

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 748**

51 Int. Cl.:
C07C 401/00 (2006.01)
A61K 31/593 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03727105 .3**
96 Fecha de presentación: **13.06.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1511725**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.03.2005**

54 Título: **Compuestos de 24-sulfoximina vitamina D3**

30 Prioridad:
13.06.2002 US 387904 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.05.2012

73 Titular/es:
**JOHNS HOPKINS UNIVERSITY
LICENSING AND TECHNOLOGY DEVELOPMENT,
100 NORTH CHARLES STREET, 5TH FLOOR
BALTIMORE, MARYLAND 21201, US y
CYTOCHROMA INC.**

72 Inventor/es:
**KAHRAMAN, Mehmet;
POSNER, Gary, H. y
SAHA, Uttam**

74 Agente/Representante:
Curell Aguilá, Mireia

ES 2 380 748 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

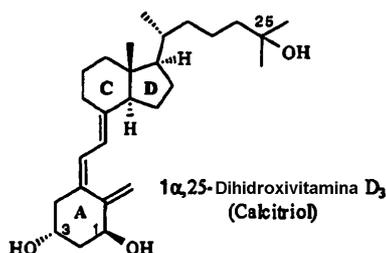
Compuestos de 24-sulfoximina vitamina D₃.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nuevos compuestos de 24-sulfoximina vitamina D₃ que muestran inhibición selectiva de la enzima CYP24, a composiciones farmacéuticas y de diagnóstico que los contienen, y a su uso médico, particularmente en el tratamiento y/o prevención del cáncer, trastornos dermatológicos, trastornos óseos, trastornos de paratiroides, cicatrización de heridas, osteoporosis y trastornos autoinmunitarios.

15 **Antecedentes de la invención**

La ruta metabólica de la vitamina D es parte de un sistema endocrino vital que está muy regulado en determinadas etapas, y produce metabolitos que controlan la secreción de las hormonas de la glándula paratiroides (Beckman, M. y DeLuca, H. (1997) *Methods in Enzymol.* 282, 200-223; Jones, G., Strugnell, S. y DeLuca, H. (1998) *Physiol. Rev.* 78, 1193-1231). La 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, conocida también como calcitriol (véase más abajo), una hormona producida en la ruta de la vitamina D, regula las concentraciones de fosfato y de calcio en la sangre, que a su vez controlan la masa ósea, el estado de los huesos y afecta a la diferenciación celular en la piel y en el sistema inmunitario (Armbrecht, H. J., Okuda, K., Wongsurawat, N., Nemani, R., Chen, M. y Boltz, M. (1992) *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 43, 1073-1081). En la ruta de la vitamina D, los citocromos P450 son enzimas que introducen grupos funcionales por hidroxilación, normalmente en las posiciones 1, 25 y 24 de la vitamina D₃ (Beckman, M. y DeLuca, H. (1997) *Methods in Enzymol.* 282, 200-223).



La 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ se convierte en 1 α ,24,25-trihidroxi-D₃ mediante una P450 mitocondrial conocida como CYP24 (Bell, N. H., (1998) *J. Bone Miner. Res.* 13, 350-35211). La CYP24 es inducida por 1 α ,25-dihidroxi-D₃ y se encuentra en el riñón así como en otros tejidos diana de la vitamina D, tales como las células de la paratiroides, queratinocitos, osteoblastos y enterocitos (Jones, G., Strugnell, S. y DeLuca, H. (1998) *Physiol. Rev.* 78, 1193-1231).

Los efectos biológicos de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ (calcitriol) y sus análogos sintéticos están mediados por el receptor de vitamina D (VDR) nuclear. El calcitriol tiene un papel importante en los efectos antiproliferativos y reguladores del crecimiento sobre células normales y neoplásicas (por ejemplo, células de cáncer de próstata). Los ligandos de VDR tienen una aplicación clínica potencial ampliamente extendida; sin embargo, en muchos casos, se desarrolla hipercalcemia como efecto secundario, lo que evita la administración sistémica sostenida. Se espera que la inhibición del catabolismo de calcitriol y sus análogos prolongue el tiempo de vida biológico de estos compuestos, y de este modo permita que se usen cantidades más pequeñas de ellos para la quimioterapia humana eficaz. Tales dosificaciones más pequeñas evitarán, o al menos minimizarán, la toxicidad hipercalcémica asociada con el uso médico de estos compuestos. La inhibición adicional del catabolismo 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ incrementa los niveles endógenos de esta hormona, que también tendrá efectos terapéuticos beneficiosos.

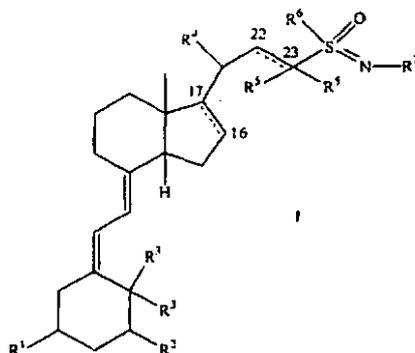
El documento WO 00/59513 describe análogos de 1 α ,25-dihidroxivitamina D₃ que contienen azufre.

Existe la necesidad de compuestos que modulen la actividad de CYP24, y por lo tanto los niveles de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ y sus análogos.

50 **Sumario de la invención**

Se han encontrado que ciertos compuestos de 24-sulfoximina vitamina D₃ muestran inhibición selectiva de la enzima CYP24.

La presente invención proporciona por lo tanto compuestos de Fórmula I, y sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables, hidratos, solvatos y profármacos de los mismos:



en la que

5 R¹ se selecciona de entre el grupo constituido por OH, O-alquilo de C₁₋₄, y halo;

R² se selecciona de entre el grupo constituido por H, OH, O-alquilo de C₁₋₄, y halo;

cada R³ son ambos H o, juntos, forman =CH₂;

10 R⁴ es alquilo de C₁₋₄;

--- representa un enlace sencillo o un doble enlace;

15 cada R⁵ puede ser igual o diferente, y se selecciona de entre el grupo constituido por hidrógeno, halo y alquilo de C₁₋₄, o cada R⁵ se pueden tomar juntos para formar un anillo de cicloalquilo de C₃₋₆;

20 R⁶ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo y heteroarilo está no sustituido o sustituido con 1-5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo;

R⁷ se selecciona de entre el grupo constituido por H, alquilo de C₁₋₆ y C(O)R⁸; y

25 R⁸ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, cicloalquilo de C₃₋₆, aril-alquilo de C₁₋₄, arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo y heteroarilo está no sustituido o sustituido con 1-5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo,

30 con la condición de que cuando exista un doble enlace entre C22 y C23, sólo haya un grupo R⁵ unido a C23, y R⁵ se seleccione de entre el grupo constituido por hidrógeno, halo y alquilo de C₁₋₄;

siendo dichos profármacos ésteres formados con un grupo hidroxilo, tiol, amino o carboxi disponible de los compuestos de Fórmula I.

35 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

40 Modulando selectivamente la CYP24, la enzima que metaboliza 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, se modulan también las concentraciones de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ (ya sea endógena o administrada como parte de un régimen quimioterapéutico), o un análogo de la 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃. Las enfermedades que se benefician de una modulación de las concentraciones de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ se pueden tratar por lo tanto usando un modulador de CYP24. Además, inhibiendo el catabolismo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, los compuestos de la invención aumentarán las concentraciones endógenas de esta hormona, que dará como resultado efectos terapéuticos beneficiosos similares. Actuando preferentemente sobre la CYP24, se reducirán los efectos secundarios causados por la interacción con otras enzimas y receptores. Por consiguiente, la presente invención proporciona un método para tratar enfermedades que se benefician de una modulación de las concentraciones de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención a una célula o a un animal que lo necesite. La invención incluye también el uso de un compuesto de la invención para tratar enfermedades que se benefician de una modulación de las concentraciones de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃. Además, la invención incluye un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento para tratar enfermedades que se benefician de una modulación de las concentraciones de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃.

La inhibición de CYP24 inhibirá el catabolismo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o sus análogos, lo que prolongará la vida biológica de estos compuestos y de este modo permitirá que pequeñas cantidades de ellos se usen para un tratamiento eficaz de la enfermedad. Dicha menor dosificación impedirá, o por lo menos minimizará, la toxicidad hipercalcémica asociada con el uso medicinal de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ o sus análogos. Por lo tanto, en una realización, la presente invención proporciona un método para tratar enfermedades que se benefician de la inhibición del catabolismo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención a una célula o animal que lo necesite. La invención incluye también el uso de un compuesto de la invención para tratar enfermedades que se benefician de la inhibición del catabolismo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃. Además, la invención incluye un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento para tratar enfermedades que se benefician de la inhibición del catabolismo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃.

Las enfermedades que se beneficiarán de una modulación en las concentraciones de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ o sus análogos incluyen, pero no se limitan a:

- (i) en el paratiroides - hiper- e hipo-paratiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, hiperparatiroidismo secundario;
- (ii) en el páncreas - diabetes;
- (iii) en el tiroides - carcinoma medular;
- (iv) en la piel - soriasis, cicatrización de heridas;
- (v) en los pulmones - sarcoidosis y tuberculosis;
- (vi) en el riñón - nefropatía crónica, VDRR hipofosfatémica, raquitismo dependiente de vitamina D;
- (vii) en el hueso - tratamiento anticonvulsante, fibrogénesis ósea imperfecta, osteítis fibrosa quística, osteomalacia, osteoporosis, osteopenia, osteosclerosis, osteodistrofia renal, raquitismo;
- (viii) en el intestino - antagonismo glucocorticoide, hipercalcemia idiopática, síndrome de malabsorción, esteatorrea y esprue tropical; y
- (ix) enfermedades autoinmunitarias.

En realizaciones de la invención, la enfermedad que se beneficia de una modulación en los niveles de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, se selecciona de cáncer, trastornos dermatológicos (por ejemplo, soriasis), trastornos paratiroides (por ejemplo, hiperparatiroidismo e hiperparatiroidismo secundario), trastornos óseos (por ejemplo, osteoporosis), y trastornos autoinmunitarios.

Según un aspecto adicional de la presente invención, la enfermedad que se beneficia de una modulación en los niveles de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, es un trastorno proliferativo celular. En consecuencia, se proporciona un método para modular la proliferación celular (preferentemente inhibiendo la proliferación celular) y/o para promover la diferenciación celular, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención a una célula o animal que lo necesite. La invención también incluye un uso de un compuesto de la invención para modular la proliferación celular (preferentemente para inhibir la proliferación celular) y/o promover la diferenciación celular. La invención incluye además un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento para modular la proliferación celular (preferentemente inhibir la proliferación celular) y/o promover la diferenciación celular.

En otra realización de la presente invención, la enfermedad que se beneficia de una modulación en los niveles de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, es cáncer. En consecuencia, la presente invención proporciona un método para tratar cáncer, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención a una célula o animal que lo necesite. La invención también incluye un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento para tratar cáncer. En realizaciones de la invención, el cáncer se selecciona de entre el grupo constituido por cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de colon y colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer de piel, sarcoma de Kaposi y leucemia.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para modular la actividad de CYP24 en una célula administrando una cantidad eficaz de un compuesto de la invención. En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para inhibir la actividad de CYP24 en una célula administrando una cantidad eficaz de un compuesto de la invención. La presente invención también proporciona un uso de un compuesto de la invención para modular, preferentemente inhibir, la actividad de CYP24. La presente invención proporciona además un uso de

un compuesto de la invención para preparar un medicamento para modular la actividad de CYP24, preferentemente inhibir la actividad de CYP24.

Los compuestos de la invención pueden usarse solos o en combinación con otros agentes que modulan la actividad de la CYP24 o en combinación con otros tipos de tratamiento (que pueden modular o no la CYP24) para las enfermedades que se aprovechan de una modulación en las concentraciones de $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o un análogo de la misma, y/o una inhibición del catabolismo de $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o un análogo de la misma. Preferentemente, los compuestos de la invención se administran en combinación con $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 (calcitriol), un análogo de $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 u otros agonistas del receptor de vitamina D. La inhibición del catabolismo de agonistas del receptor de vitamina D tales como $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o análogos de la misma, prolongará el tiempo de vida biológico o eficacia de estas terapias, y de este modo permitirá usar menores cantidades del fármaco para la quimioterapia humana eficaz; tales menores dosificaciones evitarán, o al menos minimizarán, la toxicidad hipercalcémica asociada con el uso médico de estos compuestos. La presente invención proporciona por consiguiente un método para aumentar la eficacia de un agonista del receptor de vitamina D, preferentemente $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o un análogo de la misma, que comprende administrar conjuntamente una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y una cantidad eficaz del agonista del receptor de vitamina D, preferentemente $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o un análogo de la misma. Además, la invención incluye el uso de un compuesto de la invención para aumentar la eficacia de un agonista del receptor de vitamina D, preferentemente $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o un análogo de la misma, y un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento destinado a aumentar la eficacia de un agonista del receptor de vitamina D, preferentemente $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o un análogo de la misma.

Breve descripción de los dibujos

La invención se describirá a continuación con relación a los dibujos, en los que:

La figura 1 es una gráfica que muestra que el compuesto I(g) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células MCF-7. Se trataron células MCF-7 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(g) durante tres días. Las células se trataron entonces con [3 H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % de CO_2 . Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(g) (■), 1 nM I(g) (▲), 10 nM I(g) (▼) y 50 nM I(g) (◆).

La figura 2 es una gráfica que muestra que el compuesto I(e) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células MCF-7. Se trataron células MCF-7 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(e) durante tres días. Las células se trataron entonces con [3 H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO_2 . Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis en ausencia de I(e) (■), 1 nM I(e) (▲), 10 nM I(e) (▼) y 50 nM I(e) (◆).

La figura 3 es una gráfica que muestra que el compuesto I(a) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células MCF-7. Se trataron células MCF-7 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(a) durante tres días. Las células se trataron entonces con [3 H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO_2 . Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(a) (■), 1 nM I(a) (▲), 10 nM I(a) (▼) y 50 nM I(a) (◆).

La figura 4 es una gráfica que muestra que el compuesto I(i) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células MCF-7. Se trataron células MCF-7 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(i) durante tres días. Las células se trataron entonces con [3 H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO_2 . Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(i) (■), 1 nM I(i) (▲), 10 nM I(i) (▼) y 50 nM I(i) (◆).

La figura 5 es una gráfica que muestra que el compuesto I(n) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células MCF-7. Se trataron células MCF-7 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(n) durante tres días. Las células se trataron entonces con [3 H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO_2 . Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis en ausencia de I(n) (■), nM I(n) (▲), 10 nM I(n) (▼) y 50 nM I(n) (◆).

La figura 6 es una gráfica que muestra que el compuesto I(g) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células SCC-25. Se trataron células SCC-25 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(g) durante tres días. Las células se trataron entonces con [3 H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO_2 . Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(g) (■), 1 nM I(g) (▲), 10 nM I(g) (▼) y 100 nM I(g) (◆).

La figura 7 es una gráfica que muestra que el compuesto I(e) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células SCC-25. Se trataron células SCC-25 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(e) durante tres días. Las células se trataron entonces con [3 H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO_2 . Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(e) (■), 1 nM I(e) (▲), 10 nM I(e) (▼) y 100 nM I(e) (◆).

- 5 La figura 8 es una gráfica que muestra que el compuesto I(c) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células SCC-25. Se trataron células SCC-25 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(c) durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(c) (■), 1 nM I(c) (▲), 10 nM I(c) (▼) y 100 nM I(c) (◆).
- 10 La figura 9 es una gráfica que muestra que el compuesto I(a) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células SCC-25. Se trataron células SCC-25 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(a) durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(a) (■), 1 nM I(a) (▲), 10 nM I(a) (▼) y 100 nM I(a) (◆).
- 15 La figura 10 es una gráfica que muestra que el compuesto I(j) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células SCC-25. Se trataron células SCC-25 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(j) durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(j) (■), 1 nM I(j) (▲), 10 nM I(j) (▼) y 100 nM I(j) (◆).
- 20 La figura 11 es una gráfica que muestra que el compuesto I(1) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células SCC-25. Se trataron células SCC-25 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(1) durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(1) (■), 1 nM I(1) (▲), 10 nM I(1) (▼) y 100 nM I(1) (◆).
- 25 La figura 12 es una gráfica que muestra que el compuesto I(i) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células SCC-25. Se trataron células SCC-25 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(i) durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(i) (■), 1 nM I(i) (▲), 10 nM I(i) (▼) y 100 nM I(i) (◆).
- 30 La figura 13 es una gráfica que muestra que el compuesto I(o) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células SCC-25. Se trataron células SCC-25 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(o) durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(o) (■), 1 nM I(o) (▲), 10 nM I(o) (▼) y 100 nM I(o) (◆).
- 35 La figura 14 es una gráfica que muestra que el compuesto I(n) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de células SCC-25. Se trataron células SCC-25 con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(n) durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 6 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis para 0,1 nM I(n) (■), 1 nM I(n) (▲), 10 nM I(n) (▼) y 50 nM I(n) (◆).
- 40 La figura 15 es una gráfica que muestra que el compuesto I(e) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de queratinocitos epidérmicos humanos normales (NHEK). Se trataron NHEK con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(e) durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 18 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis en ausencia de I(e) (■), 1 nM I(e) (▲), 10 nM I(e) (▼) y 50 nM I(e) (◆).
- 45 La figura 16 es una gráfica que muestra que el compuesto I(a) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de queratinocitos epidérmicos humanos normales (NHEK). Se trataron NHEK con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(a) durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 18 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis en ausencia de I(a) (■), 1 nM I(a) (▲), 10 nM I(a) (▼) y 50 nM I(a) (◆).
- 50 La figura 17 es una gráfica que muestra que el compuesto I(i) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de queratinocitos epidérmicos humanos normales (NHEK). Se trataron NHEK con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto I(i) durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 18 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis en ausencia de I(i) (■), 1 nM I(i) (▲), 10 nM I(i) (▼) y 50 nM I(i) (◆).
- 55 La figura 18 es una gráfica que muestra que el compuesto I(o) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de queratinocitos epidérmicos humanos normales (NHEK). Se trataron NHEK con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto CTA112 durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 18 h a

37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis en ausencia de I (o) (■), 1 nM I(o) (▲), 10 nM I(o) (V) y 50 nM I(o) (◆).

5 La figura 19 es una gráfica que muestra que el compuesto I(n) y calcitriol actúan para inhibir la proliferación de queratinocitos epidérmicos humanos normales (NHEK). Se trataron NHEK con concentraciones específicas de calcitriol y compuesto CTA113 durante tres días. Las células se trataron entonces con [³H]-timidina durante 18 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5 % CO₂. Las placas se cosecharon, y se midió la radioactividad. Se muestran las curvas de respuesta frente a la dosis en ausencia de I (n) (■), 1 nM I(n) (▲), 10 nM I(n) (V) y 50 nM I(n) (◆).

Descripción detallada de la invención

I. Definiciones

15 La expresión “alquilo de C₁₋₄”, tal como se usa en la presente memoria, significa grupos alquilo de cadena lineal y/o ramificada que contienen de uno a cuatro átomos de carbono, e incluye metilo, etilo, propilo, isopropilo, y t-butilo.

20 La expresión “alcoxi de C₁₋₄”, tal como se usa en la presente memoria, significa grupos alcoxi de cadena lineal y/o ramificada que contienen de uno a cuatro átomos de carbono, e incluye metoxi, etoxi, propiloxi, isopropiloxi y t-butoxi.

25 La expresión “cicloalquilo”, tal como se usa en la presente memoria, significa un anillo cíclico, saturado, sustituido o no sustituido, que contiene de tres a seis átomos de carbono, e incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, y ciclohexilo.

El término “arilo”, tal como se usa en la presente memoria, significa grupos aromáticos mono- o bicíclicos, sustituidos o no sustituidos, que contienen de 6 a 14 átomos de carbonos, e incluye fenilo y naftilo.

30 El término “heteroarilo”, tal como se usa en la presente memoria, significa grupos heteroaromáticos mono- o bicíclicos, sustituidos o no sustituidos, que contienen de 5 a 14 átomos, de los cuales 1 a 3 átomos pueden ser un heteroátomo seleccionado de entre el grupo constituido por S, O y N, e incluye furanilo, tienilo, pirrolo, piridilo, inmolo y benzofuranilo.

35 El término “halo”, tal como se usa en la presente memoria, significa halógeno, e incluye cloro, fluoro, bromo, y yodo.

En cuanto a cualquiera de los grupos anteriores que contienen uno o más sustituyentes, se entiende, por supuesto, que tales grupos no contienen ninguna sustitución o patrones de sustitución que sean estéricamente impracticables y/o sintéticamente no factibles.

40 La expresión “farmacéuticamente aceptable”, tal como se usa en la presente memoria, significa que es compatible con el tratamiento de animales, en particular seres humanos.

45 La expresión “sal de adición de ácidos farmacéuticamente aceptable”, tal como se usa en la presente memoria, significa cualquier sal orgánica o inorgánica no tóxica de cualquier compuesto básico de la invención, o cualquiera de sus productos intermedios. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden formar una sal de adición de ácidos en el nitrógeno imínico (para la preparación de tales sales, véanse Brandt, J.; Gais, H-J. Tetrahedron; Asymmetry, 1997, 8, 909 y Shiner, C. S.; Berks, A. H. J. Org. Chem. 1988, 53, 5542, Appel, R; Fehlhaber, H.; Hanssgen, D.; Schollhorn, R. Chem. Ber.1966, 99, 3108, Akasara, T.; Furukawa, N.; Oae, S. Phosphorus and Sulfur 1985, 21, 277, Johnson, C. R. Janiga, E. R Haake, M. J. Am. Chem. Soc. 1968, 90, 3890 y Johnson, C. R Janiga, E. R J. Am. Chem. Soc. 1973, 95, 7692). Ácidos inorgánicos ilustrativos que forman las sales adecuadas incluyen los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico, así como las sales metálicas tales como ortofosfato monobásico de sodio y bisulfato de potasio. Los ácidos orgánicos ilustrativos que forman sales adecuadas incluyen los ácidos mono-, di- y tricarbóxicos, tales como los ácidos glicólico, láctico, pirúvico, malónico, succínico, glutárico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, maleico, benzoico, fenilacético, cinámico y salicílico, así como los ácidos sulfónicos tales como los ácidos p-toluenosulfónico y metanosulfónico. Pueden formarse sales mono- o diácidas, y dichas sales pueden existir en forma hidratada, solvatada o sustancialmente anhidra. En general, las sales de adición de ácidos de los compuestos de la invención son más solubles en agua y en varios disolventes orgánicos hidrófilos, y generalmente presentan puntos de fusión más altos en comparación con sus formas básicas libres. La selección de la sal apropiada será conocida por cualquier experto en la materia. Otras sales de adición de ácidos no farmacéuticamente aceptables, por ejemplo oxalatos, pueden usarse, por ejemplo, en el aislamiento de los compuestos de la invención, para uso en el laboratorio, o para la conversión posterior a una sal de adición de ácidos farmacéuticamente aceptable.

65 El término “solvato”, tal como se utiliza en la presente memoria, significa un compuesto de la invención en el que las moléculas de un disolvente adecuado se incorporan en el retículo cristalino. Un disolvente adecuado es tolerable fisiológicamente a la dosis administrada. Ejemplos de disolventes adecuados son el etanol, el agua, y similares.

Cuando el disolvente es el agua, la molécula se denomina "hidrato".

La expresión "compuesto(s) de la invención", tal como se utiliza en la presente memoria, significa el/los compuesto(s) de Fórmula I, y las sales de adición de ácidos, hidratos, solvatos y profármacos de los mismos.

La expresión una "cantidad eficaz" o una "cantidad suficiente" de un agente, tal como se usa en la presente memoria, es a cantidad suficiente para obtener resultados beneficiosos o deseados, incluyendo resultados clínicos, y, como tal, una "cantidad eficaz" depende del contexto en el que se esté aplicando. Por ejemplo, en el contexto de la administración de un agente que modula la actividad de CYP24, una cantidad eficaz de un agente es, por ejemplo, una cantidad suficiente para conseguir dicha modulación en la actividad de CYP24 en comparación con la respuesta obtenida sin la administración del agente.

Tal como se usa en la presente memoria, y se entiende también en la técnica, "tratamiento" es un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados, incluyendo resultados clínicos. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados pueden incluir, pero no se limitan a, alivio o mejora de uno o más síntomas o afecciones, disminución del alcance de la enfermedad, estado estabilizado (es decir, no empeorado) de la enfermedad, prevención de la propagación de la enfermedad, retardo o ralentización de la evolución de la enfermedad, mejora o mitigación de las condiciones patológicas, y remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. "Tratamiento" puede significar también la prolongación de la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento.

"Mitigar" una enfermedad o trastorno significa que se reduce el alcance y/o las manifestaciones clínicas indeseables de un trastorno o de un estado patológico, y/o se ralentiza o prolonga el transcurso de la evolución, en comparación con la ausencia del trastorno.

El término "modular", tal como se usa en la presente memoria, incluye la inhibición o supresión de una función o actividad (tal como la actividad de CYP24), así como el aumento de una función o actividad.

"Inhibir" o "suprimir" o "reducir" una función o actividad, tal como la actividad de CYP24, consiste en reducir la función o actividad cuando se compara de otra manera con las mismas condiciones excepto para una condición o parámetro de interés, o como alternativa, en comparación con otras condiciones.

El término "animal", tal como se usa en la presente memoria, incluye todos los miembros del reino animal, incluyendo el ser humano. El animal es preferentemente un ser humano.

La expresión "una célula", tal como se usa en la presente memoria, incluye una multitud de células. Administrar un compuesto a una célula incluye el tratamiento *in vivo*, *ex vivo* e *in vitro*.

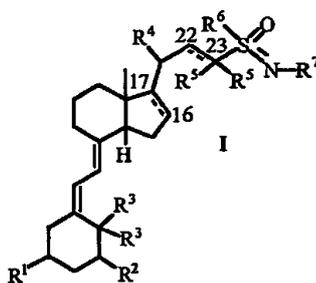
La expresión "cáncer", tal como se usa en la presente memoria, incluye todas las formas de cáncer o enfermedad neoplásica.

El término "estereoquímica $1\alpha,3\beta$ ", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a la configuración relativa de los grupos, R^1 y R^2 , en la que R^2 está por encima del plano de la página, y el R^1 está por debajo del plano de la página. El término "estereoquímica $1\beta,3\alpha$ ", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a la configuración relativa de los grupos, R^1 y R^2 , en la que R^1 está por encima del plano de la página, y el R^2 está por debajo del plano de la página.

II. Compuestos de la invención

Se han preparado nuevos compuestos que presentan inhibición selectiva de la enzima CYP24. Como tales, los compuestos de la invención son útiles para modular la actividad de CYP24 y para tratar enfermedades o trastornos que se benefician de tal modulación.

La presente invención proporciona por consiguiente compuestos de Fórmula I, y sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables, hidratos, solvatos y profármacos de los mismos:



en la que

- 5 R^1 se selecciona de entre el grupo constituido por OH, O-alquilo de C_{1-4} , y halo;
- R^2 se selecciona de entre el grupo constituido por H, OH, O-alquilo de C_{1-4} , y halo;
- 10 cada R^3 son ambos H, o, juntos, forman $=CH_2$;
- R^4 es alquilo de C_{1-4} ;
- representa un enlace sencillo o un doble enlace;
- 15 cada R^5 pueden ser igual o diferente, y se selecciona de entre el grupo constituido por hidrógeno, halo y alquilo de C_{1-4} , o cada R^5 se pueden tomar juntos para formar un anillo de cicloalquilo de C_{3-6} ;
- R^6 se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo de C_{3-6} , arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo de C_{3-6} , arilo y heteroarilo están no sustituidos o están sustituidos con 1-5
- 20 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , O-alquilo de C_{1-4} , CF_3 , NO_2 y halo;
- R^7 se selecciona de entre el grupo constituido por H, alquilo de C_{1-6} y $C(O)R^8$; y
- 25 R^8 se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo de C_{3-6} , aril-alquilo de C_{1-4} , arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C_{1-6} , cicloalquilo de C_{3-6} , arilo y heteroarilo están no sustituidos o sustituidos con 1-5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , O-alquilo de C_{1-4} , CF_3 , NO_2 y halo,
- 30 con la condición de que cuando haya un doble enlace entre C22 y C23, sólo haya un grupo R^5 unido a C23, y R^5 se selecciona de entre el grupo constituido por hidrógeno, halo y alquilo de C_{1-4} ; siendo dichos profármacos ésteres formados con un grupo hidroxilo, tiol, amino o carboxi disponible de los compuestos de Fórmula I.
- Los compuestos de Fórmula I incluyen aquellos en los que R^1 se selecciona de entre el grupo constituido por OH, O-alquilo de C_{1-4} , y halo, y R^2 se selecciona de entre el grupo constituido por H, OH, O-alquilo de C_{1-4} , y halo. En realizaciones de la presente invención, R^1 se selecciona de entre el grupo constituido por OH, OCH_3 y fluoro, y R^2
- 35 se selecciona de entre el grupo constituido por H, OH, OCH_3 y fluoro. En otras realizaciones de la presente invención, R^1 es OH, y R^2 se selecciona de entre el grupo constituido por H y OH. En aún otras realizaciones, R^1 y R^2 son ambos OH.
- 40 La presente invención incluye compuestos de Fórmula I en la que cada R^3 son ambos H o forman, juntos, $=CH_2$. En realizaciones de la invención, R^3 es $=CH_2$. En otras realizaciones de la presente invención, ambos R^3 son H.
- La presente invención incluye compuestos de Fórmula I en la que R^4 es alquilo de C_{1-4} . En realizaciones de la
- 45 invención, R^4 es CH_3 .
- La presente invención incluye compuestos de la Fórmula I en la que cada R^5 puede ser igual o diferente, y se selecciona de entre el grupo constituido por hidrógeno, halo y alquilo de C_{1-4} , o cada R^5 puede tomarse junto para formar un anillo de cicloalquilo de C_{3-6} . En realizaciones de la invención, cada R^5 se selecciona de entre el grupo
- 50 constituido por un grupo F, alquilo de C_{1-4} y H, o cada R^5 puede tomarse junto para formar un anillo de cicloalquilo de C_{3-6} . En otras realizaciones, cada grupo R^5 se selecciona de entre el grupo constituido por F, CH_3 y H, o cada grupo R^5 se toma junto para formar un anillo de cicloalquilo de C_{3-4} . En todavía otras realizaciones, ambos R^5 son ambos H, CH_3 o F, o cada grupo R^5 se toma junto para formar un anillo de ciclopropilo. En incluso otras realizaciones de la invención, ambos R^5 son H.
- 55 La presente invención incluye compuestos de Fórmula I en la que R^6 se selecciona de entre el grupo constituido por

alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo y heteroarilo está no sustituido o sustituido con 1-5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo. En realizaciones de la presente invención, R⁶ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, cicloalquilo de C₃₋₅, arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₄, cicloalquilo de C₃₋₅, arilo y heteroarilo está no sustituido o sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo. En aún otras realizaciones de la presente invención, R⁶ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, cicloalquilo de C₃₋₅, arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₄, cicloalquilo de C₃₋₅, arilo y heteroarilo está no sustituido o sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo. En otras realizaciones, R⁶ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄ y arilo, en el que arilo está no sustituido o sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo. En otras realizaciones, R⁶ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄ y fenilo, en el que fenilo está no sustituido o sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo. En aún otras realizaciones, R⁶ es un grupo fenilo ya sea no sustituido o sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por CH₃, OCH₃, NO₂, F y Cl. Otras realizaciones incluyen compuestos de Fórmula I en la que R⁶ es un fenilo no sustituido o fenilo sustituido con 1 sustituyente seleccionado independientemente de entre el grupo constituido por CH₃, OCH₃, NO₂, F y Cl. Es asimismo una realización de la presente invención que R⁶ sea t-butilo.

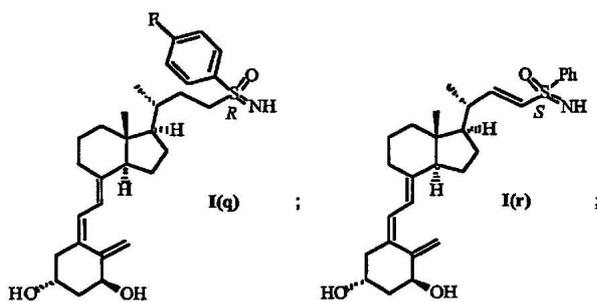
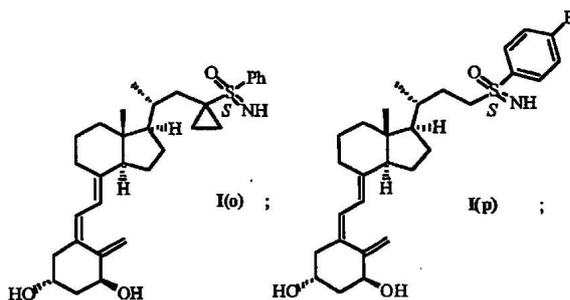
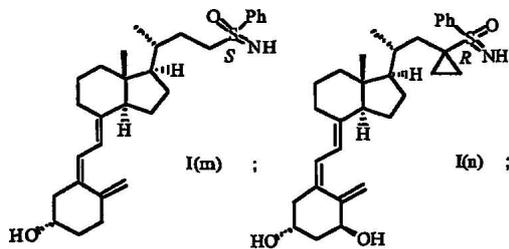
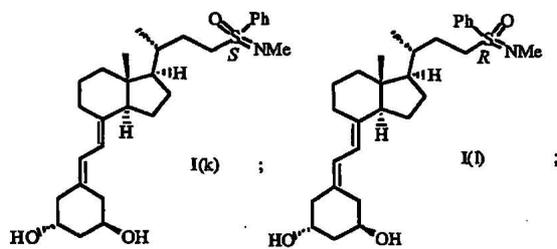
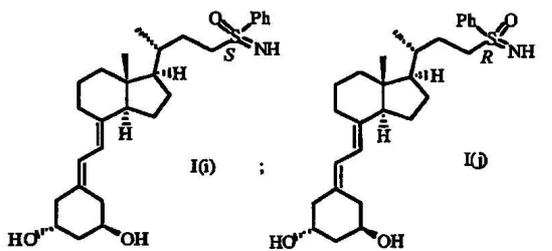
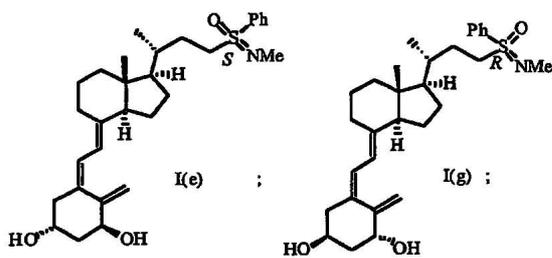
La presente invención incluye compuestos de Fórmula I en la que R⁷ se selecciona de entre el grupo constituido por H, alquilo de C₁₋₆ y C(O)R⁸. En realizaciones de la presente invención, R⁷ es H o alquilo de C₁₋₄. En otras realizaciones, R⁷ es H o CH₃. En aún otras realizaciones de la presente invención, R⁷ es H. En otras realizaciones de la presente invención, R⁷ es C(O)R⁸.

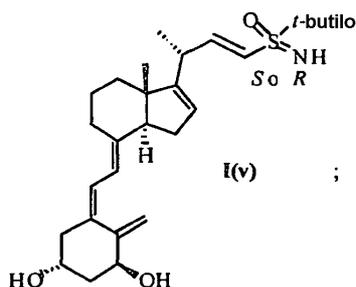
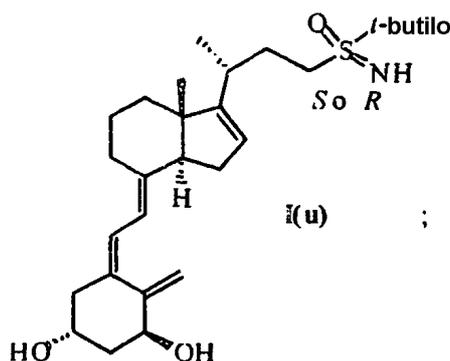
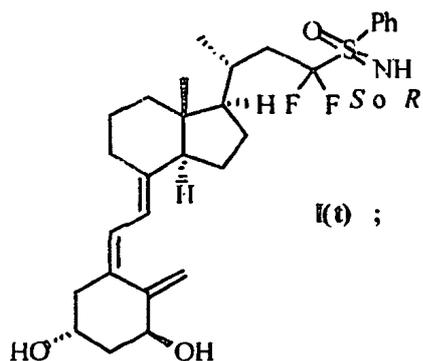
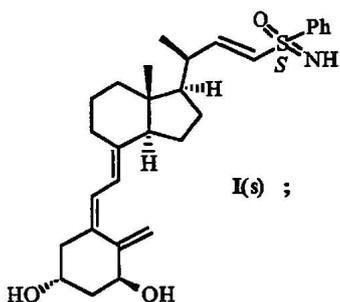
La presente invención incluye compuestos de Fórmula I en la que R⁸ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, aril-alquilo de C₁₋₄, arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo y heteroarilo está no sustituido o sustituido con 1-5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo. En realizaciones de la invención, R⁸ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, cicloalquilo de C₃₋₅, aril-alquilo de C₁₋₂, arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₄, cicloalquilo de C₃₋₅, arilo y heteroarilo está no sustituido o sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo. En otras realizaciones de la presente invención, R⁸ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, cicloalquilo de C₃₋₅, PhCH₂ y fenilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₄, cicloalquilo de C₃₋₅, PhCH₂ y fenilo está no sustituido o sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂, F y Cl. En aún otras realizaciones de la presente invención, R⁸ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, PhCH₂ y fenilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₄, PhCH₂ y fenilo está no sustituido o sustituido con 1 sustituyente seleccionado independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂, F y Cl. En incluso otras realizaciones, R⁸ se selecciona de entre el grupo constituido por metilo, t-butilo, PhCH₂ y fenilo.

La presente invención incluye los compuestos de Fórmula I en la que ---- representa un enlace sencillo o un doble enlace. Es una realización de la invención que el enlace entre C22 y C23 sea un enlace sencillo. Es otra realización que el enlace entre C16 y C17 sea un enlace sencillo. En todavía otra realización, tanto el enlace entre C22 y C23 como el enlace entre C16 y C17 son enlaces sencillos.

En una realización de la presente invención, cuando el enlace entre C16 y C17 es un doble enlace, R⁶ es alquilo de C₁₋₆, y R⁷ se selecciona de entre el grupo constituido por H y alquilo de C₁₋₆.

Todos los compuestos de Fórmula I tienen más de un centro asimétrico. Cuando los compuestos según la invención poseen más de un centro asimétrico, pueden existir como diastereómeros. Debe entenderse que todos los isómeros citados y sus mezclas en cualquier proporción están comprendidos dentro del alcance de la presente invención. La estereoquímica de los anillos A, C y D y en la posición C20 de los compuestos de la invención es preferentemente la de la 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ natural. La estereoquímica en el átomo de azufre de la sulfoximina puede ser R o S. Por consiguiente, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula I y sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables, hidratos, solvatos y profármacos (como se definen anteriormente) de los mismos que tienen la siguiente estereoquímica relativa:





5

y sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables, hidratos, solvatos y profármacos (como se definen anteriormente) de los mismos

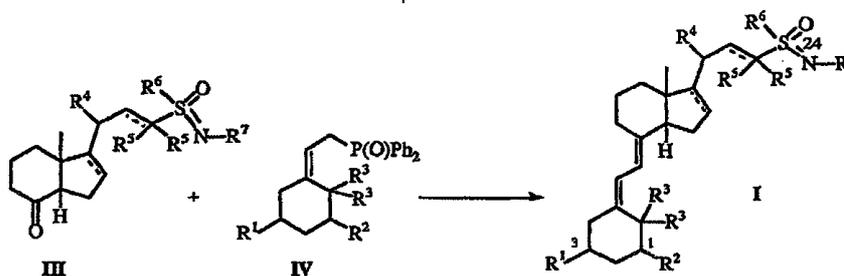
10 La presente invención incluye en su alcance profármacos (como se definen anteriormente) de los compuestos de la invención. En general, tales profármacos serán derivados funcionales de un compuesto de la invención que son fácilmente convertibles *in vivo* en el compuesto del que derivan conceptualmente. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de profármacos adecuados se describen, por ejemplo, en "Design of Prodrugs" ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

15 La presente invención incluye formas radiomarcadas de compuestos de la invención, por ejemplo compuestos de la invención marcados mediante incorporación de ^3H o ^{14}C , o un halógeno radioactivo tal como ^{125}I en la estructura.

20 III. Métodos de preparación de compuestos de la invención

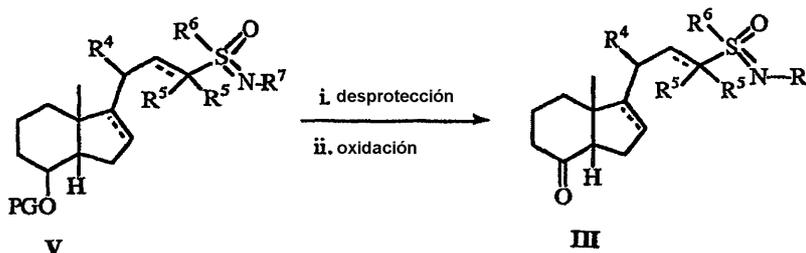
Según otro aspecto de la presente invención, los compuestos de la invención pueden prepararse por procedimientos análogos a los establecidos en la técnica. Por consiguiente, los compuestos de esta invención pueden prepararse, por ejemplo, mediante la secuencia de reacción mostrada en el Esquema 1:

Esquema 1



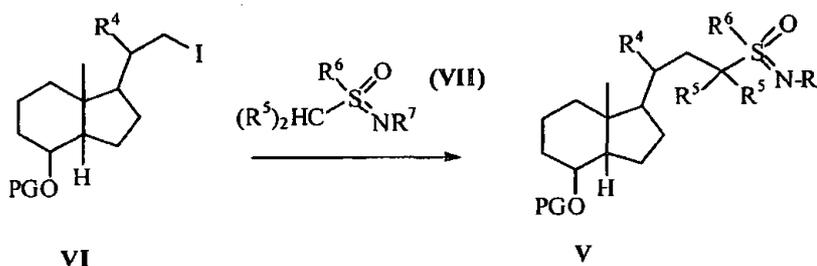
- 5 Las cetonas de Fórmula III, en las que R^4 - R^7 y ---- son como se definen en la Fórmula I, se pueden hacer reaccionar con óxidos de fosfina de Fórmula IV, en la que R^1 - R^3 son como se definen en la Fórmula I, en las condiciones de acoplamiento estándar de Horner-Wadsworth-Emmons (HWE). Por consiguiente, los óxidos de fosfina IV se tratan con una base fuerte, por ejemplo un alquil-litio tal como n-butillitio, en condiciones anhidras en una atmósfera inerte y disolvente, por ejemplo tetrahidrofurano (THF), a temperaturas comprendidas en el intervalo entre aproximadamente -60°C y aproximadamente -90°C , adecuadamente a aproximadamente -78°C . Al anión de óxido de fosfina intermedio resultante se le añade una disolución fría, preferentemente a aproximadamente -78°C , de una cetona III en un disolvente inerte tal como THF, mientras se mantienen las condiciones anhidras. Tras la eliminación de cualesquiera grupos protectores usando químicas estándar (si es necesario), pueden obtenerse los compuestos de Fórmula I.
- 15 Las cetonas de Fórmula III, en las que R^4 , R^5 , R^6 y R^7 son como se definen en la Fórmula I, pueden prepararse, por ejemplo, como se muestra en el Esquema 2:

Esquema 2



- 20 Las fenilsulfoximinas protegidas de forma adecuada V, en las que R^4 - R^7 y ---- son como se definen en la Fórmula I, y PG es un grupo protector adecuado, se desprotegen en primer lugar y a continuación se oxidan para proporcionar cetonas III. Por ejemplo, cuando PG es trialquilsililo, tal como trietilsililo, la desprotección se puede efectuar haciendo reaccionar los compuestos de Fórmula V con fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF) en un disolvente inerte, tal como THF, y en una atmósfera inerte, adecuadamente a aproximadamente temperatura ambiente. La oxidación del alcohol resultante puede realizarse, por ejemplo, usando dicromato de piridinio (PDC), o cualquier otro agente oxidante adecuado, en un disolvente inerte tal como cloruro de metileno, en condiciones estándar.
- 25 Los compuestos de Fórmula V, en los que R^4 - R^7 son como se definen en la Fórmula I, ---- es un enlace sencillo, y PG es un grupo protector adecuado, pueden obtenerse, por ejemplo, como se muestra en el Esquema 3:
- 30

Esquema 3



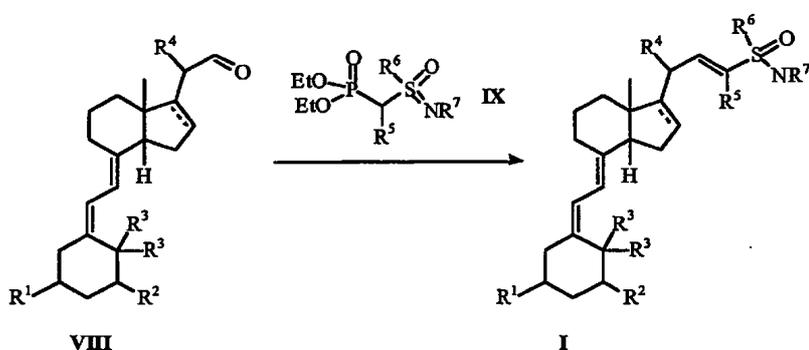
- 35 Los compuestos de Fórmula VI, en los que R^4 y ---- son como se definen en la Fórmula I, y PG es un grupo protector adecuado, pueden hacerse reaccionar con el anión de los compuestos de Fórmula VII, en la que R^5 - R^7 son como se definen en la Fórmula I, en condiciones anhidras a temperaturas comprendidas en el intervalo entre aproximadamente -60°C y aproximadamente -90°C , de manera adecuada a aproximadamente -78°C . Los aniones

de los compuestos de Fórmula VII pueden prepararse tratando los compuestos de Fórmula VII con una base fuerte, por ejemplo un alquil-litio tal como n-butil-litio, en condiciones inertes y en presencia de, por ejemplo, hexametil fosforamida (HMPA) o N, N, N', N'-tetrametiletilendiamina (TMEDA). Cuando R⁷ es H, se prefiere que el nitrógeno de la sulfoximina esté protegido con un grupo protector adecuado, por ejemplo un trialquilsilano, que se puede eliminar usando técnicas estándar después de la reacción de los compuestos de Fórmula VI con los compuestos de Fórmula VII.

Los compuestos de Fórmula V, en los que uno o ambos de R⁵ es fluoro, R⁴, R⁶, R⁷ y ---- son como se definen en la Fórmula I, y PG es un grupo protector adecuado, pueden prepararse también a partir de compuestos de Fórmula V, en los que ambos grupos R⁵ son H, mediante tratamiento de tales compuestos con uno o dos equivalentes, ya sea secuencialmente o juntos, de una base fuerte, tal como un alquil-litio, seguido de una fuente de "F⁺", tal como (PhSO₂)₂NF.

Los compuestos de Fórmula I, en los que R¹-R⁷ y ---- entre C16 y C17 son como se definen en la Fórmula I y ---- entre C22 y C23 es un doble enlace, pueden obtenerse, por ejemplo, como se muestra en el Esquema 4:

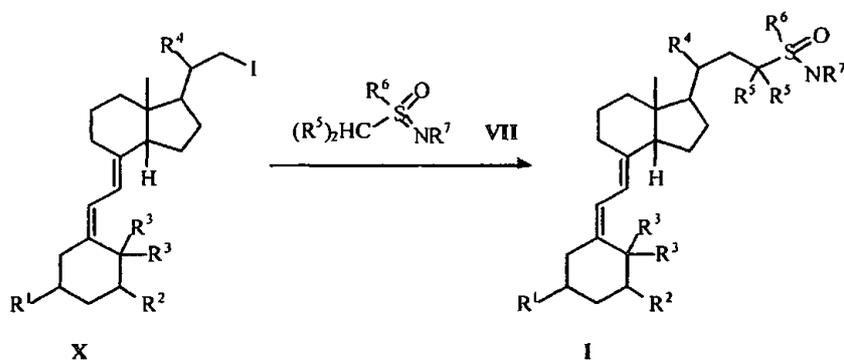
Esquema 4



Los compuestos de Fórmula VIII, en los que R¹-R⁴ y ---- son como se definen en la Fórmula I, pueden hacerse reaccionar con el anión de los compuestos de Fórmula IX, en la que R⁵-R⁷ son como se definen en la Fórmula I, en condiciones anhidras a temperaturas comprendidas en el intervalo entre aproximadamente -60°C y aproximadamente -90°C, de manera adecuada a aproximadamente -78°C. Los aniones de los compuestos de Fórmula IX pueden prepararse tratando los compuestos de Fórmula IX con una base fuerte, por ejemplo t-butoxido de potasio, en un disolvente inerte, por ejemplo tetrahidrofurano, en condiciones anhidras a temperaturas comprendidas en el intervalo entre aproximadamente -60°C y aproximadamente -90°C, de manera adecuada a aproximadamente -78°C. Cuando R⁷ es H, se prefiere que el nitrógeno de la sulfoximina en IX esté protegido con un grupo protector adecuado, por ejemplo un trialquilsilano, que se puede eliminar usando técnicas estándar después de la reacción de los compuestos de Fórmula VIII con los compuestos de Fórmula IX.

Los compuestos de Fórmula I, en los que R¹-R⁷ y ---- entre C16 y C17 son como se definen en la Fórmula I y ---- entre C22 y C23 es un doble sencillo, también pueden prepararse como se muestra en el Esquema 5:

Esquema 5

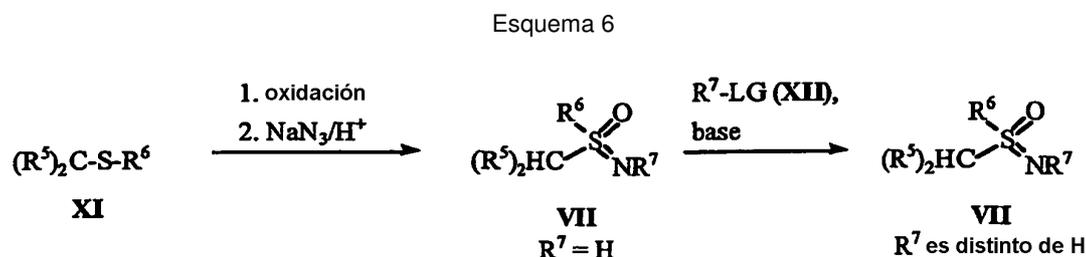


Los compuestos de Fórmula X, en los que R¹-R⁴ y ---- son como se definen en la Fórmula I, pueden hacerse reaccionar con el anión de los compuestos de Fórmula VII, en la que R⁵-R⁷ son como se definen en la Fórmula I, en condiciones anhidras a temperaturas comprendidas en el intervalo entre aproximadamente -60°C y aproximadamente -90°C, de manera adecuada a aproximadamente -78°C. Los aniones de los compuestos de Fórmula VII pueden prepararse tratando los compuestos de Fórmula VII con una base fuerte, por ejemplo un alquil-

litio, tal como n-butil-litio, en condiciones inertes y en presencia de, por ejemplo, hexametil fosforamida (HMPA) o N, N, N¹, N¹-tetrametiletilendiamina (TMEDA). Cuando R⁷ es H, se prefiere que el nitrógeno de la sulfoximina en VII esté protegido con un grupo protector adecuado, por ejemplo un trialquilsilano, que se puede eliminar usando técnicas estándar después de la reacción de los compuestos de Fórmula X con los compuestos de Fórmula VII.

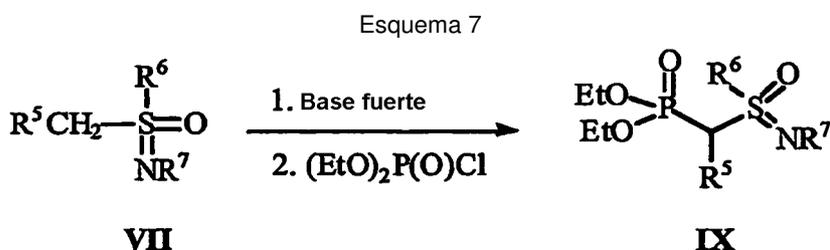
Los compuestos de Fórmula VII, en los que R⁵, R⁶ y R⁷ son como se definen en la Fórmula I, están comercialmente disponibles, o se pueden preparar usando métodos conocidos en la técnica (para la preparación de (±)-N,S-Dimetil-S-fenilsulfoximina: véanse Johnson, C.R.; Haake, M.; Schroeck. J. Am. Chem. Soc. 1970, 92, 6594 y Shiner, C. S.; Berks, A. H. J. Org. Chem. 1988, 53, 5542; para la preparación de (±)-S-Metil-S-Fenilsulfoximina: véase Johnson, C.R.; Haake, M.; Schroeck. J. Am. Chem. Soc. 1970, 92, 6594; y para la resolución, véanse: Brandt, J.; Gais, H-J. Tetrahedron; Asymmetry, 1997, 8, 909 y Shiner, C. S.; Berks, A. H. J. Org. Chem. 1988, 53, 5542; para la preparación de S-(4-metilfenil)-S-metilsulfoximina: véase Johnson, Carl R.; Kirchhoff, Robert A.; Corkins, H. Glenn. J. Org. Chem. 1974, 39(16), 2458-9; para la preparación de S-(4-metoxifenil)-S-metilsulfoximina: véase Akutagawa, Kunihiko; Furukawa, Naomichi; Oae, Shigeru. Phosphorus Sulfur 1984, 19(3), 369-74; para la preparación de S-(4-clorofenil)-S-metilsulfoximina: véase Oae, S.; Harada, K.; Tsujihara, K.; Furukawa, N. Int. J. Sulfur Chem., Part A 1972, 2(1), 49-61; para la preparación de S-(4-nitrofenil)-S-metilsulfoximina: véase Oae, S.; Harada, K.; Tsujihara, K.; Furukawa, N. Int. J. Sulfur Chem., Parte A 1972, 2(1), 49-61.

Como un ejemplo, los compuestos de Fórmula VII, en los que R⁵-R⁷ son como se definen en la Fórmula I, pueden prepararse como se muestra en el Esquema 6:



Los sulfuros de Fórmula XI, en los que R⁵ y R⁶ son como se definen en la Fórmula I, se pueden oxidar al sulfóxido correspondiente usando condiciones estándar, por ejemplo mediante tratamiento con un equivalente de mCPBA. Este sulfóxido se puede tratar entonces con azida de sodio y un ácido, por ejemplo ácido sulfúrico, en un disolvente inerte, tal como cloroformo, a una temperatura comprendida entre aproximadamente -10°C y aproximadamente 25°C, de forma adecuada a aproximadamente 0°C. Una vez que se ha añadido el ácido a la reacción, se puede dejar que la mezcla llegue hasta la temperatura ambiente, y se puede usar calentamiento moderado para empujar la reacción hasta la terminación. El compuesto resultante de Fórmula VII, en la que R⁷ es H, se puede hacer reaccionar con un compuesto de Fórmula XII, en la que R⁷ se selecciona de alquilo de C₁₋₆, C(O)R⁸ (siendo R⁸ como se define en la Fórmula I) o un grupo protector adecuado, por ejemplo un trialquilsilano, y LG es un grupo saliente adecuado, por ejemplo halógeno, en particular cloro, en condiciones de alquilación estándar, para proporcionar compuestos de Fórmula VII en la que R⁷ se selecciona de alquilo de C₁₋₆, C(O)R⁸ (siendo R⁸ como se define en la Fórmula I) o un grupo protector adecuado.

Los compuestos de Fórmula IX, en los que R⁵-R⁷ son como se definen en la Fórmula I, pueden prepararse, por ejemplo, de un compuesto de Fórmula VII, en los que R⁵-R⁷ son como se definen en la Fórmula I, como se muestra en el Esquema 7:



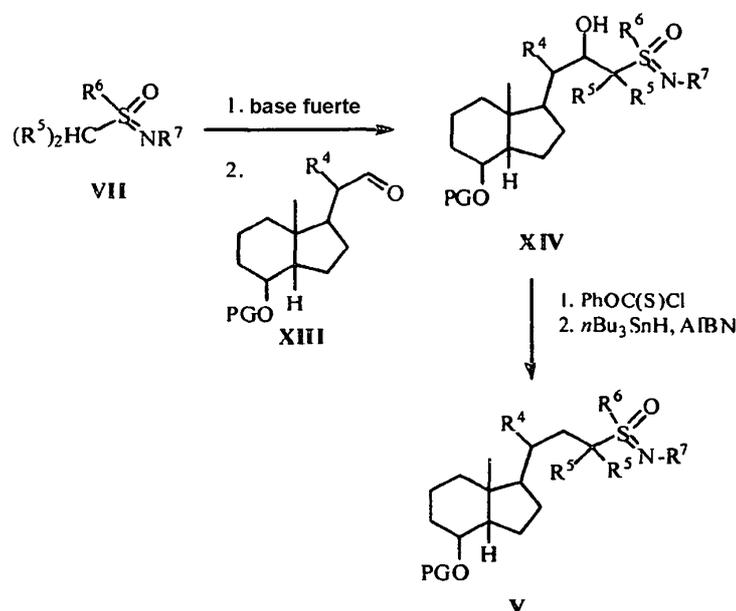
Los compuestos de Fórmula VII, en los que R⁵-R⁷ son como se definen en la Fórmula I, pueden tratarse en primer lugar con una base fuerte, por ejemplo un alquil-litio, en un disolvente inerte, por ejemplo tetrahidrofurano, en condiciones anhidras a temperaturas comprendidas en el intervalo entre aproximadamente -60°C y aproximadamente -90°C, de manera adecuada a aproximadamente -78°C, seguido de, por ejemplo, clorofosfato de dietilo, también en condiciones anhidras a temperaturas comprendidas en el intervalo entre aproximadamente -60°C y aproximadamente -90°C, de manera adecuada a aproximadamente -78°C, para proporcionar compuestos de Fórmula IX, en los que R⁵-R⁷ son como se definen en la Fórmula I. Cuando R⁷ es H, se prefiere que el nitrógeno de la sulfoximina en VII esté protegido con un grupo protector adecuado, por ejemplo un trialquilsilano, que se puede

eliminar usando técnicas estándar después de la reacción de los compuestos de Fórmula VII con el clorofosfato.

Una ruta alternativa a los compuestos de Fórmula V, en los que R^4 - R^7 y --- son como se definen en la Fórmula I, y PG es un grupo protector adecuado, se muestra en el Esquema 8

5

Esquema 8

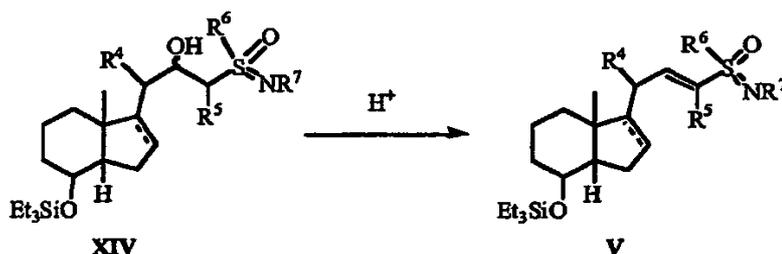


Los compuestos de Fórmula VII, en los que R^5 - R^7 son como se definen en la Fórmula I (cuando R^7 es H, se prefiere que el H esté sustituido por un grupo protector adecuado, por ejemplo un trialquilsilano, para la secuencia de reacción anterior), pueden tratarse con una base fuerte, por ejemplo un alquil-litio, en condiciones anhidras a temperaturas comprendidas en el intervalo entre aproximadamente -60°C y aproximadamente -90°C , de manera adecuada a aproximadamente -78°C , seguido de la adición de un compuesto de Fórmula XIII, en los que R^4 y --- son como se definen en la Fórmula I, y PG es un grupo protector adecuado, para proporcionar compuestos de Fórmula XIV, en los que R^4 - R^7 y --- son como se definen en la Fórmula I, y PG es un grupo protector adecuado. El grupo hidroxilo en C22 de los compuestos de Fórmula XIV se puede eliminar usando cualquier método conocido, por ejemplo usando química de radicales libres como se conoce en el Esquema 8, para proporcionar compuestos de Fórmula V, en los que R^4 - R^7 y --- son como se definen en la Fórmula I, y PG es un grupo protector adecuado. El esquema de reacción anterior es especialmente útil para la preparación de compuestos de Fórmula V en los que el enlace entre C16 y C17 es un doble enlace. Nuevamente, cuando R^7 es H, se prefiere que el nitrógeno de la sulfoximina en VII esté protegido con un grupo protector adecuado, por ejemplo un trialquilsilano, que se puede eliminar usando técnicas estándar después de terminar la secuencia de reacción anterior.

Los compuestos de Fórmula XIV, en los que R^4 , R^6 , R^7 y --- son como se definen en la Fórmula I, y al menos uno de R^5 es H, también pueden usarse para preparar un compuesto de Fórmula V, en el que R^4 , R^6 , R^7 y --- entre C16 y C17 son como se definen en la Fórmula I, al menos uno de R^5 es H y --- entre C22 y C23 es un doble enlace, mediante tratamiento con un ácido en condiciones estándar como se muestra en el Esquema 9. En los compuestos mostrados más abajo, es una realización de la invención que R^5 sea H

30

Esquema 9



La preparación de compuestos de Fórmula VI, en los que R^4 es como se define en la Fórmula I y PG es un grupo protector adecuado, es conocida en la técnica. Por lo tanto, los compuestos de Fórmula VI pueden prepararse como se describe en Posner, G. H. et al. J. Org. Chem. 1997, 62, 3299-3314, cuyos contenidos se incorporan aquí

35

como referencia.

La preparación de los compuestos de Fórmula IV, en los que R¹ y R² son como se definen en la Fórmula I, es conocida en la técnica. Por lo tanto, los compuestos de Fórmula IV pueden prepararse como se describe en Posner, G. H. et al. J. Med. Chem. 1992, 35, 3280-3287, cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia.

Los compuestos de Fórmula X, en los que R¹-R⁴ y ---- son como se definen en la Fórmula I, pueden prepararse a partir del alcohol correspondiente como se da a conocer en Manchand, S.M. et al. J. Org. Chem. 1995, 60, 6574-6581).

Los compuestos de Fórmula XIII, en los que R⁴ es como se define en la Fórmula I y ---- es un doble enlace, pueden prepararse como se describe en Lars, K.L. et al. J. Org. Chem. 2003, 68, 1367-1374. Los compuestos correspondientes en los que ---- es un enlace sencillo pueden prepararse mediante hidrogenación o reducción del doble enlace de C16-C17 usando metodologías estándar.

La preparación de compuestos enantioméricamente puros de Fórmula I puede llevarse a cabo usando los compuestos enantioméricamente puros de Fórmula III y IV en la reacción mostrada en el Esquema 1. En esta reacción, se obtiene típicamente una mezcla de los diastereómeros 1 α ,3 β y 1 β ,3 α , con el diastereómero 1 α ,3 β como el producto principal. Estos diastereómeros pueden separarse usando cromatografía, por ejemplo usando cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).

En algunos casos, las químicas mencionadas anteriormente pueden tener que ser modificadas, por ejemplo mediante el uso de grupos protectores, para impedir reacciones secundarias debidas a grupos reactivos, tales como los grupos reactivos unidos como sustituyentes. Esto puede conseguirse por medio de grupos protectores convencionales, por ejemplo como se describe en "Protective Groups in Organic Chemistry" McOmie, J. F. W. Ed., Plenum Press, 1973 y en Greene, T. W. y Wuts, P. G. M., "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1991.

La formación de solvatos de los compuestos de la invención variará dependiendo del compuesto y del solvato. En general, los solvatos se forman disolviendo el compuesto en el disolvente apropiado, y aislando el solvato mediante enfriamiento o usando un antisolvente. El solvato se seca o se destila azeotrópicamente típicamente en condiciones ambientales.

Los profármacos de los compuestos de la invención son ésteres convencionales formados con el grupo hidroxilo, tiol, amino o carbonilo disponible. Por ejemplo, cuando R¹ y/o R² es OH en un compuesto de la invención, pueden acilarse usando un ácido activado en presencia de una base, y opcionalmente, en disolvente inerte (por ejemplo, un cloruro ácido en piridina). Algunos ésteres habituales que se han usado como profármacos son los ésteres de fenilo, ésteres (C₈-C₂₄) alifáticos, ésteres de aciloximetilo, carbamatos y ésteres de aminoácidos.

Puede prepararse un compuesto radiomarcado de la invención usando métodos estándar conocidos en la técnica. Por ejemplo, puede incorporarse tritio en un compuesto de la invención usando técnicas estándar, por ejemplo por hidrogenación de un precursor adecuado a un compuesto de la invención que usa tritio gaseoso y un catalizador. Alternativamente, un compuesto de la invención que contiene yodo radioactivo puede prepararse a partir del derivado de trialquilestaño correspondiente (adecuadamente trimetilestaño) usando condiciones de yodación estándar, tal como yoduro de sodio [¹²⁵I] en presencia de cloramina-T en un disolvente adecuado, tal como dimetilformamida. El compuesto de trialquilestaño puede prepararse a partir del halocompuesto no radioactivo correspondiente, adecuadamente yodocompuesto, usando condiciones estándar de estannilación catalizada por paladio, por ejemplo hexametildiestaño en presencia de tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) en un disolvente inerte, tal como dioxano, y a temperaturas elevadas, adecuadamente 50-100°C.

IV. Usos

Como se ha mencionado anteriormente en la presente memoria, se han preparado nuevos compuestos de la Fórmula I. Por consiguiente, la presente invención comprende todos los usos de los compuestos de la invención, incluyendo su uso en métodos y composiciones terapéuticos para modular la actividad de CYP24, su uso en ensayos de diagnóstico y su uso como herramientas de investigación.

La inhibición de forma selectiva de la ruta enzimática del citocromo P450, a través de la cual se cataboliza la 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ (principalmente vía hidroxilación de C-24), es una vía importante para prolongar el tiempo de vida de esta hormona, o sus análogos. Por lo tanto, los compuestos de Fórmula I se analizaron *in vitro*, usando un protocolo estándar, para determinar su capacidad para inhibir específicamente CYP24, una enzima responsable de la 24-hidroxilación de la 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃. El quetoconazol antimicótico, un fármaco usado clínicamente para la quimioterapia del cáncer de próstata humano (Trachtenberg, J. et al. J. Urol. 1984, J32, 61-63), se usó como control para la inhibición de CYP24. Se ha demostrado que los compuestos I(a), I(c), I(e), I(g), I(i), I(j), I(k), I(l), I(m), I(n), I(o), I(p), I(q), I(r) y I(s) inhiben selectivamente el CYP24.

Modulando selectivamente la CYP24, se modulará también la enzima que metaboliza 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ y

las concentraciones de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ (ya sea endógena o administrada como parte de un régimen quimioterapéutico), o sus análogos. Las enfermedades que se benefician de una modulación, en particular un incremento, de las concentraciones de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ pueden por lo tanto tratarse usando un modulador de CYP24. Actuando preferentemente sobre CYP24, se pueden reducir los efectos secundarios causados por la interacción con otras enzimas y receptores. La invención incluye también un compuesto de la invención para uso para tratar enfermedades que se benefician de una modulación, en particular un incremento, de las concentraciones de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃. Además, la invención incluye un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento para tratar enfermedades que se benefician de una modulación, en particular un incremento, de las concentraciones de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃.

La inhibición de CYP24 inhibirá el catabolismo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o su análogo, que se espera que prolongue la vida biológica de estos compuestos, y de esta manera permitirá que se usen cantidades más pequeñas de ellos para un tratamiento eficaz de la enfermedad. Se espera que tal dosificación más pequeña impeda, o al menos minimice, la toxicidad hipercalcémica asociada con el uso medicinal de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ y sus análogos. Además, mediante la inhibición del catabolismo 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, los compuestos de la invención incrementarán los niveles endógenos de esta hormona, que tendrá efectos terapéuticos beneficiosos similares. La invención incluye también un compuesto de la invención para uso para tratar enfermedades que se benefician de inhibir el catabolismo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃. Además, la invención incluye un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento para tratar enfermedades que se benefician de inhibir el catabolismo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃.

Las enfermedades que se beneficiarán de una modulación en los niveles de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ incluyen, pero no se limitan a:

- i. en el paratiroides - hiper- e hipo-paratiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, hiperparatiroidismo secundario;
- ii. en el páncreas - diabetes;
- iii. en la tiroides - carcinoma medular;
- iv. en la piel - soriasis, cicatrización de heridas;
- v. en los pulmones - sarcoidosis y tuberculosis;
- vi. en el riñón - nefropatía crónica, VDRR hipofosfatémica, raquitismo dependiente de vitamina D;
- vii. en el hueso - tratamiento anticonvulsionante, fibrogénesis ósea imperfecta, osteítis fibrosa quística, osteomalacia, osteoporosis, osteopenia, osteosclerosis, osteodistrofia renal, raquitismo;
- viii. en los intestinos - antagonismo glucocorticoide, hipercalcemia idiopática, síndrome de malabsorción, esteatorrea y esprue tropical.
- ix. trastornos autoinmunitarios.

En realizaciones de la invención, la enfermedad que se beneficia de una modulación en los niveles de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, se selecciona de cáncer, trastornos dermatológicos (por ejemplo, soriasis), trastornos paratiroides (por ejemplo, hiperparatiroidismo e hiperparatiroidismo secundario), trastornos óseos (por ejemplo, osteoporosis), y trastornos autoinmunitarios.

Según un aspecto adicional de la presente invención, la enfermedad que se beneficia de una modulación, en particular un incremento, en los niveles de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, es un trastorno proliferativo celular. La invención también incluye un compuesto de la invención para uso para modular la proliferación celular (preferentemente para inhibir la proliferación celular) y/o promover la diferenciación celular. La invención incluye además un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento para modular la proliferación celular (preferentemente inhibir la proliferación celular) y/o promover la diferenciación celular.

En particular, el método de la invención es útil para inhibir la proliferación de células anormales pero no normales. Las células anormales incluyen cualquier tipo de célula que cause o esté implicada en una enfermedad o afección, y en las que sea deseable modular o inhibir la proliferación de la célula anormal, o promover su diferenciación, para tratar la enfermedad o afección. Los ejemplos de células anormales incluyen las células malignas o cancerosas, así como una célula que hiperprolifere en afecciones inflamatorias tales como soriasis.

En otra realización de la presente invención, la enfermedad que se beneficia de una modulación, en particular un incremento, en los niveles de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, es cáncer.

La invención también incluye un compuesto de la invención para uso para tratar cáncer. La invención incluye además un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento para tratar cáncer. En realizaciones de la invención, el cáncer se selecciona de entre el grupo constituido por cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de colon y colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer de piel, sarcoma de Kaposi y leucemia.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para modular la actividad de CYP24 en una célula administrando una cantidad eficaz de un compuesto de la invención. La presente invención también proporciona un compuesto de la invención para uso para modular, preferentemente inhibir, la actividad de CYP24. La presente invención proporciona además un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento para modular la actividad de CYP24, preferentemente inhibir, la actividad de CYP24.

Los compuestos de la invención pueden usarse solos o en combinación con otros agentes que modulan la actividad de la CYP24, o en combinación con otros tipos de tratamiento (que pueden modular o no la CYP24) para enfermedades que se benefician de una modulación, preferentemente un incremento, en los niveles de $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o un análogo de la misma, y/o una inhibición del catabolismo de $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o un análogo de la misma. Preferentemente, los compuestos de la invención se administran en combinación con $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 (calcitriol), un análogo de $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 u otros agonistas del receptor de vitamina D. La inhibición del catabolismo de agonistas del receptor de vitamina D tales como $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o análogos de la misma, prolongará el tiempo de vida biológico o eficacia de estas terapias, y de este modo permitirá usar menores cantidades del fármaco para la quimioterapia humana eficaz; tales menores dosificaciones evitarán, o al menos minimizarán, los efectos secundarios, por ejemplo la toxicidad hipercalcémica, asociados con el uso médico de estos compuestos. Además, la invención incluye un compuesto de la invención para uso para aumentar la eficacia de un agonista del receptor de vitamina D, y un uso de un compuesto de la invención para preparar un medicamento destinado a aumentar la eficacia de un agonista del receptor de vitamina D. En realizaciones de la invención, el agonista del receptor de vitamina D es $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 , o un análogo de la misma. Por análogo de $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 se quiere decir un análogo químicamente modificado de $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 que es un agonista del receptor de vitamina D y por lo tanto presenta un perfil terapéutico similar a $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 . Los ejemplos de tales compuestos se pueden encontrar en los siguientes artículos de repaso, cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia: Pinette, K.V et al. "Vitamin D Receptor as a Drug Discovery Target", *Mini Reviews in Med. Chem.* 2003, 3:193-204; Mathieu, C. y Adorini, L. "The Coming of Age of $1,25$ -Dihydroxy Vitamin D_3 Analogs as Immunomodulatory Agents", *Trends in Mol. Med.* 2002, 8:174-179; Carlberg, C. "Molecular Basis of the Selective Activity of Vitamin D Analogues", *J. Cell. Bio.* 2003, 88:274-281; Stein, M.S. y Wark, J.D. "An update on the therapeutic potential of vitamin D analogues", *Expert Opin. Invest. Drugs* 2003, 12:825-840; Bouillon, R. et al. "Structure-Function Relationships in the Vitamin D Endocrine System" *Endocr. Rev.* 1995, 16:200-257; y Nagpal, S. et al. "Vitamin D Analogs: Mechanism of Action and Therapeutic Applications", *Current Med. Chem.* 2001, 8:1661-1679.

Los tratamientos usados en combinación con los compuestos de la presente invención se pueden basar en el tipo de enfermedad, y no tienen que dirigirse específicamente contra la actividad de CYP24 o el VDR. En un aspecto particular de la presente invención, los compuestos de la invención se usan en combinación con otras terapias o productos terapéuticos para tratar trastornos dermatológicos, trastornos óseos, cáncer y enfermedades autoinmunitarias. Tales terapias incluyen, pero no se limitan a las siguientes: para cáncer: cirugía, radiación, quimioterapias y bioterapias; para soriasis: radiación ultravioleta B, quimioterapia y bioterapias.

Un experto en la materia puede determinar qué compuestos de la invención tendrían utilidad terapéutica, por ejemplo en la inhibición de la proliferación celular en cualquier tipo de cáncer o trastorno proliferativo celular. Los compuestos pueden examinarse en busca de su potencia en la inhibición del crecimiento celular en ensayos de proliferación celular, tales como la inhibición del crecimiento de queratinocitos murinos (estirpe celular PE), y para la inhibición de la actividad de ornitina descarboxilasa (ODC) inducida por TPA como se describe en la patente US nº 5.830.885, cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia.

Además del cáncer, los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de otras afecciones que implican proliferación celular aberrante o anormal. Otros trastornos proliferativos celulares que pueden tratarse mediante la presente invención incluyen enfermedades inflamatorias, alergias, enfermedades autoinmunitarias, rechazo del trasplante, soriasis, restenosis, arteroesclerosis, y cualquier otro trastorno en el que sea deseable inhibir, prevenir o suprimir la proliferación celular. Los compuestos de la invención pueden ensayarse para determinar su potencia en un trastorno de proliferación celular específico, usando ensayos y técnicas conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, las referencias siguientes proporcionan ensayos para varias enfermedades: artritis reumatoide: "Regulation of IL-15 - Simulated TNF-alpha Production by Rolipram", *Journal of Immunology* (1999) volumen 163 página 8236 por C. S. Kasyapa et al.; alergia: "A novel Lyn-Binding Peptide Inhibitor Blocks Eosinophil Differentiation, Survival, and Airway eosinophilic inflammation". *Journal of Immunology* (1999) volumen 163 página 939 por T. Adachi et al.; soriasis: *Journal of Immunology* (2000) volumen 165 página 224 "Inhibition of Keratinocyte apoptosis by IL-15: a new parameter in the pathogenesis of soriasis" por R. Üchert; y soriasis: *International Archives of allergy and Immunology* (2000) volumen 123 página 275. "T-cell receptor mimic peptides and their potential application in T-cell mediated disease" por A. H. Enk.

Los compuestos de la invención se formulan preferentemente en composiciones farmacéuticas para la administración a pacientes humanos en una forma biológicamente compatible, adecuada para la administración *in vivo*. Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención en mezcla con un diluyente o vehículo adecuado. La presente invención comprende además una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un agonista del receptor de vitamina D en mezcla con un diluyente o vehículo adecuado. En realizaciones de la invención, el agonista del receptor de vitamina D es 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃, o un análogo de la misma.

Las composiciones que contienen los compuestos de la invención pueden prepararse mediante métodos conocidos para la preparación de composiciones farmacéuticamente aceptables que pueden administrarse a pacientes, de modo que una cantidad eficaz de la sustancia activa se combine en una mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los vehículos adecuados se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences (Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., USA 1985). Sobre esta base, las composiciones incluyen, aunque no exclusivamente, disoluciones de las sustancias en asociación con uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables, y están contenidas en disoluciones tamponadas con un pH adecuado e isoosmótico con los fluidos fisiológicos.

Los compuestos de la invención pueden usarse farmacéuticamente en forma de la base libre, en forma de solvatos y como hidratos. Todas las formas están comprendidas dentro del alcance de la invención.

Según los usos de la invención, los compuestos descritos o sus solvatos pueden administrarse a un paciente en una variedad de formas, dependiendo de la vía de administración seleccionada, como apreciará cualquier experto en la materia. Las composiciones de la invención pueden administrarse, por ejemplo, por administración oral, parenteral, bucal, sublingual, nasal, rectal, en parches, con bomba o transdérmica (tópica), y las composiciones farmacéuticas pueden formularse en consecuencia. La administración parenteral incluye los modos de administración intravenoso, intraperitoneal, subcutáneo, intramuscular, transepitelial, nasal, intrapulmonar, intratecal, rectal y tópico. La administración parenteral puede ser por infusión continua durante un periodo de tiempo seleccionado.

Un compuesto de la invención se puede administrar por vía oral, por ejemplo con un diluyente inerte o con un portador comestible asimilable, o puede encerrarse en cápsulas de gelatina de cubierta dura o blanda, o puede comprimirse en comprimidos, o puede incorporarse directamente con el alimento de la dieta. Para la administración terapéutica oral, el compuesto de la invención puede incorporarse con excipiente y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, u obleas.

Un compuesto de la invención se puede administrar también por vía parenteral. Las disoluciones de un compuesto de la invención pueden prepararse en agua mezclada de forma adecuada con un tensioactivo tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones pueden prepararse también en glicerol, polietilenglicoles líquidos, DMSO y mezclas de los mismos con o sin alcohol, y en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos. Un experto en la materia conoce cómo preparar formulaciones adecuadas. Los procedimientos e ingredientes convencionales para la selección y preparación de formulaciones adecuadas se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences (1990 - 18^a edición) y en The United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19) publicada en 1999.

Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen disoluciones o dispersiones acuosas esterilizadas y polvos esterilizados para la preparación extemporánea de disoluciones o dispersiones inyectables esterilizadas. En todos los casos, la forma debe estar esterilizada, y debe ser fluida hasta el punto en que se produzca una fácil inyectabilidad. Las ampollas son dosificaciones unitarias convenientes.

Las composiciones para administración nasal pueden formularse convenientemente en forma de aerosoles, gotas, geles y polvos. Las formulaciones en aerosol comprenden típicamente una disolución o suspensión fina de la sustancia activa en un disolvente acuoso o no acuoso fisiológicamente aceptable, y se presentan normalmente en cantidades individuales o en múltiples dosis en forma esterilizada en un recipiente sellado, que puede tener la forma de un cartucho o de relleno para su uso con un disolvente de atomización. Alternativamente, el recipiente sellado puede ser un dispositivo de dosificación unitaria, tal como un inhalador nasal de una sola dosis o un dosificador de aerosol provisto de una válvula de dosificación que está pensado para su eliminación después del uso. Cuando la forma galénica comprende un dosificador de aerosol, contendrá un propelente que puede ser un gas comprimido, tal como aire comprimido, o un propelente orgánico, tal como fluoroclorohidrocarburo. Las formas galénicas de aerosol pueden también tener la forma de un atomizador de bomba.

Las composiciones adecuadas para administración bucal o sublingual incluyen comprimidos, tabletas y pastillas, en las que el ingrediente activo se formula con un vehículo tal como azúcar, goma arábiga, tragacanto o gelatina y glicerina. Las composiciones para administración rectal están convencionalmente en forma de supositorios que contienen una base de supositorio convencional, tal como manteca de cacao.

- Las composiciones para la administración tópica pueden incluir, por ejemplo, propilenglicol, alcohol isopropílico, aceite mineral y glicerina. Las preparaciones adecuadas para la administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semi-líquidas tales como linimentos, lociones, aplicadores, emulsiones de aceite en agua o de agua en aceite tales como cremas, ungüentos o pastas; o disoluciones o suspensiones tales como gotas. Además de los ingredientes mencionados anteriormente, las preparaciones tópicas pueden incluir uno o más ingredientes adicionales tales como diluyentes, tampones, agentes saborizantes, aglutinantes, agentes tensioactivos, espesantes, lubricantes, conservantes, por ejemplo hidroxibenzoato de metilo (incluyendo anti-oxidantes), agentes emulsionantes y similares.
- Se pueden formular composiciones de liberación sostenida o de liberación directa, por ejemplo liposomas o aquellas en las que el compuesto activo está protegido con revestimientos degradables de forma diferente, tales como mediante microencapsulamiento, revestimientos múltiples, etc. También es posible liofilizar los compuestos de la invención y usar los liofilizados obtenidos, por ejemplo para la preparación de productos para inyección.
- Los compuestos de la invención pueden administrarse a un animal solos o en combinación con vehículos farmacéuticamente aceptables, como se ha señalado anteriormente, cuya proporción se determina por la solubilidad y naturaleza química del compuesto, la vía de administración seleccionada y la práctica farmacéutica habitual.
- La dosificación de los compuestos y/o de las composiciones de la invención puede variar dependiendo de muchos factores, tales como las propiedades farmacodinámicas del compuesto, el modo de administración, la edad, salud y peso del receptor, la naturaleza y alcance de los síntomas, la frecuencia del tratamiento y el tipo de tratamiento simultáneo, si existe, y la tasa de eliminación del compuesto en el animal que va a tratarse. Un experto en la materia puede determinar la dosificación apropiada basándose en los factores anteriores. Por ejemplo, en el tratamiento tópico, se pueden administrar ungüentos, cremas o lociones que contienen de 1-1000 µg/g de un compuesto de la invención. Pueden formularse preparaciones orales, preferentemente como comprimidos, cápsulas o gotas, que contienen de 0,5-1000 µg de un compuesto de la invención por unidad de dosificación. Los compuestos de la invención pueden administrarse inicialmente en una dosis adecuada que puede ajustarse según se requiera, dependiendo de la respuesta clínica. Para el tratamiento *ex vivo* de células durante un periodo corto, por ejemplo durante 30 minutos a 1 hora o más, pueden usarse dosis mayores del compuesto que para la terapia in vivo de larga duración.
- Además de los usos terapéuticos mencionados anteriormente, los compuestos de la invención son útiles también en ensayos de diagnóstico, ensayos de identificación y como herramientas para investigación.
- En el ensayos de diagnóstico, los compuestos de la invención pueden ser útiles en la identificación o detección de un trastorno proliferativo celular. En dicha realización, los compuestos de la invención pueden radiomarcarse (como se ha descrito anteriormente en la presente memoria) y ponerse en contacto con una población de células. La presencia del producto radiomarcado en las células puede indicar un trastorno proliferativo celular.
- En los ensayos de identificación, los compuestos de la invención pueden usarse para identificar otros compuestos que modulen la proliferación celular o la actividad de CYP24. Como herramientas de investigación, los compuestos de la invención pueden usarse en ensayos de unión al receptor y ensayos para estudiar la localización de CYP24. En dichos ensayos, los compuestos pueden también estar radiomarcados.
- Los siguientes ejemplos no limitativos son ilustrativos de la presente invención:

Ejemplos

50 Materiales y métodos para los Ejemplos 1-20

A menos que se indique de otro modo, todas las reacciones se llevaron a cabo en material de vidrio secado en estufa, agitado a una atmósfera de argón de pureza ultra elevada. El THF se destiló en Na/cetil benzofenona, y el CH₂Cl₂ se destiló en CaH₂ inmediatamente antes de su uso. Los compuestos de organolitio se valoraron antes del uso siguiendo métodos conocidos (Suffert, J. J. Org. Chem. 1989, 54, 509-510). Todos los demás reactivos se usaron tal como se recibieron de los proveedores comerciales. El análisis por TLC analítica se realizó en placas de gel de sílice sobre soporte de vidrio recubiertas previamente (Merck Kieselgel 60 F₂₅₄, de 250 mm de grosor) y se visualizaron con tinción con *p*-anisaldehído o con KMnO₄. La cromatografía en columna se llevó a cabo como se da a conocer por Still et al. J. Org. Chem. 1978, 43, 1404, sobre gel de sílice ultrarrápida (tamaño de partícula: malla 230-400). La cromatografía de líquidos de presión media (MPLC) se llevó a cabo con una bomba FMI y una columna de gel de sílice empaquetada previamente (Merck, Labor Columns, LiChroprep Si 60, 40-63 mm). La HPLC se llevó a cabo usando un sistema Rainin HPLX™ equipado con cabezales de bombas preparativas de 25 ml/min usando (1) una columna (semipreparativa) Chiral Technologies CHIRALCEL® OJ de 10 mm x 250 mm, empaquetada con tris(4-metilbenzoato) de celulosa sobre un sustrato de gel de sílice de 10 µm, o (2) una columna (semipreparativa) Phenomenex LUNA™ 10 mm x 250 mm, empaquetada con gel de sílice de 110 Å (tamaño de poros de 5 µm) como sílice ligada a C-18 y un detector de longitud de onda variable de doble haz Rainin Dynamax™

UV-C ajustado a 254 nm. Los rendimientos se dan para productos puros (>95% basado en su homogeneidad cromatográfica y espectroscópica), y no están optimizados. Los puntos de fusión se determinaron en capilares abiertos, usando un aparato de bloque de metal Mel-Temp, y están sin corregir. Las rotaciones ópticas se midieron en la línea de Na usando un polarímetro JASCO, modelo P-1100 (Japan Spectroscopic Co.). Los espectros de RMN se obtuvieron en un espectrómetro XL-400 de Varian que funciona a 400 MHz para ^1H , 376 MHz para ^{19}F y 100 MHz para ^{13}C , y en un espectrómetro Bruker 300 AMX que funciona a 300 MHz para ^1H . Los desplazamientos químicos se dan en ppm (δ) y están referidos a CDCl_3 (7,26 ppm para ^1H y 77,0 ppm para ^{13}C), tetrametilsilano (TMS, 0,00 ppm para ^1H), y CFCl_3 (0,00 ppm para ^{19}F). Los espectros infrarrojos (IR) se obtuvieron usando un instrumento de FT-IR de la serie 1600 de Perkin Elmer. Los espectros de HRMS (espectros de masas de alta resolución) se obtuvieron en la instalación de espectrometría de masa en la Ohio State University en un espectrómetro de masas por electroatomización Micromass QTOF. La (-)-(R)-N-trimetilsilil-S-metil-S-fenilsulfoximina y la (+)-(S)-N-trimetilsilil-S-metil-S-fenilsulfoximina se prepararon como se da a conocer previamente (véanse Hwang, K-J. J. Org. Chem. 1986, 51, 99-101. b) Hwang, K-J.; Logusch, E. W.; Brannigan, L. J. Org. Chem. 1987, 52, 3435-3441. La N-alkilación de la S-metil-S-fenilsulfoximina se llevó a cabo como se da a conocer previamente (véanse Johnson, C.R.; Lavergne, O. M. J. Org. Chem. 1993, 58, 1922, y Raguse, B.; Ridley, D. D. Aust. J. Chem. 1986, 39, 1655). La (-)-(R)-S-metil-S-fenilsulfoximina, la (+)-(S)-S-metil-S-fenilsulfoximina, la (-)-(R)-N,S-dimetil-S-fenilsulfoximina y la (+)-(S)-N,S-dimetil-S-fenilsulfoximina se obtuvieron a partir de Fuentes comerciales.

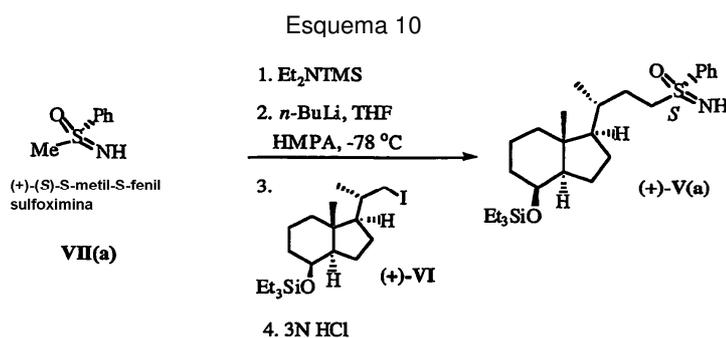
Ejemplo 1: Procedimiento general para la preparación de compuestos de la Fórmula V, en los que R^7 es hidrógeno, y C22-C23 es un enlace sencillo.

Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un condensador de reflujo, y un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con la sulfoximina VII apropiada (50 mg, 0,32 mmoles), y se disolvió en 0,6 ml de acetonitrilo anhidro para dar una disolución 0,5 M. Después, el matraz se colocó en un baño de aceite a 60°C . A esta disolución se añadió Et_2NTMS (72 μl , 0,38 mmoles) vía una jeringuilla gota a gota durante varios minutos. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se dejó agitar a 60°C durante aprox. 30 minutos. Cuando la cromatografía de capa fina (TLC) mostró el consumo total del material de partida, el matraz se enfrió hasta la temperatura ambiente. La mezcla se concentró *a vacío* para dar el producto N-trimetilsilil sulfoximina, esencialmente puro según se determina mediante RMN ^1H . Éste se usó sin purificación adicional.

Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, y un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con la N-trimetilsilil sulfoximina VII apropiada (73 mg, 0,32 mmoles) disuelta en 3,2 ml de THF recientemente destilado y 0,32 ml de HMPA. Después, el matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadieron 0,23 ml de *n*-BuLi (0,33 mmoles, disolución 1,44 M en hexanos) gota a gota durante varios minutos, durante cuyo tiempo se desarrolló un color amarillo pálido. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 30 min. adicionales, y después se calentó hasta 0°C durante 10 min. El matraz se volvió a enfriar hasta -78°C . Mientras tanto, un matraz con forma de pera, de 10 ml secado a la llama, equipado con un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con yoduro de (+)-VI (50 mg, 0,11 mmoles) disuelto en 0,5 ml de THF recientemente destilado, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de yoduro de (+)-VI se transfirió al matraz que contiene la sulfoximina litiada a -78°C , vía una *cánula* durante varios minutos. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se calentó gradualmente hasta la temperatura ambiente, y se agitó a esta temperatura durante alrededor de 10 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La reacción se paralizó mediante adición de 2 ml de HCl 3N acuoso, y se dejó agitar durante 30 minutos. La mezcla se diluyó con éter dietílico, y se basificó usando NaOH 1H acuoso hasta que se alcanzó un pH de alrededor de 9, y después se enjuagó en un embudo de separación con éter dietílico. La mezcla se extrajo con éter dietílico (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml), y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida.

a) Alcohol protegido con trietilsililo (+)-V(a). Según el procedimiento general para la preparación de los compuestos de la fórmula V, en la que R^7 es un hidrógeno como se describe anteriormente, la (+)-(S)-S-metil-S-fenil sulfoximina VII(a) dio un compuesto de la fórmula (+)-V(a) como se muestra en el Esquema 10:

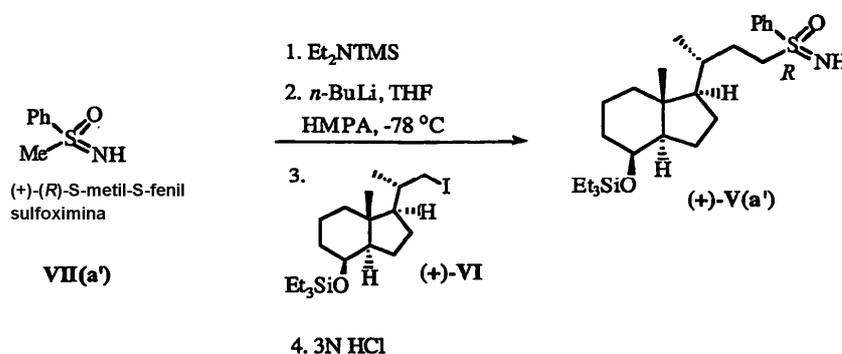
55



La cromatografía en columna ultrarrápida eluida con acetato de etilo al 50% en hexanos, proporcionó 28 mg de (+)-V(a) con un rendimiento de 53%. Datos para (+)-V(a): $[\alpha]_D^{25} = +43,4$ ($c = 1,4$, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,98-7,93 (m, 2H), 7,64-7,50 (m, 3H), 4,0 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 3,20 (ddd, 1H, $J = 4,4$ Hz, $J = 12,4$ Hz, $J = 13,6$ Hz), 3,02 (ddd, 1H, $J = 4,4$ Hz, $J = 11,6$ Hz, $J = 13,6$ Hz), 2,67 (br, 1H), 1,86 (d, 1H, $J = 12,4$ Hz), 1,80-1,63 (m, 4H), 1,56-1,4 (m, 3H), 1,36-1,26 (m, 3H), 1,20-1,00 (m, 4H), 0,93 (t, 9H, $J = 8,4$ Hz), 0,84 (s, 3H), 0,83 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz), 0,54 (q, 6H, $J = 8,4$ Hz). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 141,9, 132,9, 129,1, 128,3, 69,2, 55,9, 54,8, 52,9, 42,1, 40,6, 34,5, 34,1, 28,6, 26,9, 22,8, 18,3, 17,6, 13,4, 6,9, 4,9. IR (película delgada) 3271 (br, w), 2949 (s), 2875 (s), 1445 (m), 1224 (br, s), 1163 (m), 1091 (sh, m), 1017 (br, s), 742 (m) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_2\text{SSiNa}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]$: 486,2832 Encontrado: 486,2829.

b) Alcohol protegido con trietilsililo (+)-V(a'). Según el procedimiento general para la preparación de los compuestos de la fórmula V, en la que R^7 es un hidrógeno como se describe anteriormente, la (-)-(*R*)-S-metil-S-fenil sulfoximina VII(a') dio un compuesto de la Fórmula (+)-V(a') como se muestra en el Esquema 11:

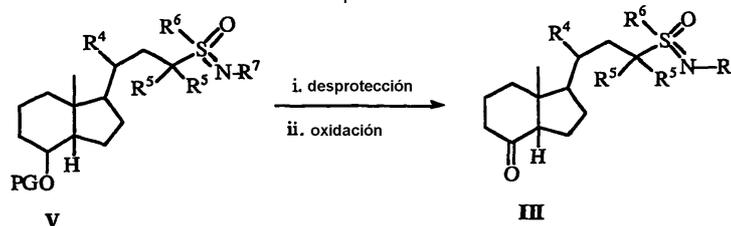
Esquema 11



La cromatografía en columna ultrarrápida eluida con acetato de etilo al 50% en hexanos proporcionó 38 mg del producto de alquilación (+)-V(a') como un aceite viscoso, con un rendimiento del 72%. Datos para (+)-V(a'): $[\alpha]_D^{25} = +37,1$ ($c = 1,8$, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,97-7,93 (m, 2H), 7,64-7,49 (m, 3H), 4,0 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 3,17 (ddd, 1H, $J = 4,8$, 12,4, 13,6 Hz), 3,06 (ddd, 1H, $J = 4,4$, 12,0, 13,6 Hz), 2,68 (s, br, 1H), 1,88-1,71 (m, 3H), 1,66-1,44 (m, 4H), 1,42-1,25 (m, 4H), 1,19-1,00 (m, 4H), 0,93 (t, 9H, $J = 8,0$ Hz), 0,84 (s, 3H), 0,83 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz), 0,53 (q, 6H, $J = 8,0$ Hz). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 141,8, 132,9, 129,1, 128,3, 69,2, 55,8, 54,7, 52,9, 42,1, 40,6, 34,5, 34,1, 28,6, 26,9, 22,8, 18,3, 17,5, 13,4, 6,9, 4,9. IR (película delgada) 3283 (br, w), 2948 (s), 2874 (s), 1445 (m), 1222 (br, s), 1163 (m), 1092 (sh, m), 1017 (br, s), 973 (br, m), 742 (m) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_2\text{SSiNa}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]$: 486,2832 Encontrado: 486,2825.

Ejemplo 2: Procedimiento general para la preparación de cetonas III con anillo C,D, en las que R^7 es hidrógeno, y C22-C23 es un enlace sencillo

Esquema 12



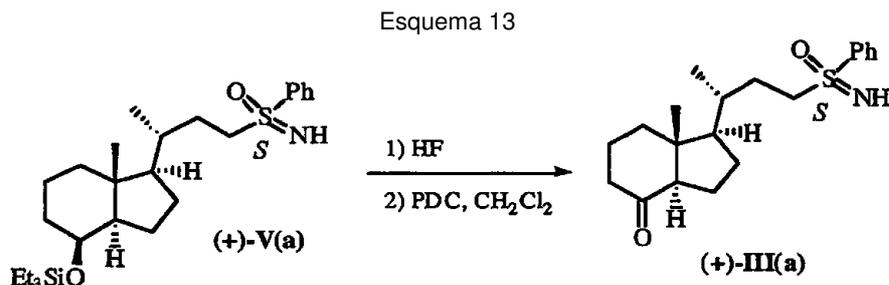
Método general de desprotección

Un vial de polipropileno de 5 ml purgado con argón, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con alcohol protegido con trietilsililo apropiado (30 mg, 0,065 mmoles) disuelto en 1,6 ml de acetonitrilo anhidro, para dar una disolución aprox. 0,04 M. A esta disolución bien agitada se añadieron 0,26 ml de HF (0,46 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y la mezcla se dejó agitar entonces a temperatura ambiente en la oscuridad durante 4 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. Esta mezcla de reacción se diluyó con éter (25 ml), y se añadió una disolución saturada de NaHCO_3 hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (4 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto.

Método general de oxidación

Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con el alcohol apropiado (15 mg, 0,043 mmoles) disuelto en 1 ml de CH₂Cl₂ recientemente destilado, para dar una disolución aprox. 0,04 M. Después, a esta disolución se añadieron, en una porción a temperatura ambiente, PDC (34 mg, 0,09 mmoles) y 21 mg de Celite secada en estufa. La mezcla resultante se dejó agitar a la temperatura ambiente durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se purificó directamente mediante cromatografía en columna.

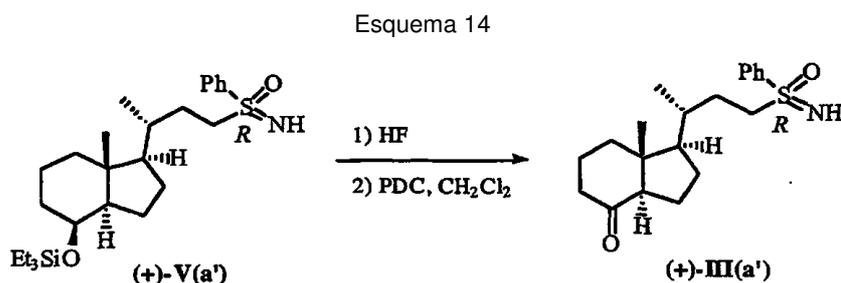
Ejemplo 2 (a): Preparación de cetona (+)-III(a) con anillo CD:



Se preparó una disolución de alcohol protegido con trietilsililo (+)-V(a) (30 mg, 0,065 mmoles) disuelto en 1,6 ml de acetonitrilo anhidro para dar una disolución aprox. 0,04 M. A esta disolución bien agitada se añadieron 0,26 ml de HF (0,46 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y la mezcla se dejó agitar entonces a temperatura ambiente en la oscuridad durante 4 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. Esta mezcla de reacción se diluyó con éter (25 ml), y se añadió una disolución saturada de NaHCO₃ hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (4 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto. La cromatografía en columna ultrarrápida eluida con 100% de acetato de etilo proporcionó 19,4 mg del alcohol correspondiente como un aceite viscoso con un rendimiento de 86%. Datos para el alcohol correspondiente: $[\alpha]_D^{25} = +30,2$ (c = 1,45, CHCl₃) RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,97-7,95 (m, 2H), 7,64-7,53 (m, 3H), 4,05 (br, 1H), 3,20 (ddd, 1H, J = 4,4, 12,0, 13,6 Hz), 3,03 (ddd, 1H, J = 4,4, 12,0, 13,6 Hz), 2,67 (s, br, 1H), 1,93-1,68 (m, 6H), 1,58-1,37 (m, 5H), 1,30-0,95 (m, 5H), 0,87 (s, 3H), 0,84 (d, 3H, J = 6,4 Hz). RMN ¹³C (PDCl₃, 100 MHz): δ 141,9, 132,9, 129,1, 128,3, 69,0, 55,8, 54,8, 52,4, 41,8, 40,2, 34,1, 33,5, 28,5, 26,8, 22,3, 18,2, 17,3, 13,4. IR (película delgada) 3436 (br, w), 3330 (br, w), 2934 (s), 2871 (s), 1445 (m), 1373 (w), 1219 (br, s), 1161 (w), 1097 (sh, m), 989 (s, m), 753 (s) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₂₀H₃₁NO₂SNa⁺ [M+Na]; 372,1967 Encontrado: 372,1968.

El alcohol correspondiente (15 mg, 0,043 mmoles) se disolvió en 1 ml de CH₂Cl₂ recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,04 M. Después, a esta disolución se añadieron en una porción a temperatura ambiente PDC (34 mg, 0,09 mmoles) y 21 mg de Celite secada en estufa. La mezcla resultante se dejó agitar a la temperatura ambiente durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se purificó directamente mediante cromatografía en columna. La cromatografía en columna ultrarrápida eluida con 100% de acetato de etilo proporcionó 12 mg de cetona (+)-III(a) con un rendimiento del 81%. Datos para (+)-III(a): $[\alpha]_D^{25} = +9,2$ (c = 0,4, CHCl₃) RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,98-7,95 (m, 2H), 7,65-7,54 (m, 3H), 3,21 (ddd, 1H, J = 4,4, 12,0, 13,6 Hz), 3,04 (ddd, 1H, J = 4,4, 12,0, 13,6 Hz), 2,67 (s, 1H), 2,42 (dd, 1H, J = 8,0 Hz, J = 11,6 Hz), 2,30-2,16 (m, 2H), 2,05-1,95 (m, 2H), 1,93-1,65 (m, 5H), 1,60-1,35 (m, 4H), 1,27-1,19 (m, 1H), 0,91 (d, 3H, J = 6,4 Hz), 0,58 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 211,6, 141,9, 133,0, 129,2, 128,3, 61,7, 55,9, 54,7, 49,7, 40,8, 38,8, 34,4, 28,6, 27,2, 23,9, 18,9, 18,4, 12,4. IR (película delgada) 3271 (w), 2942 (s), 2872 (s), 1701 (s), 1437 (sh, m), 1378 (w), 1219 (br, s), 1102 (w), 978 (m), 755 (w) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₂₀H₂₉NO₂SNa⁺ [M+Na]; 370,1811 Encontrado: 370,1793.

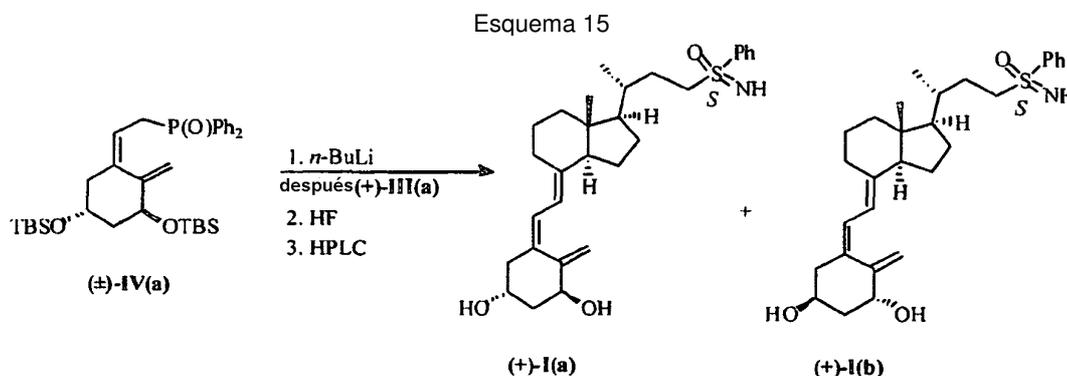
Ejemplo 2 (b): Preparación de cetona (+)-III(a') con anillo CD



Se preparó una disolución de alcohol protegido con trietilsililo (+)-V(a') (30 mg, 0,065 mmoles) disuelto en 1,6 ml de acetonitrilo anhidro para dar una disolución aprox. 0,04 M. A esta disolución bien agitada se añadieron 0,26 ml de HF (0,46 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y la mezcla se dejó agitar entonces a temperatura ambiente en la oscuridad durante 4 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. Esta mezcla de reacción se diluyó con éter (25 ml), y se añadió una disolución saturada de NaHCO₃ hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (4 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto. La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 100% de acetato de etilo proporcionó 20,1 mg del alcohol correspondiente como un aceite viscoso con un rendimiento del 89%. Datos para el alcohol correspondiente: $[\alpha]_D^{25} = +23,7$ (c = 1,45, CHCl₃) RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,99-7,96 (m, 2H), 7,66-7,54 (m, 3H), 4,07 (br, 1H), 3,19 (ddd, 1H, J = 4,8, 12,4, 13,6 Hz), 3,07 (ddd, 1H, J = 4,4, 11,6, 13,6 Hz), 2,68 (s, br, 1H), 1,95-1,78 (m, 4H), 1,75-1,62 (m, 2H), 1,58-1,36 (m, 5H), 1,32-0,95 (m, 5H), 0,89 (s, 3H), 0,87 (d, 3H, J = 6,4 Hz). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 1,41,9, 132,9, 129,1, 128,3, 69,0, 55,7, 54,7, 52,4, 42,8, 40,2, 34,1, 33,5, 28,5, 26,8, 22,3, 18,2, 17,3, 13,4. IR (película delgada) 3448 (br, w), 3330 (br, w), 2935 (s), 2871 (s), 1445 (m), 1219 (br, s), 1098 (sh, m), 1078 (br, s), 990 (s), m), 753 (s) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₂₀H₃₁NO₂SNa⁺ [M+Na]: 372,1967 Encontrado: 372,1981.

El alcohol correspondiente (15 mg, 0,043 mmoles) se disolvió en 1 ml de CH₂Cl₂ recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,04 M. Después, a esta disolución se añadieron en una porción a temperatura ambiente PDC (34 mg, 0,09 mmoles) y 21 mg de Celite secada en estufa. La mezcla resultante se dejó agitar a temperatura ambiente durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se purificó directamente mediante cromatografía en columna. La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 100% de acetato de etilo proporcionó 13 mg de cetona (+)-III(a') con un rendimiento del 87%. Datos para (+)-III(a'): $[\alpha]_D^{25} = +8,0$ (c = 0,4, CHCl₃) RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,98-7,95 (m, 2H), 7,65-7,54 (m, 3H), 3,18 (ddd, 1H, J = 4,8, 12,0, 13,6 Hz), 3,08 (ddd, 1H, J = 4,8, 12,0, 13,6 Hz), 2,67 (s, 1H), 2,41 (dd, 1H, J = 7,6 Hz, J = 10,8 Hz), 2,30-2,16 (m, 2H), 2,06-1,95 (m, 2H), 1,93-1,80 (m, 2H), 1,78-1,64 (m, 3H), 1,57-1,33 (m, 4H), 1,27-1,19 (m, 1H), 0,92 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 0,59 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 211,6, 141,9, 133,0, 129,1, 128,3, 61,7, 55,8, 54,6, 49,7, 40,8, 38,8, 34,4, 28,6, 27,1, 23,9, 18,9, 18,4, 12,4. IR (película delgada) 3271 (w), 2954 (s), 2872 (s), 1701 (s), 1443 (sh, m), 1219 (br, s), 1096 (s), 978 (m), 749 (w) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₂₀H₂₉NO₂SNa⁺ [M+Na]: 370,1811 Encontrado: 370,1809.

Ejemplo 3a: 24-Fenil sulfoximas I(a) y I(b)



Antes de la reacción, el óxido de fosfina (±)-IV(a) (Posner, G. H. et al. J. Med Chem. 1992, 35, 3280-3287) y la cetona (+)-III(a) con anillo CD se secaron azeotrópicamente con benceno, y se dejaron a vacío durante 48 h. El óxido de fosfina (±)-IV(a) (65 mg, 0,11 mmoles) en argón se disolvió en 1,1 ml de THF recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,1 M en un matraz de 10 ml secado a la llama, y el matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadió *n*-BuLi (68 µl, 0,11 mmoles, disolución 1,6 M en hexanos) gota a gota durante varios minutos, durante cuyo tiempo se desarrolló y persistió un color rojo intenso. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 10 minutos adicionales. Mientras tanto, un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con cetona (+)-III(a) con anillo CD (12 mg, 0,036 mmoles) disuelta en 1 ml de THF recientemente destilado, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de cetona con anillo CD se transfirió suavemente gota a gota al matraz que contiene el anión de óxido de fosfina a -78°C, vía una cánula durante varios minutos. Después de que la adición estuvo terminada, el color rojo intenso persistió, y la mezcla se dejó agitar a 78°C durante aprox. 15 horas, durante cuyo tiempo se comprobó visualmente. Tras la observación del color amarillo claro, la reacción se paralizó a -78°C mediante adición de 5 ml de tampón de pH 7, y se dejó llegar hasta la temperatura ambiente. La mezcla se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución

de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluida con acetato de etilo al 50% en hexanos en presencia de 1% de trietilamina para proporcionar el producto acoplado.

5 El producto acoplado (13 mg, 0,018 mmoles), en un vial de polipropileno de 5 ml purgado con argón, equipado con una barra agitadora magnética, se disolvió en 0,9 ml de acetonitrilo anhidro para dar una disolución aprox. 0,02 M. A esta disolución bien agitada se añadieron 75 µl de HF (1,8 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y la mezcla se dejó agitar entonces a temperatura ambiente en la oscuridad durante 2 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con éter (25 ml) y se añadió una disolución saturada de NaHCO₃ hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (5 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml), y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío*, para dar el producto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna.

15 La cromatografía en columna ultrarrápida se eluyó con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina para proporcionar 8,4 mg de una mezcla de diastereómeros (+)-I(a) y (+)-I(b) con un rendimiento del 92%, y en una relación de 2,5:1 respectivamente. La mezcla diastereomérica se separó entonces mediante HPLC usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,0 ml/min.) eluida con 13% de etanol en hexanos para proporcionar 1,9 mg de (+)-I(a) y 1,0 mg de (+)-I(b) con rendimientos de 21% y 11%, respectivamente. El tiempo de retención para (+)-I(a) fue 58,1 min., y para (+)-I(b) fue 45,7 min.

25 Datos para (+)-I(a): [α]_D = +80,4 (c = 0,13, MeOH) RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,98-7,96 (m, 2H), 7,64-7,52 (m, 3H), 6,36 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 5,99 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 5,32 (t, 1H, J = 1,6 Hz) 4,98 (br, 1H), 4,43-4,40 (m, 1H), 4,23-4,22 (m, 1H), 3,20 (ddd, 1H, J = 4,4, 12,4, 13,2 Hz), 3,03 (ddd, 1H, J = 4,8, 12,4, 13,2 Hz), 2,82-2,78 (m, 1H), 2,65 (s, 1H), 2,61-2,58 (m, 1H), 2,33-2,28 (m, 1H) 2,04-1,90 (m, 4H), 1,82-1,75 (m, 2H), 1,69-1,42 (m, 8H), 1,28-1,20 (m, 4H), 0,88 (d, 3H, J = 6,4 Hz), 0,49 (s, 3H). RMN ¹³C (CD₃OD, 100 MHz): δ 149,9, 142,3, 140,8, 136,0, 135,2, 130,7, 129,9, 124,9, 119,3, 112,2, 71,6, 67,5, 57,5, 57,2, 55,5, 47,0, 46,2, 43,8, 41,8, 36,4, 30,3, 30,0, 28,4, 24,7, 23,3, 19,1, 12,4. IR = 3387 (br, m), 3307 (br, m), 2942 (s), 2872 (m), 1443 (m), 1349 (w), 1213 (s), 1096 (m), 1055 (s), 1008 (m), 984 (sh, s), 749 (s) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₂₉H₄₁NO₃SNa⁺ [M+Na]: 506,2699; Encontrado: 506,2668.

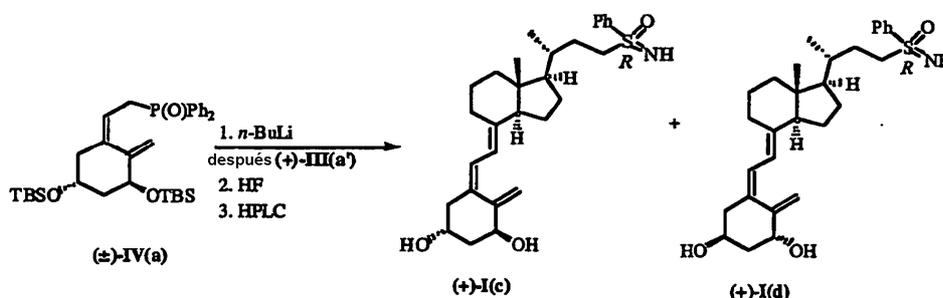
35 Datos para (+)-I(b): [α]_D = +9 (c = 0,09, MeOH) RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,98-7,96 (m, 2H), 7,64-7,52 (m, 3H), 6,37 (d, 1H, J = 11,6 Hz), 5,98 (d, 1H, J = 11,6 Hz), 5,31 (m, 1H), 4,98 (br, 1H), 4,43-4,41 (m, 1H), 4,23-4,19 (m, 1H), 3,23-3,17 (m, 1H), 3,07-2,99 (m, 1H), 2,83-2,80 (m, 1H), 2,66 (s, 1H), 2,62-2,60 (m, 1H), 2,32-2,27 (m, 1H), 2,00-1,90 (m, 5H), 1,81-1,64 (m, 7H), 1,25-1,21 (m, 6H), 0,87 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 0,48 (s, 3H). RMN ¹³C (CD₃OD, 100 MHz): δ 149,8, 142,4, 142,2, 135,9, 130,5, 129,8, 124,9, 124,9, 119,2, 112,4, 71,7, 67,5, 57,2, 55,8, 47,0, 46,4, 43,8, 41,8, 36,4, 30,5, 30,0, 28,4, 24,7, 23,4, 19,1, 12,4. IR: 3320 (br, m), 3307, 2940 (s), 2871 (m), 1445 (m), 1349 (w), 1214 (s), 1093 (m), 1053 (s), 1008 (m), 984 (sh, s), 749 (s) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₂₉H₄₁NO₃SNa⁺ [M+Na]: 506,2699; Encontrado: 506,2690.

Ejemplo 3b: 24-Fenil sulfoximas I(c) y I(d)

De manera similar, los compuestos I(c) y I(d) se pueden preparar como se muestra en el Esquema 16:

45

Esquema 16



50 en el que la cetona (+)-III(a') con anillo CD, en vez de la cetona (+)-III(a) con anillo CD, se acopló con óxido de fosfina (±)IV(a) como se describe en el ejemplo 3a anterior. Tras la reacción de acoplamiento y la etapa de desprotección subsiguiente, la cromatografía en columna ultrarrápida eluida con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina proporcionó 7,2 mg de una mezcla de diastereómeros (+)-I(c) y (+)-I(d) con un rendimiento del 82% y en una relación de 2,9:1 respectivamente. La mezcla diastereomérica se separó entonces mediante HPLC usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,0 ml/min.) eluida con 13% de etanol en hexanos para proporcionar 2,2 mg de (+)-I(c) y 1,0 mg de (+)-I(d) con rendimientos de 25% y 11%, respectivamente. El tiempo de retención para (+)-I(c) fue 49,2 min. y para (+)-I(d) fue 40,2 min.

55

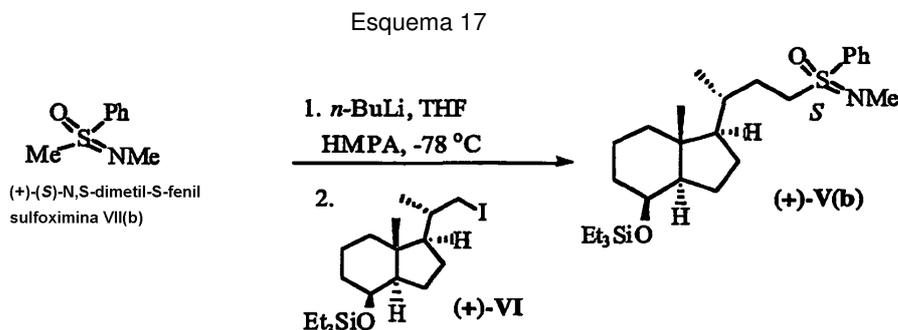
Datos para (+)-I(c): $[\alpha]_D = +37,3$ ($c = 0,13$, MeOH) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,98-7,95 (m, 2H), 7,65-7,52 (m, 3H), 6,36 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz), 5,99 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 5,31 (m, 1H) 4,98 (br, 1H), 4,43-4,40 (m, 1H), 4,29-4,22 (m, 1H), 3,18 (ddd, 1H, $J = 4,8, 12,4, 14,0$ Hz), 3,07 (ddd, 1H, $J = 4,8, 12,4, 14,0$ Hz), 2,83-2,80 (m, 1H), 2,66 (s, 1H), 2,61-2,58 (m, 1H), 2,33-2,28 (m, 1H) 2,20-1,80 (m, 6H), 1,75-1,62 (m, 18H), 1,30-1,16 (m, 4H), 0,88 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 0,49 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 147,6, 142,5, 133,2, 129,6, 128,6, 128,2, 124,8, 117,3, 111,8, 70,8, 66,8, 56,1, 55,7, 54,1, 45,9, 45,2, 42,8, 40,3, 34,9, 28,9, 28,2, 27,2, 23,4, 22,1,18,5, 11,9. IR: 3377 (br, m), 3318 (br, m), 2931 (s), 2872 (m), 1442 (m), 1214 (s), 1096 (m), 1055 (s), 1008 (m), 984 (sh, s), 749 (s) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{NO}_3\text{SNa}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]$: 506,2699; Encontrado: 506,2676.

Datos para (+)-Id: $[\alpha]_D = +17,5$ ($c = 0,09$, MeOH) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,98-7,95 (m, 2H), 7,64-7,52 (m, 3H), 6,37 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 5,98 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 5,31 (m, 1H) 4,98 (br, 1H), 4,43-4,41 (m, 1H), 4,22-4,19 (m, 1H), 3,16 (ddd, 1H, $J = 4,4, 12,0, 13,2$ Hz), 3,08 (ddd, 1H, $J = 4,4, 12,4, 13,2$ Hz), 2,82-2,80 (m, 1H), 2,66 (s, 1H), 2,62-2,58 (m, 1H), 2,31-2,27 (m, 1H) 1,91-1,80 (m, 4H), 1,74-1,60 (m, 10H), 1,30-1,19 (m, 4H), 0,88 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 0,50 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ Debido a una cantidad insuficiente, no fue obtenida el ^{13}C . IR: 3307 (br, m), 2919 (s), 2860 (m), 1443 (m), 1219 (s), 1090 (m), 1055 (s), 984 (sh, s), 749 (s) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{NO}_3\text{SNa}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]$: 506,2699; Encontrado: 506,2673.

Ejemplo 4: Procedimiento general para la preparación de los compuestos de la Fórmula V, en los que R^7 no es hidrógeno y C22-C23 es un enlace sencillo.

Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con la sulfoximina VII apropiada (véase el Esquema 3) (43 mg, 0,25 mmoles), y se disolvió en 1,7 ml de THF recientemente destilado y 0,17 ml de HMPA. Después, el matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadió 0,156 ml de *n*-BuLi (0,25 mmoles, disolución 1,6 M en hexanos) gota a gota durante varios minutos, durante cuyo tiempo se desarrolló un color amarillo pálido. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 30 min. adicionales, y después a 0°C durante 10 min. El matraz se volvió a enfriar hasta -78°C . Mientras tanto, un matraz con forma de pera de 10 ml secado a la llama, equipado con un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con yoduro de VI (véase el Esquema 3) (37 mg, 0,0845 mmoles) que se disolvió en 0,5 ml de THF recientemente destilado, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de yoduro de VI se transfirió al matraz que contiene la sulfoximina litiada a -78°C vía una cánula durante varios minutos. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se calentó gradualmente hasta la temperatura ambiente, y después se agitó durante alrededor de 4 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La reacción se paralizó mediante adición de 5 ml de agua destilada, y después se enjuagó en un embudo de separación con acetato de etilo. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml), y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida.

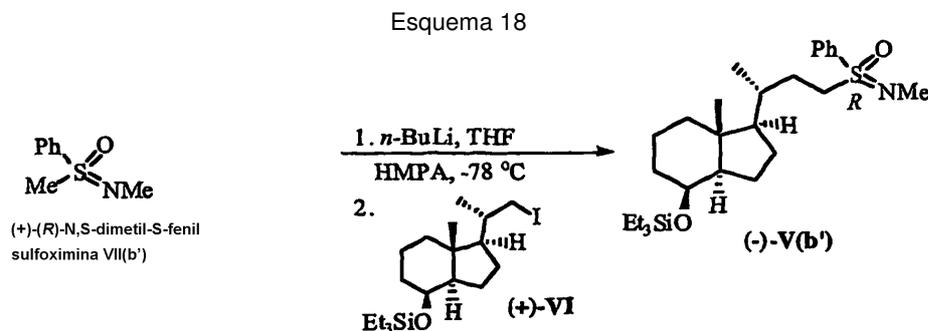
a) Alcohol protegido con trietilsililo (+)-V(b). Según el procedimiento general para la preparación de los compuestos de la fórmula V, en los que R^7 no es un hidrógeno como se describe anteriormente, la (+)-(*S*)-*N,S*-dimetil-*S*-fenil sulfoximina VII(b) dio un compuesto de la fórmula V(b) como se muestra en el Esquema 17:



La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 30% de acetato de etilo en hexanos proporcionó 32,4 mg de (+)-V(b) con un rendimiento del 80%. Datos para (+)-V(b): $[\alpha]_D^{25} = +82,69$ ($c = 0,3$, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,84-7,81 (m, 2H), 7,61-7,52 (m, 3H), 3,98 (d, 1H, $J = 4,0$ Hz), 3,20 (ddd, 1H, $J = 4,8$ Hz, $J = 5,2$ Hz, $J = 12,4$ Hz), 2,98 (ddd, 1H, $J = 4,4$ Hz, $J = 4,4$ Hz, $J = 12,4$ Hz), 2,65 (s, 3H), 1,85-1,60 (m, 6H), 1,56-1,23 (m, 6H), 1,17-0,98 (m, 3H), 0,91 (t, 6H, $J = 7,6$ Hz), 0,80 (s, 3H), 0,79 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 0,51 (q, 9H, $J = 8,0$ Hz). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 137,54, 132,71, 129,31, 69,20, 55,92, 53,88, 52,93, 42,09, 40,62, 34,48, 34,23, 29,53, 28,11, 26,94, 22,81, 18,26, 17,57, 13,43, 6,91, 4,88. IR (película delgada) 2950 (s), 2875 (s), 1445 (sh, m), 1490 (m), 1246 (br, s), 1149 (m), 1082 (sh, m), 1020 (m), 846 (w) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{NO}_2\text{SSiNa}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]$: 500,2988 Encontrado: 500,2998.

b) Alcohol protegido con trietilsililo (-)-V(b'). Según el procedimiento general para la preparación de los compuestos de la fórmula V, en los que R⁷ no es un hidrógeno como se describe anteriormente, la (-)-(*R*)-N,S-dimetil-S-fenil sulfoximina VII(b') dio un compuesto de la fórmula V(b') como se muestra en el Esquema 18:

5



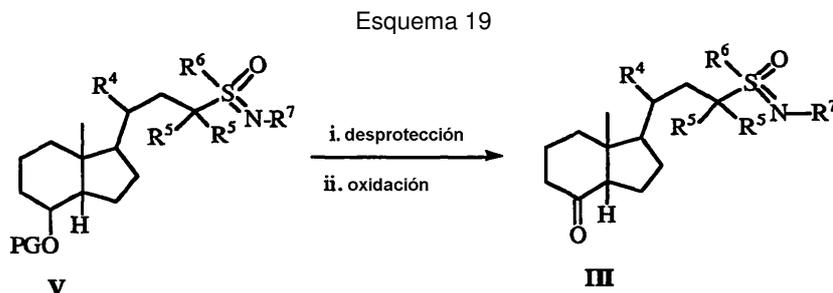
La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 30% de acetato de etilo en hexanos proporcionó 35 mg del producto de alquilación (-)-V(b') como un aceite viscoso con un rendimiento del 86%. Datos para (-)-V(b'): $[\alpha]_D^{25} = -5,92$ ($c = 0,3$, CHCl₃) RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,85-7,83 (m, 2H), 7,63-7,54 (m, 3H), 3,99 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 3,18-3,02 (m, 2H), 2,66 (s, 3H), 1,88-1,44 (m, 8H), 1,36-1,24 (m, 4H), 1,17-1,05 (m, 3H), 0,93 (t, 9H, $J = 8,0$ Hz), 0,84 (s, 3H), 0,82 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 0,53 (q, 6H, $J = 8,0$ Hz). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 137,48, 132,72, 129,39, 129,31, 69,20, 55,88, 53,72, 52,94, 42,09, 40,63, 34,48, 34,11, 29,55, 28,12, 26,89, 22,82, 18,28, 17,57, 13,43, 6,91, 4,88. IR (película delgada) 2946 (s), 2874 (s), 1445 (m), 1490 (m), 1245 (br, s), 1150 (w), 1084 (sh, m), 1021 (br, s), 846 (w) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₂₇H₄₇NO₂SSiNa⁺ [M+Na]: 500,2988 Encontrado: 500,2956.

10

15

Ejemplo 5: Procedimiento general para la preparación de cetonas III con anillo C,D, en las que R⁷ no es hidrógeno y C22-C23 es un enlace sencillo.

20



Método general de desprotección

Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con el alcohol protegido con trietilsililo apropiado (35 mg, 0,073 mmoles) que se disolvió en 1,4 ml de THF recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,05 M. El matraz se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. A esta disolución se añadieron gota a gota durante varios minutos 0,21 ml de TBAF (0,22 mmoles, disolución 1,0 M en THF), dando como resultado una disolución amarilla. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se calentó gradualmente hasta la temperatura ambiente, y después se agitó a esta temperatura durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se concentró a vacío, y se purificó directamente mediante cromatografía en columna.

30

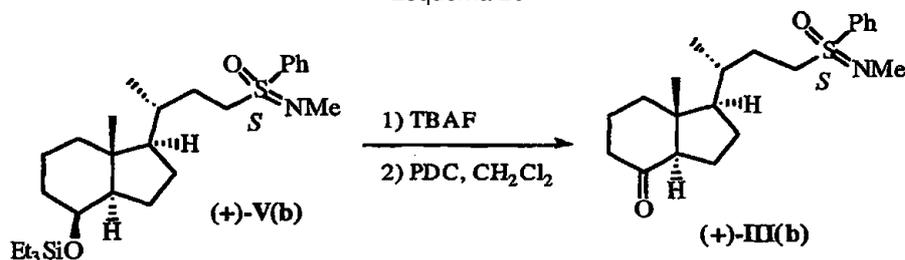
Método general de oxidación

Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con el alcohol apropiado (25 mg, 0,068 mmoles), y se disolvió en 1,7 ml de CH₂Cl₂ recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,04 M. Después, a esta disolución se añadieron en una porción a temperatura ambiente PDC (54 mg, 0,14 mmoles) y 34 mg de Celite secada en estufa. La mezcla resultante se dejó agitar a la temperatura ambiente durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se purificó directamente mediante cromatografía en columna.

40

Ejemplo 5 (a): Preparación de cetona (+)-III(b) con anillo CD:

Esquema 20

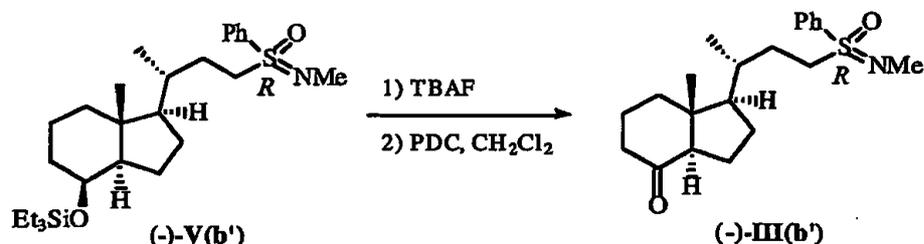


5 Se preparó una disolución del alcohol protegido con trietilsililo (+)-V(b) (35 mg, 0,073 mmoles) en 1,4 ml de THF recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,05 M. El matraz se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. A esta disolución se añadieron gota a gota durante varios minutos 0,21 ml de TBAF (0,22 mmoles, disolución 1,0 M en THF), dando como resultado una disolución amarilla. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se calentó gradualmente hasta la temperatura ambiente, y después se agitó a esta temperatura durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se concentró *a vacío*, y se purificó directamente mediante cromatografía en columna. La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 100% de acetato de etilo proporcionó 24,3 mg del alcohol correspondiente con un rendimiento del 98%. El producto se recristalizó en acetona mediante evaporación lenta. P.f. 115-116°C. $[\alpha]_D^{25} = +86,76$ (c = 2,18, acetona) RMN ^1H (acetona- d_6 , 400 MHz): δ 7,86-7,83 (m, 2H), 7,70-7,61 (m, 3H), 3,99 (br, 1H), 3,17 (ddd, 1H, J = 4,4 Hz, J = 4,4 Hz, J = 11,6 Hz), 3,04 (ddd, 1H, J = 4,8 Hz, 4,8 Hz, J = 11,8 Hz), 2,86 (br, 1H), 2,55 (s, 3H), 1,91-1,58 (m, 6H), 1,50-1,24 (m, 6H), 1,19-1,00 (m, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,85 (d, 3H, J = 6,4 Hz). RMN ^{13}C (acetona- d_6 , 100 MHz): δ 139,51, 133,50, 130,19 (2C), 68,71, 56,91, 53,91, 53,71, 42,80, 41,54, 35,07, 34,93, 29,51, 29,34, 27,78, 23,39, 18,79, 18,40, 14,07. IR (película delgada) 3284 (br, m), 2930 (s), 2877 (m), 1446 (sh, m), 1402 (w), 1377 (w), 1232 (s), 1147 (s), 1106 (m), 992 (w), 943 (w), 861 (w) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{NO}_2\text{SNa}^+$ [M+Na]: 386,2124 Encontrado: 386,2138.

25 El alcohol correspondiente (25 mg, 0,068 mmoles) se disolvió en 1,7 ml de CH_2Cl_2 recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,04 M. Después, a esta disolución se añadieron en una porción a temperatura ambiente PDC (54 mg, 0,14 mmoles) y 34 mg de Celite secada en estufa. La mezcla resultante se dejó agitar a temperatura ambiente durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se purificó directamente mediante cromatografía en columna. La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 100% de acetato de etilo proporcionó la cetona (+)-III(b) como un aceite viscoso con un rendimiento del 82%. Datos para (+)-III(b): $[\alpha]_D^{25} = +52,61$ (c = 0,5, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,86-7,83 (m, 2H), 7,65-7,55 (m, 3H), 3,23 (ddd, 1H, J = 4,8 Hz, J = 5,2 Hz, J = 12,0 Hz), 3,00 (ddd, 1H, J = 4,4 Hz, J = 4,8 Hz, J = 11,6 Hz), 2,67 (s, 3H), 2,41 (dd, 1H, J = 7,6 Hz, J = 7,2 Hz), 2,29-2,16 (m, 2H), 2,05-1,35 (m, 11H), 1,25-1,16 (m, 1H), 0,89 (d, 3H, J = 6,0 Hz), 0,56 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 211,54, 137,43, 132,80, 129,35, 129,31, 61,68, 55,86, 53,83, 49,69, 40,78, 38,75, 34,45, 29,46, 28,07, 27,13, 23,86, 18,89, 18,32, 12,36. IR (película delgada) 2956 (s), 2874 (s), 2801 (w), 1711 (s), 1445 (sh, m), 1380 (w), 1243 (br, s), 1107 (w), 1080 (w), 920 (w), 858 (w) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_2\text{SNa}^+$ [M+Na]: 384,1967 Encontrado: 384,1943.

Ejemplo 5 (b): Preparación de cetona (-)-III(b') con anillo CD

Esquema 21

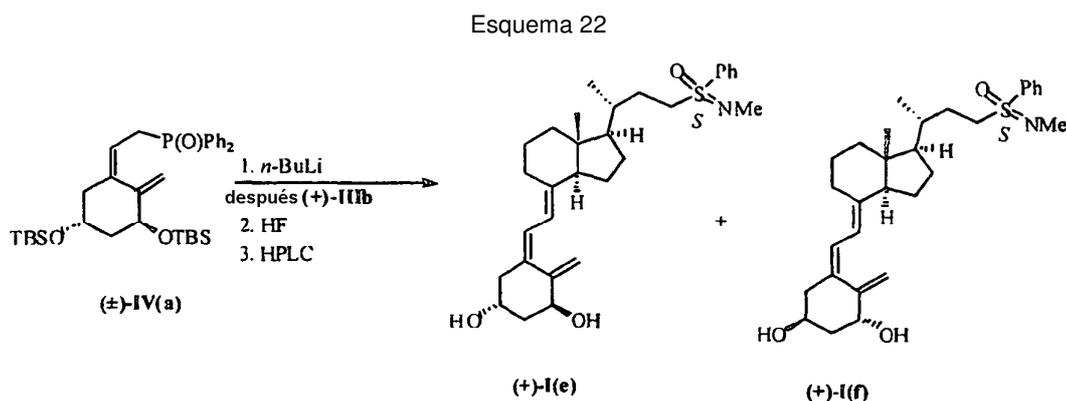


40 Se preparó una disolución del alcohol protegido con trietilsililo (-)-V(b') (35 mg, 0,073 mmoles) en 1,4 ml de THF recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,05 M. El matraz se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. A esta disolución se añadieron gota a gota durante varios minutos 0,21 ml de TBAF (0,22 mmoles, disolución 1,0 M en THF), dando como resultado una disolución amarilla. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se calentó gradualmente hasta la temperatura ambiente, y después se agitó a esta temperatura durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se concentró *a vacío*, y se purificó directamente mediante cromatografía en columna. La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 100% de acetato de etilo proporcionó 24,8 mg del alcohol correspondiente como un sólido blanco con un rendimiento del

93%. El producto se recrystalizó en acetona mediante evaporación lenta. P.f. 122-123°C. $[\alpha]_D^{25} = -31,93$ (c = 2,36, acetona) RMN ^1H (acetona- d_6 , 400 MHz): δ 7,85-7,83 (m, 2H), 7,70-7,61 (m, 3H), 3,99 (br, 1H), 3,20-3,01 (m, 2H), 2,88 (br, 1H), 2,54 (s, 3H), 1,91-1,58 (m, 6H), 1,54-1,46 (m, 1H), 1,42-1,23 (m, 5H), 1,16-1,01 (m, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,86 (d, 3H, J = 6,4 Hz). RMN ^{13}C (acetona- d_6 , 100 MHz): δ 139,37, 133,51, 130,20 (2C), 68,72, 56,84, 53,71, 42,80, 41,53, 35,03, 34,92, 29,53, 29,33, 27,70, 23,39, 18,81, 18,39, 14,07. IR (película delgada) 3280 (br, m), 2930 (s), 2877 (s), 1445 (m), 1238 (br, s), 1148 (m), 1106 (m), 865 (w) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{NO}_2\text{SNa}^+$ [M+Na]: 386,2124 Encontrado: 386,2155.

El alcohol correspondiente (25 mg, 0,068 mmoles) se disolvió en 1,7 ml de CH_2Cl_2 recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,04 M. Después, a esta disolución se añadieron en una porción a temperatura ambiente PDC (54 mg, 0,14 mmoles) y 34 mg de Celite secada en estufa. La mezcla resultante se dejó agitar a la temperatura ambiente durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se purificó directamente mediante cromatografía en columna. La cromatografía en columna ultrarrápida eluida con 100% de acetato de etilo proporcionó 23,5 mg de cetona (-)-III(b') con un rendimiento del 95%. Datos para (-)-III(b'): $[\alpha]_D^{25} = -24,43$ (c = 0,5, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,86-7,83 (m, 2H), 7,65-7,55 (m, 3H), 3,19-3,04 (m, 2H), 2,67 (s, 3H), 2,40 (dd, 1H, J = 7,6 Hz, J = 11,2 Hz), 2,29-2,15 (m, 2H), 2,05-1,80 (m, 4H), 1,75-1,63 (m, 2H), 1,56-1,20 (m, 6H), 0,91 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 0,59 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 211,53, 137,36, 132,80, 129,35, 129,32, 61,68, 55,80, 53,65, 49,69, 40,78, 38,76, 34,30, 29,48, 28,10, 27,08, 23,85, 18,89, 18,34, 12,38. IR (película delgada) 2958 (s), 2875 (s), 2802 (w), 1713 (s), 1445 (sh, m), 1380 (m), 1243 (br, s), 1145 (s), 1107 (s), 1083 (s), 920 (w), 858 (w) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_2\text{SNa}^+$ [M+Na]: 384,1967 Encontrado: 384,2000.

Ejemplo 6a: 24-Fenil N-metil sulfoximinas (le) y (lf).



Antes de la reacción, el óxido de fosfina (\pm)IV(a) (Posner, G. H. et al. J. Med. Chem. 1992, 35, 3280-3287) y la cetona (+)-IIIb con anillo CD se secaron azeotrópicamente con benceno, y se dejaron a vacío durante 48 h. El óxido de fosfina (\pm)IV(a) (70 mg, 0,12 mmoles) se disolvió en 2,4 ml de THF recientemente destilado en argón para dar una disolución aprox. 0,05 M en un matraz de 10 ml. El matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadió gota a gota durante varios minutos *n*-BuLi (78 μl , 0,12 mmoles, disolución 1,53 M en hexanos), durante cuyo tiempo se desarrolló y persistió un color rojo intenso. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 10 minutos adicionales. Mientras tanto, un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética y que contiene la cetona (+)-IIIb con anillo CD (22 mg, 0,06 mmoles) se disolvió en 1 ml de THF recientemente destilado en argón, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de cetona (+)-IIIb con anillo CD se transfirió suavemente gota a gota al matraz que contiene el anión de óxido de fosfina a -78°C vía una cánula durante varios minutos. Después de que la adición estuvo terminada, el color rojo intenso persistió, y la mezcla se dejó agitar a 78°C durante aprox. 10 horas, durante cuyo tiempo se comprobó visualmente. Tras la observación del color amarillo claro, la reacción se paralizó a -78°C mediante adición de 5 ml de tampón de pH 7, y se dejó llegar hasta la temperatura ambiente. La mezcla se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluida con acetato de etilo al 50% en hexanos en presencia de 1% de trietilamina para proporcionar el producto acoplado como un sólido ceroso.

El producto acoplado (17 mg, 0,023 mmoles) se colocó en un vial de polipropileno de 5 ml purgado con argón, equipado con una barra agitadora magnética, y se disolvió en 1,0 ml de acetonitrilo anhidro en argón para dar una disolución aprox. 0,02 M. A esta disolución bien agitada se añadió 0,1 ml de HF (2,3 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y después la mezcla se dejó agitar a la temperatura ambiente en la oscuridad durante 2 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. Esta mezcla de reacción se diluyó con éter (25 ml), y se añadió una disolución saturada de NaHCO_3 hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (4 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se

secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna.

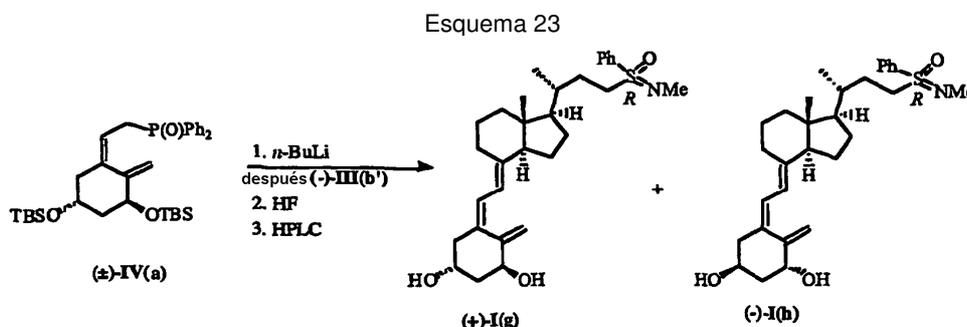
La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina proporcionó 10,3 mg de una mezcla de (+)-I(e) y (-)-I(f) con un rendimiento del 89% y en una relación de 2,7:1 respectivamente. Esta mezcla diastereomérica se separó entonces mediante HPLC usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,5 ml/min.) eluída con 7% de etanol en hexanos, para proporcionar 6,62 mg de (+)-I(e) y 2,73 mg de (-)-I(f) con rendimientos de 57% y 23% respectivamente. El tiempo de retención para (+)-I(e) fue 52,08 min., y para (-)-I(f) fue 43,08 min.

Datos para (+)-I(e): $[\alpha]_D^{25} = +57,3$ (c = 0,44, CHCl₃) RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,86-7,84 (m, 2H), 7,64-7,54 (m, 3H), 6,36 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 5,98 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 5,32 (dd, 1H, J = 1,6 Hz, J = 1,6 Hz), 4,99-4,98 (m, 1H), 4,44-4,42 (m, 1H), 4,23-4,22 (m, 1H), 3,22 (ddd, 1H, J = 4,8 Hz, J = 12,8 Hz, J = 13,6 Hz), 3,00 (ddd, 1H, J = 4,4 Hz, J = 11,6 Hz, J = 13,6 Hz), 2,80 (dd, 1H, J = 4,4 Hz, J = 12,8 Hz), 2,67 (s, 3H), 2,59 (dd, 1H, J = 3,2 Hz, J = 13,2 Hz), 2,30 (dd, 1H, J = 6,8 Hz, J = 13,6 Hz), 2,04-1,89 (m, 3H), 1,80-1,38 (m, 11H), 1,28-1,12 (m, 4H), 0,85 (d, 3H, J = 6,4 Hz), 0,47 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 147,56, 142,66, 137,52, 133,07, 132,78, 129,37 (br, 2C), 124,84, 117,16, 111,84, 70,80, 66,80, 56,13, 55,69, 53,90, 45,80, 45,23, 42,80, 40,29, 35,04, 29,54, 28,93, 28,17, 27,26, 23,43, 22,11, 18,47, 11,92. IR: 3378 (br, m), 2944 (s), 2874 (m), 1645 (w), 1445 (m), 1380 (w), 1235 (br, s), 1146 (m), 1107 (w), 1067 (sh, m), 957 (w), 895 (w), 753 (s) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₃₀H₄₄NO₃S⁺ [M+]: 498,3036; Encontrado: 498,3045.

Datos para (-)-I(f): $[\alpha]_D^{25} = +43,3$ (c = 0,18, CHCl₃) RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,86-7,83 (m, 2H), 7,64-7,54 (m, 3H), 6,37 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 5,98 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 5,31 (dd, 1H, J = 1,2 Hz, J = 1,6 Hz), 4,99-4,98 (m, 1H), 4,43 (br, 1H), 4,22-4,20 (m, 1H), 3,22 (ddd, 1H, J = 5,2 Hz, J = 12,4 Hz, J = 13,6 Hz), 3,00 (ddd, 1H, J = 4,4 Hz, 11,6 Hz, 13,6 Hz), 2,80 (dd, 1H, J = 4,0 Hz, J = 12,8 Hz), 2,67 (s, 3H), 2,61 (dd, 1H, J = 3,2 Hz, J = 12,8 Hz), 2,29 (dd, 1H, J = 7,6 Hz, J = 13,6 Hz), 2,03-1,19 (m, 3H), 1,80-1,41 (m, 11H), 1,28-1,13 (m, 4H), 0,85 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 0,47 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 147,3, 142,7, 137,5, 132,9, 132,8, 129,4, 128,9, 124,83, 117,2, 11,5, 71,3, 66,8, 56,1, 55,7, 53,9, 45,8, 45,4, 42,8, 40,29, 30,1, 29,6, 28,9, 28,2, 27,3, 23,4, 22,1, 18,5, 12,0. IR: 3374 (br, m), 2943 (s), 2873 (m), 1646 (w), 1445 (m), 1379 (w), 1235 (br, s), 1145 (s), 1057 (br, s), 957 (m), 861 (m), 752 (s) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₃₀H₄₄NO₃S⁺ [M+]: 498,3036; Encontrado: 498,3049.

Ejemplo 6b: 24-Fenil N-metil sulfoximinas (Ig) y I(h).

De una manera similar, los compuestos (+)-I(g) y (-)-I(h) se pueden preparar como se muestra en el Esquema 23:



en el que la cetona (-)-III(b') con anillo CD, en vez de la cetona (+)-III(b) con anillo CD, se acopló con óxido de fosfina (±)IV(a) como se describe en el ejemplo 6a anterior. Tras la reacción de acoplamiento y la etapa de desprotección subsiguiente, la cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina proporcionó 9,5 mg de una mezcla de diastereómeros (+)-I (g) y (-)-I(h), con un rendimiento del 82% y en una relación de 3:1 respectivamente. La mezcla diastereomérica se separó entonces mediante HPLC, usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,5 ml/min.) eluída con 7% de etanol en hexanos, para proporcionar 3,39 mg de (+)-I(g) y 1,12 mg de (-)-I(h) con rendimientos del 29% y 10% respectivamente. El tiempo de retención para (+)-I(g) fue 45,19 min. y para (-)-I(h) fue 39,84 min.

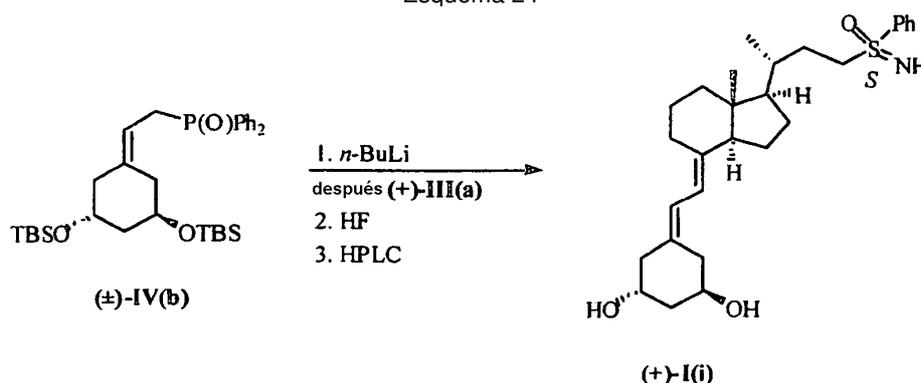
Datos para (+)-I(g): $[\alpha]_D^{25} = +7,1$ (c = 0,2, CHCl₃) RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,86-7,83 (m, 2H), 7,64-7,54 (m, 3H), 6,35 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 5,98 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 5,31 (dd, 1H, J = 1,2 Hz, J = 2,0 Hz), 4,98 (dd, 1H, J = 1,2 Hz, J = 2,0 Hz), 4,43 (m, 1H), 4,22 (m, 1H), 3,19-3,04 (m, 2H), 2,80 (dd, 1H, J = 4,4 Hz, J = 12,8 Hz), 2,67 (s, 3H), 2,59 (dd, 1H, J = 3,2 Hz, J = 13,6 Hz), 2,30 (dd, 1H, J = 6,8 Hz, J = 13,6 Hz), 2,05-1,84 (m, 4H), 1,71-1,13 (m, 14H), 0,86 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 0,49 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): d 147,58, 142,64, 137,49, 133,08, 132,76, 129,37 (br, 2C), 124,84, 117,18, 111,81, 70,80, 66,82, 56,15, 55,70, 53,77, 45,82, 45,23, 42,83, 40,32, 34,94, 29,55, 28,94, 28,17, 27,22, 23,44, 22,12, 18,48, 11,93. IR: 3350 (m, br), 2924 (s), 2873 (m), 1445 (m), 1378 (w), 1235 (br, s), 1147 (m), 1107 (w), 1057 (m), 861 (w), 753 (s) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₃₀H₄₄NO₃S⁺ [M+]: 498,3036; Encontrado: 498,3049.

Datos para (-)-I(h): $[\alpha]_D = -8,5$ ($c = 0,08$, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,86-7,84 (m, 2H), 7,64-7,52 (m, 3H), 6,36 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz), 5,97 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz), 5,31 (br, 1H), 4,98 (m, 1H), 4,43 (br, 1H), 4,22 (m, 1H), 3,19-3,04 (m, 2H), 2,80 (dd, 1H, $J = 4,4$ Hz, $J = 12,4$ Hz), 2,67 (s, 3H), 2,61-2,58 (m, 1H), 2,29 (dd, 1H, $J = 6,4$ Hz, $J = 12,8$ Hz), 2,01-1,90 (m, 5H), 1,69-1,17 (m, 13H), 0,86 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 0,49 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 147,3, 142,7, 137,4, 133,1, 132,9, 129,4, 129,0, 124,9, 117,2, 112,5, 71,3, 66,8, 56,1, 55,7, 53,78, 45,8, 45,4, 42,8, 40,3, 34,9, 29,6, 28,9, 28,2, 27,2, 23,4, 22,12, 18,5, 11,9. IR: 3383 (br, m), 2926 (s), 2873 (s), 1445 (m), 1235 (br, s), 1145 (s), 1056 (br, m), 957 (w), 860 (br, w), 753 (s) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{NO}_3\text{S}^+$ $[\text{M}^+]$: 498,3036 Encontrado: 498,3061.

5

Ejemplo 7a: 24-Fenil sulfoximina 19-Nor-vitamina-D₃ I(i)

Esquema 24



15

Antes de la reacción, el óxido de fosfina $(\pm)\text{-IV(b)}$ (Posner, G. H. et al. J. Med. Chem. 1992, 35, 3280-3287) y la cetona $(+)\text{-III(a)}$ con anillo CD se secaron azeotrópicamente con benceno, y se dejaron a vacío durante 48 h. El óxido de fosfina $(\pm)\text{-IV(b)}$ (76 mg, 0,13 mmoles) en argón se disolvió en 0,8 ml de THF recientemente destilado, para dar una disolución aprox. 0,1 M en un matraz de 10 ml secado a la llama, y el matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadió gota a gota durante varios minutos $n\text{-BuLi}$ (83 μl , 0,13 mmoles, disolución 1,6 M en hexanos), durante cuyo tiempo se desarrolló y persistió un color rojo intenso. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 10 minutos adicionales. Mientras tanto, un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con cetona $(+)\text{-III(a)}$ con anillo CD (14 mg, 0,040 mmoles) disuelta en 1 ml de THF recientemente destilado, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de cetona con anillo CD se transfirió suavemente gota a gota al matraz que contiene el anión de óxido de fosfina a -78°C vía una cánula durante varios minutos. Después de que la adición estuvo terminada, el color rojo intenso persistió, y la mezcla se dejó agitar a 78°C durante aprox. 15 horas, durante cuyo tiempo se comprobó visualmente. Tras la observación del color amarillo claro, la reacción se paralizó a -78°C mediante adición de 5 ml de tampón de pH 7, y se dejó llegar hasta la temperatura ambiente. La mezcla se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna eluída con acetato de etilo al 50% en hexanos en presencia de 1% de trietilamina para proporcionar el producto acoplado.

20

25

30

35

El producto acoplado (15 mg, 0,021 mmoles) en un vial de polipropileno de 5 ml purgado con argón, equipado con una barra agitadora magnética, se disolvió en 1,0 ml de acetonitrilo anhidro para dar una disolución aprox. 0,02 M. A esta disolución bien agitada se añadieron 87 ml de HF (2,1 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y la mezcla se dejó agitar entonces a la temperatura ambiente en la oscuridad durante 2 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con éter (25 ml), y se añadió una disolución saturada de NaHCO_3 hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (5 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna.

40

45

La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina proporcionó 3,7 mg de $(+)\text{-I(i)}$ con un rendimiento del 70%. Este análogo se purificó después mediante HPLC usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,5 ml/min.) eluída con 15% de etanol en hexanos para proporcionar 2,3 mg de $(+)\text{-I(i)}$ con un rendimiento del 43%. El tiempo de retención para $(+)\text{-I(i)}$ fue 35,22 min.

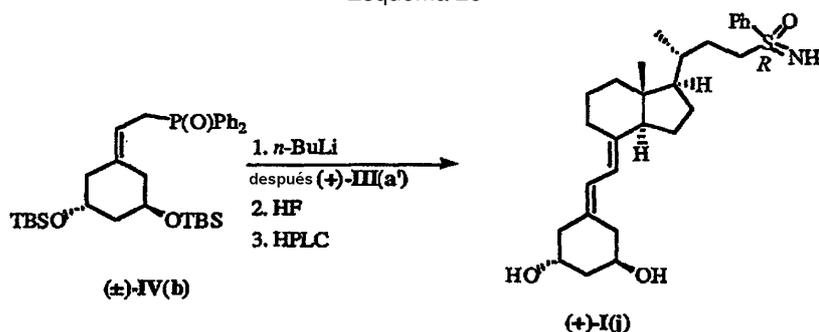
50

Datos para (+)-I(i): $[\alpha]_D^{25} = +82,3$ (c = 0,16, MeOH) RMN ^1H (d_3 -MeOD, 400 MHz): δ 7,98-7,96 (m, 2H), 7,73-7,61 (m, 3H), 6,20 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 5,86 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 4,05-3,96 (m, 2H), 3,26 (dd, 1H, J = 4,0, 11,6 Hz), 3,19-3,13 (m, 1H), 2,81 (dd, 1H, J = 3,6 Hz, J = 11,6 Hz), 2,58 (dd, 1H, J = 4,0 Hz, J = 13,6 Hz), 2,40 (dd, 1H, J = 3,6 Hz, J = 14,0 Hz), 2,23-2,13 (m, 2H), 2,03-1,93 (m, 2H), 1,84-1,46 (m, 12H), 1,33-1,17 (m, 5H), 0,89 (d, 3H, J = 6,0 Hz), 0,51 (s, 3H). RMN ^{13}C (d_3 -MeOD, 100 MHz): d 142,17, 141,91, 134,66, 134,20, 130,55, 129,81, 123,51, 117,41, 68,11, 67,84, 57,46, 57,29, 55,81, 46,89, 45,55, 42,81, 41,83, 37,76, 36,43, 30,52, 29,88, 28,46, 24,57, 23,31, 19,10, 12,49. IR: 3330 (m, br), 2942 (s), 2872 (s), 1443 (m), 1213 (br, s), 1096 (m), 1049 (m), 978 (s), 755 (s) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{NO}_3\text{SNa}^+$ [M+Na]: 494,2699; Encontrado: 494,2679.

10 Ejemplo 7b: 24-Fenil sulfoximina 19-Nor-Vitamina-D₃ I(i)

De manera similar, el compuesto I(j) se puede preparar como se muestra en el Esquema 25:

Esquema 25

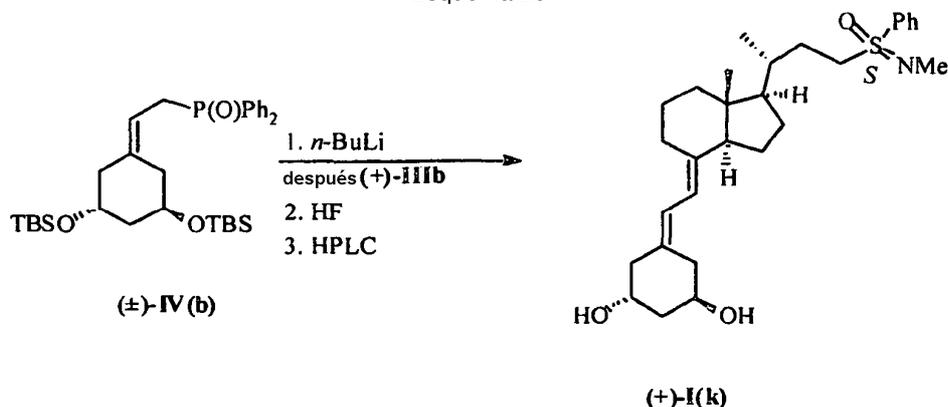


en la que la cetona (+)-III(a') con anillo CD, en vez de la cetona (+)-III(a) con anillo CD, se acopló con óxido de fosfina (\pm)IV(b) como se describe en el ejemplo 7a anterior. Tras la reacción de acoplamiento y la etapa de desprotección subsiguiente, la cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina proporcionó 9,1 mg de (+)-I(j) con un rendimiento del 91%. Este análogo se purificó después mediante HPLC usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,5 ml/min.) eluída con 15% de etanol en hexanos para proporcionar 7 mg de (+)-I(j) con un rendimiento del 70%. El tiempo de retención para (+)-I(j) fue 30,25 min.

Datos para (+)-I(j): $[\alpha]_D^{25} = +101,6$ (c = 0,46, MeOH) RMN ^1H (d_3 -MeOD, 400 MHz): δ 7,98-7,96 (m, 2H), 7,73-7,62 (m, 3H), 6,20 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 5,86 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 4,04-3,96 (m, 2H), 3,26 (dd, 1H, J = 4,8, 12,0 Hz), 3,15 (ddd, 1H, J = 4,8, 11,6, 14,0 Hz), 2,81 (dd, 1H, J = 3,6 Hz, J = 12,4 Hz), 2,58 (dd, 1H, J = 3,6 Hz, J = 13,6 Hz), 2,40 (dd, 1H, J = 2,8 Hz, J = 13,6 Hz), 2,23-2,13 (m, 2H), 2,02-1,94 (m, 2H), 1,87-1,45 (m, 12H), 1,39-1,14 (m, 5H), 0,90 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 0,52 (s, 3H). RMN ^{13}C (d_3 -MeOD, 100 MHz): d 142,11, 141,90, 134,66, 134,19, 130,55, 129,81, 123,50, 117,41, 68,11, 67,83, 57,45, 57,24, 55,70, 46,88, 45,55, 42,80, 41,81, 37,76, 36,41, 30,47, 29,88, 28,44, 24,57, 23,31, 19,12, 12,48. IR: 3330 (m, br), 2942 (s), 2872 (s), 1437 (m), 1213 (br, s), 1096 (m), 1049 (m), 978 (m), 749 (s) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{NO}_3\text{SNa}^+$ [M+Na]: 494,2699; Encontrado: 494,2707.

35 Ejemplo 8a: 24-Fenil N-metil sulfoximina 19-Nor-vitamina-D₃ I(k)

Esquema 26



Antes de la reacción, el óxido de fosfina (\pm)IV(b) (Posner, G. H. et al. J. Med. Chem. 1992, 35, 3280-3287) y la cetona (+)-III(b) con anillo CD se secaron azeotrópicamente con benceno, y se dejaron a vacío durante 48 h. El óxido de fosfina (\pm)IV(b) (53 mg, 0,092 mmoles) se disolvió en 0,9 ml de THF recientemente destilado en argón para

dar una disolución aprox. 0,01 M en un matraz de 10 ml. El matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadió gota a gota durante varios minutos *n*-BuLi (55 μl , 0,093 mmoles, disolución 1,7 M en hexanos), durante cuyo tiempo se desarrolló y persistió un color rojo intenso. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 10 minutos adicionales. Mientras tanto, un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, y que contiene la cetona (+)-III(b) con anillo CD (16 mg, 0,044 mmoles) se disolvió en 1 ml de THF recientemente destilado en argón, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de cetona (+)-III(b) con anillo CD se transfirió suavemente gota a gota al matraz que contiene el anión de óxido de fosfina a -78°C vía una cánula durante varios minutos. Después de que la adición estuvo terminada, el color rojo intenso persistió, y la mezcla se dejó agitar a 78°C durante aprox. 10 horas, durante cuyo tiempo se comprobó visualmente. Tras la observación del color amarillo claro, la reacción se paralizó a -78°C mediante adición de 5 ml de tampón de pH 7, y se dejó llegar hasta la temperatura ambiente. La mezcla se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna eluída con acetato de etilo al 50% en hexanos en presencia de 1% de trietilamina para proporcionar el producto acoplado como un sólido ceroso.

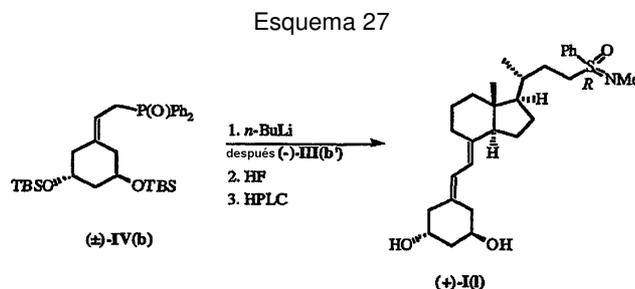
El producto acoplado (21 mg, 0,029 mmoles) se colocó en un vial de polipropileno de 5 ml purgado con argón, equipado con una barra agitadora magnética, y se disolvió en 1,5 ml de acetonitrilo anhidro en argón para dar una disolución aprox. 0,02 M. A esta disolución bien agitada se añadieron 0,12 ml de HF (2,9 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y la mezcla se dejó agitar entonces a la temperatura ambiente en la oscuridad durante 1,5 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. Esta mezcla de reacción se diluyó con éter (25 ml), y se añadió una disolución saturada de NaHCO_3 hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (4 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna.

La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina proporcionó 10,7 mg de (+)-I(k) con un rendimiento del 72%. Este análogo se purificó después mediante HPLC usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,5 ml/min.) eluída con 10% de etanol en hexanos para proporcionar 3,2 mg de (+)-I(k) con un rendimiento del 30%. El tiempo de retención para (+)-I(k) fue 27,26 min.

Datos para (+)-I(k): $[\alpha]_{\text{D}} = +92,4$ (c = 0,13, MeOH) RMN ^1H (d_3 -MeOD, 400 MHz): δ 7,87-7,85 (m, 2H), 7,74-7,64 (m, 3H), 6,20 (d, 1H, J = 10,8 Hz), 5,86 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 4,06-3,95 (m, 2H), 3,27 (ddd, 1H, J = 5,2, 12,0, 18,4 Hz), 3,18 (ddd, 1H, J = 4,4, 10,0, 18,4 Hz) 2,81 (dd, 1H, J = 3,6 Hz, J = 12,0 Hz), 2,60 (s, 3H), 2,58 (dd, 1H, J = 4,0 Hz, J = 13,2 Hz), 2,40 (dd, 1H, J = 3,2 Hz, J = 13,2 Hz), 2,22-2,13 (m, 2H), 2,03-1,94 (m, 2H), 1,87-1,42 (m, 13H), 1,34-1,16 (m, 5H), 0,88 (d, 3H, J = 6,4 Hz), 0,49 (s, 3H). RMN ^{13}C (d_3 -MeOD, 100 MHz): d 141,9, 137,8, 134,8, 134,2, 130,9, 130,7, 123,5, 117,4, 68,1, 67,8, 57,4, 57,3, 54,2, 46,9, 45,5, 42,8, 41,8, 37,7, 36,5, 29,8, 29,7, 29,6, 28,5, 24,6, 23,3, 19,1, 12,5. IR: 3377 (m, br), 2931 (s), 2872 (m), 1437 (m), 1231 (br, s), 1143 (m), 1049 (m), 855 (w), 749 (s) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{NO}_3\text{SNa}^+$ [M+Na]: 508,2855; Encontrado: 508,2859.

Ejemplo 8b: 24-Fenil N-metil sulfoximina 19-Nor-vitamina-D₃ I(l)

De una manera similar, el compuesto (+)-I(k) se puede preparar como se muestra en el Esquema 27:

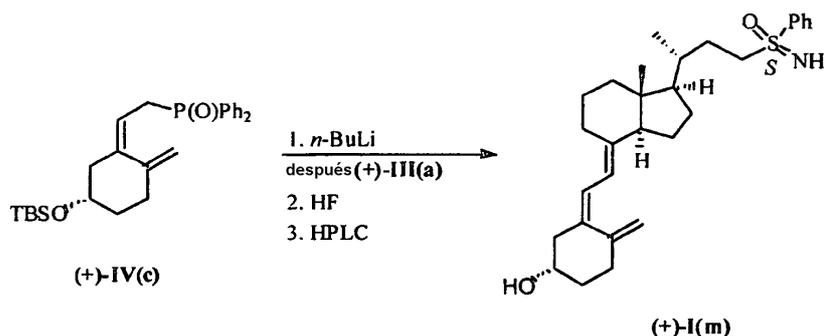


en el que la cetona (-)-III(b'), en vez de la cetona (+)-III(b) con anillo CD, se acopló con óxido de fosfina (\pm)IV(b) como se describe en el ejemplo 8a anterior. Tras la reacción de acoplamiento y la etapa de desprotección subsiguiente, la cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina proporcionó 11,3 mg de (+)-I(l) con un rendimiento del 79%. Este análogo se purificó después mediante HPLC, usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,5 ml/min.) eluída con 10% de etanol en hexanos para proporcionar 2,9 mg de (+)-I(l) con un rendimiento del 26%. El tiempo de retención para (+)-I(l) fue 25,88 min.

Datos para (+)-I(l): $[\alpha]_D = +71,6$ ($c = 0,13$, MeOH) RMN ^1H ($\text{d}_3\text{-MeOD}$, 400 MHz): δ 7,87-7,85 (m, 2H), 7,74-7,65 (m, 3H), 6,20 (d, 1H, $J = 10,8$ Hz), 5,86 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 4,05-3,95 (m, 2H), 3,27 (ddd, 1H, $J = 1,6,2,8, 12$ Hz), 3,17 (ddd, 1H, $J = 5,6, 12,0, 14,0$ Hz), 2,81 (dd, 1H, $J = 2,8$ Hz, $J = 11,2$ Hz), 2,60 (s, 3H), 2,58 (dd, 1H, $J = 4,0$ Hz, $J = 14,0$ Hz), 2,40 (dd, 1H, $J = 3,2$ Hz, $J = 13,2$ Hz), 2,23-2,13 (m, 2H), 2,02-1,94 (m, 2H), 1,84-1,44 (m, 11H), 1,33-1,17 (m, 5H), 0,90 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 0,53 (s, 3H). RMN ^{13}C ($\text{d}_3\text{-MeOD}$, 100 MHz): δ 141,9, 137,7, 134,8, 134,2, 130,9, 130,7, 123,5, 117,4, 68,1, 67,8, 57,4, 57,2, 53,9, 46,9, 45,5, 42,8, 41,8, 37,7, 36,4, 29,9, 29,7, 29,6, 28,4, 24,6, 23,3, 19,1, 12,5. IR: 3389 (m, br), 2942 (s), 2872 (m), 1443 (m), 1231 (br, s), 1143 (m), 1078 (m), 1043 (m), 855 (w), 749 (s) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{NO}_3\text{SNa}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]$: 508,2855; Encontrado: 508,2850.

10 Ejemplo 9: 24-Fenil sulfoximina 1-Nor vitamina-D₃ I(m)

Esquema 28



15 Antes de la reacción, el óxido de fosfina (+)-IV(c) (Kutner, A. et al. Bioorg. Chem. 1995, 23, 22-32) y la cetona (+)-III(a) con anillo CD se secaron azeotrópicamente con benceno y se dejaron a vacío durante 48 h. El óxido de fosfina (+)-IV(c) (76 mg, 0,13 mmoles) en argón se disolvió en 0,8 ml de THF recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,1 M en un matraz de 10 ml secado a la llama, y el matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadió gota a gota durante varios minutos *n*-BuLi (83 μl , 0,13 mmoles, disolución 1,6 M en hexanos), durante cuyo tiempo se desarrolló y persistió un color rojo intenso. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 10 minutos adicionales. Mientras tanto, un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con la cetona (+)-III(a) con anillo CD (14 mg, 0,040 mmoles) disuelta en 1 ml de THF recientemente destilado, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de cetona con anillo CD se transfirió suavemente gota a gota al matraz que contiene el anión de óxido de fosfina a -78°C vía una cánula durante varios minutos. Después de que la adición estuvo terminada, el color rojo intenso persistió, y la mezcla se dejó agitar a 78°C durante aprox. 15 horas, durante cuyo tiempo se comprobó visualmente. Tras la observación del color amarillo claro, la reacción se paralizó a -78°C mediante adición de 5 ml de tampón de pH 7, y se dejó llegar hasta la temperatura ambiente. La mezcla se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo y se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluída con acetato de etilo al 50% en hexanos en presencia de 1% de trietilamina para proporcionar el producto acoplado.

35 Se disolvió el producto acoplado (15 mg, 0,021 mmoles) en un vial de polipropileno de 5 ml purgado con argón, equipado con una barra agitadora magnética, en 1,0 ml de acetonitrilo anhidro para dar una disolución aprox. 0,02 M. A esta disolución bien agitada se añadieron 87 ml de HF (2,1 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y la mezcla se dejó agitar entonces a temperatura ambiente en la oscuridad durante 2 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con éter (25 ml), y se añadió una disolución saturada de NaHCO_3 hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (5 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío, para dar el producto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna.

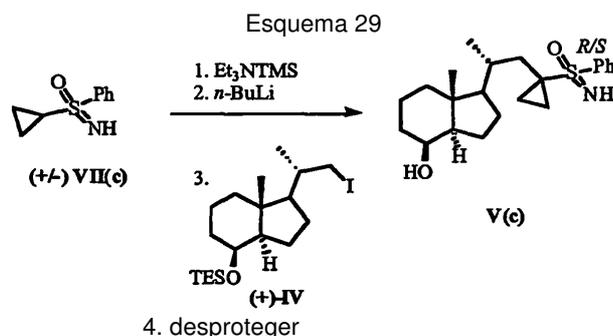
45 La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina proporcionó 10,6 mg de (+)-I(m) con un rendimiento del 88%. Este análogo se purificó después mediante HPLC usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,5 ml/min.) eluída con 10% de etanol en hexanos para proporcionar 3,0 mg de (+)-I(m) con un rendimiento del 28%. El tiempo de retención para (+)-I(m) fue 31,47 min.

55 Datos para (+)-I(m): $[\alpha]_D = +36,6$ ($c = 0,53$, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,98-7,96 (m, 2H), 7,64-7,53 (m, 3H), 6,21 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz), 6,00 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 5,05-5,04 (m, 1H), 4,80 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 3,96-3,91 (m, 1H), 3,20 (ddd, 1H, $J = 4,4, 12,4, 13,6$ Hz), 3,04 (ddd, 1H, $J = 4,4, 11,2, 13,6$ Hz), 2,80 (dd, 1H, $J = 4,4$ Hz, $J = 12,4$ Hz), 2,56 (dd, 1H, $J = 4,0$ Hz, $J = 13,2$ Hz), 2,43-2,36 (m, 1H), 2,33 (dd, 1H, $J = 7,6$ Hz, $J = 13,2$ Hz), 2,20-2,13 (m,

1H), 1,96-190 (m, 4H), 1,82-1,42 (m, 10H), 1,28-1,16 (m, 4H), 0,87 (d, 3H, J = 6,4 Hz), 0,49 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 145,0, 142,0, 141,6, 135,3, 132,9, 129,1, 128,3, 122,2, 117,7, 112,4, 69,2, 56,1, 55,7, 54,8, 45,9, 45,7, 40,3, 35,2, 35,0, 31,9, 28,8, 28,7, 27,3, 23,4, 22,1, 18,5, 11,9. IR: 3295 (m, br), 2931 (s), 2860 (m), 1443 (m), 1213 (br, s), 1096 (m), 1061 (w), 984 (m), 749 (s) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₂₉R₄₁NO₂SNa⁺ [M+Na]: 490,2750; Encontrado: 490,2723. UV (MeOH) λ_{max} 265 nm (ε 15.648).

Ejemplo 10: Procedimiento general para la preparación de los compuestos de la fórmula V, en los que R⁷ es hidrógeno y junto con R⁵ forma un anillo ciclopropílico.

10

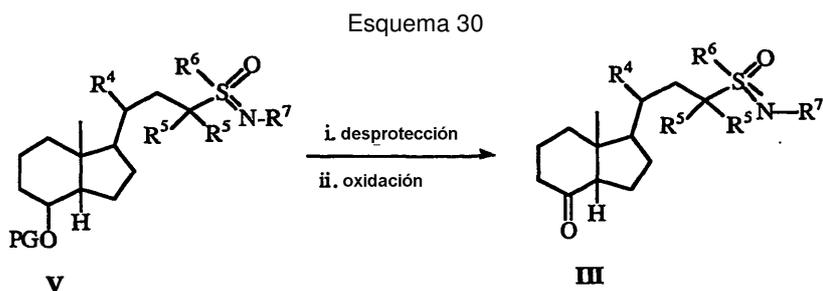


Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un condensador de reflujo, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con (±)-S-ciclopropil-S-fenil sulfoximina VII(c) (100 mg, 0,55 mmoles), y se disolvió en 1,1 ml de acetonitrilo anhidro para dar una disolución 0,5 M. Después, el matraz se colocó en un baño de aceite a 60°C. A esta disolución se añadió gota a gota durante varios minutos Et₂NTMS (125 μl, 0,66 mmoles) vía una jeringuilla. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se dejó agitar a 60°C durante aprox. 30 minutos. Cuando la TLC mostró el consumo total del material de partida, el matraz se enfrió hasta la temperatura ambiente. La mezcla se concentró a vacío para dar el producto N-trimetilsilil sulfoximina, esencialmente puro según se determina mediante RMN ¹H. Éste se usó sin purificación adicional.

Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con la N-trimetilsilil sulfoximina apropiada (0,163 mg, 0,55 mmoles) disuelta en 2,8 ml de THF recientemente destilado y 0,28 ml de HMPA. Después, el matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadieron gota a gota durante varios minutos 0,34 ml de n-BuLi (0,55 mmoles, 1,6 M disolución en hexanos), durante cuyo tiempo se desarrolló un color amarillo pálido. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 30 min. adicionales, y después se calentó hasta 0°C durante 10 min. El matraz se volvió a enfriar hasta -78°C. Mientras tanto, un matraz con forma de pera de 10 ml secado a la llama, equipado con un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con yoduro de (+)-VI (80 mg, 0,18 mmoles) disuelto en 0,5 ml de THF recientemente destilado, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de yoduro de (+)-VI se transfirió al matraz que contiene la sulfoximina litiada a -78°C vía una cánula durante varios minutos. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se calentó gradualmente hasta la temperatura ambiente, y se agitó a esta temperatura durante alrededor de 10 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La reacción se paralizó mediante adición de 2 ml de HCl 3N acuoso, y se dejó agitar durante 30 minutos. La mezcla se diluyó con éter dietílico, y se basificó usando NaOH 1H acuoso hasta que se alcanzó un pH de alrededor de 9, y después se enjuagó en un embudo de separación con éter dietílico. La mezcla se extrajo con éter dietílico (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto V(c) protegido con TMS, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida.

Ejemplo 11: Procedimiento general para la preparación de cetonas III con anillo C,D, en las que R⁷ es hidrógeno y junto con R⁵ forma un anillo ciclopropílico.

45



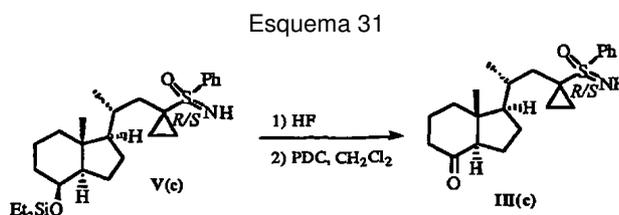
Método general de desprotección

Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con el alcohol V apropiado protegido con trietilsililo, el cual se disolvió en 1,8 ml de THF recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,04 M. El matraz se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. A esta disolución se añadieron gota a gota durante varios minutos 0,75 ml de TBAF (disolución al 49%), dando como resultado una disolución amarilla. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se calentó gradualmente hasta la temperatura ambiente, y después se agitó a esta temperatura durante alrededor de 4 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se concentró a vacío, y se purificó directamente mediante cromatografía en columna.

Método general de oxidación

Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con el alcohol apropiado (50 mg, 0,133 mmoles) y se disolvió en 3,3 ml de CH₂Cl₂ recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,04 M. Después, a esta disolución se añadieron en una porción a temperatura ambiente PDC (105 mg, 0,279 mmoles) y 66 mg de Celite secada en estufa. La mezcla resultante se dejó agitar a la temperatura ambiente durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se purificó directamente mediante cromatografía en columna.

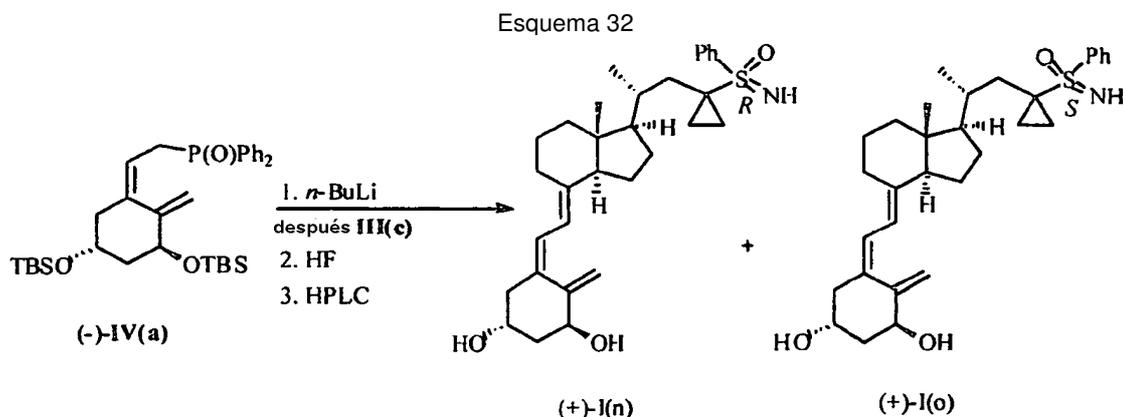
Ejemplo 11 (a) Preparación de cetona III(c) con anillo CD:



Se preparó una disolución del alcohol protegido con trietilsililo (+)-V(c) en 1,8 ml de THF recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,04 M. El matraz se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. A esta disolución se añadieron gota a gota durante varios minutos 0,75 ml de HF (disolución acuosa al 49%), dando como resultado una disolución amarilla. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se calentó gradualmente hasta la temperatura ambiente, y después se agitó a esta temperatura durante alrededor de 4 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se concentró a vacío, y se purificó directamente mediante cromatografía en columna. La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con acetato de etilo al 50% proporcionó 50,0 mg del alcohol correspondiente, con un rendimiento del 73%. Datos producidos: RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,97-7,95 (m, 4H), 7,63-7,58 (m, 2H), 7,55-7,50 (m, 4H), 4,03 (br, 2H), 2,14 (t, 4H, J = 11,2 Hz), 1,90 (d, 2H, J = 13,2 Hz), 1,78-1,20 (m, 22H), 1,08-0,88 (m, 12H), 0,86 (s, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,78-0,70 (m, 2H), 0,71 (d, 3H, J = 6,4 Hz), 0,68 (d, 3H, J = 6,4 Hz). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 141,2, 140,50, 132,77, 132,70, 128,97, 128,88, 128,74, 69,05, 57,06, 56,97, 52,40, 41,93, 40,26, 40,20, 37,56, 37,13, 33,46, 33,26, 27,18, 27,13, 22,38, 18,78, 17,28, 13,48, 12,41, 12,27, 12,20, 11,67. IR (película delgada) 3448 (br, w), 3330 (br, m), 3271 (m), 2931 (s), 2860 (s), 1443 (m), 1219 (br, s), 1067 (sh, m), 984 (s), 967 (m), 755 (s) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₂₂H₃₃NO₂Sn⁺ [M+Na]: 398,2124 Encontrado: 398,2121.

El alcohol correspondiente (50 mg, 0,133 mmoles) se disolvió en 3,3 ml de CH₂Cl₂ recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,04 M. Después, a esta disolución se añadieron en una porción a temperatura ambiente PDC (105 mg, 0,279 mmoles) y 66 mg de Celite secada en estufa. La mezcla resultante se dejó agitar a la temperatura ambiente durante alrededor de 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La mezcla se purificó directamente mediante cromatografía en columna. La cromatografía en columna ultrarrápida eluída con acetato de etilo al 50% proporcionó la cetona III(c) como una mezcla (~1:1) de diastereoisómeros como un aceite viscoso, con un rendimiento del 85%. Datos para III(c): RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,99-7,94 (m, 4H), 7,65-7,60 (m, 2H), 7,57-7,54 (m, 4H), 2,8 (br, 2H), 2,39-2,34 (m, 2H), 2,29-2,14 (m, 4H), 2,04-1,94 (m, 4H), 1,92-1,58 (m, 10H), 1,54-1,35 (m, 6H), 1,28-1,20 (m, 2H), 1,12-0,91 (m, 6H), 0,81 (d, 3H, J = 6,4 Hz), 0,77 (d, 3H, J = 6,4 Hz), 0,79-0,69 (m, 4H), 0,58 (s, 3H), 0,55 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 211,65, 139,98, 133,10, 133,02, 129,02, 128,92, 61,75, 57,09, 57,00, 49,85, 40,15, 38,81, 38,78, 37,82, 37,36, 33,62, 27,49, 27,43, 23,89, 19,00, 18,94, 12,71, 12,52, 12,49, 12,44, 11,83. IR (película delgada) 3278 (m), 2957 (s), 2874 (m), 1708 (s), 1445 (sh, m), 1378 (w), 1220 (br, s), 1109 (w), 968 (m), 749 (m) cm⁻¹. HRMS: calculado para C₂₂H₃₁NO₂Sn⁺ [M+Na]: 396,1967 Encontrado: 396,1955.

Ejemplo 12: 24-fenol sulfoximas I(n) y I(o)



5

Antes de la reacción, el óxido de fosfina (\pm)-IV(a) (Posner, G. H. et al. J. Med. Chem. 1992, 35, 3280-3287) y la cetona con anillo CD (+)-III(c) se secaron azeotrópicamente con benceno, y se dejaron a vacío durante 48 h. El óxido de fosfina (\pm)-IV(a) (63,5 mg, 0,11 mmoles) en argón se disolvió en 1,1 ml de THF recientemente destilado para dar una disolución aprox. 0,1 M en un matraz de 10 ml secado a la llama, y el matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadió gota a gota durante varios minutos *n*-BuLi (82 μl , 0,11 mmoles, disolución 1,33 M en hexanos), durante cuyo tiempo se desarrolló y persistió un color rojo intenso. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 10 minutos adicionales. Mientras tanto, un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con la cetona (+)-III(c) con anillo CD (15 mg, 0,04 mmoles) disuelta en 1 ml de THF recientemente destilado, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de cetona con anillo CD se transfirió suavemente gota a gota al matraz que contiene el anión de fosfina a -78°C vía una cánula durante varios minutos. Después de que la adición estuvo terminada, el color rojo intenso persistió, y la mezcla se dejó agitar a 78°C durante aprox. 8 horas, durante cuyo tiempo se comprobó visualmente. Tras la observación del color amarillo claro, la reacción se paralizó a -78°C mediante adición de 5 ml de tampón de pH 7, y se dejó llegar hasta la temperatura ambiente. La mezcla se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (4 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluida con acetato de etilo al 50% en hexanos en presencia de 1% de trietilamina para proporcionar el producto acoplado.

25

El producto acoplado (15 mg, 0,02 mmoles) se disolvió en un vial de polipropileno de 5 ml purgado con argón equipado con una barra agitadora magnética en 1,0 ml de acetonitrilo anhidro para dar una disolución aprox. 0,02 M. A esta disolución bien agitada se añadieron 83 μl de HF (2,0 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y la mezcla se dejó agitar entonces a la temperatura ambiente en la oscuridad durante 2 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con éter (25 ml), y se añadió disolución saturada de NaHCO_3 hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (5 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 25 ml) y con disolución de salmuera (1 x 25 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el producto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna.

35

La cromatografía en columna ultrarrápida se eluyó con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina para proporcionar 8,2 mg de una mezcla de diastereómeros (+)-I(n) y (+)-I(o) con un rendimiento del 79% y en una relación de 1:1, respectivamente. La mezcla diastereomérica se separó entonces mediante HPLC usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,0 ml/min.) eluida con 7% de etanol en hexanos para proporcionar 1,2 mg de (+)-I(n) y 1,9 mg de (+)-I(o) con rendimientos de 30% y 48%, respectivamente. El tiempo de retención para (+)-I(n) fue 123,3 min., y para (+)-I(o) fue 137,5 min.

40

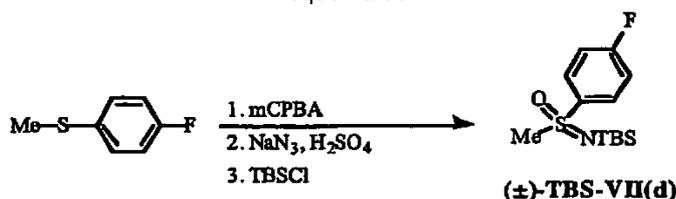
Datos para (+)-I(n): $[\alpha]_{\text{D}} = +8,5$ ($c = 0,08$, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,97-7,94 (m, 2H), 7,62-7,58 (m, 1H), 7,55-7,51 (m, 2H), 6,36 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz), 5,98 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 5,33 (m, 1H), 4,99 (br, 1H), 4,45-4,41 (m, 1H), 4,26-4,20 (m, 1H), 2,80 (dd, 1H, $J = 4,4$ Hz, $J = 12,8$ Hz), 2,59 (dd, 1H, $J = 3,6$ Hz, $J = 13,6$ Hz), 2,50 (s, 1H), 2,31 (dd, 1H, $J = 6,8$, 13,6 Hz), 2,15 (d, 1H, $J = 14,4$ Hz), 2,05-1,99 (m, 1H), 1,95-1,88 (m, 4H), 1,77-1,59 (m, 5H), 1,48-1,20 (m, 7H), 1,11-0,86 (m, 2H), 0,75 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz), 0,75-0,72 (m, 2H), 0,46 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 147,62, 142,74, 141,50, 133,06, 129,38, 128,77, 128,46, 124,87, 117,17, 111,76, 70,82, 66,84, 57,05, 56,19, 54,1, 45,93, 45,24, 42,88, 40,33, 37,80, 34,11, 28,96, 27,61, 23,45, 22,21,19,13, 12,29 (2C), 12,01. IR: 3330 (br, m), 2931 (s), 2872 (m), 1443 (m), 1219 (s), 1072 (m), 961 (sh, s), 890 (w) 749 (s) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{NO}_3\text{SNa}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]$: 532,2855; Encontrado: 532,2826. UV (MeOH) λ_{max} 265 nm (ϵ 9.024).

50

Datos para (+)-I(o): $[\alpha]_D^{25} = +37,7$ ($c = 0,12$, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,98-7,95 (m, 2H), 7,63-7,59 (m, 1H), 7,56-7,52 (m, 2H), 6,36 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 5,99 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 5,33 (m, 1H), 4,99-4,98 (br, m, 1H), 4,45-4,41 (m, 1H), 4,26-4,17 (m, 1H), 2,79 (dd, 1H, $J = 4,0$ Hz, $J = 12,4$ Hz), 2,59 (dd, 1H, $J = 3,6$ Hz, $J = 13,6$ Hz), 2,54 (s, 1H), 2,31 (dd, 1H, $J = 6,4$, 13,6 Hz), 2,13 (d, 1H, $J = 14,8$ Hz), 2,05-1,99 (m, 1H), 1,95-1,88 (m, 4H), 1,77-1,59 (m, 5H), 1,48-1,20 (m, 7H), 1,11-0,86 (m, 2H), 0,73 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), 0,76-0,70 (m, 2H), 0,49 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 147,59, 142,70, 140,75, 133,08, 129,47, 128,78, 128,55, 124,84, 117,18, 111,79, 70,80, 66,81, 56,94, 56,18, 45,92, 45,22, 42,85, 40,32, 40,29, 37,40, 34,13, 28,95, 27,66, 23,44, 22,22, 19,11, 12,41, 12,03, 11,74. IR: 3334 (br, m), 2936 (s), 2872 (m), 1445 (m), 1284 (s), 1215 (br, m), 1119 (m), 1053 (br, s), 978 (w) 753 (s) cm^{-1} . HRMS: calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{NO}_3\text{SNa}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]$: 532,2855; Encontrado: 532,2860. UV (MeOH) λ_{max} 265 nm (ϵ 15.684).

Ejemplo 13: *p*-Fluorofenilmetil sulfoximina VII(d) protegida con TBSCl

Esquema 33



Un matraz de recuperación de 25 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique, un embudo de adición junto con un balón de Ar, se cargó con sulfuro de 4-fluorofenilmetilo (1 g, 7 mmoles), y se disolvió en 14 ml de CH_2Cl_2 recientemente destilado. Después, el matraz se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. A esta disolución se añadió gota a gota mCPBA (1,9 g 7,7 mmoles, 70%) como una disolución en 5 ml de CH_2Cl_2 , vía un embudo de adición, durante varios minutos. Esta mezcla se dejó agitar a 0°C durante 2 horas adicionales. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La reacción se paralizó mediante adición de agua, y después se enjuagó en un embudo de separación con 50 ml de CH_2Cl_2 . La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con disolución sat. de NaHCO_3 (1 x 10 ml), disolución de salmuera (1 x 10 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida eluída en primer lugar con 100% de acetato de etilo, produciendo el sulfóxido correspondiente como un aceite con un rendimiento del 90% (1 g, 6,3 mmoles).

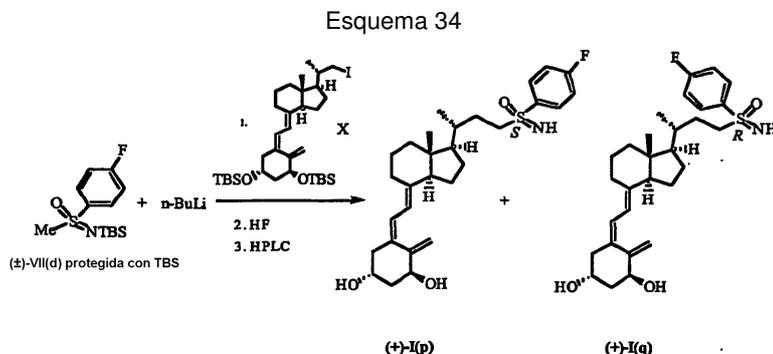
Un matraz de recuperación secado a la llama de 25 ml, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique, y un embudo de adición junto con un balón de Ar, se cargó con el sulfóxido (1 g, 6,3 mmoles) y se disolvió en 6,3 ml de CHCl_3 . Después, se añadió al matraz en una porción (0,45 g, 6,9 mmoles) de NaN_3 . Mientras tanto, se cargaron 1,53 ml de H_2SO_4 con. en el embudo de adición, y se dejó gotear en el matraz de reacción a 0°C durante varios minutos. El embudo de adición se sustituyó entonces con un condensador de reflujo, y el matraz se colocó en un baño de aceite y se calentó hasta 45°C durante toda la noche. La TLC mostró el consumo total del material de partida. El matraz de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, y la reacción se paralizó mediante adición de agua, y después se enjuagó en un embudo de separación con 50 ml de CHCl_3 . La mezcla se extrajo con CHCl_3 (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con disolución de salmuera (1 x 10 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 100% de acetato de etilo, produciendo 0,81 g de sulfoximina VII(d) como un sólido, con un rendimiento del 74%. Ésta se recrystalizó en acetato de etilo. Datos producidos para *p*-fluorofenilmetil sulfoximina: P.f. $93-94^\circ\text{C}$. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 8,06-8,02 (m, 2H), 7,26-7,21 (m, 2H), 3,12 (s, 3H), 2,76 (br, 1H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 165,37 (d, $J = 253,7$ Hz), 139,4 (d, $J = 2,7$ Hz), 130,5 (d, $J = 9,1$ Hz), 116,3 (d, $J = 22,8$ Hz), 46,3. RMN ^{19}F (CDCl_3 , 375 MHz): δ -105,60-105,7 (m). IR: 3268 (m), 3102 (w), 2928 (w), 1589 (s), 1493 (s), 1404 (w), 1321 (w), 1224 (s), 1094 (s), 1021 (m), 1004 (s), 946 (m), 840 (m), 817 (m), 753 (m) cm^{-1} . HRMS: calc. para $\text{C}_7\text{H}_8\text{FNOSNa}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]$: 196,0202; encontrado: 196,0201.

Un matraz de recuperación de 5 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con *p*-fluorofenilmetil sulfoximina (0,1 g, 0,58 mmoles), y se disolvió en 1,1 ml de piridina anhidra para dar una disolución aprox. 0,5 M. A esta disolución se añadió TBSCl (0,1 g 0,69 mmoles) en forma pura en una porción. Esta mezcla se dejó agitar a la temperatura ambiente durante 12 horas. La TLC mostró el consumo total del material de partida. La reacción se paralizó mediante adición de agua, y después se enjuagó en un embudo de separación con 25 ml de acetato de etilo. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con disolución de salmuera (1 x 10 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 10% de acetato de etilo produciendo la sulfoximina VII(d) protegida con TBS como un aceite con un rendimiento del 90% (0,15 g, 0,52 mmoles). RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,97-7,93 (m, 2H), 7,20-7,14 (m, 2H), 2,99 (s, 3H), 0,91 (s, 9H), 0,05 (s, 3H), 0,04 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 164,9 (d, $J = 252,9$ Hz), 141,2 (d, $J = 3,0$ Hz), 129,6 (d, $J = 8,1$ Hz), 116,0 (d, $J = 22,0$ Hz), 49,7, 25,9, 17,9, -2,57. RMN ^{19}F (CDCl_3 , 375 MHz): δ -107,3-107,4 (m). IR: 2954 (s), 2958 (s), 2885 (s), 2855 (s), 1589 (m), 1493 (m), 1322 (s), 1302 (s), 1284 (s),

1250 (m), 1163 (s), 1150 (s); 1090 (w), 1006 (w), 953 (w), 834 (s), 814 (m), 774 (s) cm^{-1} . HRMS: calc. para $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{FNOSSiNa}^+$ [$\text{M}+\text{Na}$]: 310,1067; encontrado: 310,1043.

Ejemplo 14: 24-Fenil sulfoximas I(p) y I(q)

5

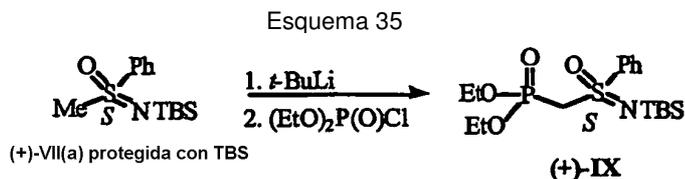


10 Un matraz de recuperación de 5 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con (±)-VII(a) (8,4 mg, 0,029 mmoles), y se disolvió en 0,5 ml de THF recientemente destilado. Después, el matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadieron gota a gota durante varios minutos 19 μl de *n*-BuLi (0,03 mmoles, disolución 1,6 M en hexanos), seguido de la adición de 50 μl de HMPA, dando como resultado un color amarillo. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 30 min. adicionales. Mientras tanto, un matraz con forma de pera de 5 ml secado a la llama, equipado con un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con yoduro de (+)-IX (5 mg, 0,0073 mmoles), se disolvió en 0,5 ml de THF recientemente destilado, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de yoduro de (+)-IX se transfirió al matraz que contiene la sulfoximina litiada a -78°C vía una cánula durante unos pocos minutos. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se agitó a -78°C durante alrededor de 4-5 horas. La TLC mostró el consumo casi total de (+)-IX. La reacción se paralizó mediante adición de 2 ml de tampón de pH 7, y después se enjuagó en un embudo de separación con acetato de etilo. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 10 ml) y con disolución de salmuera (1 x 10 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto acoplado, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida eluída en primer lugar con 100 ml de 100% de hexanos, y después 10% de acetato de etilo en hexanos.

25 Un vial de polipropileno de 5 ml purgado con argón, equipado con una barra agitadora magnética junto con una tapa, se cargó con el producto acoplado (3,4 mg, 0,004 mmoles), y se disolvió en 0,4 ml de acetonitrilo anhidro para dar una disolución aprox. 0,01 M. A esta disolución bien agitada se añadieron 0,16 μl de HF (0,44 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y la mezcla se dejó agitar entonces a la temperatura ambiente en la oscuridad durante 4 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. Esta mezcla de reacción se diluyó con éter (10 ml), y se añadió disolución saturada de NaHCO_3 hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo, y se extrajo con acetato de etilo (4 x 10 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 10 ml), con disolución de salmuera (1 x 10 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida eluída con 99% de acetato de etilo en presencia de 1% de trietilamina, para proporcionar 1,7 mg de (+)-I(p) y (+)-I(q) con un rendimiento del 84%. Esto se purificó adicionalmente mediante HPLC usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,5 ml/min.) eluída con 13% de etanol en hexanos para proporcionar 0,51 mg de (+)-I(p) y 0,37 mg de (+)-I(q) con rendimientos del 19% y 26%, respectivamente. El tiempo de retención para (+)-I(p) fue 78,0 min. y para (+)-I(q) fue 61,0 min. Datos para (+)-I(p): $[\alpha]_D = +12,3$ ($c = 0,09$, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 8,00-7,95 (m, 2H), 7,25-7,20 (m, 2H), 6,36 (d, 1H, $J = 11,22$ Hz), 5,99 (d, 1H, $J = 11,22$ Hz), 5,32 (br, s, 1H), 4,98 (br, s, 1H), 4,44-4,30 (m, 1H), 4,23-4,22 (m, 1H), 3,23-3,15 (m, 1H), 3,07-2,97 (m, 1H), 2,66 (br, 1H), 2,60 (dd, 1H, $J = 3,39$ Hz, 13,26 Hz), 2,30 (dd, 1H, $J = 5,61$ Hz, 13,29 Hz), 2,04-1,88 (m, 4H), 1,81-1,44 (m, 11H), 1,30-1,12 (m, 4H), 0,88 (d, 3H, $J = 6,33$ Hz), 0,50 (s, 3H). RMN ^{19}F (CDCl_3 , 375 MHz): δ -105,75-105,78 (m). IR (pura) 3299 (m), 2926 (s), 2869 (s), 1587 (m), 1491 (w), 1446 (w), 11401 (w), 1350 (m), 1220 (s), 1016 (w), 1057 (w), 994 (m), 836 (w), 752 (s) cm^{-1} . HRMS: calc. para $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{FNO}_3\text{SNa}^+$ [$\text{M}+\text{Na}$]: 524,2605; encontrado: 524,2610. UV (MeOH) λ_{max} 263 nm (ϵ 11.096). Datos para (+)-I(q): $[\alpha]_D = +22,6$ ($c = 0,05$, CHCl_3) RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 8,00-7,95 (m, 2H), 7,25-7,19 (m, 2H), 6,36 (d, 1H, $J = 11,22$ Hz), 5,99 (d, 1H, $J = 11,31$ Hz), 5,32 (br, s, 1H), 4,98 (br, s, 1H), 4,45-4,40 (m, 1H), 4,24-4,18 (m, 1H), 3,22-3,00 (m, 2H), 2,80 (dd, 1H, $J = 3,81$ Hz, 11,82 Hz), 2,67 (br, 1H), 2,59 (dd, 1H, $J = 3,48$ Hz, 13,38 Hz), 2,31 (dd, 1H, $J = 6,36$ Hz, 13,44 Hz), 2,06-1,87 (m, 3H), 1,55-1,41 (m, 11H), 1,29-1,15 (m, 4H), 0,88 (d, 3H, $J = 6,39$ Hz), 0,50 (s, 3H). RMN ^{19}F (CDCl_3 , 375 MHz): δ -105,72-105,78 (m). IR (pura) 3294 (m), 2921 (s), 2866 (m), 1583 (m), 1490 (m), 1348 (m), 1222 (s), 1096 (w), 1052 (m), 997 (m), 838 (w), 750 (s) cm^{-1} . HRMS: calc. para $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{FNO}_3\text{SNa}^+$ [$\text{M}+\text{Na}$]: 524,2605; encontrado: 524,2619. UV (MeOH) λ_{max} 263 nm (ϵ 10.895).

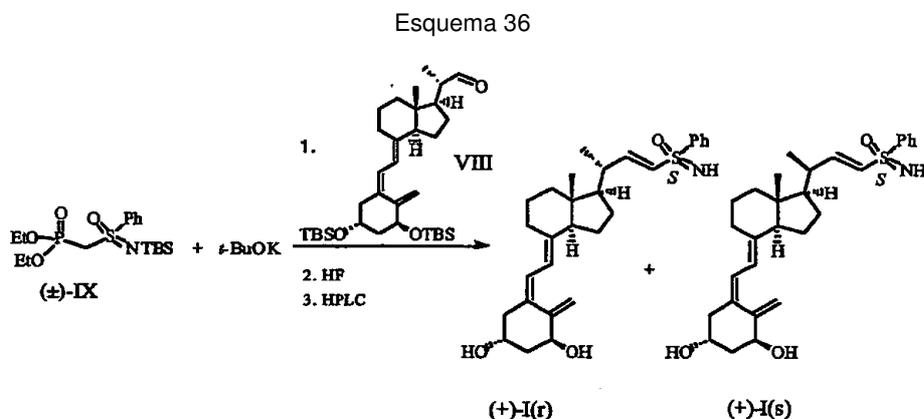
50

Ejemplo 15: Preparación de sulfoximina IX



Un matraz de recuperación de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética, un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con (+)-S-metil-S-fenil sulfoximina (43 mg, 0,1595 mmoles), y se disolvió en 1,5 ml de THF recientemente destilado. Después, el matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadieron gota a gota 0,16 ml de *t*-BuLi (0,1755, disolución 1,1 M en pentano) durante varios minutos, dando como resultado un color amarillo. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 30 min. adicionales. A esta disolución se añadió clorofosfato de dietilo (41,3 mg, 35 μl , 0,2393 mmoles). Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se agitó a -78°C durante alrededor de 1 hora. La TLC mostró que el material de partida se consumió totalmente. La reacción se paralizó mediante adición de agua (5 ml), y después la mezcla se enjuagó en un embudo de separación extraída con acetato de etilo (3 x 10 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 10 ml), con disolución de salmuera (1 x 10 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto bruto. El bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida eluída con una mezcla 9:1 de acetato de etilo:hexanos para dar 34 mg de (+)-IX como un aceite con un rendimiento del 53%. Datos para (+)-IX: $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +40,3$ (c 0,55, CHCl_3). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7,99-7,97 (m, 2H), 7,58-7,48 (m, 3H), 4,13-4,02 (m, 4H), 3,73 (dd, 1H, $J = 3,6$ Hz, 15,2 Hz), 3,68 (dd, 1H, $J = 3,6$ Hz, $J = 15,2$ Hz), 1,28-1,21 (m, 6H), 0,91 (s, 9H), 0,05 (s, 6H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 144,46, 132,47, 128,55, 127,83, 62,74 (d, $J = 6,1$ Hz), 62,55, (d, $J = 6,1$ Hz), 58,02 (d, $J = 135,8$ Hz), 25,85, 17,96, 16,22 (d, $J = 2,1$ Hz), 16,16 (d, $J = 2,3$ Hz), -2,63, -2,65 ppm. IR (pura) 3066 (w), 2955 (m), 2929 (m), 2855 (m), 1473 (m), 1446 (m), 1391 (m), 1361 (m), 1320 (m), 1300 (s), 1253 (s), 1167 (s), 1052 (s), 1025 (s), 974 (m), 834 (s), 778 (m), 689 (m) cm^{-1} . HRMS: calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{NO}_4\text{PSSiNa}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]$: 443,1451; encontrado: 428,1435.

Ejemplo 16: 24-Fenil sulfoximas I(r) y I(s) (C22-C23 doble enlace)

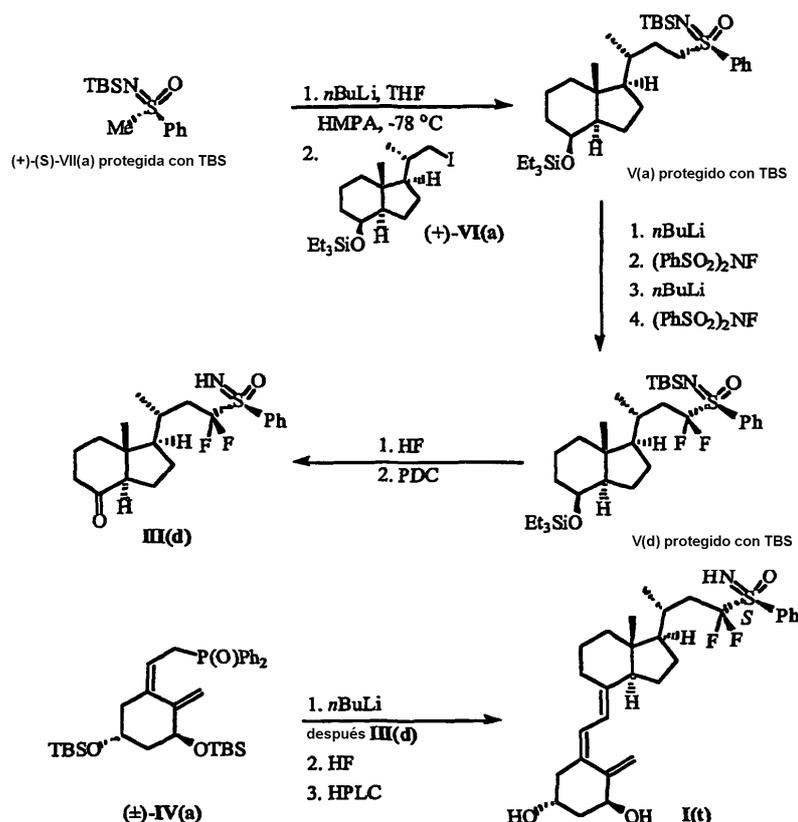


Un matraz de recuperación de 5 ml secado a la llama equipado con una barra agitadora magnética, y un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con (+)-IX (4,2 mg, 0,01 mmoles) y se disolvió en 0,5 ml de THF recientemente destilado. Después, el matraz se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. A esta disolución se añadieron gota a gota 13 μl de *t*-BuOK (0,013 mmoles, disolución 1,0 M en THF) durante varios minutos, dando como resultado un color amarillo. Esta mezcla se dejó agitar a -78°C durante 30 min. adicionales. Mientras tanto, un matraz con forma de pera de 5 ml secado a la llama, equipado con un tabique junto con un balón de Ar, se cargó con VIII (5,0 mg, 0,0087 mmoles) disuelta en 1,0 ml de THF recientemente destilado, y se enfrió hasta -78°C en un baño de isopropanol/hielo seco. La disolución de VIII se transfirió al matraz que contiene el anión de (+)-IX a -78°C vía una *cánula*, durante unos pocos minutos. Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se agitó a -78°C durante alrededor de 1,0 horas. Después, el matraz se calentó hasta la temperatura ambiente, y se dejó agitar durante 1,5 horas. La TLC mostró el consumo del material de partida. La reacción se paralizó mediante adición de agua (5 ml), y después la mezcla se enjuagó en un embudo de separación extraída con acetato de etilo (3 x 10 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 10 ml), con disolución de salmuera (1 x 10 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto acoplado. El producto acoplado se purificó mediante cromatografía ultrarrápida eluída con 10% de acetato de etilo en hexanos para dar 5,4 mg con un rendimiento del 71%.

Un vial de polipropileno de 5 ml purgado con argón, equipado con una barra agitadora magnética junto con una tapa, se cargó con el producto acoplado (5,0 mg, 0,006 mmoles), y se disolvió en 0,6 ml de acetonitrilo anhidro para dar una disolución aprox. 0,01 M. A esta disolución bien agitada se añadieron 0,25 µl de HF (0,6 mmoles, disolución acuosa al 49%) vía una jeringuilla a temperatura ambiente, y la mezcla se dejó agitar entonces a la temperatura ambiente en la oscuridad durante 4 horas. La TLC mostró la terminación de la reacción. Esta mezcla de reacción se diluyó con éter (10 ml), y se añadió una disolución saturada de NaHCO₃ hasta que no se liberó más dióxido de carbono. La mezcla de reacción se enjuagó después en un embudo de separación con acetato de etilo y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 10 ml), con disolución de salmuera (1 x 10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron. El filtrado se concentró *a vacío* para dar el producto bruto que se pasó a través de una almohadilla de gel de sílice, para proporcionar 2,3 mg de una mezcla de (+)-I(r) y (+)-I(s) con un rendimiento del 79%. Ésta se purificó adicionalmente mediante HPLC usando una columna Chiralcel OJ (semipreparativa (1 x 25 cm), caudal = 2,5 ml/min.) eluida con 17% de acetato de etilo en hexanos para proporcionar 800 µg de (+)-I(r) y 540 µg de (+)-I(s) con rendimientos de 28% y 19%, respectivamente. Datos para (+)-I (r): RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,96-7,93 (m, 2H), 7,61-7,48 (m, 3H), 6,83 (dd, 1H, J = 8,9 Hz, J = 15,0 Hz), 6,35 (d, 1H, J = 12,60 Hz), 6,31 (d, 1H, J = 15,00 Hz), 5,98 (d, 1H, J = 10,83 Hz), 5,31 (s, 1H), 4,97 (s, 1H), 4,48-4,38 (m, 1H), 4,28-4,18 (m, 1H), 2,84-2,79 (m, 2H), 2,62-2,57 (m, 1H), 2,34-2,28 (m, 2H), 2,06-1,88 (m, 4H), 1,69-1,33 (m, 7H), 1,33-1,22 (m, 4H), 1,11 (d, 3H, J = 6,6 Hz), 0,52 (s, 3H). HRMS: calc. para C₂₉H₃₉NO₃SNa⁺ [M+Na]: 504,2543; encontrado: 504,2530. UV (MeOH) λ_{max} 261 nm (ε 12.799).

Datos para (+)-I(r): RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,96-7,94 (m, 2H), 7,61-7,48 (m, 3H), 6,83 (dd, 1H, J = 89,8 Hz, J = 15,0 Hz), 6,35 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 6,31 (d, 1H, J = 15,00 Hz), 5,98 (d, 1H, J = 11,16 Hz), 5,31 (s, 1H), 4,97 (s, 1H), 4,47-4,38 (m, 1H), 4,28-4,18 (m, 1H), 2,81-2,76 (m, 2H), 2,60-2,57 (m, 1H), 2,34-2,25 (m, 2H), 2,06-1,87 (m, 4H), 1,62-1,37 (m, 7H), 1,33-1,25 (m, 4H), 0,99 (d, 3H, J = 6,6 Hz), 0,42 (s, 3H). HRMS: calc. para C₂₉H₃₉NO₃SNa⁺ [M+Na]: 504,2543; encontrado: 504,2543. UV (MeOH) λ_{max} 265 nm (ε 7.718).

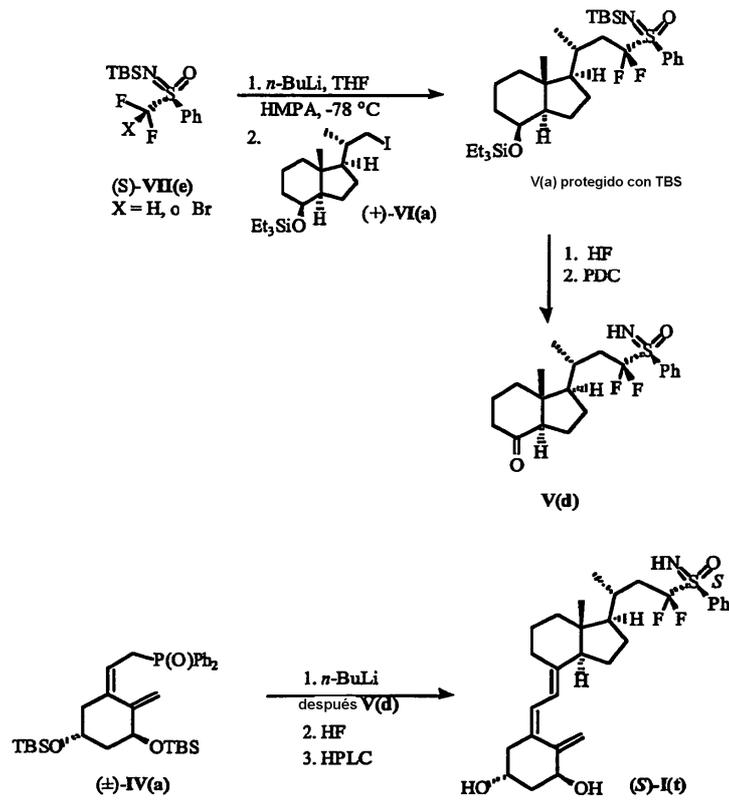
Ejemplo 17: Preparación propuesta del compuesto (S)-I(t) - Método A



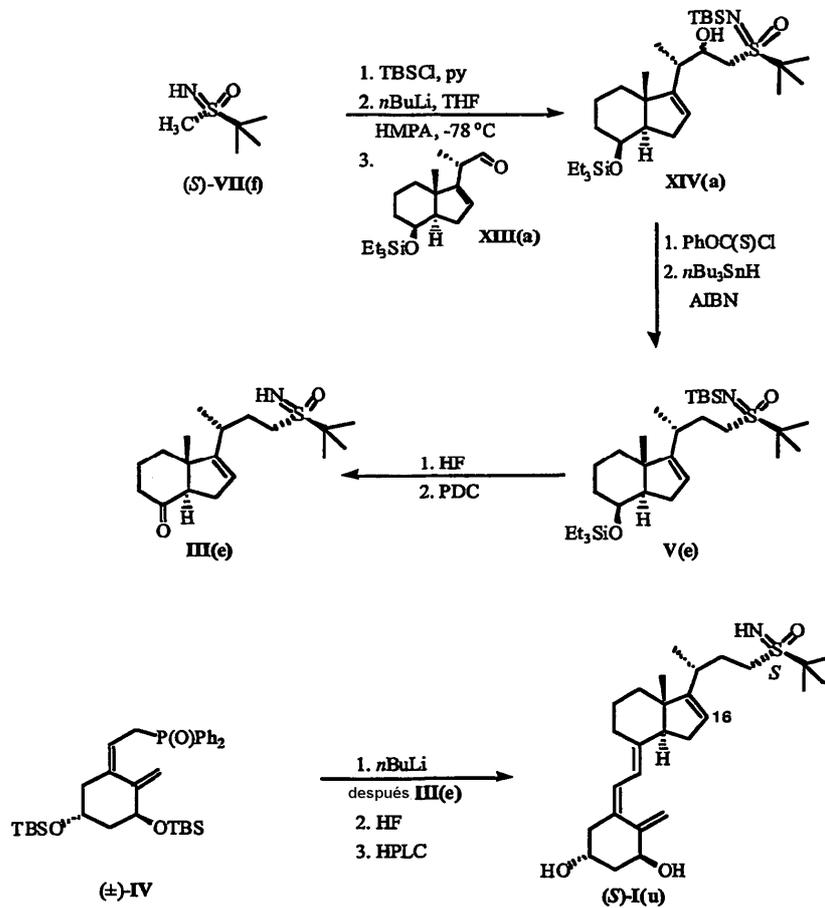
De una manera similar, el compuesto (R)-I(t) se puede preparar a partir de (R)-VII(a) protegido con TBS.

Ejemplo 18: Preparación propuesta del compuesto (S)-I(t) - Método B

De una manera similar, el compuesto (R)-I(t) se puede preparar a partir de (R)-VII(e) protegido con TBS.

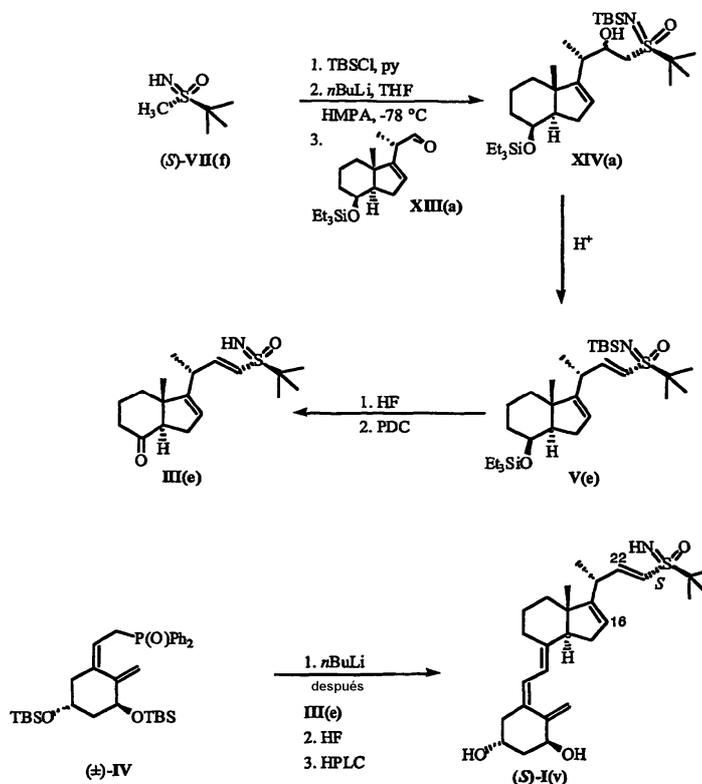


Ejemplo 19: Preparación propuesta del compuesto (S)-I(u)



De una manera similar, el compuesto (*R*)-I(u) se puede preparar a partir de (*R*)-VII(f).

Ejemplo 20: Preparación propuesta del compuesto (*S*)-I(v)



De una manera similar, el compuesto (*R*)-I(v) se puede preparar a partir de (*R*)-VII(f).

Ejemplo 21: Ensayo de la enzima CYP24 (células HPK1A-ras inducidas)

(i) Material y reactivos:

1,25(OH)₂D₃ 10⁻⁵ M (Sigma, St. Louis, MO);

La preparación de una disolución de trabajo 10⁻⁵ M es como sigue:

Disuélvase 1 mg de 1,25(OH)₂D₃ en 480 µl de isopropanol para obtener una disolución madre 5X10⁻³ M. Almacénesse a -70°C hasta que se necesite. Añádase una alícuota de 1µl de disolución madre 5X10⁻³ M de 1,25(OH)₂D₃ a 499 µl de isopropanol para obtener una disolución de trabajo de 1,25(OH)₂D₃ 10⁻⁵ M. Almacénesse a -20°C hasta que se necesite.

[³H]-1,25(OH)₂D₃ 16.000 cpm/µl, 8 µM (Perkin Elmer, Boston, MA)

Células HPK1A-ras (obtenidas de Dr. Glenville Jones, Queens University, Kingston, Ontario, Canadá)

Placa de 48 pocillos

Metanol

Diclorometano

KCl saturada: KCl 30 g, H₂O 400 ml

(ii) Procedimiento:

1. Inducción de células HPK1A-ras (el día anterior al ensayo)

Quando las células HPK1A-ras fueron confluentes entre el 80 y el 90%, se añadió 1 µl de 1,25(OH)₂D₃ 10⁻⁵ M a 1 ml de medio en la placa (la concentración final es de 10⁻⁸ M).

2. Preparación de la suspensión celular

Después de 18 a 20 horas de inducción, se eliminó el medio y las células se lavaron dos veces con PBS. A

continuación las células se tripsinizaron en la placa, se centrifugaron (2.000 rpm, 5 min) y se puso en suspensión el pelete de las células en medio DMEM+1% de BSA.

5 Se hizo el recuento de células y se ajustó la densidad de las células a 250.000/150 µl, se añadieron 150 µl de suspensión celular a cada pocillo en una placa de 48 pocillos (incluyendo 3 pocillos como control sin células, y 3 pocillos de células sin fármaco o inhibidor como controles).

10 3. Se añadieron 25 µl de cetoconazol (concentración final 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M) o fármacos (concentración final 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M) en cada pocillo designado. La placa se mantuvo a 37°C durante 10 min.

4. Preparación del sustrato

15 Para cada ml requerido, se añadieron 872 µl de medio DMEM+1% de BSA, 20 µl de ^3H -1,25(OH) $_2\text{D}_3$ y 8 µl de DPPD 100 mM a un tubo, y se sometió a vórtice.

5. Incubación

20 Se añaden 25 µl de sustrato a cada pocillo, se incuba la placa a 37°C durante 2 horas.
Se añaden 25 µl de sustrato para el recuento de la placa (2 pocillos) como recuento total.

6. Extracción de lípidos y recuento

25 Se añaden 500 µl de metanol a cada pocillo para interrumpir la reacción, y se transfieren a un tubo.
Se añaden 250 µl de diclorometano, y se somete a vórtice.
Se añaden 250 µl de diclorometano y 250 µl de KCl saturado, y se somete a vórtice.
Se centrifuga a 4.000 rpm durante 5 min.

30 Se transfieren 100 µl de la fase acuosa (fase superior) a la placa de plástico de recuento. Se añaden 600 µl de fluido de centelleo a cada pocillo. Se hace el recuento de la placa en el contador de centelleo.

7. Cálculo de la actividad enzimática

La CPM del control celular tras restar la CPM del control sin células (NCC) fue 100% de actividad enzimática.

35 Actividad enzimática = (CPM en el pocillo con los compuestos de ensayo - CPM en el pocillo de NCC)/(CPM en el control celular - CPM en el pocillos de NCC) * 100%

Dilución de cetoconazol
Disolución madre 10^{-2} M

40

Concentración (final)	De la etapa previa (µl)	DMEM + 1% BSA (µl)	Concentración (real)
10^{-5} M	4	496	8×10^{-5} M
10^{-6} M	12,5	112,5	8×10^{-6} M
10^{-7} M	12,5	112,5	8×10^{-7} M
10^{-8} M	12,5	112,5	8×10^{-8} M

Dilución de los compuestos de ensayo
Disolución madre 10^{-3} M

Concentración (final)	De la etapa previa (µl)	DMEM + 1% BSA (µl)	Concentración (real)
10^{-6} M	4	496	8×10^{-6} M
10^{-7} M	12,5	112,5	8×10^{-7} M
10^{-8} M	12,5	112,5	8×10^{-8} M
10^{-9} M	12,5	112,5	8×10^{-9} M

45

(iii) Los resultados se muestran en la Tabla 1

(iv) Referencias:

50 Ray S, Ray R, Holick M. Metabolism of 3H-1alpha, 25-dihydroxy vitamin D3 in the cultured human keratinocytes (1995) 59:117-122

55 Dilworth F J, Scott I, Green A, Strugnell S, Guo Y D, Roberts E A, Kremer R, Calverley, M J, Makin H L J, Jones G. Different mechanisms of hydroxylation site selection by liver and kidney cytochrome P450 species (CYP27 and CYP24) involved in Vitamin D metabolism. (1995) J Biochem 270(28):16766-16774.

Ejemplo 22: Ensayo de enzima CYP24 (usando estirpe celular estable – células V79-CYP24)

(i) Material y reactivos

- 5
 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ 1 mM reconstituido en isopropanol
 Substratos (1 mM) reconstituidos en isopropanol
 Células V79-CYP24
 Medio DMEM suplementado con higromicina y 10 % de suero fetal bovino
 10 Medio DMEM +1% BSA
 DPPD
 Placa de 48 pocillos
 Metanol
 Diclorometano
 15 KCl saturado: KCl 30g, H $_2$ O 400 ml
 Quetoconazol

(ii) Procedimiento:

- 20 1. Preparación de la suspensión celular

En el día del ensayo, lávese la monocapa de células V79-CYP24 una vez con 1X tampón de PBS y después tripsinícese durante 5 min a temperatura ambiente (aprox. 22°C). Añádase 1 X PBS. Recójense las células en un tubo, centrifúguense las células (500 X g, 5 min) y resuspéndanse en medio DMEM +1% BSA. Recuéntense las
 25 células y ajústese la densidad hasta 250.000 células/ 150 μ l (1,67 millones/1 ml).

2. Cultivo de las células en placa

Añádanse 150 μ l de suspensión celular a pocillos marcados apropiadamente de una placa de 48 pocillos. Incúbese
 30 la placa durante 30 minutos a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5% de CO $_2$ para la adherencia de las células a los pocillos.

3. Adición de compuesto

Añádanse 25 μ l de inhibidor (10 $^{-6}$ a 10 $^{-9}$ M) y, después de 10 min, añádanse 25 μ l de sustrato [3 H-1 β]-1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$
 35 (20 nM) durante 2 horas a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5% de CO $_2$. Tanto el inhibidor como el sustrato se prepararon en medio DMEM con 1% de BSA en ausencia y en presencia de 100 μ M de DPPD.

4. Extracción de lípido y recuento

Añádanse 500 μ l de metanol para detener la reacción. Transfiérase a un tubo. Añádanse 250 μ l de diclorometano y
 40 sométase a vórtice. Añádanse 250 μ l de diclorometano y 250 μ l de KCl saturado y sométase a vórtice. Centrifúguese a 4000 rpm durante 5 min. Se mezclaron alícuotas de 100 μ l de fracción acuosa por triplicado con 600 μ l de fluido de centelleo y se midió la radioactividad usando un contador de centelleo. Todos los valores se
 45 normalizaron con respecto al valor de fondo.

(iii) Resultados.

Mostrados en la Tabla 1

50

(iv) Referencia.

1. Solicitud de patente PCT Serie No. PCT/CA03/00620 (WO 03/093459)

55 **Ejemplo 23: Ensayo de la enzima CYP27A1**

(A) Procedimiento:

Como se describe en:

60 Dilworth F. J., Black S. M., Guo Y. D., Miller W. L., Jones G. Construction of a P450c27 fusion enzyme: a useful tool for analysis of vitamin D $_3$ 25-hydroxylase (1996) Biochem. J. 320:267-271

65 Sawada N., Sakaki T., Ohta M., Inouye K. Metabolism of vitamin D (3) by human CYP27A1 (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 273(3):977-84

(B) Resultados:

Véase la Tabla 1.

5 **Ejemplo 24: Ensayo de unión de VDR**

(A) Reactivos y materiales

- 10 1. 9,4 pmoles/μl de VDR (humano, recombinante, Biomol).
 2. [³H]-1,25(OH)₂D₃ en etanol
 3. 1,25(OH)₂D₃ en etanol

- 15 4. TEK₃₀₀
 Tris-HCl 50 mM
 EDTA 1,5 mM
 KCl 300 mM
 Ajustese el pH hasta 7,4 (25°C)

- 20 5. TEDK₃₀₀
 TEK₃₀₀
 DTT (ditiotreitól) 10 mM (MW 154,24)

- 25 6. Tampón Tris

- 22,50 g de Tris-HCl
 500 ml de H₂O
 13,25 g de Tris-base
 30 500 ml de H₂O
 Manténgase a 4°C

7. Dextrano-T70 (peso molecular 70.000) Pharmacia

- 35 8. Carbón vegetal (carbón decolorante neutro, Norit) Fisher Scientific

9. Gelatina (G-2625 Sigma)

(ii) Preparación de reactivos

- 40 1. Disolución de dextrano con carbón vegetal

(1) Tampón Tris

- 45 Mézclese una cantidad igual de Tris-HCl y Tris-base.

- (2) Carbón vegetal neutro decolorante de Norit 2,0 g
 Tampón Tris 150 ml
 Agítese

- 50 (3) Dextrano T-70 0,2 g
 Tampón Tris 50 ml.

- (4) Añádase gota a gota lentamente el dextrano en suspensión en la disolución de carbón vegetal con agitación.

- 55 Manténgase en el refrigerador durante la noche.
 Treinta minutos antes de su uso, almacénese. en hielo con agitación continua.

2. Disolución de TEK₃₀₀/gelatina

- 60 50 mg de gelatina de cerdo
 5 ml de disolución de TEDK₃₀₀
 caliéntese, agítese y a continuación enfríese hasta 4°C.
 5 ml de disolución de TEDK₃₀₀

- 65 3. Preparación de 1,25(OH)₂D₃ y de los compuestos de ensayo en etanol

ES 2 380 748 T3

1,25(OH)₂D₃: 125, 250, 500, 1000, 2000, 4000 pg/25 µl (disolución madre 10⁻⁵ M/25 µl = 100.000 pg/25 µl)

Concentración (ng/ml)	Cantidad (pg/50 µl)
5,0	125
10,0	250
20,0	500
40,0	1000
80,0	2000
160,0	4000

5 Compuestos de ensayo: 12.500, 25.000, 50.000, 100.000, 200.000 y 400.000 pg/25 µl. (4*10⁻⁵ M/25 µl = 400.000 pg/25 µl)

4. Dilución de VDR:

10 1 µl de disolución madre de VDR en 2,5 ml de disolución de TEDK₃₀₀/gelatina (500 µl/tubo), (manténgase en hielo)

(iii) Procedimiento:

1. Montaje de la reacción

15 Márquense los tubos según el siguiente diagrama, cada uno por triplicado:

Sin control de VDR	Sin control de VD3	Patrón	Compuestos de ensayo
Añádanse 25 µl de etanol	Añádanse 25 µl de etanol	Añádanse 25 µl de cada patrón (en cada concentración)	Añádanse 25 µl de de cada muestra (en cada concentración)
Añádanse 500 µl de TEDK300/gelat en disolución	Añádanse 500 µl de disolución de trabajo de VDR	Añádanse 500 µl de disolución de trabajo de VDR	Añádanse 500 µl de disolución de trabajo de VDR

20 Mézclense todos los tubos vía vórtice e incúbase a temperatura ambiente durante 1 hora. Añádanse 10 µl de dilución de trabajo de [³H]-1,25(OH)₂D₃, mézclense mediante vórtice, e incúbase a temperatura ambiente durante 1 hora.

2. Procesamiento de la muestra

25 Treinta minutos antes de la adición, póngase en hielo el carbón/disolución de dextrano con agitación continua. Añádanse 100 µl de carbón/disolución de dextrano a cada tubo, mézclense bien, e incúbase en hielo durante 30 minutos. Centrifúguese a 2000 rpm durante 10 minutos a 4°C.

3. Recuento

30 Pipetéense 100 µl de la fase acuosa, superior, a una placa de recuento por centelleo de 24 pocillos, y añádanse 600 µl de fluido de centelleo por pocillo, cúbrase y mézclense bien. Recuéntese la placa usando un contador de centelleo durante 5 min/muestra.

(iv) Cálculos:

35 La cantidad de 1,25(OH)₂D₃ para desplazar el 50% de [³H]-1,25(OH)₂D₃ de VDR se calculó como B₅₀ para 1,25(OH)₂D₃. La unión por VDR de otros compuestos se calculó como B₅₀ con relación a un valor de 1 para 1,25(OH)₂D₃.

40 Dilución en serie de 1,25(OH)₂D₃

Concentración (pg/25 µl)	Concentración final M	10 ⁻⁵ M (µl)	Etanol (µl)
4.000	2x10 ⁻⁸	6	144
2.000	10 ⁻⁸	70	70
1.000	5x10 ⁻⁹	70	70
500	2,5x10 ⁻⁹	70	70
250	1,25x10 ⁻⁹	70	70
125	6,25x10 ⁻¹⁰	70	70

Dilución en serie de los compuestos de ensayo

Concentración (pg/50 µl)	Concentración final M	10 ⁻³ M (µl)	Etanol (µl)
400.000	2x10 ⁻⁶	6	144
200.000	10 ⁻⁶	70	70
10.000	5x10 ⁻⁷	70	70
5.000	2,5x10 ⁻⁷	70	70
25.000	1,25x10 ⁻⁷	70	70
12.500	6,25x10 ⁻⁸	70	70

(v) Resultados:

Véase la Tabla 1

5

(vi) Referencias:

1. Ross T. K., Prah J. M., DeLuka H. Overproduction of rat 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor in insect cells using the baculovirus expression system. (1991) Proc. Natl Acad Sci USA 88:6555-6559

10

2. Weckler W. R., Norman A. W. An hydroxylapatite batch assay for the quantitation of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃-receptor complexes (1979) Anal. Biochem. 92:314-323

Ejemplo 25: Ensayo de proliferación de [³H]-timidina con células MCF-7.

15

(i) Materiales y métodos:

Células MCF-7 (ATCC)

20

MEM suplementado con piruvato sódico, aminoácidos no esenciales, insulina bovina, gentamicina y 10% de suero fetal bovino (medio de crecimiento)

RPMI1640 suplementado con triyodotironina, hidrocortisona, transferrina, insulina bovina y 5% de suero fetal bovino (medio de proliferación)

25

1α,25(OH)₂D₃ 1mM reconstituida en isopropanol.

Sustratos (1mM) reconstituidos en isopropanol

Disolución de tripsina: EDTA

1XPBS

30

Matraces de cultivo de tejidos de 75 cm²

Placas de cultivo de tejido de 96 pocillos.

Fluido de recuento de centelleo de líquidos.

Placa de filtro de 96 pocillos (Millipore)

35

(ii) Procedimiento:

1. Preparación de la suspensión celular.

40

Cuando las células MCF-7 alcanzaron una confluencia de 70-80%, aspírese el medio de crecimiento. Lávense las células con 1X PBS. Tripsinícense con tripsina-EDTA de la placa, recójense las células del matraz de cultivo de tejidos, centrifúguense (500 X g, 5 min) y resuspéndanse en medio de crecimiento.

2. Cultivo celular en placas.

45

Recuéntense las células y ajústese la densidad celular hasta 25.000/ml. Añádanse 200 µl por pocillo en una placa de 96 pocillos. Incúbese la placa durante 24 h a 37°C en una atmósfera humidificada más 5% de CO₂. Aspírese el medio usado y sustitúyase por 150 µl por pocillo con medio de proliferación.

3. Adición de sustrato.

50

Añádanse 25 µl de 1α,25(OH)₂D₃ (concentración final 10⁻⁶ M, 10⁻⁷ M, 10⁻⁸ M, 10⁻⁹ M, 10⁻¹⁰ M, 10⁻¹¹ M) en cada pocillo designado. Añádanse 25 µl de sustrato (concentración final 10⁻⁷ M, 5x10⁻⁸ M, 10⁻⁸ M o 10⁻⁹ M) en cada pocillo designado. Incúbense las placas durante 3 días a 37°C en una atmósfera humidificada más 5% de CO₂.

55

4. Incorporación de ³H-timidina.

Añádase ³H-timidina a 0,02 µCi por pocillo e incúbese a 37°C en una atmósfera humidificada más 5% de CO₂ durante 6 h.

5. Recogida de las placas.

Aspírense todos los medios y lávense las células con 1X PBS. Tripsinícense las células durante 30 min a 37°C en una atmósfera humidificada más 5% de CO₂. Recójense las células en una placa de filtro de 96 pocillos (Millipore) usando un cosechador de células Tomtec, según las instrucciones del fabricante.

6. Recuento por centelleo.

Añádanse 25 µl de fluido de centelleo por pocillo. Recuéntese la placa usando un contador de centelleo.

7. Resultados.

Las gráficas que muestran los resultados para los compuestos I(g), I(e), I(a), I(i), I(m) y I(n) se muestran en las figuras 1-5 respectivamente.

Ejemplo 26: Ensayo de proliferación de [³H]-timidina con células SCC-25.

(i) Materiales y métodos:

Células SCC-25 (ATCC)
 DMEM-F12 suplementado con hidrocortisona y 5% de suero fetal bovino
 1α,25(OH)₂D₃ 1mM reconstituida en isopropanol.
 Sustratos (1mM) reconstituidos en isopropanol
 Disolución de tripsina: EDTA
 1XPBS
 Matraces de cultivo de tejidos de 75 cm²
 Placas de cultivo de tejido de 96 pocillos.
 Fluido de recuento de centelleo de líquidos.
 Placa de filtro de 96 pocillos (Millipore)

(ii) Procedimiento:

1. Preparación de la suspensión celular.

Cuando las células SCC-25 alcanzaron una confluencia de 70-80%, aspírese el medio. Lávense las células con 1X PBS. Tripsinícense con tripsina-EDTA de la placa, recójense las células del matraz de cultivo de tejidos, centrifúguense (500 X g, 5 min) y resuspéndanse en medio.

2. Cultivo celular en placas.

Recuéntense las células y ajústese la densidad celular hasta 10.000/ml. Añádanse 200 µl por pocillo en una placa de 96 pocillos. Incúbese la placa durante 24 h a 37°C en una atmósfera humidificada más 5% de CO₂. Aspírese el medio usado y sustitúyase por 150 µl por pocillo con medio.

3. Adición de compuesto.

Añádanse 25 µl de 1α,25(OH)₂D₃ (concentración final 10⁻⁶ M, 10⁻⁷ M, 10⁻⁸ M, 10⁻⁹ M, 10⁻¹⁰ M, 10⁻¹¹ M) en cada pocillo designado. Añádanse 25 µl de sustrato (concentración final 10⁻⁷ M, 5x10⁻⁸ M, 10⁻⁸ M o 10⁻⁹ M) en cada pocillo designado. Incúbense las placas durante 3 días a 37°C en una atmósfera humidificada más 5% de CO₂.

4. Incorporación de ³H-timidina.

Añádase ³H-timidina a 0,02 µCi por pocillo e incúbese a 37°C en una atmósfera humidificada más 5% de CO₂ durante 6 h.

5. Recogida de las placas.

Aspírense todos los medios y lávense las células con 1X PBS. Tripsinícense las células durante 30 min a 37°C en una atmósfera humidificada más 5% de CO₂. Recójense las células en una placa de filtro de 96 pocillos (Millipore) usando un cosechador de células Tomtec, según las instrucciones del fabricante.

6. Recuento por centelleo.

Añádanse 25 µl de fluido de centelleo por pocillo. Recuéntese la placa usando un contador de centelleo.

7. Resultados.

Los resultados para los compuestos I(g), I(e), I(c), I(a), I(j), I(l), I(i), I(o) y I(n) se muestran en las figuras 6-14, respectivamente.

5

Ejemplo 27: Ensayo de proliferación de queratinocitos epidérmicos humanos (HEK)

(i) Material y reactivos

- 10 Células HEK normales (Cambrex, Walkersville, MD)
 Medio de KGM-Ca Bullet kit (Cambrex, Walkersville, MD)
 Paquete de reactivos (Cambrex, Walkersville, MD)
 Cloruro de calcio (Cambrex, Walkersville, MD)
 Matracas de cultivo de tejidos de 25 cm²
 15 Placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos
 [³H]-timidina (Perkin Elmer, Boston, MA)
 Calcitriol (1mM) reconstituido en isopropanol (Sigma, St Louis, MO)
 Placas de filtro de 96 pocillos
 Fluido de centelleo
 20 Contador de centelleo
 Cosechador celular Tomtec (Tomtec, Hamden, CT)

(ii) Preparación de reactivos

25 1. Medio de células HEK

Supléntese medio KGM con reactivos adicionales proporcionados en el kit Bullet según las instrucciones del proveedor. Añádase cloruro de calcio hasta una concentración final de 0,3 mM.

30 2. Diluciones de calcitriol

Disolución madre: calcitriol (1mM)

Concentración (final)	De la etapa previa (µl)	Medio KGM (µl)	Isopropanol (µl)	Concentración (real)
10 ⁻⁶ M	8 de disolución madre	992	12	8X10 ⁻⁶ M
10 ⁻⁷ M	100	882	18	8X10 ⁻⁷ M
10 ⁻⁸ M	100	882	18	8X10 ⁻⁸ M
10 ⁻⁹ M	100	882	18	8X10 ⁻⁹ M
10 ⁻¹⁰ M	100	882	18	8X10 ⁻¹⁰ M
10 ⁻¹¹ M	100	882	18	8X10 ⁻¹¹ M

35 3. Diluciones de sustrato

Disolución madre: sustrato (0,1 mM)

Concentración (final)	De la etapa previa (µl)	Medio KGM (µl)	Isopropanol (µl)	Concentración (actual)
10 ⁻⁷ M	8 de disolución madre	992	12	8X10 ⁻⁶ M
5X10 ⁻⁸ M	500	490	10	8X10 ⁻⁷ M
10 ⁻⁸ M	200	784	16	8X10 ⁻⁸ M
10 ⁻⁹ M	100	882	18	8X10 ⁻⁹ M
10 ⁻¹⁰ M	100	882	18	8X10 ⁻¹¹ M

40 (iii) Procedimiento:

1. Cultivo celular

45 Descongélase un vial de células HEK que contiene al menos 500 K, y divídase en 5 matracas de 25 cm² con 5 ml de medio de células HEK. 24 horas más tarde, elimínese el medio y repóngase con 5 ml de medio reciente. Cámbiense el medio nuevamente 48 h más tarde.

2. Preparación de la suspensión celular.

50 En el día del ensayo, lávese la monocapa de células HEK una vez con tampón 1X PBS (proporcionado en el paquete de reactivos), y después tripsinícese durante 5 min a 37°C. Añádase disolución neutralizante de tripsina (proporcionada en el paquete de reactivos). Recójense las células en un tubo, centrifúguense las células (500 X g, 5 min) y resuspéndanse en medio de células HEK. Recuéntense las células y ajústese la densidad hasta 150.000

células/ml. Dilúyanse las células adicionalmente 1:30 con medio de células HEK.

2. Cultivo de células en placas

5 Añádase 150 µl de suspensión celular a pocillos marcados apropiadamente de una placa de 96 pocillos. Incúbese la placa durante 48 h a 37 °C en una atmósfera humidificada que contiene 5% de CO₂ para determinar la adherencia de las células a los pocillos.

3. Adición de compuestos

10 Añádase 25 µl de calcitriol (10⁻⁶ a 10⁻¹¹ M, final) y añádase 25 µl de sustrato (10⁻⁷ a 10⁻¹⁰ M, final), e incúbese durante 32 horas a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5% de CO₂.

4. Cosecha de células y recuento

15 Añádase 0,2 µCi/pocillo de [³H]-timidina en 20 µl de medio de células HEK a cada pocillo. Incúbense las placas durante 18 h a 37°C en una atmósfera humidificada que contiene 5% de CO₂. Aspírese el medio y coséchese con 1 X PBS. Tripsinícense las células durante 30 min a 37°C en un atmósfera humidificada que contiene 5% de CO₂. Coséchense las células sobre placas de filtro usando una cosechadora celular Tomtec según las instrucciones del fabricante. Añádase 25 µl de fluido de centelleo por pocillo. Mídase la radioactividad usando un contador de centelleo. Todos los valores se normalizaron con respecto al valor del fondo.

5. Resultados:

25 Las gráficas que muestran los resultados para los compuestos I(e), I(a), I(i), I(o) y I(n) se muestran en las figuras 15-19, respectivamente.

Ejemplo 28: Composición tópica propuesta que contiene un compuesto de la invención:

30 Disuélvase un compuesto de la invención (1 mg) en 1 g de aceite de almendras. A esta disolución añádase aceite mineral (40 g) y cera de abejas autoemulsionante (20 g). Caliéntese la mezcla para licuarla, y añádase agua cliente (40 ml) y agítese bien la mezcla para proporcionar una crema que contiene aproximadamente 10 µg y un compuesto de la invención por gramo de crema.

Ejemplo 29: Crema propuesta que contiene 50 µg de un compuesto de la invención/g

Compuesto de la invención	50 mg
Cetomacrogol 1000	25 g
Alcohol cetosteárilico	75 g
Cloruro de cloroalilhexaminio	0,5 g
Glicerol	30 g
Hidrogenofosfato disódico	2 g
Dihidrogenofosfato sódico	0,1 g
Parafina líquida	60 g
polioxietileno esteariléter	12 g
Vaselina blanca	160 g
Agua purificada hasta	1000 g

40 Disuélvase un compuesto de la invención en una disolución de glicerol, hidrogenofosfato disódico, dihidrogenofosfato sódico y polioxietileno esteariléter disuelto en agua. Mézclese con el cetomacrogol 1000 fundido, parafina líquida, alcohol cetosteárilico y vaselina blanca. Homogenícense la emulsión y enfríese. Disuélvase cloruro de cloroalilhexaminio en parte del agua y mézclese hasta homogeneidad con la emulsión. Introdúzcase la crema en tubos de aluminio.

Ejemplo 30: Crema propuesta que contiene 100 µg de un compuesto de la invención/g

45

Composición de la invención	100 mg
Cetomacrogol 1000	30 g
Alcohol cetosteárilico	60 g
Cloruro de cloroalilhexaminio	0,5 g
Propilenglicol	30 g
Hidrogenofosfato disódico	2 g
Dihidrogenofosfato sódico	0,1 g
Parafina líquida	50 g
Vaselina blanca	170 g
Agua purificada hasta	1000 g

5 Fúndanse cetomacrogol 1000, alcohol cetosteárico, parafina líquida y vaselina blanca a 75°C. Disuélvase propilenglicol en agua a 75°C, y mézclase la disolución con la fase grasa. Homogenícese la emulsión y enfríese hasta 30°C. Muélase el compuesto de la invención hasta un tamaño de partículas por debajo de 5 µm y suspéndase en una disolución acuosa de hidrogenofosfato disódico, dihidrogenofosfato sódico y cloruro de cloroalilhexaminio. Añádase la suspensión a la emulsión, e introdúzcase la crema en tubos.

Ejemplo 31: Loción propuesta que contiene 50 µg de un compuesto de la invención/g

Composición de la invención	50 mg
Alcohol absoluto	400 g
Hidroxipropilcelulosa	1 g
Mentol	1 g
Citrato sódico	1 g
Propilenglicol	40 g
Agua purificada hasta	1000 ml

10 Disuélvanse hidroxipropilcelulosa, citrato de sodio y propilenglicol en agua. Mézclase con una disolución de un compuesto de la invención y mentol en alcohol absoluto. Introdúzcase la loción en botellas de plástico de polietileno.

15 **Ejemplo 32: Cápsulas propuestas que contienen un compuesto de la invención**

20 Un compuesto de la invención se suspende en aceite de cacahuete hasta una concentración final de 5 µg/ml de aceite. Mézclense juntos, con calentamiento, 10 partes en peso de gelatina, 5 partes en peso de glicerina, 0,08 partes en peso de sorbato potásico, y 14 partes en peso de agua destilada, y désele la forma de cápsulas de gelatina blandas. Después, introdúzcase cada cápsula con 100 µl de compuesto en la suspensión oleosa, de manera que cada cápsula contenta 0,5 µg del compuesto.

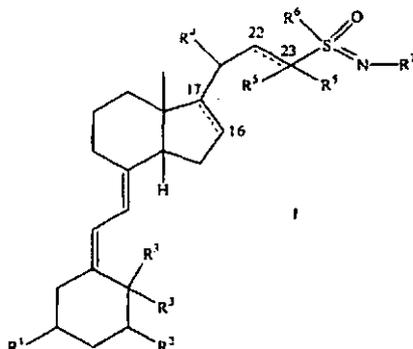
Tabla I: Sumario de resultados de los Ejemplos 21-24

Compuesto nº	IC ₅₀ de CYP24 (nM) (células HPK1A-ras)	IC ₅₀ de CYP24 (nM) (células V79-CYP24)	IC ₅₀ de CYP27A1 (nM)	Unión de VDR (nM)
I(a)	5	4	>1000	>2000
I(c)	33	20	>1000	>2000
I(e)	66	29	>1000	>2000
I(g)	20	26	>1000	>2000
I(i)		8,5		>2000
I(j)		27		>2000
I(k)		300		>2000
I(l)		42		>2000
I(m)		120		>2000
I(n)		23		
I(o)		20		
I(p)		42		
I(q)		78		
I(s)		580		
quetoconazol	300	300		

25

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de Fórmula I, y sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo:



5

en la que

R¹ se selecciona de entre el grupo constituido por OH, O-alquilo de C₁₋₄, y halo;

10

R² se selecciona de entre el grupo constituido por H, OH, O-alquilo de C₁₋₄, y halo;

cada R³ son ambos H o, juntos, forman =CH₂;

15

R⁴ es alquilo de C₁₋₄;

---- representa un enlace sencillo o un doble enlace;

cada R⁵ puede ser igual o diferente, y se selecciona de entre el grupo constituido por hidrógeno, halo y alquilo de C₁₋₄, o cada R⁵ se pueden tomar juntos para formar un anillo de cicloalquilo de C₃₋₆;

20

R⁶ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo y heteroarilo está no sustituido o está sustituido con 1-5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo;

25

R⁷ se selecciona de entre el grupo constituido por H, alquilo de C₁₋₆ y C(O)R⁸; y

R⁸ se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, aril-alquilo de C₁₋₄, arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C₁₋₆, cicloalquilo de C₃₋₆, arilo y heteroarilo está no sustituido o sustituido con 1-5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C₁₋₄, O-alquilo de C₁₋₄, CF₃, NO₂ y halo,

30

con la condición de que cuando exista un doble enlace entre C22 y C23, sólo haya un grupo R⁵ unido a C23, y R⁵ se seleccione de entre el grupo constituido por hidrógeno, halo y alquilo de C₁₋₄;

35

siendo dichos profármacos ésteres formados con un grupo hidroxilo, tiol, amino o carboxi disponible de los compuestos de Fórmula I.

40

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹ se selecciona de entre el grupo constituido por OH, OCH₃ y fluoro.

3. Compuesto según la reivindicación 2, en el que R¹ es OH.

45

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R² se selecciona de entre el grupo constituido por H, OH, OCH₃ y fluoro.

5. Compuesto según la reivindicación 4, en el que R² se selecciona de entre el grupo constituido por H, OH y fluoro.

50

6. Compuesto según la reivindicación 5, en el que R² se selecciona de entre el grupo constituido por H y OH.

7. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹ y R² son ambos OH.

8. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que cada R³ forman juntos =CH₂.

9. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que cada R^3 es H.
- 5 10. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que R^4 es CH_3 .
11. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que cada R^5 se selecciona de entre el grupo constituido por F, alquilo de C_{1-4} e H, o se toman juntos para formar un anillo de cicloquilo de C_{3-5} .
- 10 12. Compuesto según la reivindicación 11, en el que cada R^5 se selecciona de entre el grupo constituido por F, CH_3 e H, o se toman juntos para formar un anillo de cicloquilo de C_{3-4} .
13. Compuesto según la reivindicación 12, en el que ambos R^5 son CH_3 , F o H, o se toman juntos para formar un anillo de ciclopropilo.
- 15 14. Compuesto según la reivindicación 13, en el que cada R^5 es H.
15. Compuesto según la reivindicación 13, en el que cada R^5 se toman juntos para formar un anillo de ciclopropilo.
- 20 16. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que R^6 se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , cicloalquilo de C_{3-5} , arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C_{1-4} , cicloalquilo de C_{3-5} , arilo y heteroarilo están no sustituidos o están sustituidos con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , O-alquilo de C_{1-4} , CF_3 , NO_2 y halo.
- 25 17. Compuesto según la reivindicación 16, en el que R^6 se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , cicloalquilo de C_{3-5} , arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C_{1-4} , cicloalquilo de C_{3-5} , arilo y heteroarilo están no sustituidos o están sustituidos con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , O-alquilo de C_{1-4} , CF_3 , NO_2 y halo.
- 30 18. Compuesto según la reivindicación 17, en el que R^6 se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , y arilo, en el que arilo está no sustituido o está sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , O-alquilo de C_{1-4} , CF_3 , NO_2 y halo.
- 35 19. Compuesto según la reivindicación 18, en el que R^6 se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , y fenilo, en el que fenilo está no sustituido o está sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , O-alquilo de C_{1-4} , CF_3 , NO_2 y halo.
20. Compuesto según la reivindicación 19, en el que R^6 es un grupo fenilo no sustituido o sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por CH_3 , OCH_3 , NO_2 , F y Cl.
- 40 21. Compuesto según la reivindicación 20, en el que R^6 es un grupo fenilo no sustituido o fenilo sustituido con 1 sustituyente seleccionado independientemente de entre el grupo constituido por CH_3 , OCH_3 , NO_2 , F y Cl.
22. Compuesto según la reivindicación 19, en el que R^6 es t-butilo.
- 45 23. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22, en el que R^7 se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} e H.
24. Compuesto según la reivindicación 23, en el que R^7 se selecciona de CH_2 o H.
- 50 25. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22, en el que R^7 es $C(O)R^8$.
26. Compuesto según la reivindicación 25, en el que R^8 se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , cicloalquilo de C_{3-5} , aril-alquilo de C_{1-2} , arilo y heteroarilo, en el que cada uno de alquilo de C_{1-4} , cicloalquilo de C_{3-5} , arilo y heteroarilo está no sustituido o sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , O-alquilo de C_{1-4} , CF_3 , NO_2 y halo.
- 55 27. Compuesto según la reivindicación 26, en el que R^8 se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , cicloalquilo de C_{3-5} , $PhCH_2$ y fenilo, en el que cada uno de alquilo de C_{1-4} , cicloalquilo de C_{3-5} , $PhCH_2$ y fenilo está no sustituido o sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , O-alquilo de C_{1-4} , CF_3 , NO_2 , F y Cl.
- 60 28. Compuesto según la reivindicación 26, en el que R^8 se selecciona de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , $PhCH_2$ y fenilo, en el que cada uno de alquilo de C_{1-4} , $PhCH_2$ y fenilo está no sustituido o sustituido con 1 sustituyente seleccionado independientemente de entre el grupo constituido por alquilo de C_{1-4} , O-alquilo de C_{1-4} , CF_3 , NO_2 , F y Cl.
- 65 29. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R^6 es alquilo de C_{1-6} y ---- entre C_{16} y C_{17} es un doble enlace.

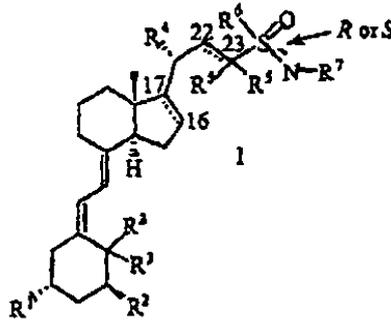
30. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, en el que ---- entre C22-C23 representa un enlace sencillo.

5 31. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, en el que ---- entre C16-C17 representa un enlace sencillo.

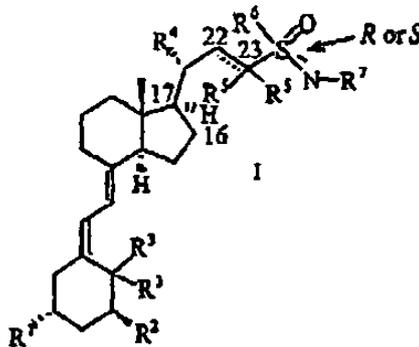
32. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, en el que ambos ---- representan un enlace sencillo.

10

33. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 32, que tiene la siguiente estereoquímica relativa:

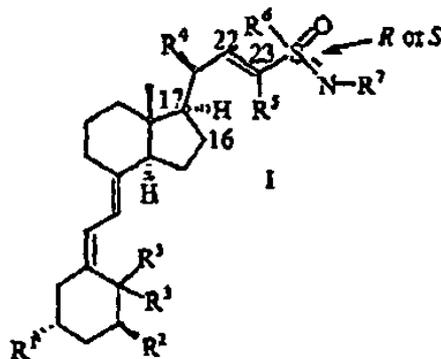


15 34. Compuesto según la reivindicación 31, que tiene la siguiente estereoquímica relativa:

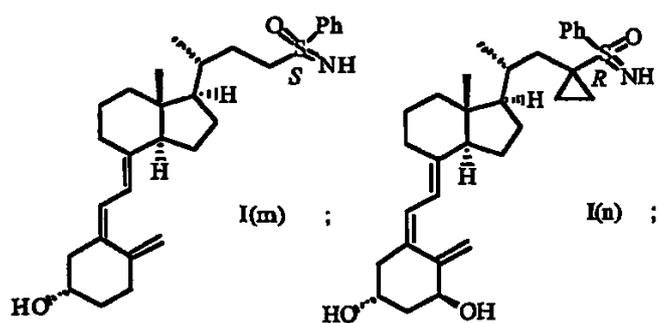
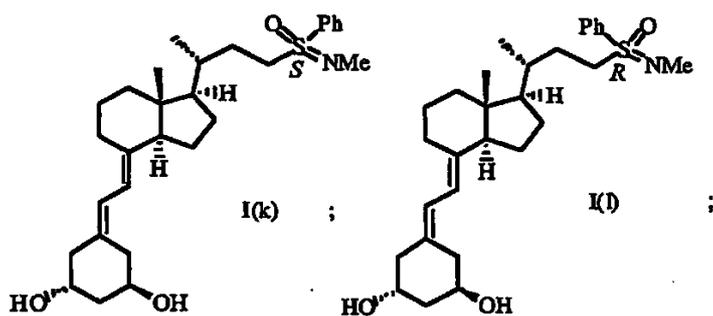
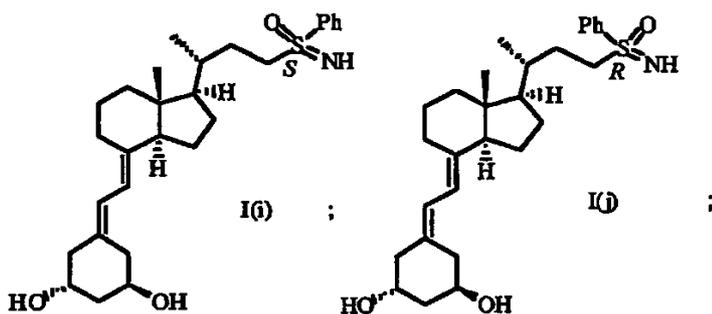
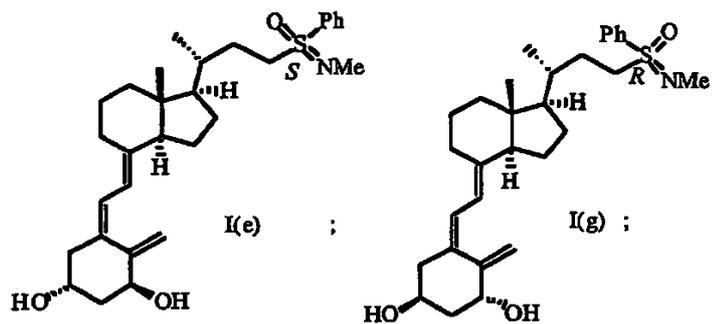
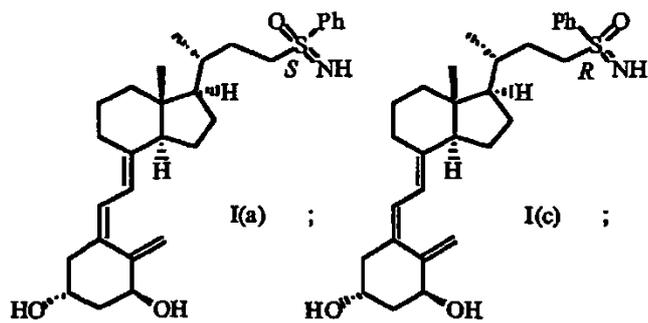


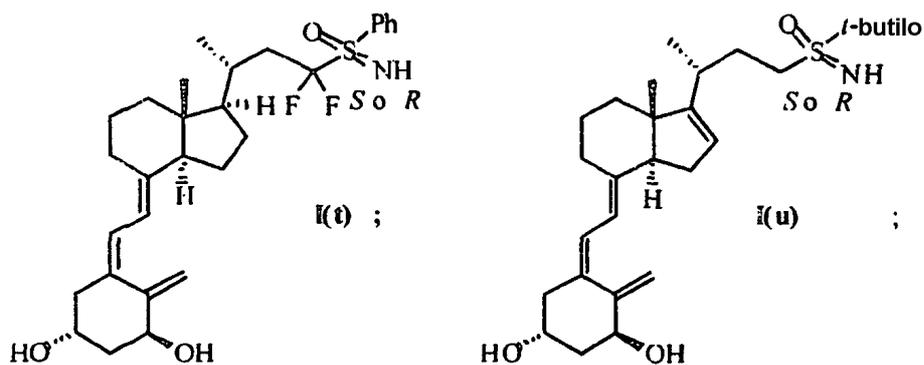
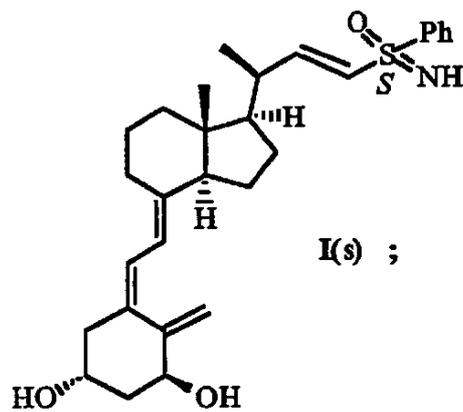
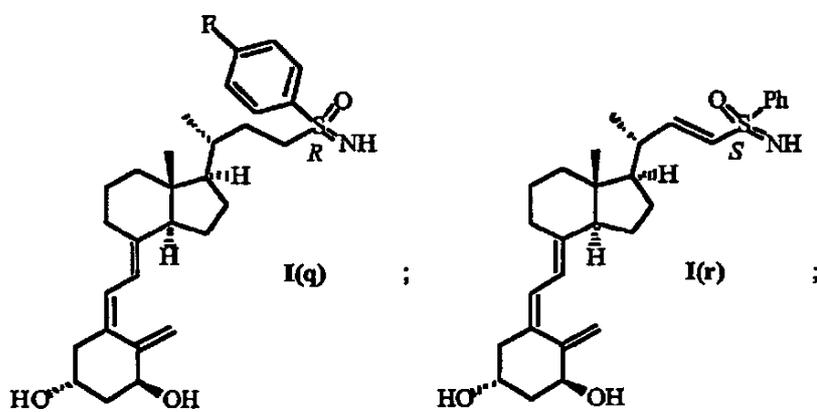
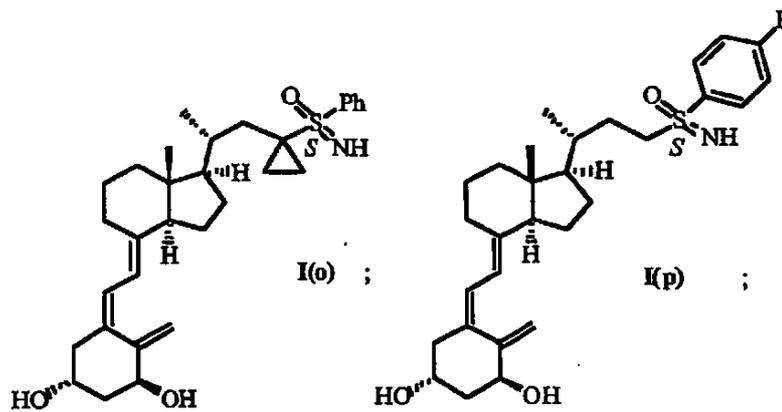
35. Compuesto según la reivindicación 1, que tiene la siguiente estereoquímica relativa:

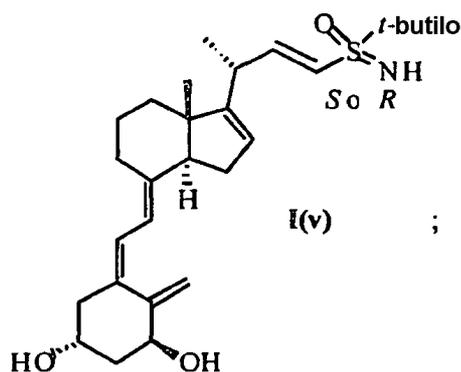
20



36. Compuesto según la reivindicación 1, que se selecciona de entre el grupo constituido por:

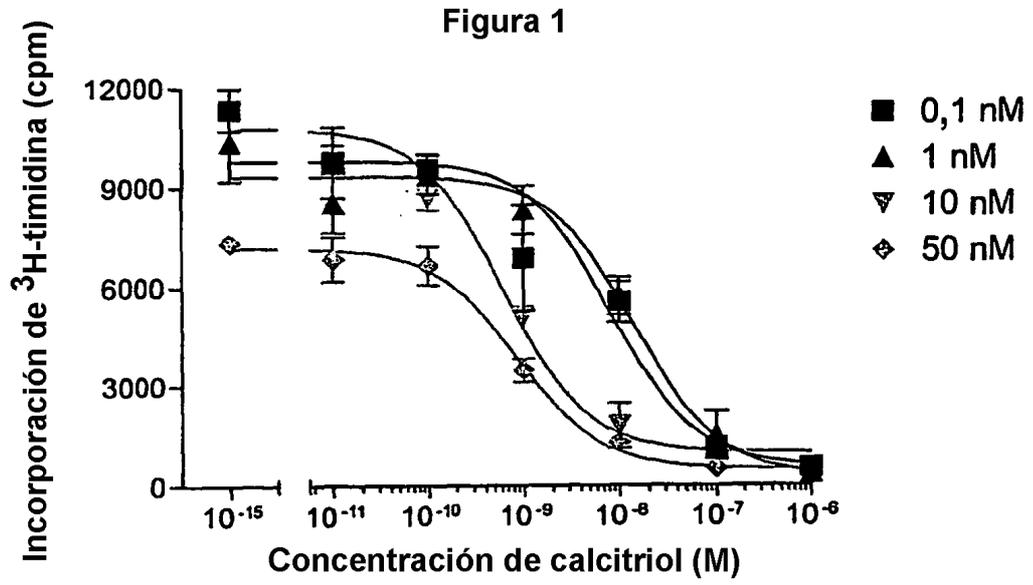


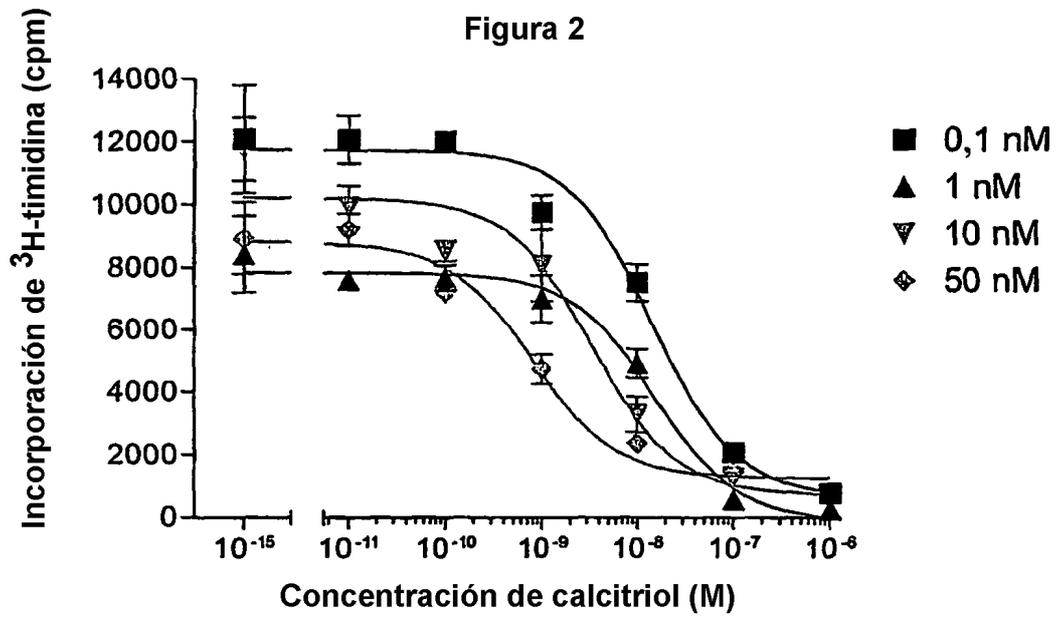


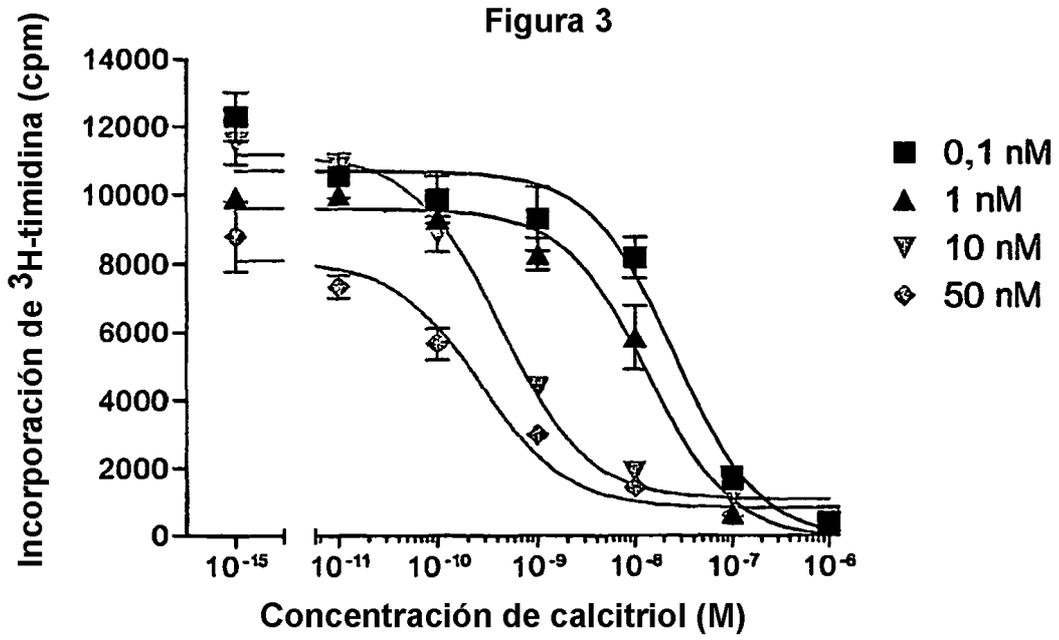


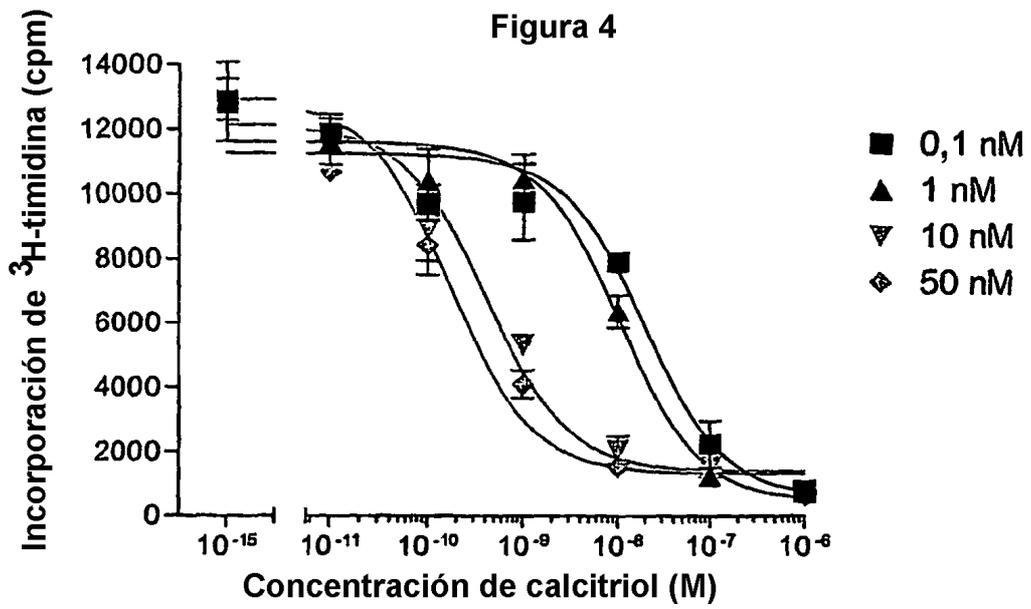
- 5 37. Compuesto según la reivindicación 36, seleccionado de entre el grupo constituido por I(a); I(c); I(e); I(g); I(i); I(j); I(l); I(m); I(n); I(o); I(p) e I(q).
38. Compuesto según la reivindicación 37, seleccionado de entre el grupo constituido por I(a), I(c), I(e), I(g), I(i), I(j), I(l), I(n) I(o) e I(p).
- 10 39. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
40. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, para preparar un medicamento destinado a tratar una enfermedad que se beneficia de una modulación de los niveles de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ o un análogo de la misma.
- 15 41. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, para preparar un medicamento destinado a tratar una enfermedad que se beneficia de un incremento en los niveles de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ o un análogo de la misma.
- 20 42. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, para preparar un medicamento destinado a tratar una enfermedad que se beneficia de una inhibición del catabolismo de 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ o un análogo de la misma.
- 25 43. Uso según la reivindicación 41 o 42, en el que la enfermedad se selecciona de entre el grupo constituido por cáncer, trastornos dermatológicos, trastornos paratiroideos, trastornos autoinmunitarios y trastornos óseos.
44. Uso según la reivindicación 43, en el que la enfermedad se selecciona de entre el grupo constituido por cáncer, psoriasis, hiperparatiroidismo, hiperparatiroidismo secundario y osteoporosis.
- 30 45. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, para preparar un medicamento destinado a inhibir la proliferación celular y/o promover la diferenciación celular.
46. Uso según la reivindicación 45, en el que la célula es una célula cancerosa.
- 35 47. Uso según la reivindicación 46, en el que el cáncer se selecciona de cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, sarcoma de Kaposi y leucemia.
- 40 48. Uso según la reivindicación 45, en el que la célula es una célula de la piel.
49. Uso según la reivindicación 48, en el que la célula es un queratinocito.
- 50 50. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, para preparar un medicamento destinado a inhibir la actividad de CYP24.
- 45 51. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, para preparar un medicamento destinado a tratar una enfermedad que se beneficia de una inhibición de la actividad de CYP24.
52. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, para preparar un medicamento destinado a incrementar la eficacia de un agonista del receptor de vitamina D.
- 50 53. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, para preparar un medicamento destinado a tratar una enfermedad que se beneficia de coadministrar una cantidad eficaz de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38 y una cantidad eficaz de un agonista del receptor de vitamina D.

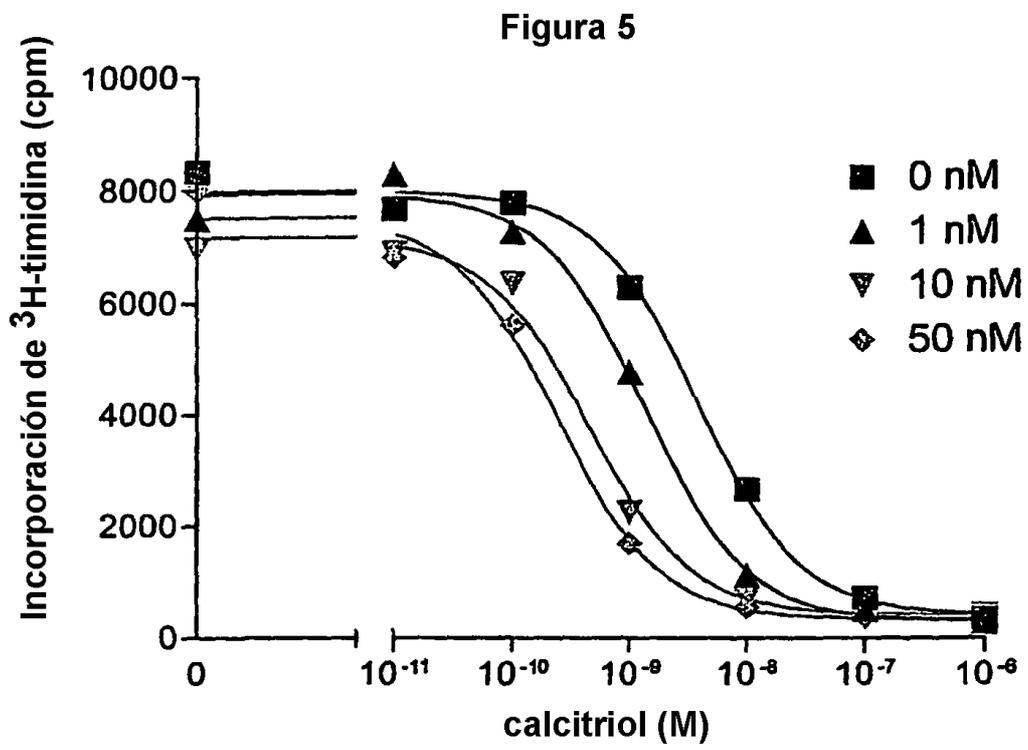
54. Uso según la reivindicación 52 o 53, en el que el agonista del receptor de vitamina D es 1 α ,25-dihidroxi vitamina D₃ (calcitriol), o un análogo de la misma.
- 5 55. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 52 a 54, en el que el compuesto se selecciona de entre el grupo constituido por I(a), I(c), I(e), I(g), I(i), I(j), I(l), I(n) e I(o).
56. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 52 a 55, en el que la enfermedad se selecciona de entre el grupo
10 constituido por cáncer, trastornos dermatológicos, trastornos paratiroides, trastornos autoinmunitarios y trastornos óseos.
57. Uso según la reivindicación 56, en el que la enfermedad se selecciona de entre el grupo constituido por cáncer, soriasis, hiperparatiroidismo, hiperparatiroidismo secundario y osteoporosis.
- 15 58. Uso según la reivindicación 57, en el que la enfermedad es cáncer.
59. Uso según la reivindicación 58, en el que el cáncer se selecciona de entre el grupo constituido por cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, sarcoma de Kaposi y leucemia.
- 20 60. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer, trastornos dermatológicos, trastornos paratiroides, trastornos autoinmunitarios o trastornos óseos cuando se usa en combinación con una o más terapias o productos terapéuticos para tratar cáncer, trastornos dermatológicos, trastornos paratiroides, trastornos autoinmunitarios o trastornos óseos.
- 25 61. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38 en la preparación de un medicamento destinado a tratar cáncer cuando se utiliza en combinación con una o varias terapias o productos terapéuticos para tratar el cáncer.
- 30 62. Uso según la reivindicación 61, en el que una o varias terapias o productos terapéuticos para tratar el cáncer se seleccionan de entre el grupo constituido por cirugía, radiación, quimioterapia y bioterapia.
63. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38 en la preparación de un medicamento destinado a tratar soriasis cuando se utiliza en combinación con una o varias terapias o productos terapéuticos
35 destinadas a tratar soriasis.
64. Uso según la reivindicación 63, en el que las una o varias terapias o productos terapéuticos destinadas a tratar la soriasis se seleccionan de entre el grupo constituido por radiación ultravioleta B, quimioterapia y bioterapia.
- 40 65. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38 para su uso como medicamento.











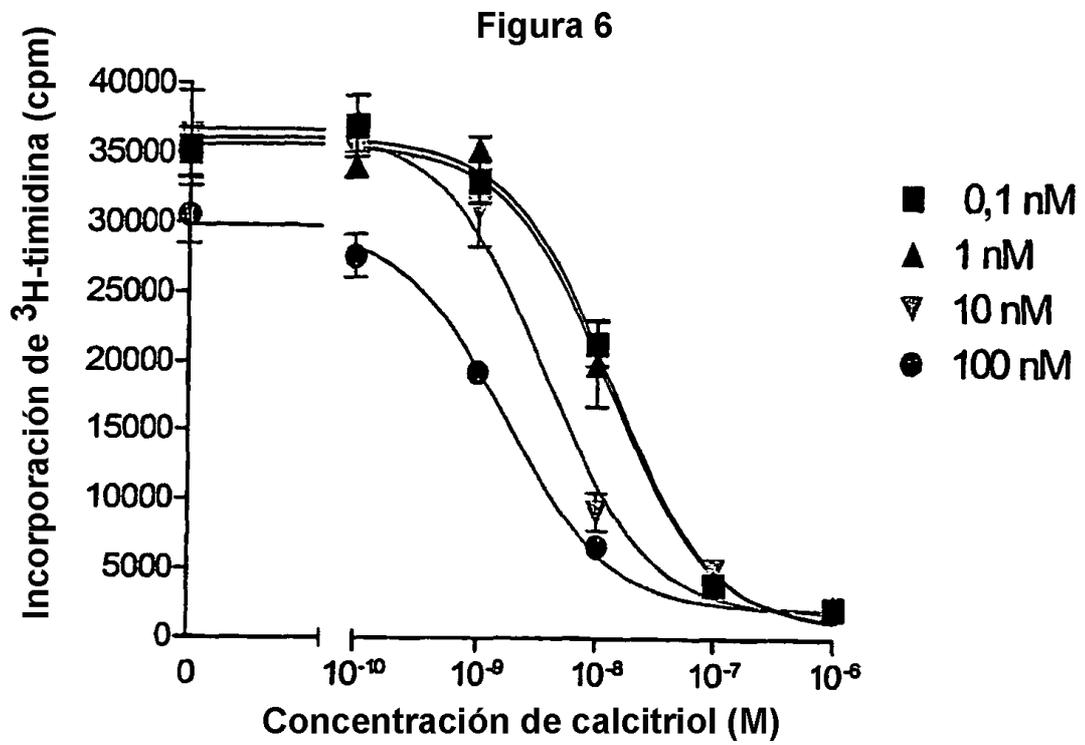


Figura 7

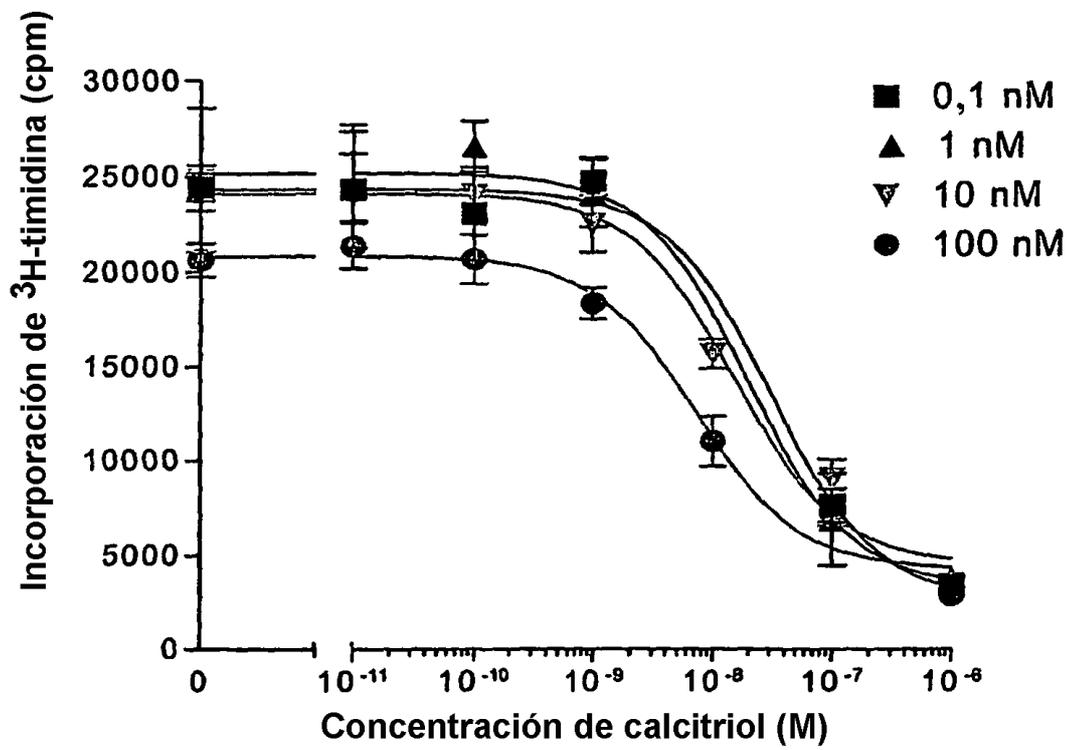


Figura 8

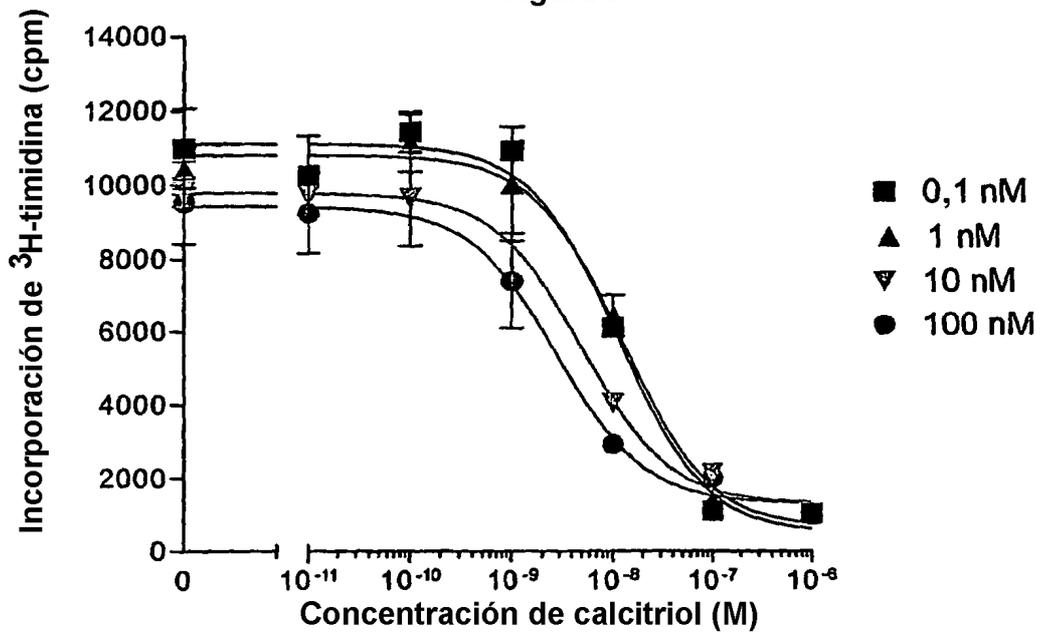


Figura 9

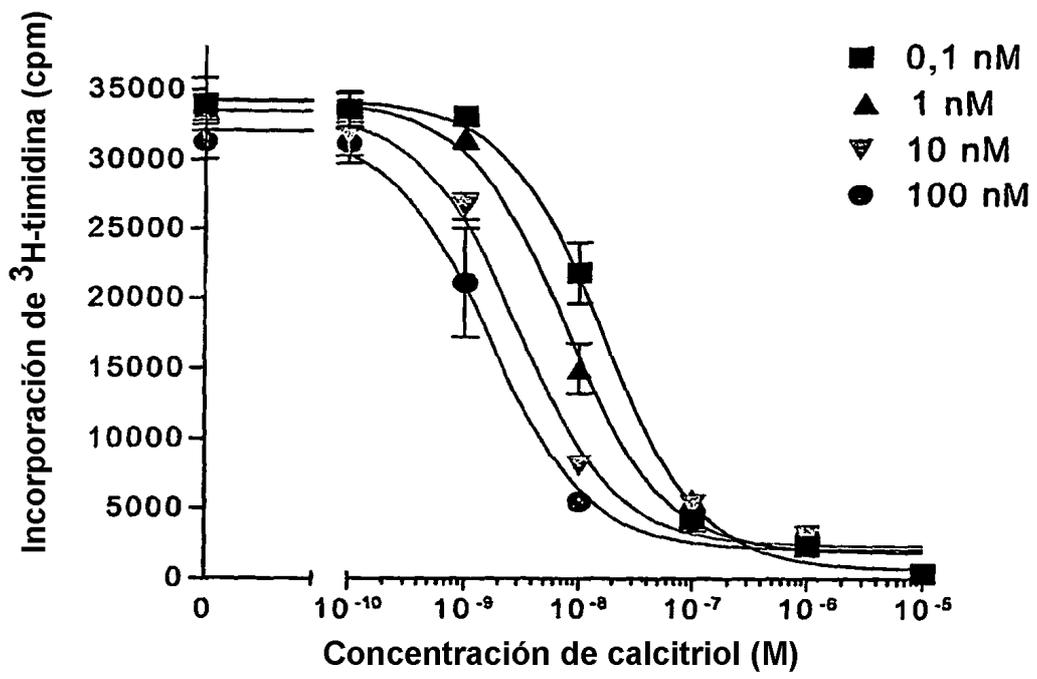


Figura 10

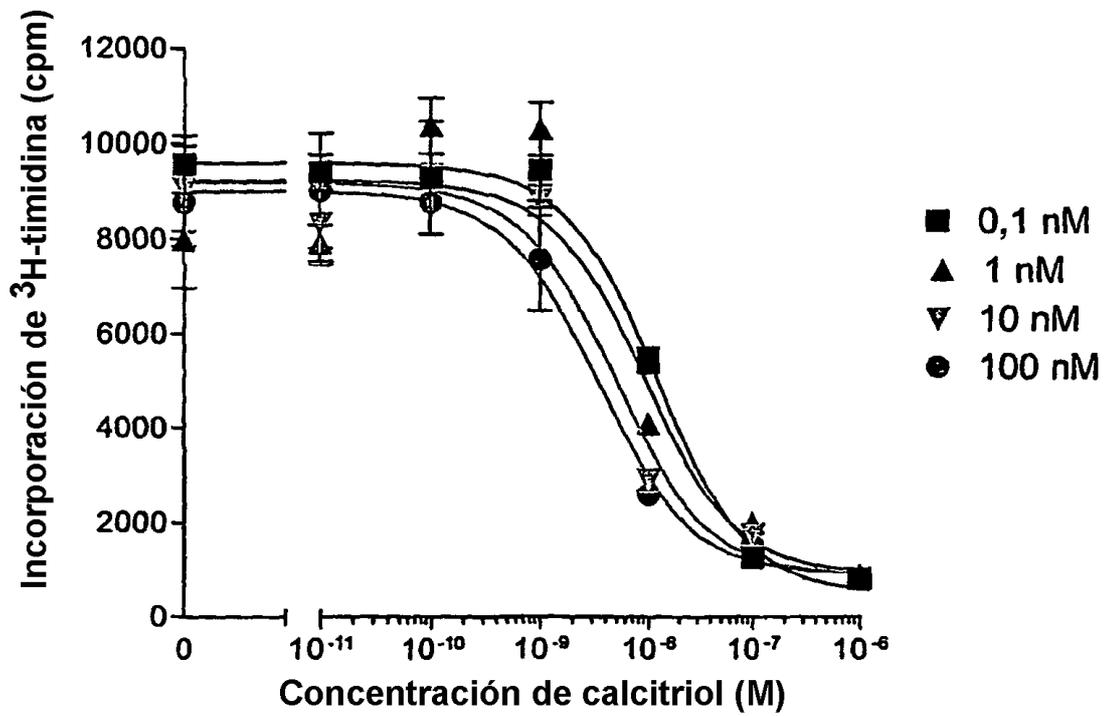
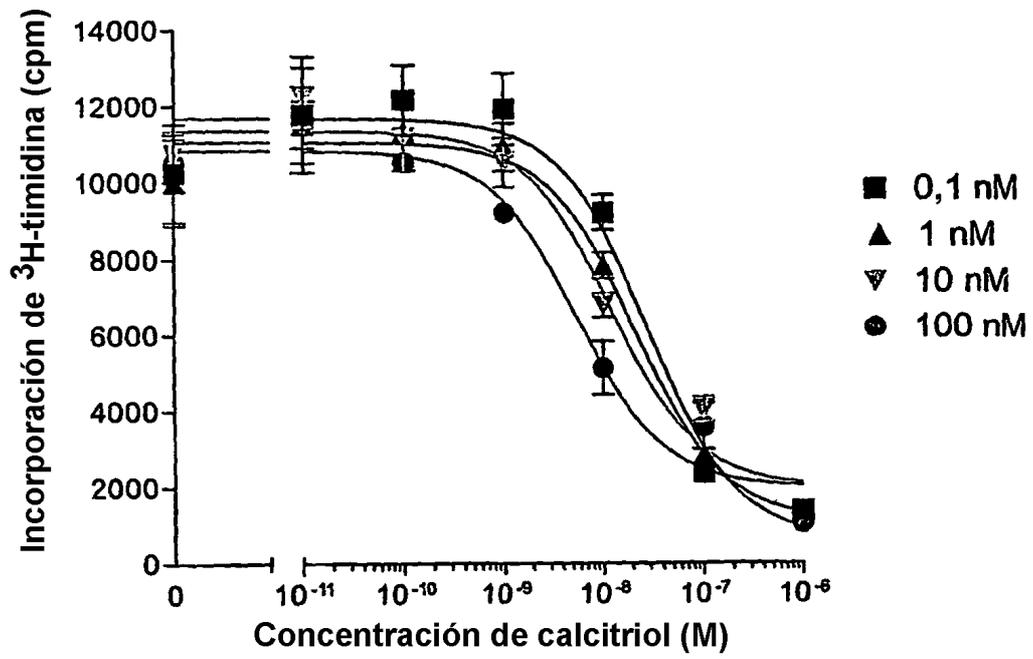
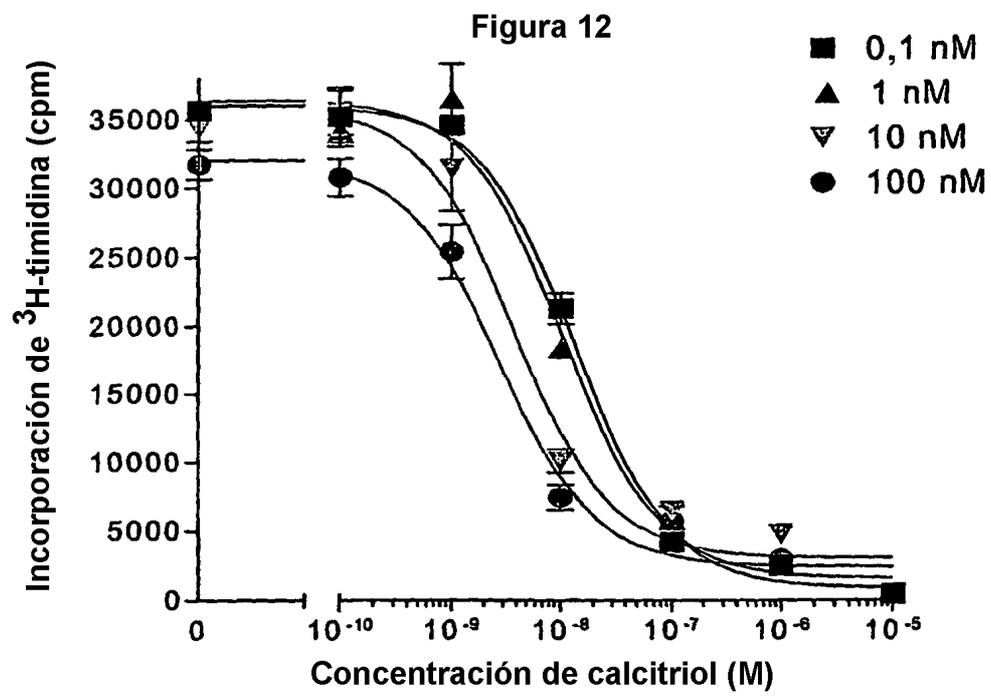


Figura 11





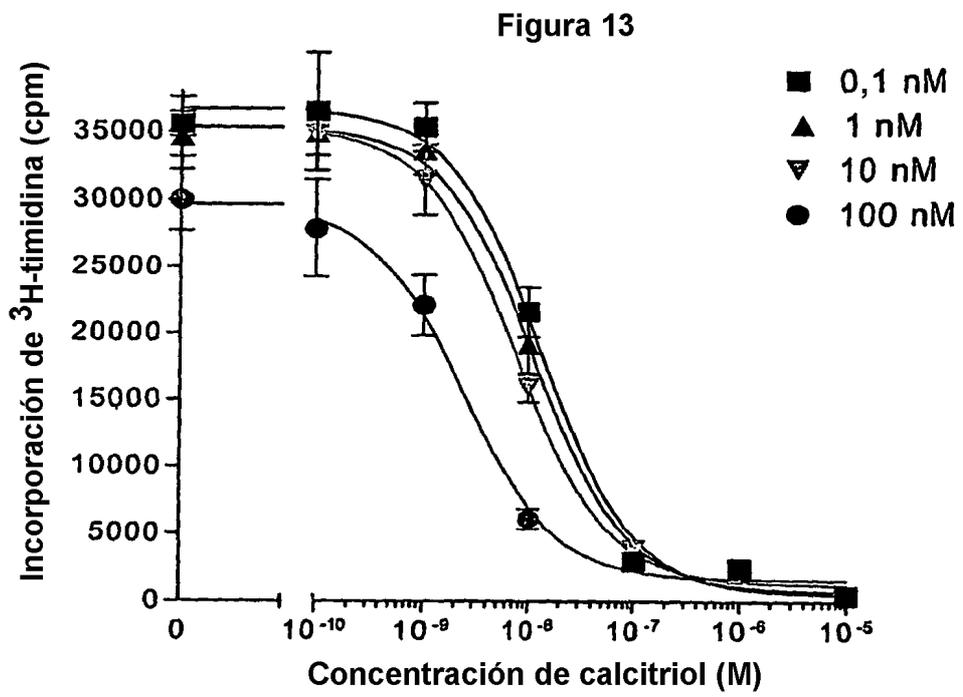


Figura 14

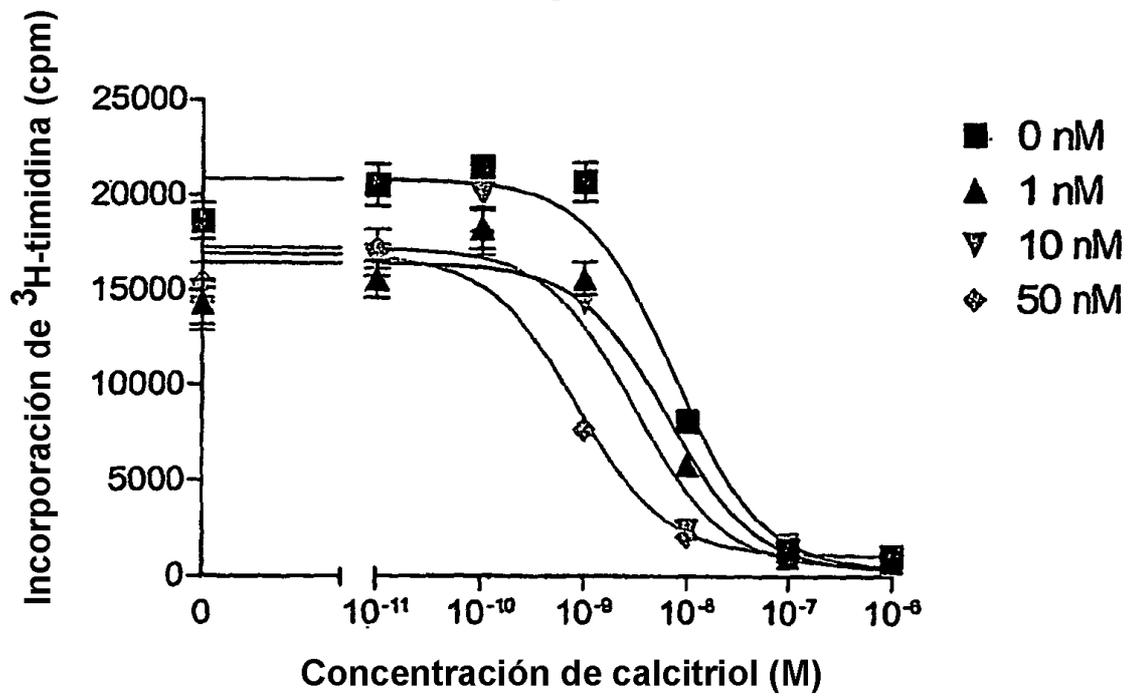


Figura 15

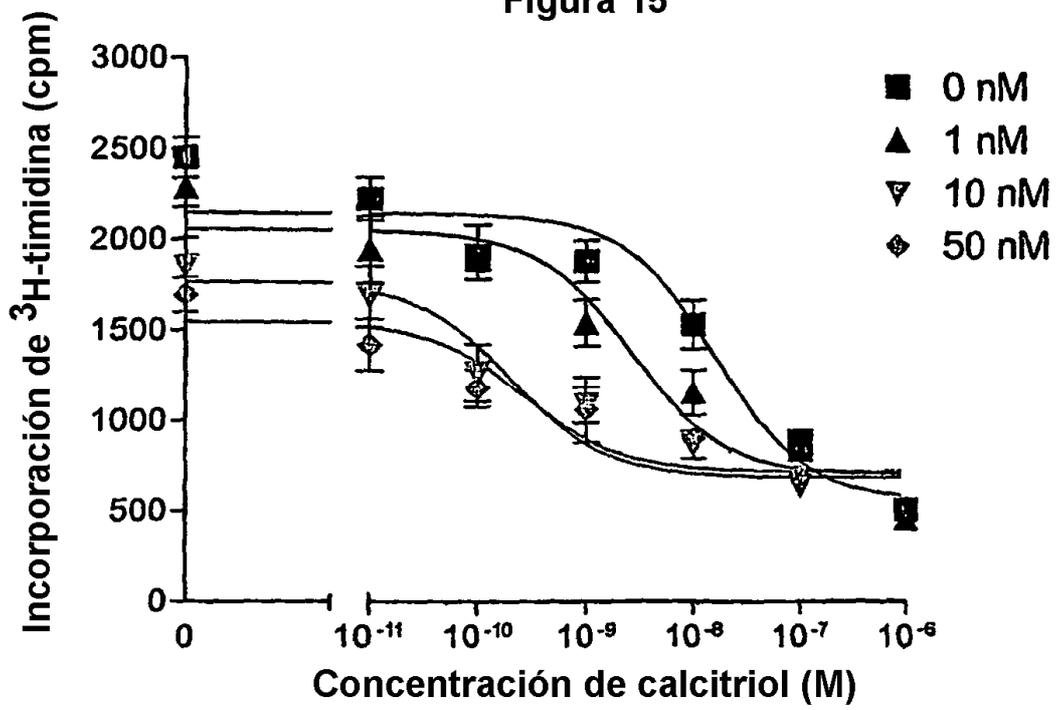


Figura 16

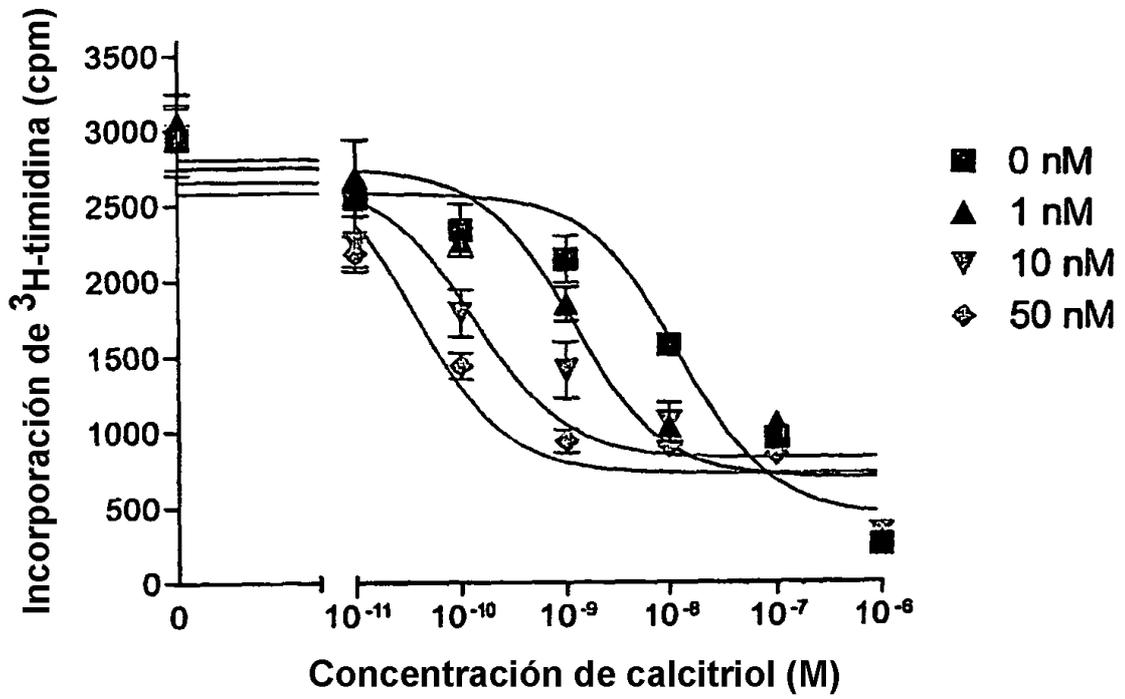


Figura 17

