal y sublingual), vaginal y parenteral (incluyendo la subcutánea, intramuscular, intravenosa, intrarterial, intradérmica, intratecal y epidural). La vía de administración preferida puede variar, por ejemplo, en función de la enfermedad del receptor.
- 25 Mientras que sea posible administrar los ingredientes activos solos es preferible presentarlos como formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones, tanto para utilización veterinaria como humana, de la presente invención comprenden por lo menos un ingrediente activo, como se describió anteriormente, junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables por consiguiente y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El/los vehículo(s) en el mejor de los casos son "aceptables" en el sentido de que son compatibles con los demás ingredientes de la formulación y no son perjudiciales al receptor de los mismos. Las formulaciones incluyen las adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo la bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). Las formulaciones pueden estar convenientemente presentadas en una forma farmacéutica unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica. Dichos métodos incluyen la etapa de poner en contacto el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general las formulaciones se preparan poniendo en contacto uniforme e íntimamente el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y a continuación, si es necesario, moldeando el producto.
- 30 Las formulaciones de la presente invención adecuadas para administración oral puede presentarse como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o comprimidos que contienen cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo; en forma de polvo o gránulos; como solución o suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o como emulsión líquida de aceite en agua o emulsión de agua en aceite. El ingrediente activo puede presentarse también en forma de inyección intravenosa rápida, electuario o pasta.
- 35 Un comprimido puede prepararse por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos pueden prepararse comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente activo en forma fluida tal como polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con un agente aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla humedecida del compuesto pulverizado con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos opcionalmente pueden estar recubiertos o con surco y pueden formularse a fin de proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo en el mismo. Las formulaciones de la invención se aplican opcionalmente como pomada o crema tópica (es decir, para la psoriasis) que contiene el/los ingrediente(s) en una cantidad, por ejemplo, de 0,75 a 20% p/p (incluyendo el/los ingrediente(s) activo(s) en un intervalo comprendido entre 0,1% y 20% en incrementos de 0,1% p/p tales como 0,6% p/p, 0,7% p/p, etc.) preferentemente de 0,2 a 15% p/p y aún más preferentemente de 0,5 a 10% p/p. Cuando están formulados en una pomada, los ingredientes activos pueden emplearse con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Alternativamente, los ingredientes activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite de agua. Si se desea, la fase acuosa de la base de la crema puede incluir, por ejemplo al menos 30% p/p de un alcohol polihídrico, es decir un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tal como propilenglicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG400) mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir de forma deseable un compuesto que mejora la absorción o penetración del ingrediente activo a través de la piel u otras áreas afectadas.
- 40 Ejemplos de dichos potenciadores de la penetración dérmica incluyen sulfóxido de dimetilo y análogos relacionados.
- 45
- 50
- 55
- 60

La fase aceitosa de las emulsiones de la presente invención puede estar constituida por ingredientes conocidos de manera conocida. Aunque la fase puede comprender meramente un emulsionante (conocido si no como emulgente), comprende deseablemente una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o tanto con una grasa como con un aceite. Opcionalmente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. Se prefiere también incluir tanto un aceite como una grasa. Conjuntamente, el/los emulsionante(s) con o sin estabilizante(s) componen la llamada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa componen la denominada base de pomada emulsionante que forma la fase aceitosa dispersada de las formulaciones de la crema.

La selección de aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en conseguir las propiedades cosméticas deseadas, ya que la solubilidad del compuesto activo en la mayoría de los aceites que se utilizan probablemente en formulaciones de emulsión farmacéutica es muy baja. Por lo tanto, la crema debería ser opcionalmente un producto no graso, que no manche y lavable con la consistencia adecuada para evitar la pérdida en tubos u otros recipientes. Pueden utilizarse ésteres alquílicos mono- o dibásicos de cadena lineal o ramificada tales como di-isoadipato, estearato de isocetilo, diéster propilenglicólico de aceites grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocidos como Crodamol CAP, siendo preferidos los tres ésteres últimos. Estos pueden utilizarse solos o combinados dependiendo de las propiedades requeridas. Alternativamente, pueden utilizarse lípidos de alto punto de fusión tales como las parafinas blandas y/o líquidas u otros aceites minerales.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma de acacia o tragacanto. Pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tales como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia; y colutorios que comprenden el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.

Las formulaciones para administración rectal pueden presentarse en forma de supositorios con una base adecuada que comprende por ejemplo aceite de coco o un salicilato. Las formulaciones adecuadas para administración nasal en las que el vehículo es un sólido incluyen un polvo grueso que tienen un tamaño de partícula por ejemplo comprendido en el intervalo de 20 a 500 micras (incluyendo tamaños de partícula comprendidos en el intervalo entre 20 y 500 micras en incrementos de 5 micras tales como 30 micras, 35 micras, etc.), que se administran de manera en la que se toma por inhalación, es decir, por inhalación rápida a través del conducto nasal desde un recipiente del polvo mantenido cerrado hasta la fosa nasal. Las formulaciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido para administración como por ejemplo un atomizador nasal o como gotas nasales incluyen soluciones acuosas o aceitosas del ingrediente activo. Las formulaciones adecuadas para la administración del aerosol pueden prepararse según métodos convencionales y pueden suministrarse con otros agentes terapéuticos.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de aerosol que contienen además el ingrediente activo tales como vehículos como se conocen en la materia según proceda.

Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacterioestáticos y solutos que hacen isotónica la formulación con la sangre del supuesto receptor; y suspensiones esterilizadas acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes en suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes en dosis unitarias o en dosis múltiples, por ejemplo ampollas selladas o viales, y pueden almacenarse en un estado seco por congelación (liofilizado) que requiere solamente la adición del vehículo líquido esterilizado, por ejemplo agua para inyectables, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones inyectables improvisadas pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito anteriormente.

Las formulaciones de dosis unitarias preferidas son las que contienen una dosis diaria o subdosis unitaria diaria, como se describió anteriormente en la presente memoria o una fracción apropiada de las mismas de un ingrediente activo.

Debe sobreentenderse que además de los ingredientes específicamente mencionados anteriormente las formulaciones de la presente invención pueden incluir otros agentes convencionales en la materia teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo los adecuados para administración pueden incluir agentes saborizantes.

Los compuestos de la invención pueden utilizarse para proporcionar formulaciones farmacéuticas de liberación controlada que contienen como ingrediente activo uno o más compuestos de la invención ("formulaciones de liberación controlada") en las que la liberación del ingrediente activo puede controlarse y regularse para permitir menos frecuencia de dosificación o para mejorar el perfil farmacocinético o la toxicidad de un compuesto de la invención dado. Las formulaciones de liberación controlada adaptadas para administración oral en las que las unidades discretas que comprenden uno o más compuestos de la invención pueden prepararse según métodos convencionales.

Pueden incluirse ingredientes adicionales a fin de controlar la duración de la acción del ingrediente activo en la composición. Pueden conseguirse de este modo composiciones de liberación controlada seleccionando vehículos de polímeros apropiados tales como por ejemplo de poliésteres, poliaminoácidos, polividona, con polímeros de etileno y acetato de vinilo, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, sulfato de protamina y similares. El ritmo de liberación del fármaco y la duración de la acción puede controlarse también incorporando el ingrediente activo en partículas, p. ej. microcápsulas, de una sustancia polimérica tales como hidrogeles, ácido poliláctico, hidroximetilcelulosa, polimetacrilato de metilo y otros polímeros descritos anteriormente. Dichos métodos incluyen sistemas de administración del fármaco coloidal como liposomas, microesferas, microemulsiones, nanopartículas, nanocápsulas, etcétera. Dependiendo de la vía de administración, la composición farmacéutica puede requerir recubrimientos protectores. Las formas farmacéuticas adecuadas para utilización inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación improvisada de las mismas. Los vehículos típicos con esta finalidad por consiguiente incluyen tampones acuosos biocompatibles, etanol, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares y mezclas de los mismos.

En vista del hecho que, cuando se utilizan varios ingredientes activos combinados, que no liberan necesariamente su efecto terapéutico conjunto directamente a la misma vez en el mamífero que se está tratando, la composición correspondiente puede estar también en forma de un kit clínico o un paquete que contiene los dos ingredientes por separado pero en depósitos o compartimentos adyacentes. En este último contexto, cada ingrediente activo puede formularse por consiguiente de una manera adecuada para una vía de administración diferente de la del otro ingrediente, p. ej. uno de ellos puede estar en forma de formulación parenteral mientras que el otro está en forma de una ampolla para inyección intravenosa o de aerosol.

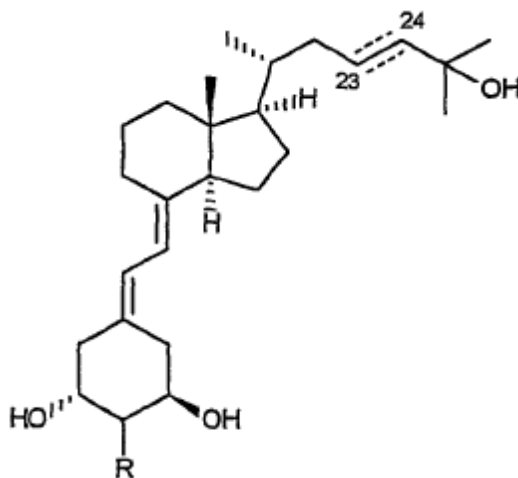
Los análogos de la vitamina D de la presente invención pueden prepararse por varios métodos que implican una serie de reacciones químicas, siendo bien conocida cada una de ellas por los expertos en la materia, componiendo completamente el procedimiento para preparar dichos compuestos e ilustrarlos más. Los procedimientos descritos con más detalle se entienden solamente como ejemplos y no significa que limiten el alcance de la presente invención. La síntesis de los derivados 14 α se describe en la presente memoria para ilustrar la síntesis de los compuestos 14 β reivindicados.

Un primer método de síntesis de estos análogos se muestra muy esquemáticamente en la figura 1. Este método de síntesis se basa en el llamado método de la ciclovitamina que conlleva la condensación de un bromuro vinílico de fórmula general III con un compuesto de fórmula general IV. Los bromuros vinílicos III pueden obtenerse a partir de conocidas cetonas II por métodos bien conocidos por los expertos. La síntesis de los intermedios IV bicíclicos diástereoisoméricos respectivos se ha descrito p. ej. en la publicación internacional de la patente WO 01/422251.

Más específicamente, un ejemplo típico de la síntesis de 14-*epi*-2 β -metil-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (compuesto 101-6) se describe en la figura 2. La síntesis del bromuro vinílico **15** puede realizarse basándose en lo dado a conocer por Trost *et al.* en *J. Am. Chem. Soc.* (1992) 114:9836-9844, y adaptada para hidroindanonas fusionadas en *cis*, de Wu *et al.* en *Eur. J. Org. Chem.* (1998) 2241-2248. La reacción del derivado de litio vinílico de **15** con el diastereoisómero apropiado del precursor IV del anillo A bicíclico **17** (según la figura 1) condujo al intermedio **18** como una mezcla epimérica 1:1 C-6 utilizando las condiciones de la etapa de reacción (a), es decir utilizando *t*BuLi en tetrahidrofurano (THF) a una temperatura desde aproximadamente -70°C hasta -10°C durante aproximadamente 1 hora. La posterior solvólisis catalizada por ácido, que conlleva al ataque estereoselectivo de agua, procede por medio de dos rotámeros alrededor del enlace 5,6 en el intermedio **18**. El rotámero **18** mostrado en la figura 2 se prefiere con mucho (aproximadamente 9:1), y, utilizando las condiciones de la etapa de reacción (b) es decir utilizando ácido *p*-toluensulfónico (en lo sucesivo APTS) en una mezcla de dioxanos/H₂O (1:1) a una temperatura de 55 a 60°C durante cuatro horas, condujo al intermedio **19** que, durante la desprotección del éter silílico utilizando las condiciones de la etapa de reacción (c) es decir en THF a temperatura ambiente durante aproximadamente 72 horas dio el isómero **106** requerido.

Los demás isómeros (**102 a 114**) se obtuvieron por el mismo procedimiento general, partiendo de los intermedios **15** ó **16** o sus homólogos de 2-etil respectivos y el diastereoisómero apropiado del precursor bicíclico del anillo A (IV) en la figura 1) de **17**.

Los análogos de 20-*epi* siguientes se obtuvieron del mismo modo partiendo de 20-*epi*.



R=α Me,	23, 24 – enlace sencillo
R= β Me,	23, 24 – enlace sencillo
R= α Me,	23, 24 – triple enlace
R= β Me,	23, 24 – triple enlace
R= α Et,	23, 24 – enlace sencillo
R= β Et,	23, 24 – enlace sencillo
R= α Et,	23, 24 – triple enlace
R= β Et,	23, 24 – triple enlace

5

10 En la serie 19-nor de los análogos de la vitamina D, como se muestra en la figura 3, la síntesis de los compuestos **101** y **102**, los análogos de 2-hidroxi metil y sus 20-epímeros puede realizarse mediante una reacción de Homer-Wittig conocida también como acoplamiento de Lythgoe, que implica óxidos de fosfina. Una mezcla 1:1 de los compuestos **101** y **102** puede obtenerse también en la hidrogenación catalítica no selectiva de 2-metileno-19-nor-1α,25-dihidroxitamina D₃ y a continuación separarse por HPLC de fase inversa. La aplicación de esta estrategia en una síntesis estereoselectiva que implica un óxido de fosfina sustituida en 2 (utilizando numeración del esteroide) está sin embargo impedida por el hecho de que este precursor específico del anillo A ya no posee un pseudoeje C₂ de simetría; por consiguiente se necesita un elemento de control para la geometría del doble enlace 5,6 relativa a la configuración en el carbono 2.

20 Los inventores en la presente memoria proporcionan una síntesis convergente de los compuestos de la invención mediante el método denominado de la ciclovitamina como alternativa al procedimiento de acoplamiento de Lythgoe más ampliamente utilizado. Refiriéndonos otra vez a la figura 3, los alcoholes ciclopropílicos intermedios tales como **25**, **26a** o **27a** se someten a una solvólisis estereoselectiva catalizada por ácido que puede proceder mediante dos rotámeros alrededor del doble enlace 5,6, en equilibrio entre sí. Por ejemplo el rotámero **1** de **25** proporciona **1** con las configuraciones 3α y 5,6-z deseadas, mientras que el rotámero **2** conduce al isómero 5,6-E **28**. Dependiendo de los presentes sustituyentes y de las condiciones de reacción aplicables, la relación **1:28** del isómero observada es a lo sumo 4:1. Esta no tiene consecuencia para la síntesis de análogos de 19-nor tal como el compuesto **2** en el que el anillo A tiene un pseudoeje C₂ de simetría, tras la introducción de un sustituyente en el carbono 2 como en el intermedio **27a** (partiendo del intermedio **44a**, véase la figura 8), podría ocurrir una mezcla de compuestos epiméricos **101** y **102**. Sin embargo, se observó que un rotámero es predominante especialmente durante la solvólisis dirigida hacia los efímeros **1** y/o **3** del compuesto **2** en el que también falta este elemento de simetría, conduciendo a las selectividades hasta 18:1. La síntesis de los compuestos de la invención se efectuó teniendo en cuenta que la presencia de la función 1α-hidroxi es generalmente aceptada como esencial para el enlace del receptor y la actividad biológica y que estas propiedades están influidas por el modelo de sustitución y por el comportamiento de la configuración derivada del anillo A.

35 La figura 4 ilustra la síntesis de los precursores del anillo A biciclo[3.1.0]ciclohexano tales como **44a** (R=Me; serie **a**) y sus epímeros y homólogos (R=Et; serie **b**). Esta síntesis se centra alrededor del todo-*cis*-3,5-dihidroxi-4-ciclohexanoboxilato de metilo **29a** y su homólogo de 4-etilo **29b** para el que la asimetría catalizada por la enzima ya se conoce. Según la figura 4, la transesferificación de **29a** con el acetato de vinilo en presencia de SAM II, lipasa de *Pseudomonas fluorescentes*, proporcionó el enantiómero **30** con gran rendimiento. Para la serie sustituida por etilo el intermedio **29b** se transformó por monohidrólisis mediada por CCL (lipasa de *Candida cylindracea*) o por SAM II a

31 de manera concretamente enantioselectiva. Una importante característica de los intermedios clave **30** y **31** es el hecho de que permiten acceso a todos los precursores del anillo A estereoisoméricos bicíclicos. Las transformaciones esenciales son (i) inversiones hacia la configuración o configuraciones relativas requeridas en el carbono 1, carbono 2 y carbono 3 (numeración del esteroide) y (ii) formación del anillo de diclopropano mediante un grupo saliente en un sustituyente oxi. Dado que los intermedios **30** y **31** pertenecen a diferentes series enantioméricas y el orden de las etapas iniciales (a), (b) y (c) deben invertirse (p. ej. **30**→**32a** mediante (a), (b), (c); **31**→**32b** mediante (c), (b) y (a) para la síntesis de homólogos con idéntica configuración absoluta. Las condiciones de reacción preferidas para la realización de la etapa (a) incluyen la presencia de una fosfina tal como glicerifosfina, un compuesto diazo tal como azodicarboxilato de diisopropilo (en adelante ADDI) en un disolvente tal como tetrahidrofurano (en lo sucesivo THF) durante aproximadamente 3 horas a temperatura ambiente. Las condiciones de reacción preferidas para la realización de la etapa (b) incluyen la presencia de carbonato potásico en un disolvente tal como metanol a temperatura ambiente durante aproximadamente 6 horas. Las condiciones de reacción preferidas para la realización de la etapa (c) incluyen la presencia de un haluro de triarilsililo o un haluro de trialkilsililo o un haluro de alquildiarilsililo tal como cloruro de *tert*-butildifenilsililo (en lo sucesivo TBDP) y la presencia de un catalizador como 4-(dimetilamino) en adelante (DMAP), en un disolvente tal como dimetilformamida (en adelante DMF), durante aproximadamente 10 horas a temperatura ambiente. Si procede, la duración de cada etapa de la reacción puede disminuirse mediante un aumento simultáneo en la temperatura de reacción.

Cuando la función hidroxilo está flanqueada por un sustituyente alquilo *cis*-adyacente, ocurre una antieliminación fácil con alto rendimiento, como se muestra en la figura 4 mediante la reacción de acetato **30** (91% de rendimiento de ciclohexano sustituido) y la transformación del intermedio **32** en **33b**. Los investigadores observaron también que en el caso de una relación *trans* adyacente la inversión de Mitsunobu procede normalmente, como se demostró por la transformación de los intermedios **34a,b** en los intermedios **40a,b**.

En la etapa (d) siguiente se aprovechó la fácil transformación de los intermedios de ciclohexeno. La hidrobromación de los intermedios **33a,b** en tetrahidrofurano como disolvente a 0°C durante 2 a 3 horas fue no selectiva y proporcionó una mezcla aproximadamente 1:1 separable de los intermedios **34a, b** y **35a,b**. Ambos diastereoisómeros son adecuados para la transformación ulterior en los correspondientes mesilatos **36a,b** y **37a,b** en la etapa (e) mediante una reacción con cloruro de mesitilo preferentemente en presencia de un catalizador tal como trietilamina, en cloruro de metileno como disolvente, a 0°C durante aproximadamente 3 horas. El mesilato **37a,b** condujo, en la formación de ciclopropano mediada por base en la etapa (f) y la conversión ulterior de la función éster del intermedio **38a,b** en un grupo formado en la etapa (g) a los intermedios **39a,b** que son los precursores para los análogos **102, 104, 106, 108, 110, 112 y 114 y 116** de 2- α -alquil-19-*nor*-1 α ,25-dihidroxivitamina D₃. Las condiciones de reacción preferidas para la realización de la etapa (f) incluyen la presencia de *tert*-butoxido de potasio, en un disolvente tal como una mezcla de THF y *tert*-butanol, durante aproximadamente 30 minutos a alrededor de 50°C. Las condiciones de reacción preferidas para la realización de la etapa (g) incluyen por ejemplo una reacción con hidruro de litio y aluminio en un disolvente tal como THF, durante aproximadamente 3 horas a alrededor de 0°C. Por otra parte la inversión de Mitsunobu del grupo hidroxilo de intermedios **34a,b** se realiza en la etapa (h) y proporciona intermedios **41a,b** con alto rendimiento. Las condiciones de reacción preferidas para la realización de la etapa (h) incluyen por ejemplo una reacción con ácido *p*-nitrobenzoico durante aproximadamente 24 horas en presencia de una fosfina como trifenilfosfina, una compuesto tal como ADDI, en un disolvente tal como THF a temperatura ambiente. Esto abre, sucesivamente mediante los intermedios **41a,b** a través de la etapa (b), a continuación los intermedios **42a,b** a través de la etapa (e) y a continuación los intermedios **43a,b** a través de la etapa (f), una vía a los intermedios **44a,b** que son los precursores para los análogos **101, 103, 105, 107, 109, 111, 113 y 115** epiméricos de 2 β -alquil vitamina D₃. Por último, la mesilación de los intermedios **34a,b** en los intermedios **36a,b**, seguido de la formación de ciclopropano en los intermedios **45a,b** en la etapa (f) y la reducción del éster en la etapa (g) proporcionó los intermedios **46a,b** que son los precursores de los análogos de vitamina D con una configuración 1 α , 2 β y 3 α .

Como se muestra en la parte baja de la figura 4, la presente invención proporciona también unos intermedios de clave lactónica por vía estereoselectiva sintética. Por ejemplo, la hidrobromación de la lactona 47 (disponible a partir de monoacetato 30 a través de una sucesión de etapas (a), (b) e (i)) dio el intermedio **48** simultáneamente con la reducción de la lactona. Las condiciones de reacción preferidas para la realización de la etapa (i) incluyen la presencia de PPTS a aproximadamente 80°C durante unas 24 horas. Después de la protección de la función hidroxilo del intermedio 48 en la etapa (c), el intermedio **49** se transforma a continuación sucesivamente por la etapa (b) en el intermedio **50** y por la etapa (e) en el intermedio **51**, y por último mediante la etapa (f) en el precursor **44a** del anillo A ya descrito. Así mismo, es evidente que después de la mesilación del intermedio **48**, el mesilato **52** es un intermedio útil para el intermedio **37a** y por consiguiente para el precursor **39a**. Esto representa una ruta aceptable para la síntesis de un análogo específico de la vitamina D₃.

Como se muestra en la figura 5, los enantiómeros respectivos (**63a,b**, **65a,b** y **67a,b**) y los precursores **46a,b**, **39a,b** y **44a,b** del anillo A pueden construirse mediante **56a,b** aplicando la misma serie de reacciones descritas anteriormente en la figura 4. Los intermedios clave **56a,b**, es decir, los enantiómeros de los intermedios **33a,b**, se obtuvieron a partir de los monésteres, **30** y **31b** invirtiendo el orden respectivo de la secuencia de la etapa 3 mostrada en la figura 4. La hidrobromación de los intermedios **56a,b** proporcionó una mezcla simple de intermedios **58a,b** (útiles para la preparación de los intermedios **67a,b**) y **60a,b**. El mesilato **61a,b** de este último condujo a los precursores **65a,b** del anillo A, mientras que la inversión inicial de Mitsunobu de los intermedios **60a,b** abre la ruta a los intermedios **63a,b**. En la figura 5, las condiciones preferidas para las etapas de reacción (a), (b), (c) son las

5 mismas que para las etapas correspondientes en la figura 4. Las condiciones preferidas para la etapa (d) de la reacción incluyen la presencia de cloruro de *p*-nitrofenilsulfonilo, trietilamina, DMAP como catalizador, durante aproximadamente 10 horas en cloruro de metileno como disolvente. Las condiciones preferidas para la etapa (e) de reacción incluyen la presencia de acetato de cesio, 18-corona-6-éter como catalizador durante aproximadamente 4 horas en tolueno como disolvente.

Como ya se mencionó anteriormente, una alternativa para la reacción de Mitsunobu cuando la función hidroxilo está flanqueada por un sustituyente 4-alkilo *cis*-adyacente consiste en la inversión del *p*-nitrofenilsulfonato correspondiente con propionato de cesio. Por lo tanto el intermedio **54** es capaz, mediante el intermedio **55** de proporcionar **57a** como intermedio para el precursor **67a** del anillo A.

10 La síntesis de los estereoisómeros **69a,b** y **71a,b** se muestra en la figura 6 y no requieren una etapa de inversión. De este modo se obtuvo el intermedio **69a** partiendo de **30** mediante la protección, hidrólisis, mesilación y formación de ciclopropano sucesivamente; el intermedio **69b** se formó de manera similar a partir de **31** cambiando el orden de la secuencia de reacción. De nuevo adaptando el mismo conjunto de reacciones condujo a los enantiómeros **71a,b**.

15 Con los precursores del anillo A en marcha los investigadores volvieron su atención a la construcción del esqueleto de la vitamina D₃ mediante la estrategia de la ciclovitamina D descrita en la figura 3. La reacción de los aldenidos, p. ej. **44a** con el derivado vinílico de litio de **20** condujo al intermedio **27a** como una mezcla 1:1 epimérica en el carbono 6 (véase la figura 8). La posterior solvolisis catalizada por ácido, que conlleva el ataque estereoselectivo del agua, procede mediante dos rotámeros (i) e (ii) alrededor de enlace 5,6 (véase también la figura 3) en equilibrio entre sí. Es evidente que la reacción mediante el rotámero **1** del intermedio **27a** conducirá a la introducción de un grupo hidroxilo en el carbono 3 (intermedio **72a** y por último el compuesto **101**), mientras que el rotámero II introducirá un grupo hidroxilo en el carbono 1 (intermedio **73a** y por último el compuesto **102**). Con objeto de poder distinguir los dos estereoisómeros **101** y **102**, se seleccionó el grupo protector TBDPS ya que es estable en condiciones de solvolisis. El producto **72a** principal surge del ataque al carbono 3; los intermedios **72a** y **73a** se formaron en una proporción 88:12. Esta proporción fue algo más pronunciada en la serie (14-*epi*) del anillo CD en *cis*; la secuencia de partida de los intermedios **44a** y **21** condujo al éter 1-TPDPS del compuesto **105** y al éter 3-TPDPS del compuesto **106** en una proporción 94:6. Esta diferencia entre los hidrindanos fusionados en *trans* y *cis* se encontró constantemente, independientemente de la configuración del fragmento del anillo A bicíclico.

20 La estructura del intermedio **72a** se demostró por el efecto nuclear de Overhauser (en adelante ENO) y experimentos de espectroscopía de correlación 2D (en adelante DUSY-2D). Los protones vinílicos 6-H y 7-H (sistema AB; $\delta = 6,14$ y $\beta = 5,46$; $J = 11,3$ Hz) proporcionó una mejora del ENO con 10 α -H y 4 α - β -H respectivamente. La asignación de estos protones resulta de la observación de una mejora de ENO con 1-H ($\delta = 3,72$) y 3-H ($\delta = 3,94$) respectivamente. La localización de estos últimos protones resulta del tricloroacetato del intermedio **72a**. Para 3-H se observó un desplazamiento químico desde $\delta = 3,94$ a $\delta = 5,17$ y los experimentos DCOSY-2D y las mejoras de ENO corroboraron con las obtenidas para el intermedio **72a**.

25 Es de destacar que para la serie del éter 1-OTBDPS, 1-H está campo abajo con relación a 3-H para los isómeros con un sustituyente 2 α mientras que se observa una situación invertida para los isómeros sustituidos en 2 β . Idénticas observaciones se han hecho para los estereoisómeros con configuraciones de carbono 1, carbono 2 y carbono 3 variables tanto en las series sustituidas 2-metil como 2-etil.

30 En unos pocos casos en la serie 14-*epi* se observó también un aumento de ENO entre 7-H y un protón aromático del sustituyente 1-OTBDPS, que es de por sí una copia estructural. La herramienta más sencilla para la identificación estructural en estas series la proporciona un desplazamiento químico constante campo arriba de 7-H en los éteres 1-OTBDPS para el que 6-H y 7-H dio $\Delta\delta = 0,5-0,7$. Este desplazamiento campo arriba es probablemente debido a la anisotropía de un grupo fenilo del éter DBDPS que está confirmada de hecho por el aumento de ENO observado (7-H, H-Ar). Los regioisómeros (3-OTBDPS) presentan las señales para 6-H y 7-H más próximos juntos, ($\Delta\delta = 0,1-0,3$) con un pequeño desplazamiento campo arriba para 6-H en comparación con los valores de δ observados para los compuestos del título desprotegidos.

Por último, la escisión del éter TBDPS condujo a los análogos de la vitamina D sustituidos en 2-alkilo deseados. En conclusión la ruta de síntesis de la ciclovitamina dada a conocer anteriormente proporciona buena estereoselectividad.

35 Los ejemplos siguientes se proporcionan a modo de ilustración de la invención y no deberían en modo alguno interpretarse como restrictivos de su alcance.

40 Todas las reacciones de síntesis se realizaron en atmósfera de argón o nitrógeno con agitación magnética. Todos los disolventes se purificaron o secaron según procedimientos estándar. Las soluciones se secaron sobre MgSO₄. El disolvente se eliminó de las soluciones filtradas en un evaporador rotativo. Las separaciones en cromatografía en columna se realizaron en gel de sílice, los diluyentes están entre paréntesis. Las separaciones HPLC se realizaron en un sistema de liberación Knauer 64, un Waters 6000 o un Kontron 420 con detección IR, los diluyentes se dan entre paréntesis. Se midieron las rotaciones ópticas con un polarímetro 421 de Perkin Elmer. Se registraron los espectros de IR en un espectrómetro FTIR-1600 de Perkin Elmer y los espectros de masas en un espectrómetro

HP-5988. Los espectros por RMN de ^1H se registraron a 500 MHz (WH-Bruker) y los espectros RMN de ^{13}C a 200 MHz (Varian-Gemini), los desplazamientos químicos se expresan en ppm relativas a TMS y las constantes de acoplamiento están en Hz.

Ejemplo 1 – Preparación de (4*R*,6*R*)-6-*t*-butildifenilsililoxi-1-metil-4-metoxicarbonil-1-ciclohexeno (intermedio **33a**)

5 Se hace referencia a la figura 4. A una solución agitada del intermedio **30** (1,3 g, 5,65 mmoles) y Ph_3P (4,5 g, 17,16 mmoles) en THF (15 ml) se añadió gota a gota ADDI (3,6 ml, 17,16 mmoles, 95% de pureza) a 0°C. Después de la agitación durante 3 horas a temperatura ambiente, la solución de reacción se sometió a cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla pentano/ Et_2O 3:1) proporcionando un aceite incoloro. Se disolvió en MeOH (20 ml) y a continuación se trató con K_2CO_3 (0,36 g, 2,61 mmoles). Tras la agitación durante 6 horas, se vertió la solución en H_2O -EtOAc, se extrajo (EtOAc), se lavó, se secó y se concentró. La cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla isooctano/EtOAc 4:1) dio un intermedio en forma de cristales de *n*-hexano-acetona [caracterizado de la forma siguiente: p.f. 70-71°C, $R_f = 0,21$ (isooctano/EtOAc 4:1). $[\alpha]_D^{T.A.} = -21,6$ ($c = 1,09$, CHCl_3). $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_3$ (170,21) calc. C 63,51, H 8,29; C obtenido 63,33, H 8,34]. Se añadió TBDPSCI (1,55 ml, 98%, 5,99 mmoles) a una solución del intermedio (0,83 g, 4,48 mmoles), imidazol (0,41 g, 6,02 mmoles) una cantidad catalítica de DMAP en DMF anhidra (12 ml) a 0°C. La mezcla resultante se agitó durante 10 h a temperatura ambiente y a continuación se vertió en H_2O -EtOAc, se separó, se extrajo (EtOAc), se lavó, se secó y se evaporó. La cromatografía (isooctano/EtOAc, 95:5) dio **33a** (1,68 g, 73% total) como un aceite incoloro caracterizado de la forma siguiente: $R_f = 0,42$ (isooctano/EtOAc, 9:1). $[\alpha]_D^{T.A.} = -82,9$ ($c = 0,79$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 2952, 2857, 1738, 1589, 1472, 1428, 1362, 1308, 1247, 1169\text{ cm}^{-1}$. – ^1H RMN (CDCl_3): $\delta = 7,73 - 7,37$ (m, 10 H), 5,39 (m, 1 H), 4,24 (s, 1 H), 3,59 (s, 3 H), 2,39 (m, 1 H), 2,32 – 2,02 (m, 3 H), 1,75 (m, 1 H), 1,66 (s., 3 H), 1,07 (s, 9 H). – ^{13}C RMN (CDCl_3): $\delta = 175,2, 137,5, 136,1, 134,4, 133,7, 129,6, 127,6, 71,4, 51,6, 38,9, 35,2, 27,9, 27,1, 20,2, 19,5$. – MS (m/z): 408 (M^+ , 1), 354(8), 351 (M^+ 57, 73), 299 (5), 273 (6), 213 (100), 183 (75), 137 (70). Análisis elemental: $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{Si}$ (408,61): calc. C 73,49, H 7,89; C obtenido 74,16, H 8,32.

Ejemplo 2 – Preparación del homólogo etílico (**33b**) del intermedio (**33a**)

25 Se hace referencia a la figura 5. A una solución agitada del monobutirato **31** (1,9 g, 7,04 mmoles), imidazol (1,43 g, 21,03 mmoles) y DMAP (44 mg) en DMF anhidra (15ml) se añadió gota a gota cloruro de TBDPS (3,6 ml, 98% de pureza, 13,57 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 h. La solución se vertió en H_2O -EtOAc, se separó, se extrajo (EtOAc), se lavó, se secó y se concentró. El residuo se disolvió en MeOH anhidro (80ml) y se añadió K_2CO_3 (324 mg, 2,35 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 h y a continuación se vertió la solución en H_2O -EtOAc, se separó, se extrajo (EtOAc), se lavó, se secó y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía ultrarrápida (isooctano/EtOAc 4:1) proporcionando el alcohol intermedio (2,5 g, 81%) como un aceite incoloro. Se absorbió (1,9 g, 4,32 mmoles) en THF anhidra (30 ml) que contenía Ph_3T (5,77 g, 22,04 mmoles). A esta solución se añadió gota a gota ADDI (4,1 ml, 22,04 mmoles) a 0°C. Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, se concentró la solución. Se purificó el residuo por cromatografía (isooctano/EtOAc, 95:5) proporcionando **33b** (1,82g, 92%) caracterizado de la forma siguiente: $R_f = 0,28$ (isooctano/EtOAc, 95:5). $[\alpha]_D^{T.A.} = -74,8$ ($c = 0,81$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 2957, 2857, 1738, 1429, 1246, 1166, 1108, 1064, 935, 895, 821, 740, 704\text{ cm}^{-1}$. – ^1H RMN (CDCl_3): $\delta = 7,73 - 7,38$ (m, 10 H), 5,36 (s ancho, 1 H), 4,26 (s ancho, 1 H), 3,58 (s, 3 H), 2,36 (m, 1 H), 2,32 (m, 1 H), 2,16 (m, 2 H), 2,02 (m, 2 H), 1,75 (m, 1 H), 1,05 (s, 9 H), 0,87 (t, $J = 7,4\text{ Hz}$, 3 H). – ^{13}C RMN (CDCl_3): $\delta = 175,1, 136,7, 134,4, 133,5, 129,5, 127,1, 119,7, 70,2, 51,5, 38,7, 35,3, 27,7, 27,0, 25,3, 19,4, 12,3$. – MS (m/z , %): 422 (M^+ , 2), 401 (3), 365 (72), 333 (6), 267 (8), 255 (2), 227 (7), 213 (100), 201 (65), 163 (55), 137 (58), 105 (32), 79 (75), 41 (40). Análisis elemental: $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_3\text{Si}$ (422,64): calc. C 73,89, H 8,11; C obtenido 73,72, H 8,27.

Ejemplo 3 – Preparación de (1*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-*t*-butildifenilsililoxi-3-hidroxi-4-metil-ciclohexano carboxilato de metilo (**34a**)

45 La hidrobioración del intermedio del ejemplo 1 se efectuó de la forma siguiente. A una solución agitada de **33a** (130 mg, 0,319 mmoles), en THF (12 ml) se añadió una solución de BH_3 (380 μl , 1 M en THF, 0,38 mmoles) a 0°C y se continuo agitando a esta temperatura durante 2,5 horas. A continuación se añadieron H_2O_2 (0,5 ml) y NaHCO_3 (3 ml). Tras la agitación durante 0,5 horas la sobrenadante de reacción se vertió en una mezcla H_2O -EtOAc y se separó la capa orgánica. Se extrajo la capa acuosa por medio de EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron, secaron y concentraron. Se purificó el residuo por cromatografía (utilizando mezclas de isooctano/EtOAc que oscilan entre 9 : 1 a 4:1), proporcionando así el intermedio **34a** (48 mg, 35%) que se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,21$ (isooctano/EtOAc, 4:1). $[\alpha]_D^{T.A.} = -51,8$ ($c = 0,55$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 3361, 2932, 2858, 1737, 1589, 1403, 1428, 1363, 1282, 1250, 1173, 1111\text{ cm}^{-1}$. – ^1H RMN (CDCl_3): $\delta = 7,70 - 7,36$ (m, 10 H), 3,59 (s, 3 H), 3,25 (m, 1 H), 3,09 (m, 1 H), 2,12-2,05 (m, 2 H), 1,91 (dt, $J = 12,7, 4,3\text{ Hz}$, 1 H), 1,62 (s ancho, 1 H), 1,54-1,38 (m, 3 H), 1,07 (d, $J = 6,4\text{ Hz}$, 3 H), 1,05 (s, 9H). – ^{13}C RMN (CDCl_3): $\delta = 174,6, 135,9, 134,3, 133,6, 129,7, 127,5, 74,8, 73,0, 51,8, 47,9, 37,9, 37,1, 36,0, 27,1, 19,5, 14,5$. – MS (m/z , %): 409 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{H}$, 1), 369 ($\text{M}^+ - 57, 10$), 337 (25), 309 (5), 199 (75), 153 (25), 121 (15), 93 (100). Análisis elemental: $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{Si}$ (426,63): calc. C 70,38, H 8,03; C obtenido 70,16, H 8,14.

Ejemplo 4 – Preparación de (1*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-5-*t*-butildifenilsililoxi-3-hidroxi-4-metil-ciclohexano carboxilato de metilo (35a)

Partiendo del intermedio del ejemplo 2, intermedio **35a** (61 mg, 45%) se preparó siguiendo el mismo procedimiento de hidrobioración descrito en el ejemplo 3, y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,19$ (isooctano/EtOAc, 4:1). $[\alpha]_D^{t.a.} = -38,5$ ($c = 0,69$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 3442, 2954, 2893, 2857, 1735, 1715, 1589, 1463, 1427, 1378, 1273, 1196, 1111 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): $\delta = 7,68 - 7,36$ (m, 10 H), 4,17 (dt, $J = 10,8, 4,7$ Hz, 1 H), 3,89 (d, $J = 3,1$ Hz, 1 H), 3,63 (s, 3 H), 2,62 (tt, $J = 11,8, 4,4$ Hz, 1 H), 1,82-1,66 (m, 5 H), 1,59 (s ancho, 1 H), 1,06 (s, 1 H), 0,96 (d, $J = 7,2$ Hz, 3 H). – $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): $\delta = 175,7, 135,8, 134,3, 129,6, 127,5, 72,0, 68,9, 51,7, 47,9, 41,3, 36,6, 31,4, 29,6, 27,0, 19,3, 10,7$. – MS ($m/z, \%$): 369 ($M^+ - 57, 100$), 339 (5), 319 (4), 273 (6), 253 (10), 199 (85), 153 (65), 135 (40). Análisis elemental: $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{Si}$ (426,63): calc. C 70,38, H 8,03; C obtenido 70,21, H 8,20.

Ejemplo 5 – Preparación del homólogo etílico (34b)

El homólogo etílico (34b) del intermedio (34a) se preparó de manera similar y se caracterizó de la manera siguiente: $R_f = 0,12$ (isooctano/EtOAc, 4:1). $[\alpha]_D^{t.a.} = -51,1$ ($c = 0,52$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 3421, 2956, 2893, 2857, 1736, 1508, 1458, 1428, 1363, 1272, 1242 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): $\delta = 7,69 - 7,36$ (m, 10 H), 3,59 (s, 3 H), 3,43 (dt, $J = 10,6, 4,3$ Hz, 1 H), 3,33 (dt, $J = 10,6, 4,3$ Hz, 1 H), 2,05 (m, 2 H), 1,92 (d, $J = 12,4$ Hz, 1 H), 1,78 (m, 1 H), 1,70 (m, 1 H), 1,54-1,41 (m, 4H), 1,09 (s, 9 H), 0,69 (t, $J = 7,5$ Hz, 3 H). – $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): $\delta = 175,2, 136,5, 134,8, 133,9, 130,3, 130,1, 128,2, 127,9, 71,3, 69,8, 52,8, 52,3, 38,3, 37,5, 37,3, 27,6, 19,9, 19,1, 9,4$. – MS ($m/z, \%$): 383 ($M^+ - 57, 2$), 351 (8), 305 (24), 273 (5), 213 (9), 199 (70), 183 (15), 153 (20), 135 (28), 107 (100), 79 (30). Análisis elemental: $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_4\text{Si}$ (440,65): calc. C 70,87, H 8,23; C obtenido 70,50, H 8,33.

Ejemplo 6 – Preparación del homólogo etílico (35b)

El homólogo etílico (35b) del intermedio (35a) se preparó de manera similar y se caracterizó de la manera siguiente: $R_f = 0,17$ (isooctano/EtOAc, 4:1). $[\alpha]_D^{t.a.} = -38,9$ ($c = 0,81$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 3453, 2958, 2858, 1736, 1589, 1460, 1428, 1382, 1255, 1172, 1195, 1110 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): $\delta = 7,67 - 7,37$ (m, 10 H), 4,18 (dt, $J = 11,7, 4,6$ Hz, 1 H), 4,02 (d, $J = 2,8$ Hz, 1 H), 3,63 (s, 3 H), 2,60 (m, 1 H), 1,95 (m, 1 H), 1,80 (dt, $J = 12,6, 4,1$ Hz, 1 H), 1,65-1,45 (m, 5 H), 1,05 (s, 9 H), 0,87 (m, 3 H). – $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): $\delta = 176,2, 136,3, 134,8, 134,7, 130,1, 130,0, 128,0, 69,3, 52,1, 49,1, 36,8, 32,6, 30,0, 27,4, 19,7, 17,6, 13,3$. – MS ($m/z, \%$): 383 ($M^+ - 57, 90$), 351 (6), 333 (5), 305 (4), 273 (10), 213 (50), 199 (100), 183 (58), 153 (60), 135 (65), 107 (48). Análisis elemental: $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{O}_4\text{Si}$ (440,65): calc. C 70,87, H 8,23; C obtenido 70,75, H 8,33.

Ejemplo 7 – Preparación de (1*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-*t*-butildifenilsililoxi-3-hidroxi-4-metil-ciclohexano carboxilato de metilo (intermedio 41a)

Se hace referencia a la figura 4. A una solución agitada del intermedio **34a** (0,55 g, 1,29 mmoles), $p\text{-NO}_2\text{PhCO}_2\text{H}$ (0,26 g, 1,56 mmoles) y Ph_3P (0,41 g, 1,56 mmoles) en THF (15 ml) a temperatura ambiente se añadió gota a gota ADDI (323 μl , 95% de pureza, 1,56 mmoles). Después de la agitación durante 24 horas, la solución se sometió a cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla pentano/EtOAc 7 : 3). después de la concentración, el residuo se purificó por cromatografía (utilizando una mezcla isooctano/EtOAc 92 : 8) para dar el intermedio **40a** (0,60 g, 81%) [caracterizado de la forma siguiente: $R_f = 0,24$ (isooctano/EtOAc 4:1). $[\alpha]_D^{t.a.} = -61,4$ ($c = 0,30$, CHCl_3). IR (película): $\nu = 2957, 2858, 1729, 1608, 1529, 1461, 1428, 1349, 1273, 1243 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): $\delta = 8,23$ (dd, $J = 8,8, 1,4$ Hz, 2 H), 7,83 (dd, $J = 8,8, 1,4$ Hz, 2 H), 7,75 (dd, $J = 8,0, 1,4$ Hz, 2 H), 7,71 (dd, $J = 8,0, 1,4$ Hz, 2 H), 7,52-7,40 (m, 6 H), 5,33 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 3,73 (dt, $J = 10,6, 4,2$ Hz, 1 H), 3,60 (s, 3 H), 2,46 (tt, $J = 9,1, 3,5$ Hz, 1 H), 2,17 (m, 2 H), 1,86 (m, 1 H), 1,73 (dt, $J = 12,5, 2,2$ Hz, 1 H), 1,68 (q, $J = 12,5$ Hz, 1 H), 1,08 (s, 9 H), 0,94 (d, $J = 6,8$ Hz, 3 H). – $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): $\delta = 174,6, 163,6, 150,4, 136,2, 135,4, 134,4, 133,3, 130,5, 129,7, 127,6, 127,5, 123,5, 75,9, 72,4, 51,9, 42,5, 37,3, 37,2, 30,1, 27,1, 19,4, 14,8$. – MS ($m/z, \%$): 544 ($M^+ - 31, 1$), 518 ($M^+ - 57, 31$), 488 (2), 442 (1), 409 (1), 348 (19), 302 (11), 273 (10), 213 (68), 183 (58), 150 (100). Análisis elemental: $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{O}_7\text{NSi}$ (575,73): calc. C 66,76, H 6,48; N 2,43; C obtenido 66,39, H 6,50, N 2,43]. Una mezcla del intermedio **40a** (0,59 g, 1,03 mmoles) y K_2CO_3 (71 mg, 0,51 mmoles) en MeOH anhidro (12 ml) se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente y a continuación se vertió en H_2O -EtOAc, se separó, se extrajo, se lavó, se secó y se concentró. La cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla de isooctano/EtOAc, 4 : 1) dio el intermedio **41a** (0,42 g, 95%) como un aceite incoloro caracterizado de la forma siguiente: $R_f = 0,21$ (isooctano/EtOAc, 4:1). $[\alpha]_D^{t.a.} = -72,5$ ($c = 0,50$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 3500, 3071, 2956, 2858, 1736, 1462, 1428, 1195, 1111, 1084 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): $\delta = 7,71 - 7,35$ (m, 10 H), 3,99 (d, $J = 3,5$ Hz, 1 H), 3,75 (dt, $J = 10,5, 4,3$ Hz, 1 H), 3,58 (s, 3 H), 2,59 (tt, 12,2, 3,6 Hz, 1 H), 1,97 - 1,91 (m, 2 H), 1,66-1,57 (m, 2 H), 1,49 (m, 1 H), 1,05 (s, 9H), 1,02 (d, $J = 6,9$ Hz, 3 H). – $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): $\delta = 175,6, 135,9, 136,1, 134,4, 133,9, 129,5, 127,5, 72,3, 71,1, 51,6, 43,6, 37,2, 36,4, 35,1, 27,1, 19,5, 14,9$. – MS (m/z): 395 ($M^+, 31, 4$), 370 (24), 369 ($M^+ - 57, 100$), 377 (10), 291 (6), 259 (8), 221 (4), 215 (74), 199 (84), 183 (64), 153 (71), 105 (58), 77 (72).

Ejemplo 8 – Preparación del homólogo etílico **41b**

El homólogo etílico **41b** del intermedio **41a** se preparó partiendo del intermedio **34b** a través de **40b** como se describió en el ejemplo 7 y se caracterizó de la manera siguiente: $R_f = 0,22$ (isooctano/EtOAc, 4:1). $[\alpha]_D^{t.a.} = -63,4$ ($c = 0,71$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 3506, 3071, 2956, 2858, 1736, 1472, 1428, 1361, 1266, 1176, 1110 \text{ cm}^{-1}$. ^1H

RMN (CDCl₃): δ = 7,67 – 7,35 (m, 10 H), 4,2 (d, J = 3,2 Hz, 1 H), 3,78 (m, 1 H), 3,58 (s, 3 H), 2,57 (m, 1 H), 1,94 (dt, J = 13,1, 3,6 Hz, 2 H), 1,60-1,50 (m, 2 H), 1,43 (s ancho, 1 H), 1,33 (m, 1 H), 1,13 (m, 2 H), 1,05 (s, 9 H), 0,86 (t, J = 7,5 Hz, 3 H). – ¹³C RMN (CDCl₃): δ = 175,6, 136,0, 129,6, 129,5, 127,5, 127,4, 71,5, 66,4, 51,6, 50,2, 37,2, 36,2, 35,0, 27,1, 19,7, 19,5, 11,3. – MS (m/z, %): 383 (M⁺ - 57, 100), 351 (6), 305 (4), 273 (8), 199 (90), 153 (45), 135 (50), 77 (65), 57 (68). Análisis elemental: C₂₆H₃₆O₄Si (440,65): calc. C 70,87, H 8,23; C obtenido 71,02, H 8,20.

Ejemplo 9 – Preparación de (3aR,5aR)-1-metil-4-oxo-5-oxa-biciclo[3,2,1]-1-octeno **47**

Se hace referencia a la figura 4. Una solución del intermedio hidroxilado preparado a partir de **30** (0,36 g, 2,12 mmoles) y PPTS (0,49 g, 1,95 mmoles) en benceno (25 ml) se agitó a 80° C durante 24 horas. Se enfrió la mezcla de reacción, se diluyó con Et₂O, se lavó (NaHCO₃ saturado y salmuera) se secó y se evaporó. Se purificó el residuo por cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla de isoocetano/EtOAc 4:1) proporcionando el intermedio **47** (0,19 g, 85%) en forma de cristales incoloros en *n*-hexano/acetona y se caracterizó de la forma siguiente: p.f. = 47-48°C. - R_f = 0,21 (isoocetano/EtOAc, 9:1). - [α]_D²⁵ = + 130,1 (c = 0,89, CHCl₃). - IR (película): ν = 2915, 2855, 1778, 1449, 1436, 1219, 1147, 1116 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃): δ = 5,43 (s ancho, 1H), 4,53 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 2,85 (t, J = 3,5 Hz, 1H), 2,48-2,33 (m, 3H), 2,06 (d, J = 11,1 Hz, 1H), 1,81 (s, 3 H). ¹³C RMN (CDCl₃): δ = 179,5, 137,5, 122,2, 78,0, 37,6, 34,4, 28,4, 21,1. - MS (m/z, %): 165 (M⁺ + 1, 1), 155 (1), 139 (4), 139 (23), 119 (4), 109 (10), 94 (30), 79 (100).

Ejemplo 10 – Preparación de (1S,2R,3aR,5aR)-2-hidroxil-1-metil-4-oxo-5-oxa-biciclo[3,2,1]octano **48**

Esta síntesis se efectúa por el procedimiento de hidrobioración del ejemplo 3 y consigue, con un rendimiento del 42% cristales incoloros a partir de *n*-hexano/acetona que se caracterizaron de la forma siguiente: p.f. = 128-129°C; R_f = 0,21 (isoocetano/EtOAc 1:1): [α]_D²⁵ = - 109,3 (c = 0,97, CHCl₃). - IR (película): ν = 3448, 2933, 1766, 1359, 1273, 1227 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃): δ = 4,56 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 3,57 (m, 1H), 2,70 (s ancho, 1H), 2,41 (m, 1H), 2,32 (m, 1H), 2,16 (s ancho, 1H), 1,84 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,58 (m, 1H), 1,19 (d, J = 6,9 Hz, 3H). ¹³C RMN (CDCl₃): δ = 178,3, 82,8, 71,5, 42,4, 37,9, 37,6, 35,5, 16,1. - MS (m/z, %): 182 (M⁺, 1), 161 (5), 154 (4), 128 (14), 113 (48), 97 (54), 67 (50), 55 (100). Análisis elemental: C₈H₁₂O₃ (158,18): calc.. C 61,52, H 7,74; encontrado C 59,92, H 7,78.

Ejemplo 11 – Preparación de (1S,3R,4R,5R)-3-*t*-butildifenilsililoxi-6-hidroxi-5-metil-ciclohexano carboxilato de etilo **50**

Se hace referencia a la figura 4. El intermedio **50** se preparó en dos etapas a partir del intermedio **48**, 86% de rendimiento y se caracterizó de la forma siguiente: R_f = 0,21 (isoocetano/EtOAc, 4:1). - [α]_D²⁵ = - 7,1 (c = 0,41, CHCl₃). - IR (película): ν = 3445, 2953, 2858, 1734, 1559, 1540, 1428, 1362, 1256, 1195 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃): δ = 7,66 – 7,35 (m, 10 H), 4,25 (dt, J = 10,7, 6,7 Hz, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,63 (s, 3H), 2,92 (m, 1H), 1,98 (m, 1H), 1,93 (dt, J = 10,1, 6,5 Hz, 1H), 1,68-1,60 (m, 3H), 1,05 (s, 9H), 0,77 (d, J = 7,3 Hz, 3H). ¹³C RMN (CDCl₃): δ = 176,0, 135,7, 133,9, 129,7, 127,6, 73,0, 68,3, 51,8, 41,1, 36,9, 31,4, 30,5, 26,9, 19,3, 10,5. - MS (m/z, %): 369 (M⁺ - 57, 14), 337 (45), 291 (8), 259 (11), 199 (92), 169 (83), 137 (100), 93 (47). Análisis elemental: C₂₅H₃₄O₄Si (426,63): Calc. C 70,38, H 8,03; encontrado C 69,93, H 8,22.

Ejemplo 12 – Preparación de (4S,6S)-6-*t*-butildifenilsililoxi-1-metil-4-metoxicarbonil-1-ciclohexeno **56a**

Se hace referencia a la figura 5. Se preparó el intermedio **56a** en tres etapas a partir del intermedio **30** a través de los intermedios **53** y **54** como se describió anteriormente. El producto se obtuvo con un rendimiento del 81% y se caracterizó de la forma siguiente: R_f = 0,30 (isoocetano/EtOAc 9 : 1). [α]_D²⁵ = + 81,9 (c = 1,91, CHCl₃). - IR (película): ν = 3070, 2952, 2855, 1738, 1472, 1433, 1428, 1362, 1308, 1247 cm⁻¹. - ¹H RMN (CDCl₃): δ = 7,73-7,36 (m, 10 H), 3,63 (s, 3 H), 5,39 (t, J = 1,8 Hz, 1 H), 4,24 (s ancho, 1 H), 3,59 (s, 3 H), 2,38 (m, 1 H), 2,22-2,04 (m, 3 H), 1,75 (m, 1 H), 1,66 (m, 3 H), 1,07 (s, 9 H). - ¹³C RMN (CDCl₃): δ = 175,1, 137,4, 134,4, 133,7, 129,6, 127,6, 121,9, 71,4, 51,6, 38,8, 36,2, 27,1, 20,2, 19,5. - MS (m/z, %): 408 (M⁺ 1), 387 (6), 351 (M⁺, -57, 95), 319 (6), 299 (5), 273 (6), 227 (5), 213 (100), 183 (75), 137 (50), 77 (65).

Ejemplo 13 – Preparación del homólogo etílico **56b**

Utilizando un procedimiento similar al del ejemplo 12, se preparó el homólogo etílico del intermedio **56b** y se caracterizó de la forma siguiente: R_f = (isoocetano/EtOAc, 9:1), [α]_D²⁵ = + 74,2 (c = 1,09, CHCl₃). - IR (película): ν = 2959, 2857, 1738, 1652, 1589, 1456, 1428, 1388, 1246 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃): δ = 7,72 – 7,38 (m, 10 H), 5,37 (m, 1 H), 4,26 (s ancho, 1 H), 3,58 (s, 3 H), 2,35 (m, 1 H), 2,30-1,98 (m, 5 H), 1,75 (m, 1 H), 1,05 (s, 9 H), 0,87 (t, J = 7,4 Hz, 3 H). - ¹³C RMN (CDCl₃): δ = 175,1, 136,7, 134,4, 133,5, 129,5, 127,1, 119,7, 70,2, 51,5, 38,7, 35,3, 27,7, 27,0, 25,3, 19,4, 12,3. - MS (m/z, %): 422 (M⁺, 2), 401 (3), 365 (88), 333 (8), 287 (9), 255 (3), 227 (7), 213 (90), 183 (50), 137 (58), 107 (45), 79 (100)

Ejemplo 14 – Preparación de (1S,3S,4R,5S)-3-*t*-butildifenilsililoxi-5-hidroxi-4-metil-ciclohexano carboxilato de etilo **58a**

El intermedio **58a** se obtuvo realizando la hidrobioración del intermedio del ejemplo 12 en las mismas condiciones que en el ejemplo 3, y se caracterizó de la forma siguiente: R_f = 0,18 (isoocetano/EtOAc, 4:1). - [α]_D²⁵ = + 40,5 (c = 0,66, CHCl₃). - IR (película): ν = 3452, 3070, 2953, 2857, 1735, 1717, 1427, 1379, 1272, 1195 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃): δ = 7,68 – 7,36 (m, 10 H), 4,17 (dt, J = 10,8, 4,7 Hz, 1 H), 3,89 (d, J = 2,7 Hz, 1 H), 3,63 (s, 3 H), 2,62 (m,

1 H), 1,81-1,67 (m, 5 H), 1,56 (s ancho, 1 H), 1,06 (s, 9 H), 0,96 (d, J = 7,2 Hz, 3 H). – ^{13}C RMN (CDCl_3): δ = 175,7, 135,8, 134,4, 129,7, 127,6, 72,0, 68,9, 56,9, 51,7, 41,3, 36,6, 31,4, 29,6, 27,0, 19,3, 10,6. – MS (m/z, %): 425 (M^+ - 1, 100), 385 (2), 369 (M^+ - 57, 100), 337 (5), 291 (4), 259 (10), 221 (4), 199 (85), 153 (65).

5 **Ejemplo 15** – Preparación de (1S,3S,4S,5R)-3-*t*-butildifenilsililoxi-5-hidroxi-4-metil-ciclohexano carboxilato de etilo **60a**

10 Se hace referencia a la figura 5 y al procedimiento general descrito en la presente memoria anteriormente. El intermedio **60a** se caracterizó de la forma siguiente: R_f = 0,15 (isooctano/EtOAc, 4:1). – $[\alpha]_D^{25}$ = + 51,2 (c = 0,53, CHCl_3). – IR (película): ν = 3444, 3070, 2952, 2857, 1736, 1459, 1427, 1361, 1282, 1249, 1172 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3): δ = 7,69 – 7,36 (m, 10 H), 3,59 (s, 3 H), 3,25 (m, 1 H), 3,08 (m, 1 H), 2,11 – 2,05 (m, 2 H), 1,92 (d, J = 13,0 Hz, 1 H), 1,53-1,44 (m, 4 H), 1,08 (d, J = 6,4 Hz, 3 H), 1,05 (s, 9 H). – ^{13}C RMN (CDCl_3): δ = 174,5, 135,9, 134,3, 133,6, 129,7, 129,6, 127,6, 127,5, 74,8, 73,0, 51,8, 47,9, 37,9, 37,1, 36,8, 30,1, 27,0, 19,4, 14,5. – MS (m/z, %): 369 (M^+ - 57, 5), 337 (8), 291 (45), 259 (4), 247 (3), 199 (72), 153 (28), 121 (25), 93 (100).

Ejemplo 16 – Preparación del homólogo etílico **58b**

15 Utilizando un procedimiento similar al del ejemplo 14, se preparó el homólogo etílico del intermedio **58a** y se caracterizó de la forma siguiente: R_f = 0,17 (isooctano/EtOAc, 4:1). – $[\alpha]_D^{25}$ = +38,0 (c = 1,13, CHCl_3). – IR (película): ν = 3453, 2958, 2858, 1736, 1589, 1460, 1428, 1382, 1255 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3): δ = 7,67 – 7,37 (m, 10 H), 4,18 (dt, J = 11,7, 4,6 Hz, 1 H), 4,02 (d, J = 2,8 Hz, 1 H), 3,63 (s, 3 H), 2,60 (m, 1 H), 1,95 (m, 1 H), 1,80 (dt, J = 12,6, 4,1, 1 H), 1,65-1,45 (m, 6 H), 1,05 (s, 9 H), 0,87 (m, 3 H). – ^{13}C RMN (CDCl_3): δ = 176,2, 136,3, 134,8, 134,7, 130,1, 130,0, 128,0, 69,3, 52,1, 49,1, 36,8, 32,6, 30,0, 27,4, 19,7, 17,6, 13,3. – MS (m/z, %): 383 (M^+ - 57, 100), 351 (4), 287 (6), 273 (7), 213 (55), 199 (95), 183 (55), 153 (50), 107 (35), 55 (86).

Ejemplo 17 – Preparación del homólogo etílico **60b**

25 Utilizando un procedimiento similar al del ejemplo 15, se preparó el homólogo etílico del intermedio **60a** y se caracterizó de la forma siguiente: R_f = 0,12 (isooctano/EtOAc, 4:1). – $[\alpha]_D^{25}$ = + 50,7 (c = 0,52, CHCl_3). – IR (película): ν = 3421, 2956, 2857, 1736, 1508, 1458, 1428, 1363, 1272, 1242, 1169, 1110, 1040, 1007, 866, 822, 740, 703, 612 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3): δ = 7,69 – 7,36 (m, 10 H), 3,59 (s, 3 H), 3,43 (dt, J = 10,6, 4,3 Hz, 1 H), 3,33 (dt, J = 10,6, 4,3 Hz, 1 H), 2,05 (m, 2 H), 1,92 (d, J = 12,4 Hz, 1 H), 1,78 (m, 1 H), 1,70 (m, 1 H), 1,54 – 1,41 (m, 3 H), 1,09 (s, 9 H), 0,89 (m, 1 H), 0,69 (t, J = 7,5 Hz, 3 H). – ^{13}C RMN (CDCl_3): δ = 175,2, 136,5, 134,8, 133,9, 130,3, 130,1, 128,2, 127,9, 71,3, 69,8, 52,8, 52,3, 38,3, 37,5, 37,3, 27,6, 19,9, 19,1, 9,4. – MS (m/z, %): 383 (M^+ - 57, 3), 351 (9), 305 (32), 273 (6), 199 (64), 183 (15), 153 (18), 135 (35), 107 (100), 79 (35).

30 **Ejemplo 18** – Preparación de (1S,3S,4S,5R)-3-*t*-butildifenilsililoxi-4-metil-ciclohexano carboxilato de etilo **58a**

35 Se hace referencia a la figura 5. A una solución agitada del intermedio **54** (0,21 g, 0,49 mmoles), Et_3N (172 μl , 123 mmoles) y DMAP (6 mg, 0,05 mmoles) en CH_2Cl_2 (8 ml) se añadió cloruro de p-nitrobencenosulfonilo (136 mg, 0,61 mmoles) a 0°C y se continuó la agitación durante 10 horas. La solución se sometió a cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla isooctano/EtOAc 9 : 1) para dar el intermedio **55** (0,27 g, 90%) caracterizado de la forma siguiente: R_f = 0,27 (isooctano/EtOAc, 4:1). – $[\alpha]_D^{25}$ = - 3,2 (c = 0,40, CHCl_3). – IR (película): ν = 3072, 2955, 2858, 1737, 1608, 1535, 1428, 1351, 1288, 1251, 1187 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3): δ = 8,35 (dd, J = 7,1, 1,7 Hz, 2 H), 7,99 (dd, J = 7,1, 1,7 Hz, 2 H), 7,60 – 7,35 (m, 10 H), 4,39 (dt, J = 12,1, 4,7 Hz, 1 H), 3,63 (s, 3 H), 3,62 (m, 1 H), 2,17 (m, 1 H), 2,05 (dt, J = 12,9, 1,7 Hz, 1 H), 1,88 (m, 1 H), 1,79 (m, 1 H), 1,73 (m, 1 H), 1,66 (m, 1 H), 1,03 (s, 9 H), 1,00 (d, J = 6,9 Hz, 3 H). – ^{13}C RMN (CDCl_3): δ = 173,4, 150,5, 142,9, 135,6, 133,4, 129,9, 128,8, 127,7, 124,4, 81,9, 70,6, 52,1, 39,5, 37,4, 30,1, 27,8, 26,8, 19,1, 5,4. – MS (m/z, %): 554 (M^+ - 57, 21), 494 (2), 416 (3), 384 (57), 351 (32), 304 (9), 258 (7), 213 (67), 153 (49), 93 (100). Análisis elemental: $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{O}_8\text{SiNS}$ (611,79): Calc. C 60,86, H 6,09; N 2,29, encontrado C 61,09, H 6,30, N 2,29.

45 A una solución agitada del intermedio **55** (0,22 g, 0,36 mmoles) y 18-corona-6-éter (476 mg, 1,80 mmoles) se añadió EtCO_2Cs (371 mg, 1,80 mmoles) recién preparado. La mezcla se agitó a 110°C durante 2,5 horas y se enfrió a continuación a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó y se concentró. La cromatografía en columna (utilizando una mezcla isooctano / EtOAc 100 : 4) dio el intermedio **57a** (95 mg, 55%) caracterizado de la forma siguiente: R_f = 0,26 (isooctano/EtOAc, 4:1). – $[\alpha]_D^{25}$ = + 30,7 (c = 0,79, CHCl_3). – IR (película): ν = 3049 2954, 2858, 1738, 1463, 1428, 1274, 1189, 1112 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3): δ = 7,67 - 7,34 (m, 10 H), 4,90 (d, J = 2,9 Hz, 1 H), 3,98 (dt, J = 11,6, 4,7 Hz, 1 H), 3,65 (s, 3 H), 2,48 (m, 1 H), 2,14 – 1,99 (m, 2 H), 1,93 (m, 1 H), 1,87 (dt, J = 12,8, 4,2 Hz, 1 H), 1,87 (dt, J = 12,8, 4,2 Hz, 1 H), 1,93 – 1,81 (m, 3 H), 1,06 (s, 9 H), 1,04 (d, J = 7,3 Hz, 3 H), 0,97 (t, J = 7,6 Hz, 3 H). – ^{13}C RMN (CDCl_3): δ = 175,1, 173,1, 135,8, 133,9, 129,7, 127,5, 74,1, 69,1, 51,8, 38,0, 37,3, 30,9, 27,7, 26,9, 26,7, 19,2, 9,9, 9,0. – MS (m/z, %): 451 (M^+ - 31, 2), 425 (M^+ - 57, 21), 386 (1), 351 (15), 291 (3), 255 (27), 199 (29), 183 (19), 135 (21), 93 (26). Análisis elemental: $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_5\text{Si}$ (482,69): Calc. C 69,67, H 7,94; encontrado C 69,82, H 7,82.

55 Por último, la metanólisis del intermedio **57a** proporcionó el intermedio **58a** con un rendimiento del 98%.

Ejemplo 19 – Formación de mesilato

Para la formación de mesilato se utilizó el procedimiento general siguiente: a una solución agitada de un compuesto con hidroxilo y Et₃N (1,5 equivalentes) en CH₂Cl₂ (0,04 – 0,05 mmoles/ml) se añadió gota a gota cloruro de mesitilo (1,2 equivalentes) a 0°C y se continuó la agitación durante 3 horas. La solución resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla isoocetano / EtOAc 7 : 3). El residuo se purificó por HPLC (utilizando una mezcla isoocetano / EtOAc 9 : 1) para dar el mesilato correspondiente (rendimiento de aproximadamente 95%).

Ejemplo 20 – Formación de 3a-carbometoxi-1-metil-biciclo[3.1.0]hexano

Para la formación de 3a-carbometoxi-1-metil-biciclo[3.1.0]hexano se utilizó el procedimiento general siguiente: a una solución agitada de un mesilato obtenido según el ejemplo 19 (0,03 – 0,05 mmoles/ml) en una mezcla tBuOK-THF (3 : 2) se añadió gota a gota tBuOK (1 M en tBuOH, 1,2 equivalentes) entre 45 y 50°C y se continuó la agitación durante 0,5 hora. La solución se vertió en H₂O-EtOAc y a continuación se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron, secaron y concentraron (utilizando una mezcla isoocetano / EtOAc 100 : 3) dando el producto bicíclico con un rendimiento de aproximadamente 70%.

Ejemplo 21 – Preparación de (1S,2R,3aS,4aS)-2-*t*-butildifenilsililoxi-3a-carbometoxi-1-metil-biciclo[3.1.0]hexano **38a** y su enantiómero **66a**

Se hace referencia a la figura 4. Utilizando los procedimientos generales descritos anteriormente, se preparó el intermedio **38a** partiendo del intermedio **37a** y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,24$ (mezcla de isoocetano/EtOAc 97 : 3). $[\alpha]_D^{t.a.} = -53,8$ (c = 0,65, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 2957, 2858, 1724, 1472, 1428, 1367, 1292, 1222, 1149 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 7,65-7,36$ (m, 10 H), 3,84 (m, 1 H), 3,64 (s, 3 H), 2,24 (dd, J = 12,5, 8,5 Hz, 1 H), 2,03 (dd, J = 13,5, 6,6 Hz, 1 H), 1,93 (dd, J = 12,7, 7,2 Hz, 1 H), 1,59 (m, 1 H), 1,18 (dd, J = 8,4, 4,8 Hz, 1 H), 1,05 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,05 (s, 9 H), 0,56 (t, J = 5,2 Hz, 1 H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 174,9, 135,7, 133,9, 129,6, 127,6, 72,9, 51,8, 37,2, 34,1, 33,3, 27,2, 27,0, 19,4, 19,5, 15,1$. - MS (m/z, %): 408 (M⁺, 1), 353 (M⁺ - 57, 21), 351 (87), 296 (13), 237 (8), 213 (100), 183 (58), 135 (61), 77 (67). Análisis elemental: C₂₅H₃₂O₃Si (408,61): calc. C 73,49, H 7,89; obtenido C 73,57, H 8,04.

Haciendo referencia a la figura 5, el enantiómero **66a** correspondiente se preparó de igual modo a partir del intermedio **59a** y se caracterizó de la forma siguiente: $[\alpha]_D^{t.a.} = +52,2$ (c = 0,76, CHCl₃).

Ejemplo 22 – Preparación de los homólogos etílicos **38b** y **66b**

Utilizando un procedimiento similar (figura 4), se preparó el homólogo etílico del intermedio **38a** y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,28$ (mezcla de isoocetano/EtOAc, 95:5). $[\alpha]_D^{t.a.} = -36,2$ (c = 1,04, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 2958, 1724, 1428, 1366, 1233, 1158 \text{ cm}^{-1}$. ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 7,67 - 7,38$ (m, 10 H), 3,87 (q, J = 7,2 Hz, 1 H), 3,64 (s, 3 H), 2,18 (m, 1 H), 1,92 (m, 1 H), 1,75 (m, 1 H), 1,56 (s, 2 H), 1,22 (m, 2 H), 1,05 (s, 9 H), 0,96 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 0,55 (t, J = 5,1 Hz, 1 H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 175,1, 135,8, 135,7, 134,0, 129,8, 127,7, 73,1, 51,8, 44,1, 34,3, 31,4, 27,5, 27,0, 21,3, 19,3, 18,5, 12,0$. - MS (m/z, %): 422 (M⁺, 27), 365 (6M⁺, -57, 26), 337 (3), 287 (5), 213 (40), 199 (52), 153 (22), 135 (100), 79 (35), 57 (25). Análisis elemental: C₂₆H₃₄O₃Si (422,63): calc. C 73,89, H 8,11; C obtenido 73,72, H 8,31.

Haciendo referencia a la figura 5, el enantiómero **66b** correspondiente se preparó de igual modo y se caracterizó de la forma siguiente: $[\alpha]_D^{t.a.} = -36,5$ (c = 1,07, CHCl₃).

Ejemplo 23 – Preparación de (1R,2R,3aS,4aS)-2-*t*-butildifenilsililoxi-3a-carbometoxi-1-metil-biciclo[3.1.0]hexano **43a** y su enantiómero **62a**

Se hace referencia a la figura 4. Utilizando los procedimientos generales descritos anteriormente, se preparó el intermedio **43a** partiendo del intermedio **42a** y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,21$ (mezcla de isoocetano/EtOAc 100 : 3). $[\alpha]_D^{t.a.} = -100,4$ (c = 1,15, CHCl₃). IR (película): $\nu = 3048, 2956, 2858, 1722, 1589, 1472, 1428, 1369, 1346, 1259, 1199 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 7,65-7,35$ (m, 10 H), 3,63 (s, 3 H), 3,30 (dd, J = 12,3, 7,4 Hz, 1 H), 2,27-2,19 (m, 2 H), 1,99 (dd, J = 12,8, 7,1 Hz, 1 H), 1,78 (dt, J = 8,6, 5,2 Hz, 1 H), 1,07 (m, 1 H), 1,04 (s, 9 H), 0,87 (d, J = 6,6 Hz, 3 H), 0,45 (t, J = 5,1 Hz, 1 H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 174,8, 135,9, 134,0, 129,6, 127,5, 77,4, 51,6, 41,7, 36,4, 32,3, 26,9, 26,7, 19,2, 15,9, 15,5$. - MS (m/z, %): 408 (M⁺, 5), 377 (6), 351 (M⁺ - 57, 65), 317 (6), 273 (5), 225 (4), 213 (100), 183 (43), 135 (40), 84 (72). Análisis elemental: C₂₅H₃₂O₃Si (408,61): calc. C 73,49, H 7,89; C obtenido 73,32, H 8,01.

Haciendo referencia a la figura 5, el enantiómero **62a** correspondiente se preparó de igual modo que el intermedio **61a** y se caracterizó de la forma siguiente: $[\alpha]_D^{t.a.} = +99,5$ (c = 0,72, CHCl₃). Análisis elemental: C₂₅H₃₂O₃Si (408,61): calc. C 73,49, H 7,89; C obtenido 73,47, H 8,06.

Ejemplo 24 – Preparación de los homólogos etílicos **58b** y **62b**

Utilizando un procedimiento similar (figura 4) al de ejemplo 23, se preparó el homólogo etílico del intermedio **43a** y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,28$ (isoocetano/EtOAc, 95:5). $[\alpha]_D^{t.a.} = -102,9$ (c = 0,65, CHCl₃). - IR

(película): $\nu = 2957, 2857, 1725, 1589, 1461, 1428, 1371, 1327, 1262, 1197, 1154 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: $\delta = 7,68 - 7,35$ (m, 10 H), 3,63 (s, 3 H), 3,37 (q, $J = 8,1 \text{ Hz}$, 1 H), 2,21 (m, 2 H), 2,09 (m, 1 H), 1,98 (dd, $J = 12,8, 7,1 \text{ Hz}$, 1 H), 1,86 (dt, $J = 8,6, 5,1 \text{ Hz}$, 1 H), 1,08 (q, $J = 5,0 \text{ Hz}$, 2 H), 1,05 (s, 9 H), 0,90 (t, $J = 7,1 \text{ Hz}$, 3 H), 0,45 (t, $J = 5,1 \text{ Hz}$, 1 H). $^{13}\text{C RMN (CDCl}_3\text{)}$: $\delta = 175,2, 136,2, 134,3, 129,9, 127,8, 127,7, 76,4, 51,9, 49,3, 36,6, 30,4, 27,3, 26,9, 24,2, 19,5, 16,5, 13,0$. – MS (m/z, %): 422 (M^+ , 1), 407 (2), 365 (M^+ , -57, 75), 309 (4), 213 (90), 199 (20), 183 (35), 135 (30), 77 (45), 41 (48). Análisis elemental: Calc. para $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_3\text{Si}$ (422,63): C 73,89, H 8,11; C obtenido 73,70, H 8,25.

Haciendo referencia a la figura 5, el enantiómero **62b** correspondiente se preparó de igual modo a partir del intermedio **61b** y se caracterizó de la forma siguiente: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +103,5$ ($c = 0,72$, CHCl_3).

Ejemplo 25 – Preparación de (1*R*,2*R*,3*aR*,4*aR*)-2-*t*-butildifenilsililoxi-3*a*-carbometoxi-1-metil-biciclo [3.1.0] hexano **45a** y su enantiómero **64a**

Se hace referencia a la figura 4. Utilizando los procedimientos generales descritos anteriormente, se preparó el intermedio **45a** partiendo del intermedio **36a** y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,21$ (mezcla de isooctano/EtOAc 100 : 3). $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +7,1$ ($c = 0,58$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 3071, 2956, 2858, 1724, 1589, 1472, 1428, 1390, 1366, 1292, 1222, 1190, 1151, 1112 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: $\delta = 7,62-7,36$ (m, 10 H), 3,89 (d, $J = 6,3 \text{ Hz}$, 1 H), 3,64 (s, 3 H), 2,45 (dd, $J = 14,3, 6,2 \text{ Hz}$, 1 H), 2,03 (m, 1 H), 1,94 (d, $J = 14,3 \text{ Hz}$, 1 H), 1,69 (d, $J = 1,3 \text{ Hz}$, 1 H), 1,66 (t, $J = 7,7 \text{ Hz}$, 1 H), 1,47 (m, 1 H), 1,05 (s, 9 H), 0,66 (d, $J = 7,4 \text{ Hz}$, 3 H). $^{13}\text{C RMN (CDCl}_3\text{)}$: $\delta = 175,4, 135,9, 134,2, 129,8, 127,8, 80,7, 51,8, 44,7, 36,7, 35,9, 30,9, 27,1, 20,9, 19,4, 19,0$. – MS (m/z, %): 408 (M^+ , 4), 377 (7), 351 ($\text{M}^+ - 57, 43$), 319 (7), 273 (8), 245 (16), 199 (47), 183 (43), 153 (41), 121 (100), 77 (58). Análisis elemental: $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{Si}$ (408,61): calc. C 73,49, H 7,89; C obtenido 73,36, H 8,01.

Haciendo referencia a la figura 5, el enantiómero **64a** correspondiente se preparó de igual modo que el intermedio **61a** y se caracterizó de la forma siguiente: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -7,4$ ($c = 0,70$, CHCl_3). Análisis elemental: $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{Si}$ (408,61): calc. C 73,49, H 7,89; C obtenido 73,67, H 8,02.

Ejemplo 26 – Preparación de los homólogos etílicos **45b** y **64b**

Utilizando un procedimiento similar (figura 4) al de ejemplo 25, se preparó el homólogo etílico del intermedio **45a** y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,26$ (mezcla de isooctano/EtOAc, 95:5). $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +16,1$ ($c = 1,05$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 2959, 2858, 1723, 1560, 1428, 1365, 1297, 1274, 1220, 1150 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: $\delta = 7,67 - 7,37$ (m, 10 H), 3,96 (d, $J = 6,6 \text{ Hz}$, 1 H), 3,64 (s, 3 H), 2,37 (m, 1 H), 1,94 (d, $J = 14,2 \text{ Hz}$, 1 H), 1,83 (t, $J = 7,3 \text{ Hz}$, 1 H), 1,73 (m, 1 H), 1,68 (t, $J = 5,2 \text{ Hz}$, 1 H), 1,48 (m, 1 H), 1,03 (s, 9 H), 0,94 (m, 2 H), 0,63 (t, $J = 7,5 \text{ Hz}$, 3 H). $^{13}\text{C RMN (CDCl}_3\text{)}$: $\delta = 174,8, 135,5, 135,4, 129,2, 127,2, 127,1, 78,5, 51,2, 35,9, 34,2, 30,2, 29,6, 26,5, 26,1, 20,3, 18,5, 11,3$. – MS (m/z, %): 422 (M^+ , 2), 365 (M^+ , -57, 82), 213 (100), 199 (20), 183 (40), 153 (10), 135 (60), 77 (42), 49 (70). Análisis elemental: $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_3\text{Si}$ (422,63): calc. C 73,89, H 8,11; C obtenido 73,77, H 8,19.

Haciendo referencia a la figura 5, el enantiómero **64b** correspondiente se preparó de igual modo a partir del intermedio **61b** y se caracterizó de la forma siguiente: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +15,9$ ($c = 0,70$, CHCl_3).

Ejemplo 27 – Preparación de (1*R*,2*S*,3*aS*,4*aS*)-2-*t*-butildifenilsililoxi-3*a*-carbometoxi-1-metil-biciclo [3.1.0] hexano **68a** y su enantiómero **70a**

Haciendo referencia a la figura 6, se preparó el intermedio **68a** a partir del intermedio **30** y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,33$ (mezcla de isooctano/EtOAc 9 : 1). $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -13,2$ ($c = 1,61$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 2931, 1724, 1428, 1288, 1224, 1147 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: $\delta = 7,63-7,36$ (m, 10 H), 4,19 (t, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 1 H), 3,62 (s, 3 H), 2,30 (m, 2 H), 1,97 (d, $J = 14,2, 1 \text{ Hz}$), 1,85 (m, 1 H), 1,64 (t, $J = 4,6 \text{ Hz}$, 1 H), 1,35 (dd, $J = 8,7, 3,9 \text{ Hz}$, 1 H), 1,09 (s, 9 H), 0,99 (d, $J = 6,9 \text{ Hz}$, 3 H). $^{13}\text{C RMN (CDCl}_3\text{)}$: $\delta = 175,1, 136,0, 134,1, 133,6, 129,5, 127,5, 75,0, 51,4, 40,4, 38,1, 35,4, 29,5, 27,0, 19,2, 18,4, 12,9$. – MS (m/z, %): 408 (M^+), 377, 351, 319, 273, 245, 199, 158, 153, 121 (100), 77, 57. Análisis elemental: $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{Si}$ (408,61): calc. C 73,49, H 7,89; C obtenido 73,36, H 8,01.

El enantiómero **70a** correspondiente se preparó y se caracterizó de la forma siguiente: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +13,9$ ($c = 0,65$, CHCl_3). Análisis elemental: $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{Si}$ (408,61): calc. C 73,49, H 7,89; C obtenido 73,41, H 8,13.

Ejemplo 28 – Preparación de los homólogos etílicos **68b** y **70b**

Utilizando un procedimiento similar (figura 6) al de ejemplo 27, se preparó el homólogo etílico del intermedio **68a** y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,28$ (mezcla de isooctano/EtOAc, 94 : 6). $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -29,4$ ($c = 0,61$, CHCl_3). – IR (película): $\nu = 2958, 1723, 1427, 1366, 1298, 1224, 1148 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: $\delta = 7,63 - 7,35$ (m, 10 H), 4,18 (t, $J = 5,9 \text{ Hz}$, 1 H), 3,61 (s, 3 H), 2,26 (m, 1 H), 2,06 (m, 1H), 1,98 (d, $J = 14,3 \text{ Hz}$, 1 H), 1,92 (m, 1 H), 1,67 (t, $J = 4,3 \text{ Hz}$, 1 H), 1,48 (m, 2 H), 1,36 (dd, $J = 12,1, 3,9 \text{ Hz}$, 1 H), 1,05 (s, 9 H), 0,89 (t, $J = 7,4 \text{ Hz}$, 3 H). $^{13}\text{C RMN (CDCl}_3\text{)}$: $\delta = 175,3, 136,1, 134,3, 133,5, 129,6, 127,5, 74,6, 51,6, 48,3, 37,8, 33,3, 29,9, 27,1, 20,9, 19,3, 18,5, 13,3$. – MS (m/z, %): 422 (M^+ , 2), 391 (4), 365 (M^+ , -57, 40), 337 (8), 287 (12), 259 (10), 225 (8), 199 (65), 135 (100), 105 (38).

El enantiómero **70b** correspondiente se preparó y se caracterizó de la forma siguiente: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +28,4$ ($c = 0,75$, CHCl_3).

Ejemplo 29 – Preparación de (1S,2S,3aS,4aS)-2-*t*-butildifenilsililoxi-3a-formil-1-metil-biciclo[3.1.0]hexano **39a**

Se hace referencia a la figura 4. A una solución del intermedio **38a** (132 mg, 0,324 mmoles) en THF (10 ml) se añadió gota a gota LiAlH₄ (485 µl, 0,485 mmoles, 1 M en THF). La mezcla se agitó a 0°C durante 1,5 horas y a continuación se añadió EtOAc (3 ml). Después de agitar durante 0,5 horas, se enfrió la reacción con H₂O. Se filtró la mezcla a través de Celite y el filtrado se secó y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla de isooctano/EtOAc 4 : 1) para dar el alcohol primario (120 mg, 97%) en forma de aceite incoloro caracterizado de la forma siguiente: $R_f = 0,21$ (isooctano/EtOAc 4 : 1). $[\alpha]_D^{25} = -4,6$ (c = 0,35, CHCl₃). IR (película): $\nu = 3332, 3070, 2930, 2858, 1472, 1428, 1390, 1219, 1112, 1008 \text{ cm}^{-1}$. ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 7,66-7,35$ (m, 10 H), 3,91 (m, 1 H), 3,52 (d, J = 2,0 Hz, 2 H), 2,03 (m, 1 H), 1,91-1,82 (m, 2 H), 1,45 (s ancho, 1 H), 1,05 (s, 9 H), 1,04 (d, J = 7,7 Hz, 3 H), 0,92 (m, 1 H), 0,27 (m, 2 H). ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 137,6, 134,2, 129,6, 127,5, 73,4, 68,6, 37,5, 35,0, 29,9, 27,9, 26,9, 19,2, 15,3, 13,5$. – MS (m/z, %): 380 (M⁺, 1), 363 (1), 323 (M⁺ - 57, 11), 305 (4), 267 (2), 245 (21), 227 (9), 199 (100), 152 (4), 135 (12), 107 (85). Análisis elemental: C₂₄H₃₂O₂Si (380,60): calc. C 75,74, H 8,47; C obtenido 75,34, H 8,62]. Dicho aceite (100 mg, 0,263 mmoles) se absorbió en CH₂Cl₂ (10 ml) que contenía NMO (48 mg, 97%, 0,397 mmoles) y tamices moleculares de 4 Å (130 mg) y a continuación se añadió TPAP (9,5 mg, 97%, 0,03 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas y a continuación se sometió a cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla de isooctano/EtOAc, 4 : 1) dio el intermedio **39a** (93 mg, 95%) como un aceite incoloro caracterizándose de la forma siguiente: $R_f = 0,22$ (isooctano/EtOAc, 95 : 5). – $[\alpha]_D^{25} = -49,4$ (c = 0,99, CHCl₃). – IR (película): $\nu = 2931, 2858, 1702, 1459, 1427, 1389, 1219 \text{ cm}^{-1}$. ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 8,80$ (s, 1 H), 7,65 – 7,37 (m, 10 H), 3,93 (m, 1 H), 2,24 (dd, J = 12,9, 9,3 Hz, 1 H), 2,13 (m, 1 H), 1,81 (dd, J = 12,9, 7,2 Hz, 1 H), 1,68 (dd, J = 8,9, 5,6 Hz, 1 H), 1,20 (dd, J = 8,8, 6,0 Hz, 1 H), 1,05 (s, 9H), 1,03 (d, J = 8,1 Hz, 3 H), 0,86 (t, J = 5,6 Hz, 1 H). ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 200,1, 135,7, 133,8, 129,7, 127,6, 72,7, 37,9, 30,6, 26,8, 19,2, 17,6, 14,7$. – MS (m/z, %): ³²¹ (M⁺ 57, 86), 305 (7), 279 (14), 243 (20), 199 (100), 181 (35), 139 (68), 105 (58), 77 (64).

Ejemplo 30 – Preparación del homólogo etílico **39b**

Utilizando un procedimiento similar (figura 4) al de ejemplo 29, se preparó el homólogo etílico del intermedio **39a** y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,28$ (mezcla de isooctano/EtOAc, 9 : 1). – $[\alpha]_D^{25} = -33,3$ (c = 0,57, CHCl₃). – IR (película): $\nu = 3070, 2960, 2857, 2711, 1700, 1472, 1428, 1389, 1270, 1217, 1175, 1111, 1027 \text{ cm}^{-1}$. ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 8,81$ (s, 1 H), 7,64 – 7,35 (m, 10 H), 3,95 (q, J = 7,8 Hz, 1 H), 2,19 (m, 1 H), 1,91-1,78 (m, 4H), 1,25 (m, 1 H), 1,17 (m, 1 H), 1,05 (s, 9H), 0,95 (t, J = 7,2 Hz, 3 H), 0,84 (t, J = 5,6 Hz, 1 H). ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 200,0, 135,7, 135,5, 133,7, 129,7, 129,6, 127,6, 73,1, 43,6, 38,2, 31,7, 30,1, 26,8, 20,9, 19,1, 17,6, 11,7$. – MS (m/z, %): 335 (M⁺, - 57, 55), 280 (10), 257 (18), 227 (15), 199 (100), 181 (30), 139 (50), 105 (45), 77 (65). Análisis elemental: C₂₅H₃₂O₂Si (392,60): calc. C 76,48, H 8,21; C obtenido 76,32, H 8,40.

Ejemplo 31 – Preparación de (1R,2R,3aS,4aS)-2-*t*-butildifenilsililoxi-3a-formil-1-metil-biciclo [3.1.0] hexano **44a**

Haciendo referencia a la figura 4, se preparó el intermedio **44a** a partir del intermedio **43a** (de la manera descrita anteriormente para el intermedio **39a**) y se obtuvo con un rendimiento del 93% en forma de aceite incoloro caracterizándose de la forma siguiente: $R_f = 0,38$ (isooctano/EtOAc 4 : 1). $[\alpha]_D^{25} = -109,3$ (c = 0,16, CHCl₃). – IR (película): $\nu = 3048, 2958, 2858, 1702, 1589, 1472, 1428, 1389, 1362, 1252, 1182, 1112, 1086 \text{ cm}^{-1}$. ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 8,78$ (s, 1 H), 7,65-7,35 (m, 10 H), 3,39 (dd, J = 15,5, 7,8 Hz, 1 H), 2,26 – 2,22 (m, 2 H), 1,88 (m, 2 H), 1,08 (m, 1 H), 1,05 (s, 9 H), 0,93 (d, J = 7,7 Hz, 3 H), 0,75 (t, J = 5,5 Hz, 1 H). ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 199,9, 135,9, 133,8, 129,7, 127,6, 77,3, 41,5, 37,4, 33,7, 30,8, 26,9, 19,1, 15,7, 15,2$. – MS (m/z, %): 321 (M⁺ - 57, 48), 319 (8), 309 (11), 259 (24), 199 (100), 181 (40), 153 (200).

Ejemplo 32 – Preparación del homólogo etílico **44b**

Utilizando un procedimiento similar (figura 4) al de ejemplo 31, se preparó el homólogo etílico del intermedio **44a** y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,34$ (mezcla de isooctano/EtOAc, 9 : 1). – $[\alpha]_D^{25} = -110,9$ (c = 0,53, CHCl₃). – IR (película): $\nu = 3070, 2959, 2857, 2710, 1704, 1462, 1428, 1257 \text{ cm}^{-1}$. ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 8,80$ (s, 1 H), 7,64 – 7,35 (m, 10 H), 3,46 (q, J = 7,8 Hz, 1 H), 2,21 (t, J = 11,3 Hz, 1 H), 2,09 (s ancho, 1 H), 1,96 (d, J = 5,1 Hz, 1 H), 1,87 (m, 1 H), 1,62 (m, 2 H), 1,12 (s, 1 H), 1,04 (s, 9H), 0,90 (t, J = 7,2 Hz, 3 H), 0,74 (t, J = 5,6 Hz, 1 H). ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 199,6, 135,8, 133,8, 129,6, 127,4, 75,9, 48,7, 37,2, 33,6, 28,6, 26,8, 23,9, 19,1, 15,3, 12,6$. – MS (m/z, %): 335 (M⁺, - 57, 50), 279 (4), 227 (10), 199 (100), 181 (20), 139 (45), 105 (32), 77 (60).

Ejemplo ilustrativo 33 – Preparación de 2β-metil-19-nor-1α,25-dihidroxivitamina D₃ (compuesto **101**)

Se hace referencia a la figura 8. A una solución agitada del intermedio **20** mostrado en la figura 8 (65 g, 0,151 mmoles) en THF (2,0 ml) se añadió gota a gota *t*BuLi (197 µl, 1,7 M en pentano, 0,334 mmoles) a -78°C. Después de la agitación a -78°C durante 1 hora, se calentó la reacción a -10°C y se mantuvo en agitación a esta temperatura durante 0,5 horas. Se enfrió la solución otra vez a -78°C y a continuación se añadió gota a gota una solución del intermedio **44a** (80mg, 0,212 mmoles) en THF (1,5 ml). Se continuó la agitación a esta temperatura durante 1 hora y a continuación se enfrió mediante la adición de NH₄Cl saturado. Se diluyó la solución con Et₂O, se lavó (NaHCO₃ y salmuera), se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla de isooctano/EtOAc 94 : 1) para dar el intermedio mostrado como **27a** en la figura 8 (53 mg, 48%) como un sólido

incoloro. Éste último (53 mg, 0,073 mmoles) se absorbió en 4ml de una mezcla dioxano/H₂O 3 : 1 que contenía ácido *p*-toluensulfónico (en adelante APTS) (4 mg, 0,023 moles). La mezcla se agitó en la oscuridad entre 55 y 60°C durante 4 horas y a continuación se diluyó la solución con Et₂O, se lavó (NaHCO₃ y salmuera), se secó y se concentró. El residuo se purificó por HPLC (utilizando una mezcla isooctano/EtOAc 4 : 1) dando un rendimiento del 88% de los intermedios mostrados como **72a** (38 mg) y **73a** (5 mg) en la figura 8. Estos intermedios se caracterizan de la forma siguiente:

Intermedio **72a**: $R_f = 0,22$ (isooctano/EtOAc 4 : 1). - $[\alpha]_D^{25} = -15,7$ (c = 0,76, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3394, 2942, 1616, 1471, 1428, 1377, 1110 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 7,71-7,35$ (m, 10 H), 6,14 (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 5,46 (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 3,94 (m, 1 H), 3,72 (td, J = 8,9, 4,2 Hz, 1 H), 2,72 (m, 1 H), 2,66 (dd, J = 13,3, 4,0 Hz, 1 H), 2,37-2,44 (m, 2 H), 2,25 (dd, J = 13,6, 5,2 Hz, 1 H), 2,05-1,85 (m, 4H), 1,80 (m, 1 H), 1,70 – 1,60 (m, 3H), 1,50-1,24 (m, 13 H), 1,23 (s, 6 H), 1,07 (s, 9 H), 1,03 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 0,93 (d, J = 6,5 Hz, 3 H), 0,45 (s, 3H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 142,2, 135,9, 134,8, 134,2, 132,1, 129,6, 127,5, 122,9, 115,4, 73,9, 71,4, 71,1, 56,5, 56,2, 45,6, 44,4, 43,3, 40,4, 36,5, 36,4, 36,1, 30,1, 29,2, 28,8, 27,7, 27,1, 25,5, 22,5, 22,3, 20,8, 19,4, 18,8, 14,0, 11,9$. - MS (m/z, %): 656 (M⁺, 1), 638 (M⁺ - 18, 1), 600 (M⁺ - tBU + H, 1), 581 (3), 563 (2), 503 (3), 472 (1), 400 (4), 365 (6), 321 (9), 239 (11), 199 (100), 149 (19), 135 (52), 59 (88).

Intermedio **73a**: $R_f = 0,19$ (isooctano/EtOAc 4 : 1). - $[\alpha]_D^{25} = +18,3$ (c = 0,31, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3405, 3071, 2958, 2879, 1459, 1429, 1376, 1217, 1147, 1076, 1053 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 7,71-7,36$ (m, 10 H), 5,99 (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 5,77 (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 4,00 (m, 1 H), 3,71 (td, J = 8,1, 4,2 Hz, 1 H), 2,68 (dd, J = 13,8, 5,1 Hz, 1 H), 2,58 (dd, J = 13,7, 5,9 Hz, 1 H), 2,29 (dd, J = 13,7, 3,7 Hz, 1 H), 2,23 (dd, J = 13,1, 3,9 Hz, 1 H), 2,07-1,82 (m, 5 H), 1,68-1,23 (m, 17 H), 1,22 (s, 6 H), 1,05 (s, 9 H), 1,03 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 0,93 (d, J = 6,5 Hz, 3 H), 0,51 (s, 3H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 142,3, 135,9, 134,9, 133,0, 132,1, 129,5, 127,5, 123,4, 115,4, 74,4, 71,3, 71,1, 56,5, 56,2, 45,7, 44,4, 43,0, 40,5, 36,4, 36,1, 34,8, 30,1, 29,4, 28,8, 27,6, 27,0, 25,4, 23,4, 22,2, 20,8, 19,4, 18,8, 13,6, 12,0$. - MS (m/z, %): 656 (M⁺, 1), 599 (M⁺ - tBU, 1), 581 (3), 521 (1), 468 (1), 400 (1), 365 (6), 325 (5), 245 (8), 199 (61), 183 (18), 135 (42), 59 (100).

Una solución del intermedio **72a** (27 mg, 0,041 mmoles) en THF (0,5 ml) se trató con fluoruro de tetrabutamonio (en adelante FTBA) (3,5 ml, 1 M en THF). Después de la agitación a temperatura ambiente en la oscuridad durante 72 horas, la solución se sometió a cromatografía ultrarrápida (utilizando una mezcla isooctano/EtOAc 1 : 1). El residuo se purificó por HPLC (utilizando una mezcla isooctano/EtOAc 3 : 2) dando el compuesto **101** de la vitamina D (11 mg, 82%) que se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,21$ (isooctano/EtOAc 1 : 1). - IR (KBr): $\nu = 3422, 3394, 2946, 1618, 1452, 1376, 1350, 1150, 1056 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,26$ (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 5,87 (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 3,51 (td, J = 10,1, 4,7 Hz, 1 H), 3,08 (dd, J = 12,9, 4,0 Hz, 1 H), 2,79 (dd, J = 12,9, 4,0 Hz, 1 H), 2,44 (d, J = 13,1, 1 H), 2,37 (m, 1 H), 2,04 – 1,98 (m, 3 H), 1,90 (t, J = 10,7 Hz, 2 H), 1,80-1,23 (m, 18 H), 1,22 (s, 6 H), 1,14 (d, J = 6,8 Hz, 3 H), 0,94 (d, J = 6,5 Hz, 3 H), 0,55 (s, 3H). - MS (m/z, %): 418 (M⁺, 9), 400 (6), 385 (4), 357 (5), 317 (2), 289 (6), 245 (8), 203 (4), 189 (6), 149 (27), 135 (41), 84 (58), 59 (100).

35 Ejemplo ilustrativo 34 – Preparación de 2 α -metil-19-nor-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (compuesto **102**)

Se hace referencia a la figura 2. Se utilizó el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, excepto que el material de partida fue el **15**. El análogo **102** de la vitamina D resultante se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,18$ (isooctano/EtOAc 1 : 1). - $[\alpha]_D^{25} = +26,6$ (c = 0,14, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3354, 2958, 1454, 1054 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,37$ (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 5,83 (d, J = 11,3, 1 H), 3,96 (m, 1 H), 3,61 (td, J = 9,4, 4,6 Hz, 1 H), 3,20 (m, 2 H), 3,02 (dt, J = 12,0, 4,8 Hz, 2 H), 2,80 (dd, J = 13,6, 4,3 Hz, 2 H), 2,60 (dd, J = 12,9, 4,4 Hz, 1 H), 2,23 (d, J = 12,6 Hz, 1 H), 2,14 (d, J = 10,3 Hz, 1 H), 2,06 – 1,20 (m, 18 H), 1,22 (s, 6 H), 1,14 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 0,98 (d, J = 7,4 Hz, 3 H), 0,54 (s, 3H). - MS (m/z, %): 418 (M⁺, 1), 400 (M⁺, -H₂O, 18), 382 (6), 340 (22), 295 (12), 271 (9), 233 (32), 191 (22), 149 (85), 135 (25), 92 (100).

Ejemplo ilustrativo 35 – Preparación del homólogo etílico **110**

Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **110** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,18$ (isooctano/EtOAc 3 : 2). - $[\alpha]_D^{25} = +28,0$ (c = 0,21, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3389, 2958, 1454, 1188, 1045 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,38$ (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 5,83 (d, J = 11,3, 1 H), 4,14 (m, 1 H), 3,63 (m, 1 H), 2,87 (dd, J = 13,9, 4,0 Hz, 1 H), 2,80 (dd, J = 12,7, 4,5 Hz, 1 H), 2,61 (dd, J = 12,5, 4,1 Hz, 1 H), 2,20-1,22 (m, 24 H), 1,21 (s, 6 H), 1,00 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 0,91 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 0,53 (s, 3H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 143,3, 131,5, 124,1, 115,4, 71,7, 71,3, 68,0, 56,7, 56,5, 50,9, 45,9, 45,5, 44,6, 40,6, 36,5, 36,2, 35,7, 30,2, 29,5, 29,1, 27,8, 25,6, 23,6, 22,4, 20,9, 18,9, 12,2, 11,8$. - MS (m/z, %): 432 (M⁺, 10), 414 (6), 371 (2), 303 (5), 267 (6), 245 (8), 208 (6), 173 (10), 149 (30), 133 (40), 81 (65), 55 (100).

Ejemplo ilustrativo 36 – Preparación del homólogo etílico **109**

Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **109** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,22$ (isooctano/EtOAc 3 : 2). - $[\alpha]_D^{25} = +42,1$ (c = 0,32, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3378, 2959, 1454, 1378 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,26$ (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 5,87 (d, J = 11,3, 1 H), 4,09 (m, 1 H), 3,54 (m, 1 H), 3,10 (dd, J = 12,7, 4,3 Hz, 1 H), 2,80 (dd, J = 12,8, 4,5 Hz, 1 H), 2,38 (m, 2 H), 2,05-1,25 (m, 25 H), 1,22 (s, 6 H), 1,00 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 0,94 (d, J = 6,5 Hz, 3 H), 0,54 (s, 3H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 143,1, 131,4, 123,5,$

115,4, 71,2, 67,7, 56,6, 56,4, 51,5, 45,9, 44,5, 44,2, 40,6, 37,9, 36,5, 36,2, 31,0, 29,5, 29,3, 29,1, 27,8, 23,6, 22,4, 20,9, 20,3, 18,9, 12,2, 11,7. – MS (m/z, %): 432 (M^+ , 10), 414 (5), 303 (8), 267 (8), 245 (15), 208 (5), 173 (5), 135 (30), 105 (35), 81 (70), 59 (100).

Ejemplo 37 – Preparación de 14-*epi*-2 α -metil-19-nor-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (compuesto **106**)

- 5 Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **106** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,20$ (isooctano/EtOAc 1 : 1). - $[\alpha]_D^{25} = + 61,1$ (c = 0,34, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3384, 2960, 1455, 1379, 1147, 1043 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,31$ (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 6,01 (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 3,97 (dd, J = 5,6, 2,4 Hz, 1 H), 3,59 (dd, J = 9,5, 4,6 Hz, 1 H), 2,84 (dd, J = 13,9, 4,6 Hz, 1 H), 2,59 (dd, J = 12,8, 4,4 Hz, 1 H), 2,47 (dt, J = 14,6, 5,1 Hz, 1 H), 2,21 (d, J = 13,7 Hz, 1 H), 2,15-2,08 (m, 2 H), 1,88-1,21 (m, 2 H), 1,22 (s, 6 H), 1,14 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 0,92 (s, 3 H), 0,88 (d, J = 6,7 Hz, 3 H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 143,4, 131,6, 124,2, 118,5, 72,4, 71,6, 71,1, 57,8, 54,6, 45,3, 44,9, 44,4, 43,9, 37,9, 35,5, 34,5, 34,0, 29,9, 29,4, 29,2, 26,8, 24,8, 22,3, 21,9, 21,7, 19,8, 13,6$. – MS (m/z, %): 418 (M^+ , 1), 400 (M^+ , H₂O, 22), 387 (7), 357 (4), 340 (5), 289 (14), 271 (21), 245 (19), 191 (17), 147 (29), 133 (38), 81 (59), 59 (100).

Ejemplo ilustrativo 38 – Preparación del homólogo etílico **114**

- 15 Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **114** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,20$ (isooctano/EtOAc 3 : 2). - $[\alpha]_D^{25} = + 34,4$ (c = 0,48, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3372, 2958, 1464, 1378, 1190, 1044 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,32$ (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 6,01 (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 4,15 (s ancho, 1 H), 3,64 (m, 1 H), 2,92 (m, 1 H), 2,59 (m, 1 H), 2,47 (m, 1 H), 2,18-2,05 (m, 3 H), 1,86-1,24 (m, 23 H), 1,22 (s, 6 H), 1,00 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 0,89 (d, J = 6,8 Hz, 3 H), 0,86 (s, 3H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 143,5, 131,6, 124,2, 118,7, 71,6, 71,2, 68,0, 58,0, 54,7, 51,0, 45,6, 45,4, 44,5, 38,0, 35,7, 34,7, 34,1, 30,0, 29,5, 29,3, 27,0, 24,9, 22,3, 22,0, 21,8, 20,0, 19,8, 11,8$. – MS (m/z, %): 432 (M^+ , 2), 414 (5), 386 (4), 265 (5), 245 (10), 199 (20), 161 (15), 135 (30), 81 (50), 55 (100).

Ejemplo 39 – Preparación de 14-*epi*-2 β -metil-19-nor-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (compuesto **105**)

- 25 Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **105** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,18$ (isooctano/EtOAc 1 : 1). - $[\alpha]_D^{25} = + 38,7$ (c = 0,40, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3382, 2958, 1455, 1377, 1212, 1147, 1045 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,19$ (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 6,05 (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 3,90 (dd, J = 6,2, 3,0 Hz, 1 H), 3,52 (td, J = 10,1, 4,6 Hz, 1 H), 3,08 (dd, J = 12,9, 4,4 Hz, 1 H), 2,41-2,48 (m, 2 H), 2,33 (dd, J = 13,2, 4,2 Hz, 1 H), 2,15-2,03 (m, 2 H), 1,94-1,80 (m, 2 H), 1,72-1,23 (m, 19 H), 1,22 (s, 6 H), 1,13 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 0,92 (s, 3H), 0,88 (d, J = 6,7 Hz, 3 H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 143,2, 131,6, 123,7, 118,6, 71,9, 71,7, 71,1, 57,9, 54,6, 45,4, 44,4, 44,1, 43,9, 37,9, 37,4, 35,5, 34,5, 34,0, 29,8, 29,4, 29,2, 26,8, 24,8, 22,4, 21,8, 21,6, 19,8, 14,0$. – MS (m/z, %): 418 (M^+ , 1), 401 (M^+ , - H₂O + H, 1), 387 (2), 357 (4), 340 (1), 293 (1), 292 (5), 260 (2), 199 (35), 183 (11), 153 (25), 111 (18), 93 (100).

Ejemplo 40 – Preparación del homólogo etílico **113**

- 35 Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **113** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,21$ (isooctano/EtOAc 3 : 2). - $[\alpha]_D^{25} = + 17,0$ (c = 0,15, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3369, 2958, 1455, 1378, 1190, 1044 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,19$ (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 6,06 (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 4,09 (m, 1 H), 3,50 (m, 1 H), 3,11 (dd, J = 12,7, 4,2 Hz, 1 H), 2,97 (m, 1 H), 2,47 (m, 1 H), 2,38 (m, 3 H), 2,18-1,25 (m, 25 H), 1,22 (s, 6 H), 0,99 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 0,90 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 0,88 (s, 3H). – MS (m/z, %): 432 (M^+ , 2), 414 (28), 381 (4), 301 (4), 267 (8), 245 (10), 199 (30), 149 (30), 105 (50), 81 (70), 59 (100).

- 40 **Ejemplo ilustrativo 41** – Preparación de 2 α -metil-19-nor-23-in-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (compuesto **104**)

- 45 Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **113** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,18$ (isooctano/EtOAc 1 : 1). - $[\alpha]_D^{25} = + 42,7$ (c = 0,11, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3368, 2929, 1614, 1455, 1377, 1261, 1166, 1024 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,36$ (d, J = 11,1 Hz, 1 H), 5,82 (d, J = 11,1 Hz, 1 H), 3,96 (s ancho, 1 H), 3,61 (m, 1 H), 2,80 (d, J = 14,1 Hz, 2 H), 2,60 (d, J = 12,8 Hz, 1 H), 2,28-1,52 (m, 17 H), 1,51 (m, 6 H), 1,38-1,25 (m, 3 H), 1,13 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,06 (d, J = 6,3 Hz, 3 H), 0,54 (s, 3H). – MS (m/z, %): 414 (M^+ , 14), 396 (M^+ , - H₂O, 8), 381 (7), 353 (4), 317 (12), 267 (3), 241 (9), 199 (13), 185 (16), 161 (21), 105 (37), 84 (52), 43 (100).

Ejemplo ilustrativo 42 – Preparación del homólogo etílico **112**

- 50 Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **112** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,18$ (isooctano/EtOAc 3 : 2). - $[\alpha]_D^{25} = + 23,1$ (c = 0,26, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3367, 2958, 2238, 1455, 1378, 1167 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,38$ (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 5,83 (d, J = 11,1 Hz, 1 H), 4,14 (m, 1 H), 3,64 (td, J = 9,8, 4,8 Hz, 1 H), 2,87 (dd, J = 13,9, 4,3 Hz, 1 H), 2,80 (dd, J = 12,8, 4,5 Hz, 1 H), 2,30-1,51 (m, 17 H), 1,50 (s, 6 H), 1,46-1,25 (m, 5 H), 1,06 (d, J = 6,6 Hz, 3 H), 0,98 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 0,54 (s, 3H). – MS (m/z, %): 428 (M^+ , 2), 410 (10), 370 (8), 331 (5), 313 (8), 295 (4), 241 (3), 199 (8), 161 (20), 149 (40), 91 (40), 43 (100).

Ejemplo ilustrativo 43 – Preparación de 2 β -metil-19-nor-23-in-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (compuesto **103**)

Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **113** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,18$ (isooctano/EtOAc 1 : 1). - $[\alpha]_D^{25} = + 28,2$ (c = 0,37, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3380, 2930, 1455, 1377, 1346, 1166, 1041 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,44$ (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 6,04 (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 4,07 (d, J = 4,1, 3,0 Hz, 1 H), 3,68 (td, J = 10,1, 4,8 Hz, 1 H), 3,24 (dd, J = 12,9, 3,8 Hz, 1 H), 2,60 (d, J = 3,6 Hz, 1 H), 2,51 (dd, J = 13,8, 3,4 Hz, 1 H), 2,44 (dd, J = 16,6, 3,4 Hz, 1 H), 2,26-2,16 (m, 5 H), 2,07 (m, 2 H), 1,68 (s, 6 H), 1,88-1,66 (m, 8 H), 1,52-1,41 (m, 3H), 1,31 (d, J = 6,8 Hz, 3 H), 1,24 (d, J = 6,5 Hz, 3 H), 0,72 (s, 3H). - MS (m/z, %): 414 (M⁺, 18), 396 (M⁺ - H₂O, 8), 376 (7), 356 (4), 353 (1), 317 (15), 267 (4), 241 (9), 199 (21), 173 (23), 161 (25), 105 (42), 91 (53), 43 (100).

Ejemplo ilustrativo 44 – Preparación del homólogo etílico **112**

Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **112** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,19$ (isooctano/EtOAc 3 : 2). - $[\alpha]_D^{25} = + 24,9$ (c = 0,54, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3378, 2930, 1454, 1166, 1039 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,26$ (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 5,87 (d, J = 11,2 Hz, 1 H), 4,10 (m, 1 H), 3,55 (m, 1 H), 3,10 (dd, J = 12,9, 4,1 Hz, 1 H), 2,80 (dd, J = 12,5, 4,2 Hz, 1 H), 2,40-1,53 (m, 18 H), 1,52 (s, 6 H), 1,50-1,25 (m, 5 H), 1,07 (d, J = 6,5 Hz, 3 H), 1,00 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 0,56 (s, 3H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 142,6, 131,6, 123,4, 115,5, 86,1, 81,3, 71,2, 67,6, 65,4, 56,3, 55,7, 51,0, 45,7, 44,1, 40,4, 37,9, 36,0, 31,9, 30,1, 29,0, 27,7, 25,7, 23,5, 22,3, 20,2, 19,2, 12,2, 11,6$. - MS (m/z, %): 428 (M⁺, 10), 410 (2), 370 (4), 331 (3), 267 (3), 241 (4), 199 (8), 173 (8), 149 (20), 105 (30), 91 (45), 43 (100).

Ejemplo 45 – Preparación de 14-*epi*-2 α -metil-19-nor-23-in-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (compuesto **108**)

Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **108** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,19$ (isooctano/EtOAc 1 : 1). - $[\alpha]_D^{25} = + 55,1$ (c = 0,11, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3362, 2959, 2929, 1450, 1376, 1329, 1243, 1175, 1127 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,30$ (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 6,02 (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 3,98 (m, 1 H), 3,60 (td, J = 9,4, 4,6 Hz, 1 H), 2,83 (dd, J = 13,9, 4,6 Hz, 1 H), 2,59 (dd, J = 12,8, 4,3 Hz, 1 H), 2,41 (dt, J = 12,5, 3,8 Hz, 1 H), 2,27-1,99 (m, 5 H), 1,87 (m, 1 H), 1,76-1,52 (m, 11 H), 1,49 (s, 6 H), 1,33-1,25 (m, 3 H), 1,13 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,02 (d, J = 6,5 Hz, 3 H), 0,95 (s, 3 H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 142,9, 131,9, 124,1, 118,5, 86,1, 81,7, 72,5, 71,6, 65,4, 57,7, 52,6, 44,9, 44,4, 43,9, 37,7, 35,5, 33,9, 31,7, 31,7, 29,4, 27,9, 25,2, 24,5, 22,5, 21,8, 20,0, 13,6$. - MS (m/z, %): 653 (M⁺ + H, 1), 634 (M⁺ - H₂O, 5), 597 (M⁺ - 57 + H, 2), 459 (1), 385 (4), 361 (3), 335 (3), 267 (4), 199 (90), 183 (38), 135 (75), 43 (100).

Ejemplo 46 – Preparación del homólogo etílico **116**

Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **116** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,24$ (isooctano/EtOAc 3 : 2). - $[\alpha]_D^{25} = + 22,3$ (c = 0,38, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3370, 2958, 2874, 2233, 1731, 1614, 1462, 1378, 1337, 1240, 1167 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,31$ (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 6,03 (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 4,15 (m, 1 H), 3,64 (m, 1 H), 2,89 (m, 1 H), 2,60 (dd, J = 12,8, 4,3 Hz, 1 H), 2,45-1,51 (m, 18 H), 1,50 (s, 6 H), 1,40-1,25 (m, 5 H), 1,02 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 0,91 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 0,88 (s, 3H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 143,1, 132,1, 124,2, 118,7, 86,2, 81,8, 71,7, 68,0, 57,9, 53,3, 52,8, 51,0, 45,6, 45,1, 37,9, 35,8, 34,2, 31,9, 30,2, 29,5, 28,2, 25,6, 25,3, 24,7, 22,7, 21,9, 20,2, 19,2, 11,9$. - MS (m/z, %): 428 (M⁺, 2), 410 (M⁺ - 18, 8), 370 (5), 313 (5), 277 (6), 199 (30), 149 (35), 142 (30), 91 (50), 43 (100).

Ejemplo 47 – Preparación de 14-*epi*-2 β -metil-19-nor-23-in-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (compuesto **107**)

Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **107** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,18$ (isooctano/EtOAc 1 : 1); $[\alpha]_D^{25} = + 43,8$ (c = 0,21, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3358, 2929, 1455, 1377, 1338, 1239, 1166 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,19$ (d, J = 11,4 Hz, 1 H), 6,06 (d, J = 11,4 Hz, 1 H), 3,89 (dd, J = 6,3, 3,2 Hz, 1 H), 3,54 (td, J = 10,1, 4,6 Hz, 1 H), 3,07 (dd, J = 12,9, 4,2 Hz, 1 H), 3,01 (m, 1 H), 2,46-2,31 (m, 3 H), 2,23 (dd, J = 16,7, 3,5 Hz, 2 H), 2,15-2,01 (m, 3 H), 1,94-1,86 (m, 2 H), 1,78-1,50 (m, 8 H), 1,49 (s, 6 H), 1,35-1,25 (m, 3 H), 1,14 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,03 (d, J = 6,6 Hz, 3 H), 0,88 (s, 3 H). - MS (m/z, %): 652 (M⁺, 1), 634 (M⁺ - H₂O, +1, 6), 594 (M⁺ - 57 + H, 2), 537 (3), 459 (2), 396 (1), 378 (4), 321 (5), 261 (6), 199 (100), 183 (27), 135 (72).

Ejemplo 48 – Preparación del homólogo etílico **115**

Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó el análogo **115** de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,22$ (isooctano/EtOAc 3 : 2). - $[\alpha]_D^{25} = + 8,9$ (c = 0,69, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3381, 2958, 2233, 1454, 1383, 1166 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (CDCl₃): $\delta = 6,19$ (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 6,07 (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 4,10 (m, 1 H), 3,57 (m, 1 H), 3,10 (dd, J = 12,8, 4,3 Hz, 1 H), 2,97 (m, 1 H), 2,38 (m, 2 H), 2,22 (m, 2 H), 2,15-2,00 (m, 3 H), 1,94-1,86 (m, 2 H), 1,84-1,51 (m, 9 H), 1,50 (s, 6 H), 1,45-1,24 (m, 5H), 0,98 (t, J = 7,5 Hz, 3 H), 0,90 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 0,88 (s, 3H). - ¹³C RMN (CDCl₃): $\delta = 142,8, 132,1, 123,5, 118,3, 86,3, 81,6, 71,0, 67,7, 57,8, 52,0, 51,0, 45,1, 44,1, 37,9, 37,8, 34,0, 31,9, 31,7, 30,1, 28,8, 28,2, 25,5, 24,8, 22,6, 22,0, 20,2, 19,9, 11,6$. - MS (m/z, %): 428 (M⁺, 2), 410 (6), 313 (4), 277 (4), 241 (4), 199 (15), 173 (10), 149 (30), 105 (25), 91 (40), 43 (100).

Ejemplo 49 – Preparación de 3,14-bis-epi-2 α -metil-19-nor-23-in-1 α ,25-dihidroxitamina D₃

Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó este análogo de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,21$ (isooctano/EtOAc 3 : 2); $[\alpha]_D^{25} = + 53,11$ ($c = 0,31$, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3345, 2928, 1455, 1362, 1232, 1167, 1103, 1067, 1038, 944, 874, 750 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 6,31$ (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 6,08 (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 3,95 (d, J = 2,1 Hz, 1 H), 3,90 (d, J = 2,9 Hz, 1 H), 3,05 (d, J = 7,2 Hz, 3 H), 2,49-2,40 (m, 4 H), 2,26-1,50 (m, 15 H), 1,49 (s, 6 H), 1,31-1,23 (m, 3 H), 1,19 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,01 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 0,96 (s, 3 H). - ¹³C RMN (50 Mhz, CDCl₃): $\delta = 142,2, 129,8, 125,0, 118,7, 86,0, 81,8, 73,3, 73,1, 65,4, 57,4, 52,6, 44,9, 44,9, 38,9, 37,6, 36,5, 33,9, 31,7, 31,7, 29,3, 27,8, 25,1, 24,4, 22,4, 21,8, 20,1, 14,5$. - MS (m/z, %): 414 (M⁺, 1), 396 (M⁺-H₂O, 9), 381 (5), 363 (7), 356 (4), 299 (7), 267 (8), 241 (9), 213 (12), 185 (14), 147 (21), 107 (21), 107 (26), 91 (45), 43 (100).

Ejemplo 50 – Preparación de 1,14-bis-epi-2 β -metil-19-nor-23-in-1 α ,25-dihidroxitamina D₃

Utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 33, se preparó este análogo de la vitamina D y se caracterizó de la forma siguiente: $R_f = 0,21$ (isooctano/EtOAc 3 : 2); $[\alpha]_D^{25} = + 20,42$ ($c = 0,31$, CHCl₃). - IR (película): $\nu = 3353, 2930, 1611, 1455, 1376, 1169, 1070, 1028, 988, 948, 882, 729 \text{ cm}^{-1}$. - ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 6,32$ (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 6,08 (d, J = 11,3 Hz, 1 H), 3,96 (s ancho, 1 H), 3,06 (dd, J = 14,1, 3,2 Hz, 1 H), 2,49-2,38 (m, 3 H), 2,25-1,50 (m, 16 H), 1,49 (s, 6 H), 1,32-1,24 (m, 3 H), 1,18 (d, J = 7,2 Hz, 3 H), 1,02 (d, J = 6,6 Hz, 3 H), 0,95 (s, 3 H). - MS (m/z, %): 396 (M⁺-H₂O, 24), 378 (8), 335 (2), 299 (13), 267 (12), 241 (13), 199 (18), 185 (20), 145 (21), 105 (51), 91 (74), 43 (100).

En los ejemplos siguientes que tratan de pruebas biológicas en los compuestos 14 β reivindicados, se proporcionan también resultados para los compuestos 14 α a modo de comparación.

Ejemplo 51 – Propiedades de fijación de los análogos de 1 α ,25(OH)₂D₃*a) Afinidad para el receptor de la vitamina D (RVD)*

Los métodos utilizados para evaluar las propiedades de fijación de los nuevos análogos son ejemplos del estado de las técnicas utilizadas para los ensayos de fijación de la hormona esteroide (incluyendo la vitamina D) como se describió anteriormente (Verstuyf A. *et al. J. Bone Mineral Res.* 13: 549-558, 1998).

La afinidad de los análogos de 1 α ,25(OH)₂D₃ sustituidos en C2 por el receptor de la vitamina D se evaluó por su capacidad por competir con [³H]1 α ,25(OH)₂D₃ para unirse al sobrenadante a alta velocidad en homogeinizados de la mucosa intestinal extraídos de cerdos normales. La incubación se realizó a 4°C durante 20 h y la separación de fases se obtuvo mediante la adición de carbón activo recubierto con dextrano. La afinidad relativa de los análogos se calculó a partir de su concentración necesaria para desplazar el 50% de [³H]1 α ,25(OH)₂D₃ desde su receptor en comparación con la actividad de 1 α ,25(OH)₂D₃ (asignó un valor de 100%).

Resultados

Todos los análogos de 19-nor-1 α ,25-(OH)₂D₃ con la cadena lateral natural o con 23-ino; con o sin epimerización en 14 con un anillo A sustituido en 2 α -metil (**102, 104, 106, 108, 117**) o en 2 α -etil (**110, 112, 114, 116**) poseen mayor afinidad por el receptor de la vitamina D en comparación con sus contrapartidas 2 β -metil (**101, 103, 105, 107, 118**) o en 2 β -etil (**109, 111, 113, 115**) (tablas 1 y 2).

Los análogos de 19-nor-1 α ,25-(OH)₂D₃ sustituido en el metilo en C2 (**101-108, 141**) tienen en su mayoría una afinidad de fijación mayor para el VDR que sus contrapartidas de 19-nor-1 α ,25-(OH)₂D₃ sustituido en el metilo en C2 (**109-116, 142**).

La afinidad de fijación por el VDR es siempre mayor por los análogos de 2 α -metil con la cadena lateral natural de 1 α ,25(OH)₂D₃ (**102, 106**) en comparación con sus contrapartidas de 2 α -metil con la cadena lateral de 23-ino (**104, 108**). Esta observación es aún más pronunciada para los análogos de 2 β -metil con la cadena lateral natural de 1 α ,25(OH)₂D₃ (**101, 105**) en comparación con los análogos de 2 β -metil con la cadena lateral de 23-ino (**103, 107**). La introducción de la cadena lateral de 23-ino en los análogos de 2 α -etil (**112**) o 2 β -etil (**111**) disminuyó también la afinidad de VDR en comparación con los análogos de 2 α -etil (**110**) o 2 β -etil (**109**) con la cadena lateral natural de 1 α ,25-(OH)₂D₃.

El análogo de 2 α -metil-1 α ,25-(OH)₂D₃ con (**106**) o sin epimerización en 14 (**102**) junto con el análogo de 2 α -etil-1 α ,25-(OH)₂D₃ (**110**) presento la mayor afinidad por el receptor de vitamina D [90% comparada con 1 α ,25-(OH)₂D₃ (= 100% de fijación)].

b) Afinidad por DBP humana

La fijación de los análogos de 1 α ,25-(OH)₂D₃ a DBPh se realizó a 4°C esencialmente como se describió anteriormente^[18]. Se añadieron [³H]1 α ,25(OH)₂D₃ y 1 α ,25(OH)₂D₃ o sus análogos en 5 μ l de etanol en tubos de vidrio y se incubaron con DBPh (0,18 μ M) en un volumen final de 1 ml (tampón Tris-HCl 0,01 M y NaCl 0,154 M, pH 7,4) durante 3 h a 4°C. La separación de fases se obtuvo a continuación mediante la adición de 0,5 ml de carbón activo

recubierto con dextrano en frío.

Resultados (Tablas 1 y 2)

5 Todos los análogos sustituidos en C2 investigados tienen una afinidad de fijación por DBP equivalente o inferior al 10% comparada con $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (= 100% de afinidad) excepto para los compuestos **104**, **102** y **110** que demuestra 40, 50 y 20% de afinidad, respectivamente.

Los análogos 2α -metil (**102**, **104**, **106**, **108**) o 2α -etil (**110**, **112**, **114**) de 19-nor- $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ tienen mayor afinidad por DBP en comparación con sus contrapartidas 2β -metil (**101**, **103**, **105**, **107**) o 2β -etil (**109**, **111**, **113**).

10 Los análogos de 19-nor- $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ sustituidos con metil en C2 tienen siempre una afinidad de fijación mayor por DBP que sus contrapartidas 19-nor- $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ sustituidos con etil en C2, excepto para 2α -metil-14-epi-19-nor- $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ [9% de afinidad en comparación con $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (= 100% de fijación), compuesto **106**] frente a 2α -etil-14-epi-19-nor- $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ [40% de afinidad en comparación con $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (= 100% de fijación), compuesto **114**].

15 La afinidad de fijación por DBP es siempre mayor para los análogos 2α -metil o 2α -etil con la cadena lateral natural de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ en comparación con sus contrapartidas 2α -metil o 2α -etil respectivamente con la cadena lateral 23-ino.

Cuando el hidrógeno en C14 de los análogos orientado en *trans* se cambia por un hidrógeno en C14 orientado en *cis* la afinidad por DBP disminuyó excepto para el compuesto **114**.

Ejemplo 52 – Efectos de los análogos de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ sustituidos en C2 sobre la proliferación y la diferenciación celular

20 a) *Células MCF-7 de carcinoma de mama*

25 Para evaluar el efecto de los análogos de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ sustituidos en C2 sobre la proliferación celular, se cultivaron células MCF-7 malignas en medio F12 (HAM) mezclado con DMEM/nut. enriquecido con FCS al 10% inactivado térmicamente, glutamina (2 mM), penicilina (100 unidades/ml) y estreptomina (0,1 mg/ml). Los cultivos se mantuvieron a 37°C en una atmósfera humidificada de CO_2 al 5% en aire. Se sembraron células MCF-7 a razón de 5×10^3 células/pocillo en el medio descrito anteriormente en placas de microvaloración de 96 pocillos en un volumen final de 0,2 ml por pocillo. Los cultivos se realizaron por triplicado. Después de 24 h, se añadieron $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ o análogos en concentraciones apropiadas durante un periodo de incubación de 72 h. A continuación, se añadió $\mu\text{Ci } [^3\text{H}]\text{timidina}$ a cada pocillo y se recogieron las células después de 4 h de incubación con un recolector Packard y se midieron con el Topcount System de Packard (ackard, Meriden, EE.UU.).

30 b) *Células HL-60 de leucemia promielocítica*

35 Para evaluar el efecto sobre la diferenciación celular, se sembraron células HL-60 a razón de 4×10^4 células /ml en cámaras para tejido Falcon de 25 cm^2 utilizando medio RPMI 1640 enriquecido con FCS al 20% y gentamicina (50 $\mu\text{g/ml}$) en un volumen final de 5 ml. Se mantuvieron los cultivos a 37°C en una atmósfera humidificada de CO_2 al 5% en aire. Un día después, se añadieron $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ o análogos al cultivo celular en etanol (concentración final < 0,2%). Tras 4 días de cultivo, se agitaron los platos para desprender las células adherentes. Se lavaron las células dos veces en RMI, se hizo el recuento y se ensayaron los marcadores de diferenciación (ensayo de reducción de NBT). Se midió la producción de superóxido como actividad reductora de NBT como se describió anteriormente (Ostrem V. K. *Et al. Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 84: 2610-2614, 1987). se mezclaron células HL-60 a razón de 1×10^6 /ml con un volumen igual de solución recién preparada de 12-miristato 13-acetato de forbol (200 ng/ml) y NTB (2 $\mu\text{g/ml}$) y se incubaron durante 30 min. a 37°C. Se determinó el porcentaje de células que contienen depósitos negros de formazán utilizando un hemocitómetro.

Resultados (Tablas 1 y 2; Figuras 9 y 10)

45 En general, los análogos de 2α -metil-19-nor- $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (compuestos **102**, **104**, **106**, **108**, **141**) y la mayoría de los análogos de 2α -etil-19-nor- 2α -etil (**112**) o 2β -etil (**111**) (compuestos **110**, **112**, **117**, **142**) ejercía efectos antiproliferantes y prodiferenciadores en contraste con los análogos sustituidos en 2β que eran menos potentes que sus contrapartidas 2α . El análogo de 2α -metil-19-nor con cadena lateral natural de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (**102**) presentó actividad antiproliferante y prodiferenciadora de 4 (MCF-7) a 10 (HL60) veces la de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. La introducción de la cadena lateral de 23-ino en este análogo **102** aumentó considerablemente (26 veces) la capacidad para inhibir la proliferación de las células MCF-7 (**compuesto 104**) y es 100 veces más activo que $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. Cuando el hidrógeno en el C14 orientado en *trans* del análogo 2α -metil-19-nor-23-ino- $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (**104**) se reorientó en la configuración *cis* [2α -metil-14-epi-19-nor-23-ino- $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (compuesto **108**)] aumentó de nuevo la actividad antiproliferante. El análogo 14-epi-19-nor- $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ es la mitad de potente que el compuesto original para diferenciar las células hidrólisis 60 y 3 veces menos activo para inhibir la proliferación de las células MCF (Tabla 1). La introducción de un grupo 2α -metil (**106**) o 2α -etil (**106**) en este análogo 14-epi-19-nor- $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ aumentó los efectos biológicos en las células hidrólisis 60 y MCF-7.

- De todos los análogos investigados el compuesto **108** fue el análogo más potente para provocar la diferenciación celular (40 veces la de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) y para inhibir la proliferación celular [120 veces la de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$]. Como se describió anteriormente la actividad intrínseca del análogo 19-nor-14-epi-23-ino- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (SDB 112/TX 522) aumentó considerablemente cuando se sustituyó con un anillo A 2 α -metilo (compuesto **108**) pero cuando TX 522 se sustituyó con un anillo A 2 α -etilo (**116**) el perfil biológico no mejoró más. Por otra parte la introducción de un anillo A 2 β -metilo (**107**) o 2 β -etilo (**115**) en TX 522 disminuyó su actividad *in vitro*. La epimerización en 3 (**117**) del compuesto **108** disminuyó notablemente la actividad proferenciadora y la epimerización en 20 (**141**) del compuesto **108** aumentó considerablemente la inhibición de la proliferación de las células MCF-7. La epimerización en 1 (**118**) del compuesto **107** no fue activa en absoluto.
- El análogo 2 β -metil-19-nor con la cadena lateral natural de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**101**) fue menos potente que $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ para provocar diferenciación o inhibir proliferación. La introducción de 2 β -metil (**105**) en el análogo 14-epi-19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aumentó los efectos de proferenciación en las células hidrólisis 60 pero disminuyó los efectos antiproliferantes en las células MCF-7. Lo contrario se vio cuando se introdujo 2 β -etil (**113**) en 14-epi-19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. El análogo 2 β -metil-19-nor con la cadena lateral 23-ino (**103**) y su contrapartida 14-epi (**107**) fueron 3 a 9 veces más potentes que $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

- La sustitución de un grupo 2 α -etilo en lugar de un grupo 2 α -metilo en el anillo A de 19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**110**) disminuyó su actividad proferenciadora en las células hidrólisis 60. No obstante su actividad fue todavía 2 a 6 veces más potente que la de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. La contrapartida 2 β -etilo del compuesto 24 (**109**) perdió potencia y fue menos activa que $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. La introducción de la cadena lateral con 23-ino en el análogo 2 α -etil-19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**112**) aumentó los efectos antiproliferantes (3 veces) en las células MCF-7. El 2 β -etil-19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**111**) fue de nuevo menos activo que 2 α -etil-19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**112**).

Ejemplo 53 – Actividad *in vivo* de los análogos de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

- Se adquirieron ratones macho de ocho semanas del Proefdierencentrum de Leuven (Bélgica) y se alimentaron con una dieta abundante en vitamina D (0,2% de calcio, 1% de fosfato, 2000 unidades de vitamina D/kg; Hope Farms, Woerden, Holanda). Se inyectaron por vía subcutánea grupos de seis ratones al día durante 7 días consecutivos con diferentes dosis de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (0,1, 0,2 y 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) o análogos. El grupo de referencia se inyectó con vehículo (aceite de cacahuete). El peso medio de cada grupo de 6 ratones se determinó al principio y al final del experimento. Se evaluaron los siguientes parámetros: calcio en el suero, osteocalcina en el suero, calcio en el fémur y calcio en la orina. El calcio en el suero y en la orina se midieron por análisis microcolorimétrico (Sigma, San Luis, MO). Se extirparon los fémures y se midió el contenido en calcio del fémur en la ceniza del hueso disuelta en Hcl (obtenida calentando durante 24 horas en una estufa a 100°C), utilizando la misma técnica que para el calcio del suero y de la orina. Se determinó la osteocalcina en el suero mediante un radioinmunoanálisis interno que utilizó osteocalcina de ratón como patrón y un antisuero con osteocalcina anti-ratón en cobaya policlonal (Bouillon R. *et al. Clin. Chem.* 38:2055-60, 1992).

35 Resultados (Tabas 1 a 3)

- El análogo de 2 α -metil-19-nor con la cadena lateral natural de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**102**) fue 2,5 veces menos calcémico que $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. La reducción ulterior de la actividad calcémica (80 veces) pudo obtenerse mediante la introducción de un anillo A con 2 β -metilo (**101**). La introducción de la cadena lateral (**104**) con 23-ino o la epimerización en 14 (**106**) o una combinación de ambos (**108**) redujo la actividad calcémica de 2 α -metil-19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**102**). Los efectos calcémicos de 2 β -metil-19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ no se redujo más con la introducción de instauración en la cadena lateral (23-ino, **103**), 14-epimerización (**105**) o una combinación de ambas (**107**).

- La sustitución de un grupo 2 α -etilo en el anillo A de 19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**110**) fue 7,6 veces menos calcémico que $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y su contrapartida 2 β (**109**) disminuyó más la actividad calcémica 16 veces. De nuevo la introducción de la cadena lateral (**112**) con 23-ino o la epimerización en 14 (**114**) o una combinación de ambas (**116**) redujo los efectos calcémicos de 2 α -etil-19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**110**). Solamente la combinación de la epimerización en 14 con la cadena lateral (**115**) redujo los efectos calcémicos de 2 β -etil-19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**109**). Algunos de estos compuestos presentaban un modelo muy interesante de actividad biológica con pocos efectos sobre la concentración de calcio en el suero junto con las acciones anabólicas en el hueso. Por ejemplo, los ratones tratados durante 7 días consecutivos (1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ i.p.) con el análogo 2 α -metil-14-epi-19-nor-23-ino- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (**108**) tienen poca concentración de calcio en el suero en comparación con los ratones tratados con $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (0,1; 0,2; 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$; Tabla 3). Por otra parte poco o ningún sobre las concentraciones de calcio en el suero este compuesto a una dosis de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ aumentó las concentraciones de calcio en los huesos (10% de aumento comparado con los ratones tratados con el vehículo y un aumento del 18%, 14%, 20% en comparación con 0,1, 0,2 y 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ respectivamente; Tabla 3). Debido a su actividad preferente en el hueso; estos compuestos son candidatos ideales para el tratamiento de los trastornos óseos tales como la osteoporosis, osteomalacia y la osteodistrofia renal.

Ejemplo 54 – Perfil de selectividad de los análogos más potentes de 19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sustituidos en el C2

La Tabla 4 representa el perfil de selectividad de los análogos más potentes de 19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sustituidos en

el C2 basándose en los datos obtenidos *in vitro* en las células MCF-7 en comparación con sus efectos calcémicos reales *in vivo* en ratones (concentraciones de calcio en el hueso después de 7 días de tratamiento). Todas las actividades se calculan en actividad por ciento en comparación con $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. El perfil de selectividad es por consiguiente 1. Aunque el análogo de 14-epi-19-nor- $1\alpha,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$ sustituidos con C2 α -metil con la cadena lateral con 23-ino (**108**) tiene el efecto intrínseco más potente sobre la diferenciación y la proliferación celular, los análogos de 14-epi-19-nor-23-ino- $1\alpha,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$ sustituidos con C2-etilo (**116** y **115**) presentan la mejor relación de disociación entre los efectos proliferantes y calcémicos. El perfil de selectividad de los análogos **116**, **115** y **108** excede varias veces el de los mejores análogos de $1\alpha,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$ todavía publicados cuando se midió con los mismos métodos en el mismo laboratorio (Tabla 4) y dichos análogos pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos hiperproliferantes (cáncer, psoriasis) y enfermedades autoinmunitarias.

Ejemplo 55 – Ensayo de compuestos en un modelo *in vivo* para osteoporosis

a) Prevención primaria de la osteoporosis por análogos de la vitamina D

Ratones hembra C3H de 12 semanas se someten a ovariectomía bilateral o intervención quirúrgica simulada. Los animales se tratan con el análogo o el vehículo por sobrealimentación oral o por vía intraperitoneal. La dosificación empieza 3 días después de la intervención quirúrgica y continúa durante 8 a 9 semanas.

Antes del primer tratamiento se realizan mediciones *in vivo* para determinar la densidad mineral del hueso (BMD), el contenido mineral del hueso (BMC) de todo el cuerpo y la columna vertebral por absorciometría de rayos X de doble energía (DXA). Se recoge orina y suero para medir las concentraciones de calcio junto con reticulaciones de colágeno en orina y osteocalcina en el suero. Los animales se pesan regularmente durante el periodo experimental. Después de 4 semanas de tratamiento se recogen de nuevo orina y suero y se determinan los parámetros bioquímicos. Al final del experimento (8 a 9 semanas) se recoge orina y se realiza la medición por DXA *in vivo* para determinar BMD y BMC. Después de sacrificar los animales se disecan las tibias y los fémures. Se investigan los parámetros bioquímicos siguientes: calcio en el suero, osteocalcina en el suero, calcio en la orina, reticulaciones de colágeno en la orina, calcio en el fémur.

Se utilizan tibias para análisis histomorfométrico y fémures para la medición de densidad y geometría volumétrica cortical y trabecular por tomografía computerizada cuantitativa periférica (TCCp) *ex vivo*.

La administración *in vivo* de los análogos de la presente invención, más específicamente del compuesto **108** da como resultado un aumento en BMD, BMC y de la concentración de calcio en el fémur mientras que el calcio en el suero o calcio en la orina no aumentan de manera significativa después de por lo menos cuatro semanas, más específicamente después de 8 semanas de tratamiento.

b) Prevención secundaria del tratamiento de osteoporosis por análogos de la vitamina D

Ratones hembra C3H de 12 semanas se someten a ovariectomía bilateral o intervención quirúrgica simulada. Los animales se tratan con el análogo o el vehículo por sobrealimentación oral o por vía intraperitoneal. La dosificación empieza 3 días después de la intervención quirúrgica y continúa durante 4 a 10 semanas.

Antes del primer tratamiento se realizan mediciones *in vivo* para determinar la densidad mineral del hueso (BMD), el contenido mineral del hueso (BMC) de todo el cuerpo y la columna vertebral por absorciometría de rayos X de doble energía (DXA). Se recoge orina y suero para medir las concentraciones de calcio junto con reticulaciones de colágeno en orina y osteocalcina en el suero. Los animales se pesan regularmente durante el periodo experimental. Después de 4 semanas de tratamiento se recogen de nuevo orina y suero y se determinan los parámetros bioquímicos. Al final del experimento se recoge orina y se realiza la medición por DXA *in vivo* para determinar BMD y BMC. Después de sacrificar los animales se disecan las tibias y los fémures. Se investigan los parámetros bioquímicos siguientes: calcio en el suero, osteocalcina en el suero, calcio en la orina, reticulaciones de colágeno en la orina, calcio en el fémur.

Se utilizan tibias para análisis histomorfométrico y fémures para la medición de densidad volumétrica y geometría cortical y trabecular por tomografía computerizada cuantitativa periférica (TCCp) *ex vivo*.

La administración *in vivo* de los análogos de la presente invención, más específicamente del compuesto **108** da como resultado un aumento en BMD, BMC y la concentración de calcio en el fémur en comparación con los niveles observados antes del tratamiento mientras que las concentraciones de calcio el suero o de calcio en la orina no aumentan de manera significativa después de por lo menos cuatro semanas, más específicamente después de 8 semanas de tratamiento. Más específicamente se observa que los niveles de BMD, BMC y de calcio en el fémur son mayores que los niveles de los animales de referencia con operación simulada mientras que las concentraciones de calcio el suero o de calcio en la orina no son significativamente mayores.

TABLA 1: Análogos de 14-epi-19-nor-1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ sustituido en el carbono 2

Todos los resultados se expresan en porcentaje de actividad (al 50% de la respuesta a la dosis) en comparación con 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ (=100% de actividad). La acción antiproliferante de 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ o de células MCF-7 de cáncer de mama se midió por incorporación de [3 H]timidina y la potencia para diferenciar las células HL 60 se determinó por un análisis de azul de nitrotetrazolio. Se determinaron los efectos calcémicos en ratones mediante una inyección intraperitoneal al día de 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ o análogos durante 7 días consecutivos.

COMUESTO	ESTUDIOS DE AFINIDAD			ESTUDIOS IN VITRO			ESTUDIOS IN VIVO		
	VDR	DBP	HL 60	MCF-7	Calcio en el suero	Calcio en la orina	Osteocalcina en el suero		
1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$	100	100	100	100	100	100	100		
14-epi-19-nor-1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$	19	15	50	30	0,3	0,4			
106	90	9	600	900	13	6	13		
105	60	7	75	20	0,4	0,4	0,8		
108	80	0,3	4000	12000	2	4	4		
107	10	0	400	350	0,4	1,6	0,8		
114	30	40	80	150	1	1	1		
113	8	3	10	75	0,4	0,4	0,4		
116	65	0,1	550	3000	0,2		0,2		
115	9	0,2	80	600	<< 0,1	< 0,1	0,1		
117	40	0	400		< 0,25	< 0,25			
118	6	3	0		< 0,25	< 0,25			
141	9		1500	4500					
142	10		400	1500					

TABLA 2: Análogos de 19-nor-1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ sustituido en el carbono 2

Todos los resultados se expresan en porcentaje de actividad (al 50% de la respuesta a la dosis) en comparación con 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ (=100% de actividad). La acción antiproliferante de 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ o de células MCF-7 de cáncer de mama se midió por incorporación de [3 H]timidina y la potencia para diferenciar las células HL 60 se determinó por un análisis de azul de nitrotetrazolio. Se determinaron los efectos calcémicos en ratones mediante una inyección intraperitoneal al día de 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ o análogos durante 7 días consecutivos.

<u>COMPUESTO</u>	<u>ESTUDIOS DE AFINIDAD</u>			<u>ESTUDIOS IN VITRO</u>		<u>ESTUDIOS IN VIVO</u>		
	<u>VDR</u>	<u>DBP</u>	<u>HL 60</u>	<u>MCF-7</u>	<u>Calcio en el suero</u>	<u>Calcio en la orina</u>	<u>Osteocalcina en el suero</u>	
102	90	50	1000	400	40		15	
101	75	9	70	80	0,5			
104	70	4	1500	10500	10		4	
103	20	1	100	900	0,4	1,6	0,8	
110	90	20	200	650	13	13	13	
109	40	9	10	90	0,4	0,8	0,8	
112	55	0,9	300	2000	1,6	0,8	3	
111	9	0,5	80	700	0,4	0,8	0,8	

TABLA 3: Efectos calcémicos de 2 α -metil-14-epi-19-nor-23-ino-1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ (compuesto 8) en ratones NMRI

La actividad biológica in vivo del compuesto 8 determinada midiendo las concentraciones de calcio en el suero y en el fémur en ratones después de inyecciones por vía intraperitoneal tras 7 días consecutivos. Se inyectó a los ratones con vehículo (aceite de cacahuete), 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ (0,1, 0,2 o 0,4 μ g/kg/día) o análogo (0,4 o 0,1 μ g/kg/día).

Compuesto	Dosis μ g/kg/día	Calcio en suero (mg/dl)	Calcio en el fémur (mg)
Vehículo		10,14 \pm 0,22 [§]	9,12 \pm 0,33
1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$	0,1	11,79 \pm 0,58*	8,9 \pm 0,50
1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$	0,2	13,02 \pm 0,55*	9,23 \pm 0,31
1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$	0,4	14,81 \pm 0,57*	8,75 \pm 0,15
Compuesto 108	0,4	9,76 \pm 0,18 [§]	9,57 \pm 0,26
Compuesto 108	1	10,10 \pm 0,23 [§]	10,52 \pm 0,43 ^{*§}

5 * Significativamente diferente del grupo tratado con vehículo (p < 0,001)

§ Significativamente diferente del grupo tratado con 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ a diferentes dosis (p < 0,001)

TABLA 4

Comparación entre la actividad antiproliferante y calcémica de análogos de 19-nor-23-ino-1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ sustituido en C2 y superagonistas conocidos de 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$

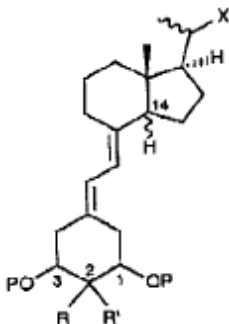
Compuestos	Actividad antiproliferante en células MCF-7 (%)	Calcio en el suero en ratones (%)	Relación de especificidad
1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$	100	100	1
2 α -etil-14-epi-19-nor-23-ino-1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ (116)	3000	0,2	15000
2 β -etil-14-epi-19-nor-23-ino-1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ (115)	600	<< 0,1	> 6000
2 α -metil-14-epi-19-nor-23-ino-1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ (108)	12000	2	6000
2 β -metil-14-epi-19-nor-23-ino-1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ (103)	900	0,4	2250
2 β -etil-19-nor-23-ino-1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ (111)	700	0,4	1750
OCT*	100-150	0,3	330-500
MC 903*	100-200	1	200
KH 1060*	10000-30000	500	20-60
EB 1089*	1000-10000	120	8-80

10 Todos los resultados se expresan en porcentaje de actividad (en el 50% de respuesta a la dosis) en comparación con 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ (=100% de actividad). La acción antiproliferante de 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ con células MCF-7 de cáncer de mama se midió por incorporación de [3 H]timidina. Se determinaron los efectos calcémicos (concentraciones de calcio en los huesos) en ratones mediante una inyección intraperitoneal al día de 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ o análogos durante 7 días consecutivos. * Datos publicados en J. Bone Mineral Res. 15 (2): 237-252 (2000).

15

REIVINDICACIONES

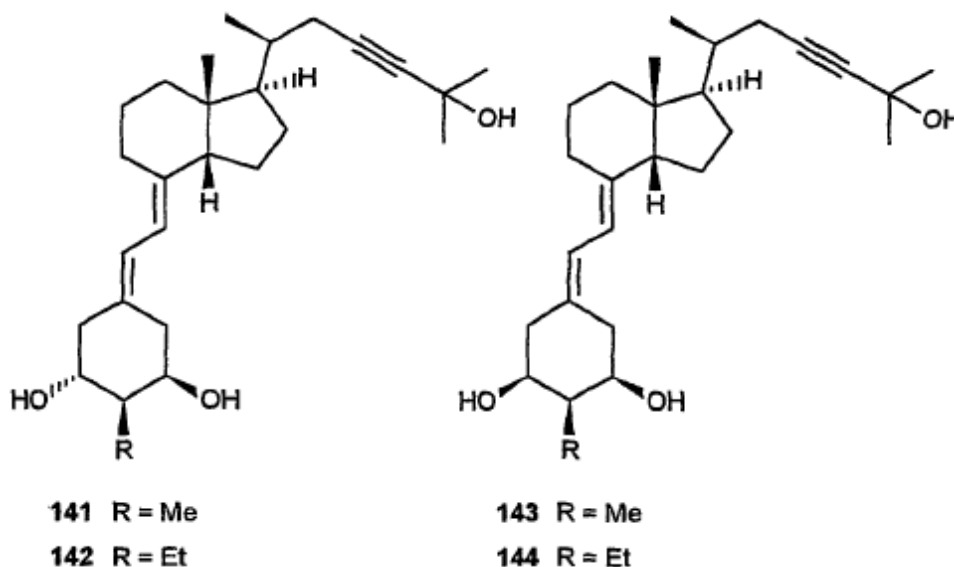
1. Análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituida en 2, de fórmula general (I)



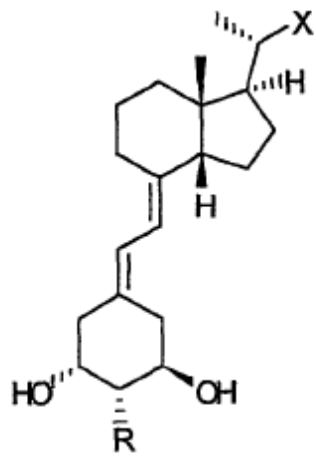
en la que:

- 5 - P se selecciona de entre el grupo constituido por hidrógeno, alquilo (preferentemente alquilo C₁₋₇), cicloalquilo (preferentemente cicloalquilo C₃₋₁₀) acilo (preferentemente acilo C₁₋₇) y otros grupos protectores;
- el átomo de carbono 20 puede tener la configuración R o S;
- el átomo de hidrógeno en el carbono 14 está en la configuración β;
- R' es hidrógeno;
- 10 - R se selecciona de entre el grupo constituido por grupos alquilo normales o ramificados que tienen de 1 a 5 átomos de carbono y estando opcionalmente sustituido con uno o más átomos o grupos funcionales seleccionados de entre el grupo constituido por flúor, cloro, hidroxil, sulfhidrilo y amino, con tal que cuando R sea un grupo alquilo con sólo un átomo de carbono, dicho grupo está en configuración α en el carbono 2;
- 15 - X representa una cadena lateral de alquilo constituida por 2 a 15 átomos de carbono que puede estar sustituida o funcionalizada de la forma siguiente:
- sustituyente hidroxilo en una o más posiciones, por ejemplo en la posición 24, 25 y/o 26 y/o
 - sustituyente metilo o etilo en una o más posiciones, por ejemplo en la posición 24, 26 y/o 27 y/o
 - sustituyente(s) de halógeno en una o más posiciones, por ejemplo perfluorado en las posiciones 26 y/o 27 o difluorado en la posición 24, y/o
- 20 - derivados de ésteres o derivados de éter de uno o más sustituyentes de hidroxilo mencionados anteriormente, y/o
- cambiando uno o más átomos de carbono por un átomo de oxígeno, nitrógeno o azufre, por ejemplo en una o más posiciones 22, 23 y 24, y/o
- 25 - ciclado entre los átomos de carbono 26 y 27 mediante un enlace (ciclopropano) o por intermedio de 1 a 4 átomos de carbono, siendo el anillo resultante saturado, insaturado o aromático y estando opcionalmente sustituido en alguna(s) posible(s) posición o posiciones con uno o más sustituyentes mencionados anteriormente, y/o
- 30 - ciclado en un carbono o entre dos átomos de carbono por 1 a 4 átomos para formar un anillo heterocíclico, incluso aromático, que puede estar sustituido en cualquier posición posible con uno o más sustituyentes mencionados anteriormente, y/o
- insaturado con uno o más doble(s) o triple(s) enlace(s) carbono-carbono, estando estas cadenas insaturadas opcionalmente sustituidas en cualquier posición posible por uno o más sustituyentes mencionados anteriormente, y/o
- 35 - epoxidado una o más veces entre los átomos de carbono (preferentemente entre 22 y 23, o entre 23 y 24, o entre 24 y 25, o entre 25 y 26), estando saturada(s) o insaturada(s) la(s) cadena(s) epoxidada(s) resultante(s) y, cuando está saturada, opcionalmente sustituida en algunas posiciones posibles con uno o más sustituyentes mencionados anteriormente, y/o

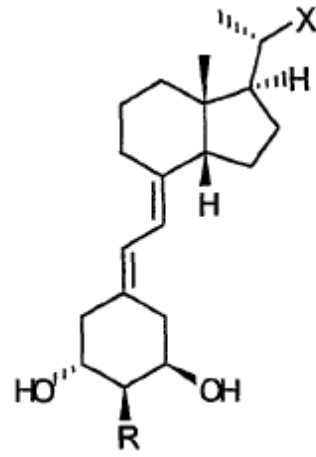
- estando unidos dos o más de los átomos de carbono de dicha cadena lateral X de alquilo por un enlace simple o por medio de 1 a 5 átomos de carbono, oxígeno, nitrógeno o azufre para formar un anillo carbocíclico (incluso aromático) o heterocíclico, saturado o insaturado de 3 a 7 eslabones que puede estar sustituido en alguna(s) posible(s) posición o posiciones por uno o más sustituyentes mencionados anteriormente, y/o
- 5 · sustituido en una o más posiciones por uno o más anillos carbocíclicos (incluso aromático) o heterocíclicos, saturados o insaturados que pueden estar sustituidos en alguna(s) posible(s) posición o posiciones por uno o más sustituyentes mencionados anteriormente.
- incluyendo todas las posibles formas isoméricas de dicha cadena lateral X de alquilo.
2. Un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según la reivindicación 1, en el que R es un grupo alquilo con un átomo de carbono.
3. Un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según la reivindicación 1 o 2, en el que dicho grupo R está en configuración α en el carbono 2.
4. Un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según la reivindicación 1, en el que R es un grupo alquilo que tiene 2 átomos de carbono.
5. Un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según la reivindicación 2, en el que el grupo OP está en configuración α en el carbono 1.
6. Un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según la reivindicación 2, en el que el grupo OP está en configuración α en el carbono 3.
7. Un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según la reivindicación 2, en el que el grupo OP está en configuración β en el carbono 3.
8. Un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 que tiene una de las estructuras siguientes:



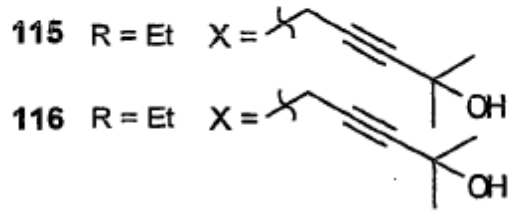
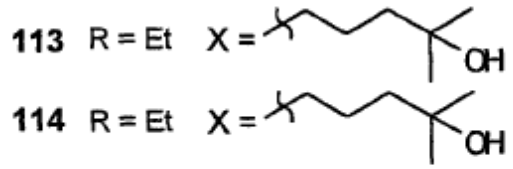
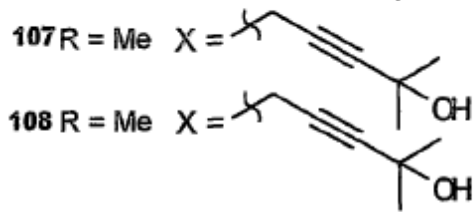
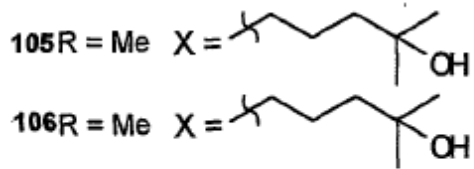
9. Un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según la reivindicación 1, que tiene una de las estructuras siguientes:



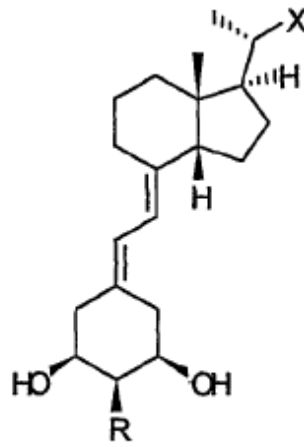
105, 107, 113, 115



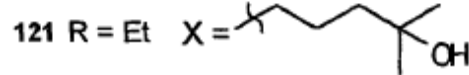
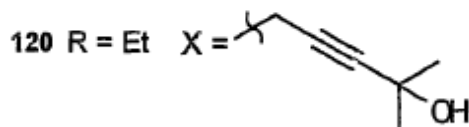
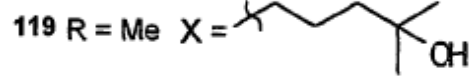
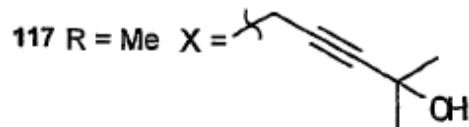
106, 108, 114, 116



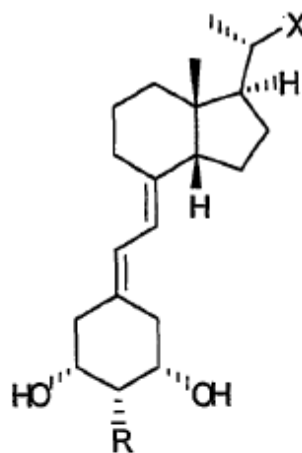
10. Un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según la reivindicación 1, que tiene una de las estructuras siguientes:



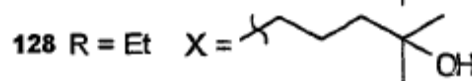
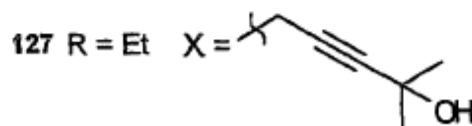
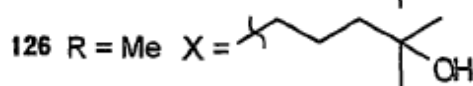
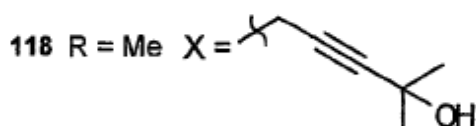
117,119,120,121



11. Un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según la reivindicación 1, que tiene una de las estructuras siguientes:



118, 126, 127, 128



5 12. Una sal farmacéuticamente aceptable de un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.

13. Un solvato de un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 o una de sus sales.

10 14. Una preparación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según la reivindicación 8, una sal o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptable y uno o más vehículos o diluyentes farmacéutica y/o veterinariamente aceptables.

15. Una preparación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y 9 a 11, una sal o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptable y uno o más vehículos o diluyentes farmacéutica y/o veterinariamente aceptables.

15 16. Una preparación farmacéutica según la reivindicación 15, que comprende además una cantidad eficaz de un agente inmunomodulador.

17. Una preparación farmacéutica según la reivindicación 15, que comprende además una cantidad eficaz de un agente anticancerígeno.

20 18. Utilización de un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, de una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento

destinado a inhibir la proliferación celular y/o provocar la diferenciación celular.

19. Utilización de un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, de una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento destinado a la terapia y/o prevención de inmunotrastornos.
- 5 20. Utilización de un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, de una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento destinado a la terapia y/o prevención de enfermedades inflamatorias; trastornos de la piel; trastornos hiperproliferantes o cáncer.
- 10 21. Utilización de un análogo de 14-epi-19-nor-vitamina D sustituido en 2 según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, de una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de una osteopatía metabólica.
22. Utilización según la reivindicación 21, en la que dicha osteopatía metabólica es la osteoporosis.

Figura 1

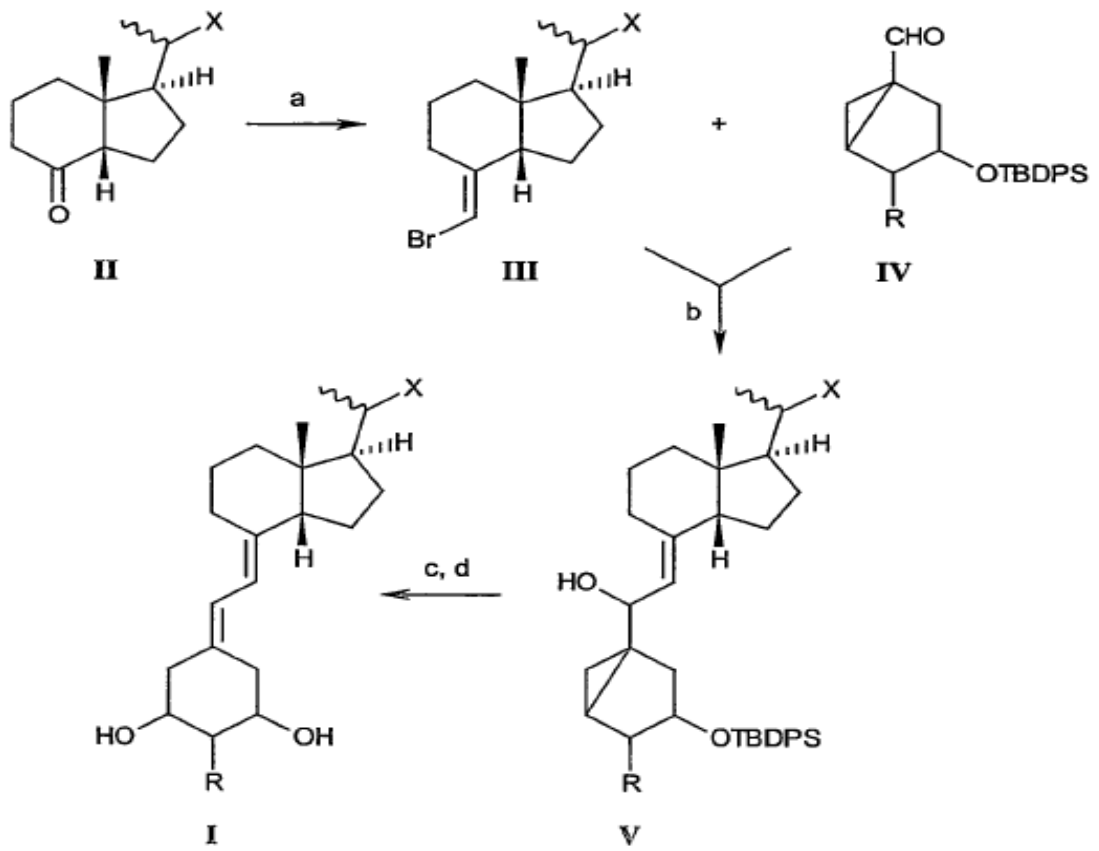


Figura 2

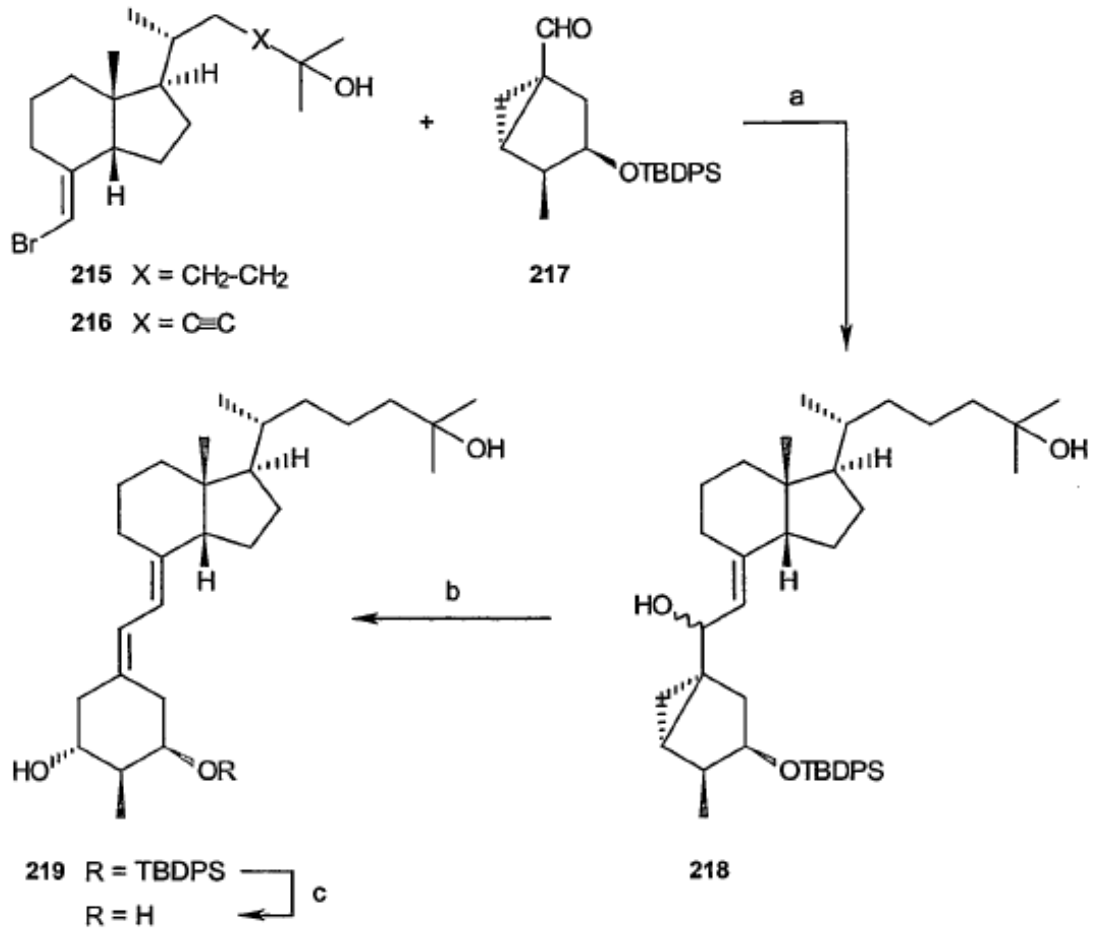


Figura 3

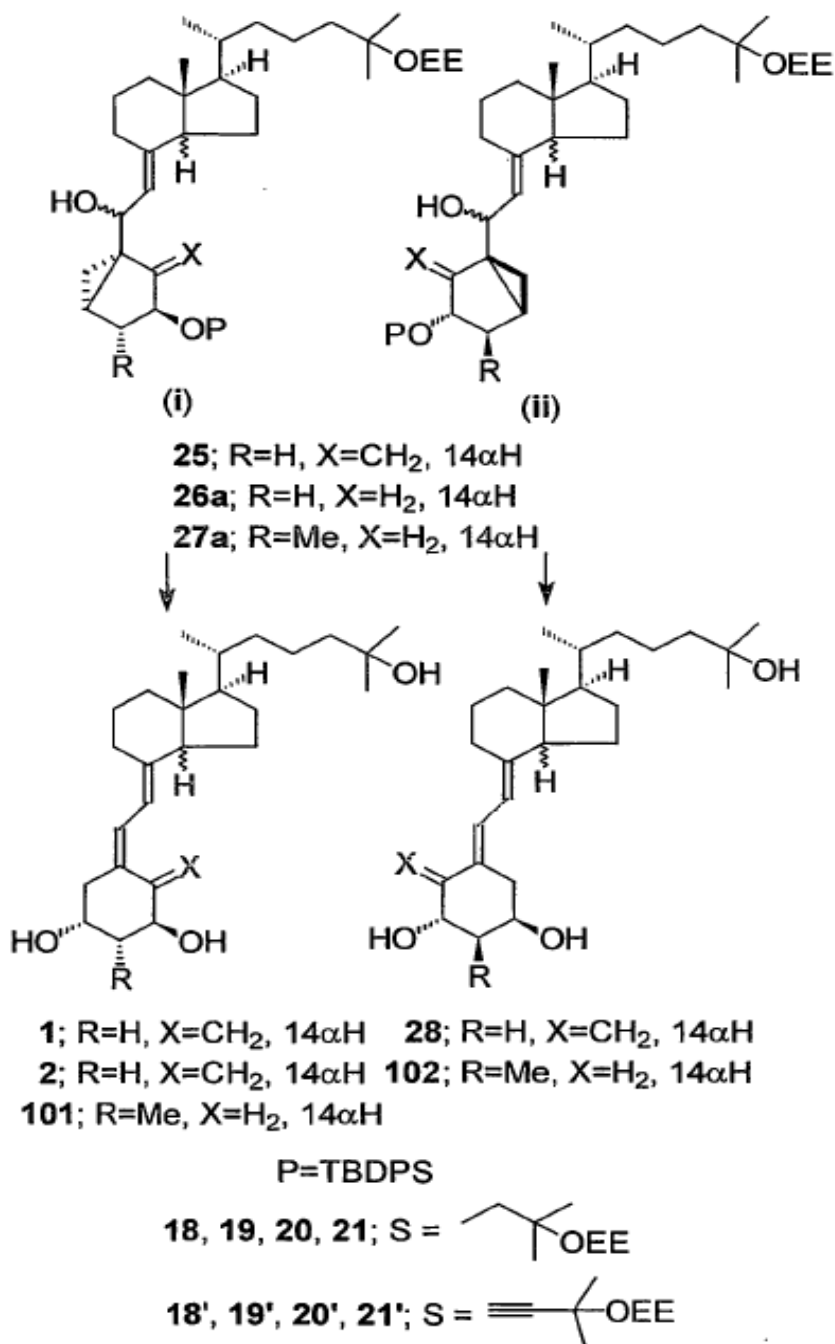


Figura 4

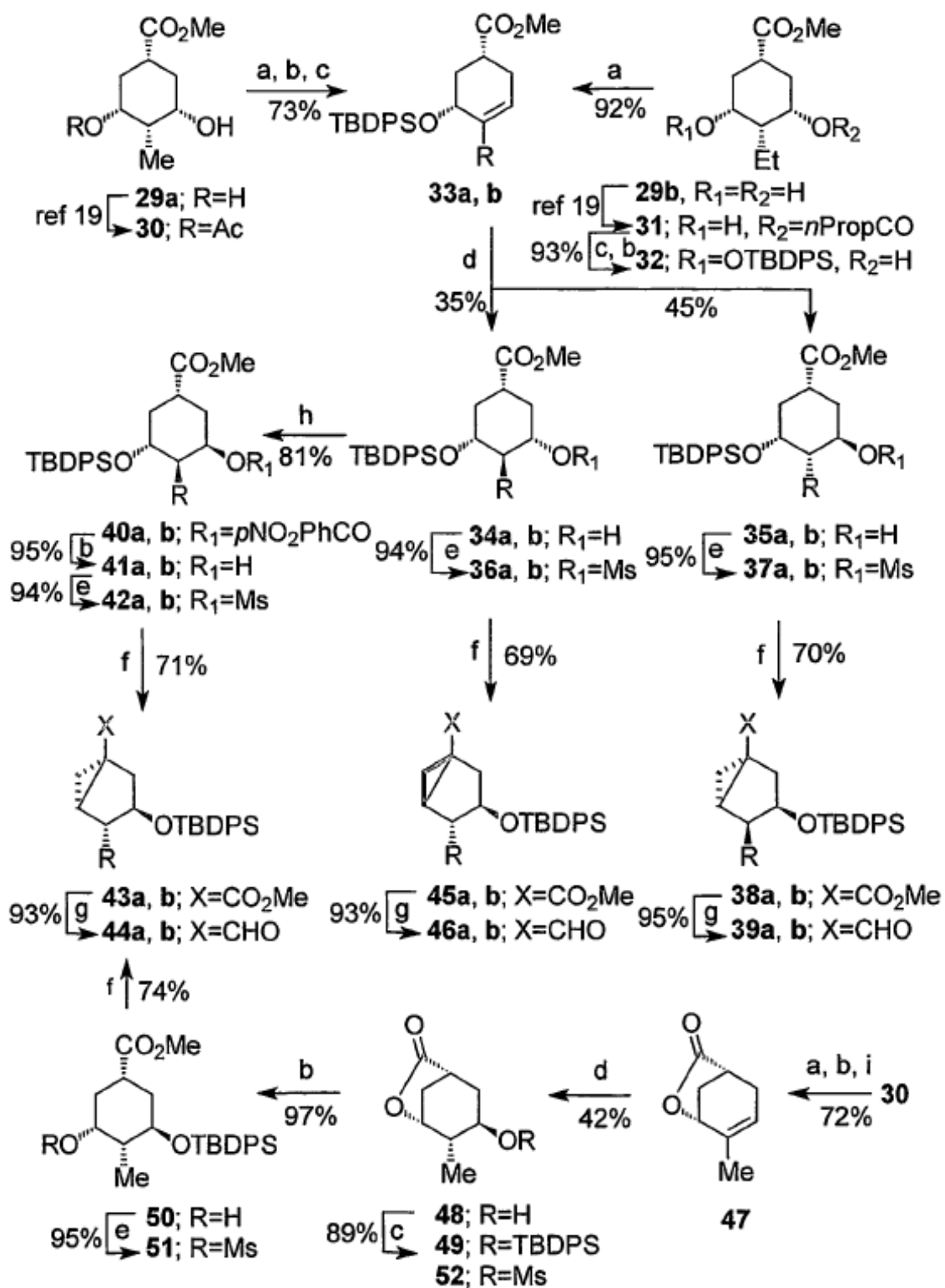


Figura 5

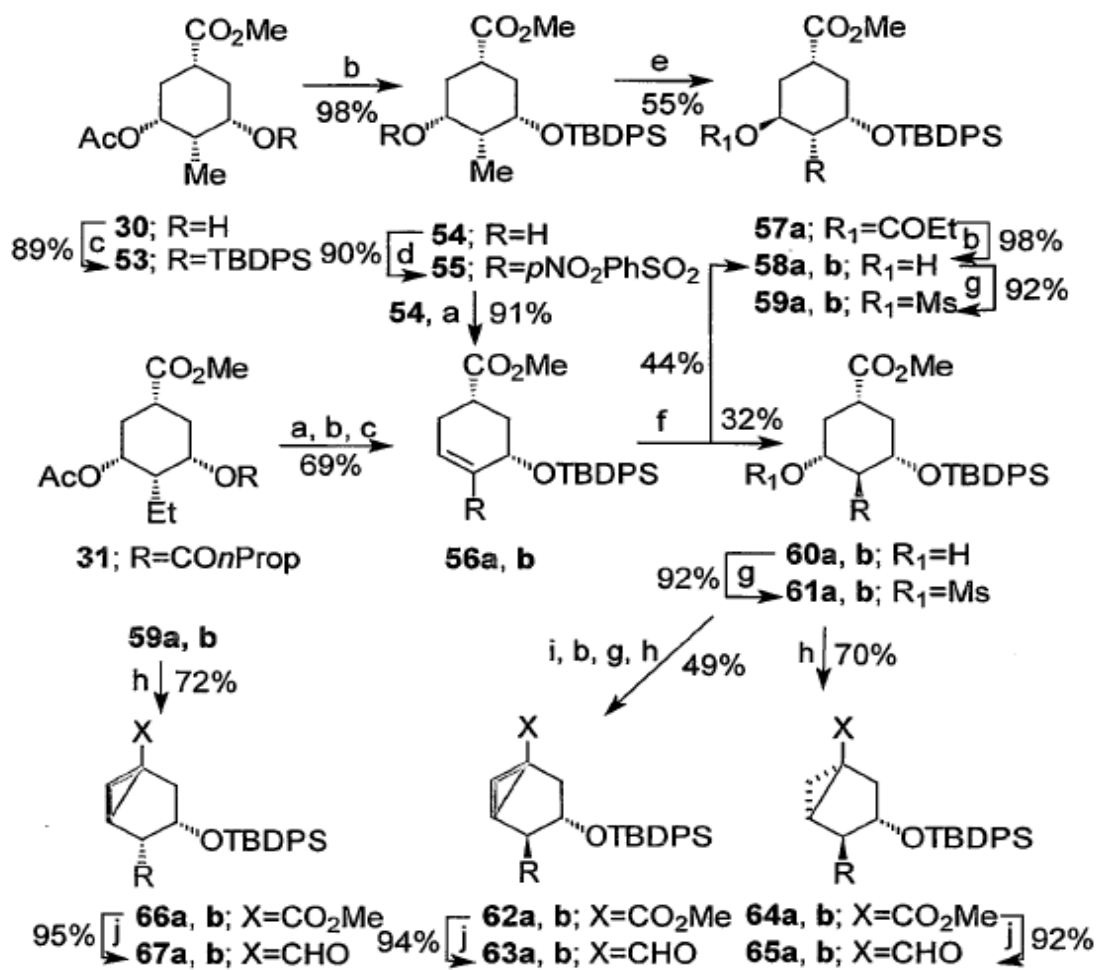


Figura 6

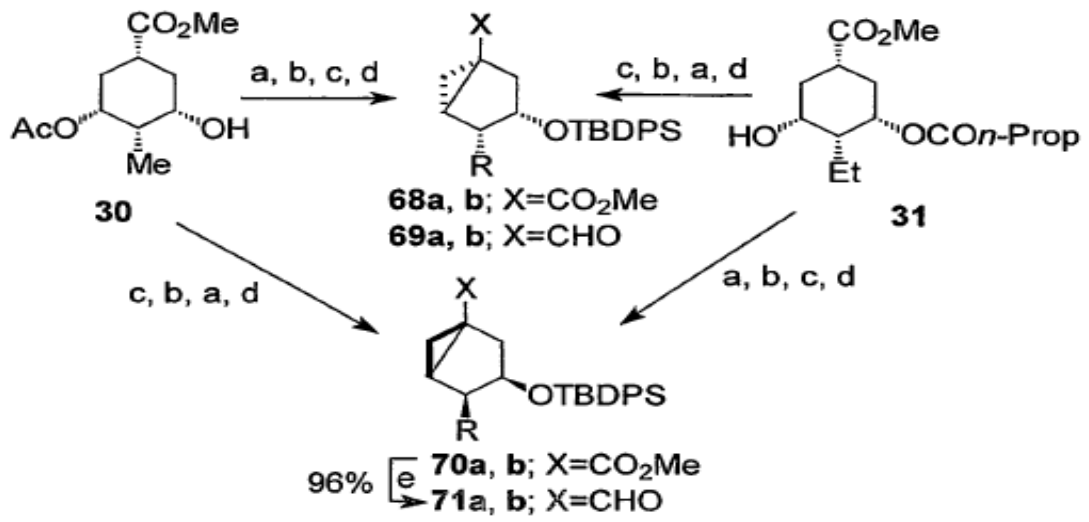
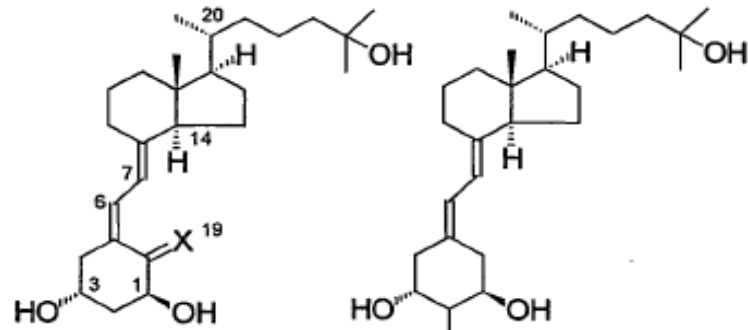
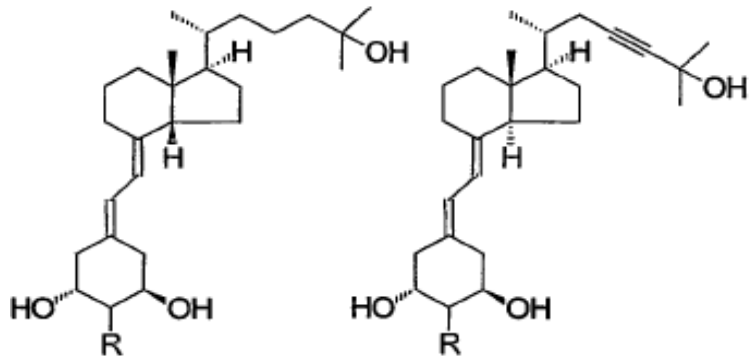


Figura 7



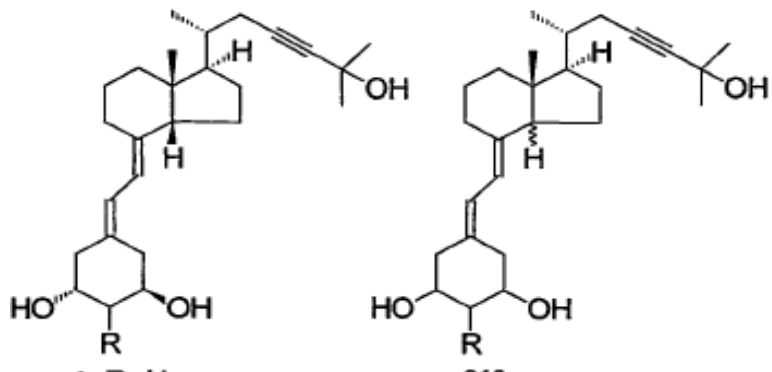
1; X=CH₂
2; X=H₂

102; R=αMe
101; R=βMe
110; R=αEt
109; R=βEt



3; R=H
106; R=αMe
105; R=βMe
114; R=αEt
113; R=βEt

104; R=αMe
103; R=βMe
112; R=αEt
111; R=βEt



4; R=H
108; R=αMe
107; R=βMe
116; R=αEt
115; R=βEt

213

Figura 8

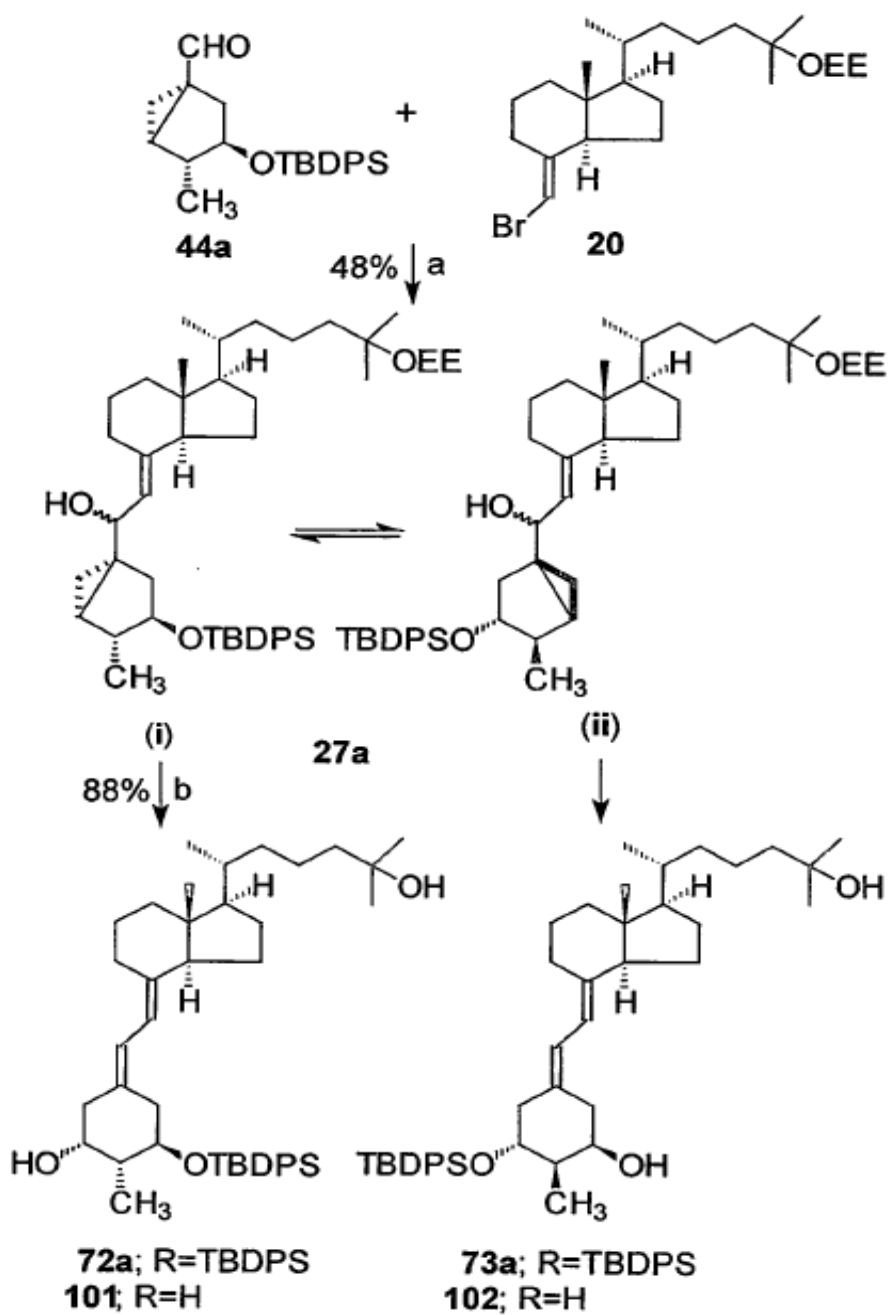


Figura 9

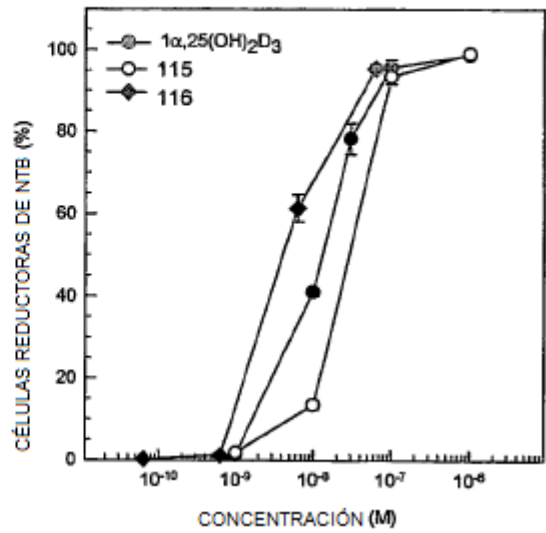
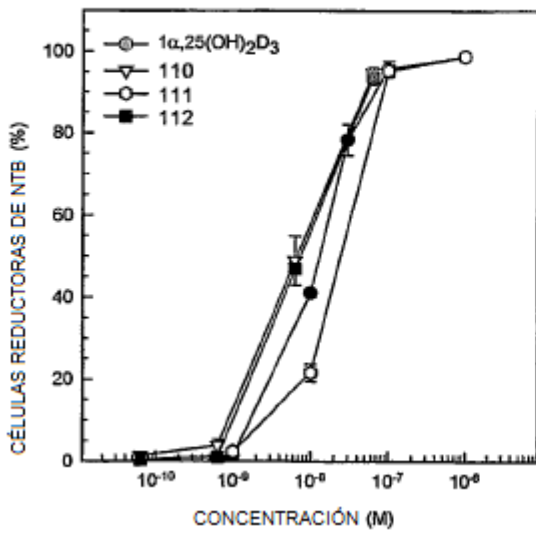
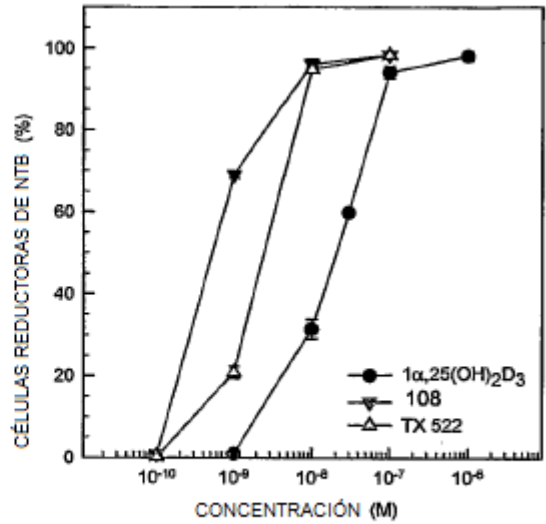
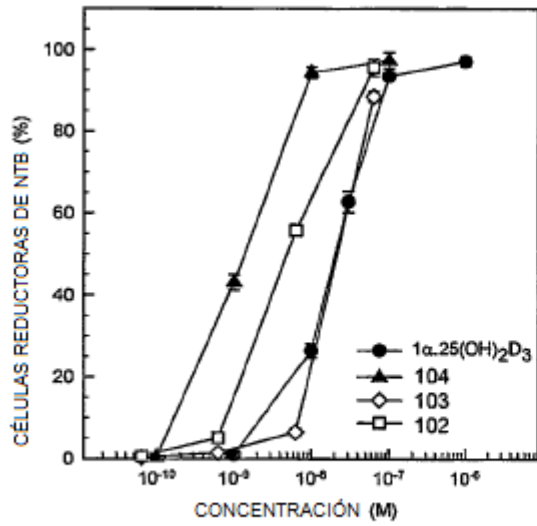


Figura 10

