

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 649**

21 Número de solicitud: 201400492

51 Int. Cl.:

C07C 401/00 (2006.01)

A61K 31/593 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

20.06.2014

43 Fecha de publicación de la solicitud:

22.12.2015

88 Fecha de publicación diferida del informe sobre el estado de la técnica:

22.02.2016

Fecha de la concesión:

09.06.2016

45 Fecha de publicación de la concesión:

16.06.2016

73 Titular/es:

UNIVERSIDAD DE VIGO (100.0%)
Campus Universitario s/n
36310 Vigo (Pontevedra) ES

72 Inventor/es:

FALL DIOP, Yagamare;
GÓMEZ PACIOS, Generosa;
GÁNDARA BARREIRO, Zoila;
CORDEIRO VIDAL, Victoria;
MARTÍNEZ DOMÍNGUEZ, Andrea;
LOIS RIVADULLA, Marcos;
PÉREZ VÁZQUEZ, Manuel;
PAZO MISA, Marta;
ZÚÑIGA GIRÓN, Andrea;
GONZÁLEZ PÉREZ, María y
PAZOS AGUETE, Gonzalo

54 Título: **Procedimiento de obtención de metabolitos de la vitamina D3**

57 Resumen:

La vitamina D₃, sus metabolitos y análogos tienen una importante actividad biológica que ha motivado el desarrollo de un gran número de rutas sintéticas. Además del calcitriol (1 α , 25-(OH)₂-vitamina D₃), 24R, 25 - (OH)₂ - vitamina D₃ es un metabolito activo de la vitamina D₃ pero cuya actividad biológica no es totalmente conocida. Dada su disponibilidad limitada y su precio elevado es necesario desarrollar metodologías más eficientes de este metabolito de la vitamina D₃. La presente invención describe un procedimiento de obtención de metabolitos de la vitamina D₃ hidroxilados en la posición C-24 que aplica la reacción de dihidroxilación asimétrica de Sharpless para generar la cadena lateral y que utiliza como compuesto de partida el diol de Inhoffen-Lythgoe fácilmente asequible a partir de la vitamina D₂ comercial.

ES 2 554 649 B2

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de obtención de metabolitos de la vitamina D₃

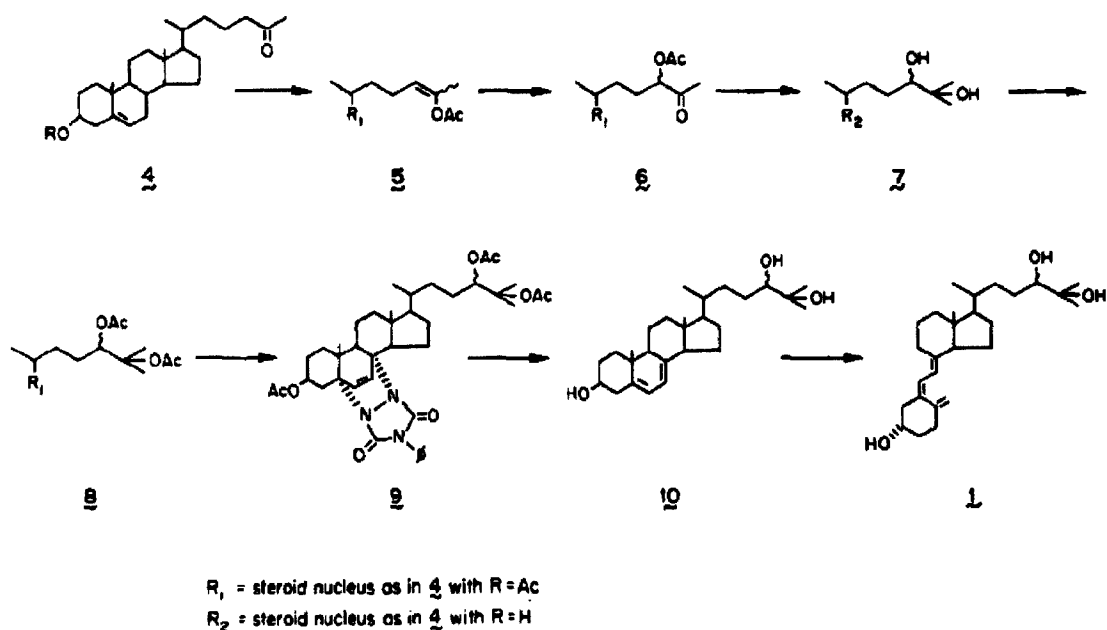
CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

- La presente invención se ubica en el sector de la biotecnología, en concreto en el de la
5 síntesis de proteínas y más en concreto en un nuevo procedimiento de síntesis de
análogos de la Vitamina D₃. Dichos análogos de la Vitamina D₃ tienen aplicación en la
industria farmacéutica y en la de productos alimenticios.

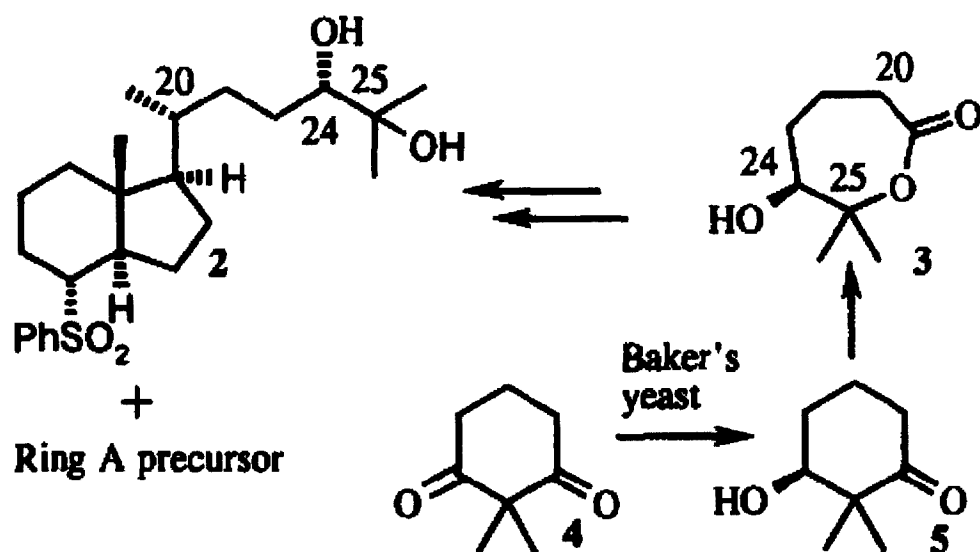
ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 La vitamina D es un heterolípido insaponificable del grupo de los esteroides. Es una
provitamina soluble en grasas y se puede obtener por transformación del colesterol o
del ergosterol propio de los vegetales con las radiaciones solares.
- Es la encargada de regular el paso de calcio a los huesos. Por ello si falta los huesos
empiezan a debilitarse y a curvarse ocasionando malformaciones, osteomalacia y
15 raquitismo, y otros desórdenes. Además representa un papel importante en el
mantenimiento de órganos y sistemas por medio de la regulación de los niveles de
calcio y fósforo en sangre, promoviendo la absorción intestinal de los mismos a partir
de los alimentos y la reabsorción de calcio a nivel renal. Con esto contribuye a la
formación y mineralización ósea, siendo esencial para el desarrollo del esqueleto.
- 20 La Vitamina como tal es una pro-hormona, no tiene actividad hormonal por sí misma,
pero se convierte en la hormona activa 1 α ,25-(OH)₂-D a través de un mecanismo de
síntesis muy regulado. Su producción en la naturaleza requiere de la presencia de
rayos UV. La forma activa de la vitamina es el calcitriol que se sintetiza a partir de
vitamina D₂ ó D₃ por hidroxilaciones en el hígado y en los riñones. Como resultado de
25 su actuación, se produce el mantenimiento mencionado de los niveles de calcio y
fósforo en los huesos y en la sangre con la asistencia de la hormona paratiroides y
calcitonina.

La presente invención describe la síntesis de metabolitos de vitamina D₃ hidroxilados en la posición C-24. En la bibliografía hay pocas síntesis de estos metabolitos y ninguna patente registrada. Se han descrito algunas síntesis utilizando la ruta biomimética que resulta ser poco eficiente (*Biochemistry* 12 (1973) 4851–4855; 5 *Tetrahedron Lett.* 16 (1975) 15–18; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* (1976) 731–735; *Tetrahedron Lett.* 21 (1980) 5027–5028; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1981) 115–117; *Chem. Pharm. Bull.* 21 (1973) 2783–2785)

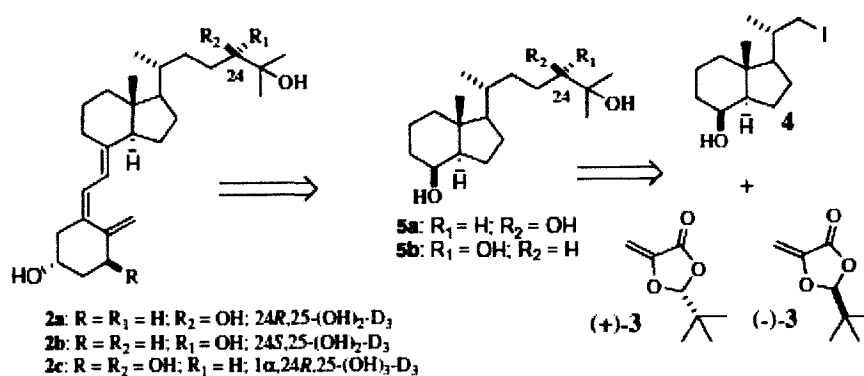


En 1998, Wicha y colaboradores diseñaron la síntesis total del biciclo CD y de la cadena lateral de 24S,25-(OH)₂-D₃ utilizando como sustancia de partida una hidroxilactona ópticamente activa para construir la cadena lateral del metabolito arriba mencionado (W. Stepanenko, J. Wicha *Tetrahedron Lett.* 39 (1998) 885-888)

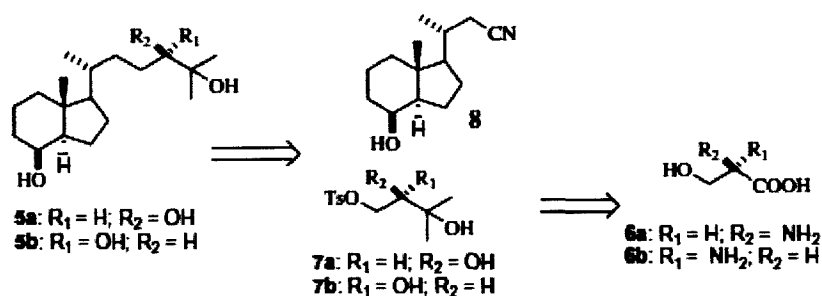


Kütner y colaboradores utilizaron una α -hidroxilación diastereoselectiva de un ester de la cadena lateral para sintetizar la 24R,25-(OH)₂D₃. (A. Kütner et al. *Chirality* 11 (1999) 701-706)

Sarendes y colaboradores sintetizaron la 24R,25-dihidroxitamina D₃ mediante una reacción de adición conjugada inducida por ultrasonidos de un ioduro sobre una dioxolanona (Sarandes et al. *Chem. Eur. J.* 8 (2002) 2747-2752; *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 89-90 (2004) 19-23).



C. Fernández y col.. Desarrollaron un método de síntesis de la cadena lateral de los metabolitos **1** y **2**, utilizando aminoácidos (C. Fernández y col. *Tetrahedron Lett.* **48** (2007) 2939-2942)



- 5 Recientemente D. Nicoletti et al. sintetizaron la 24R,25-dihidroxivitamina D₃ utilizando una reacción de transposición sigmatrópica de un acetato alílico, inducida por Pd(0). (D. Nicoletti y col. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **121** (2010) 43-45).

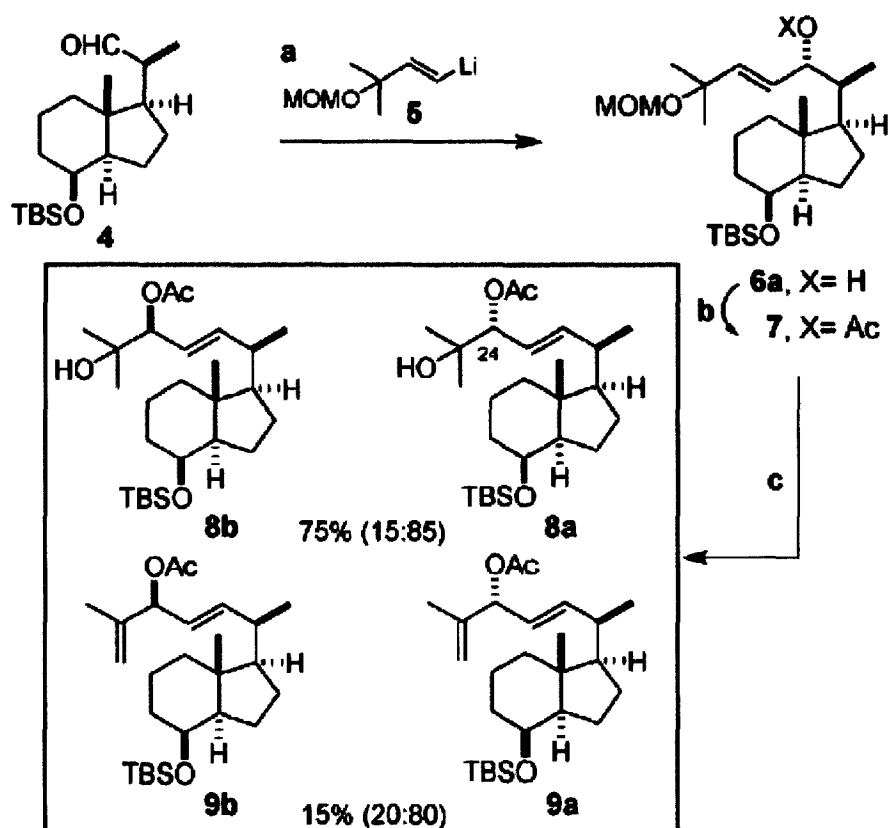


Fig. 3. (a) THF, $-78^{\circ}C$ (75%); (b) Ac_2O , Et_3N , DMAP, CH_2Cl_2 , $0^{\circ}C$, 30 min (93%); (c) $(CH_3CN)_2PdCl_2$ (8 mol%), THF, rt, 48 h.

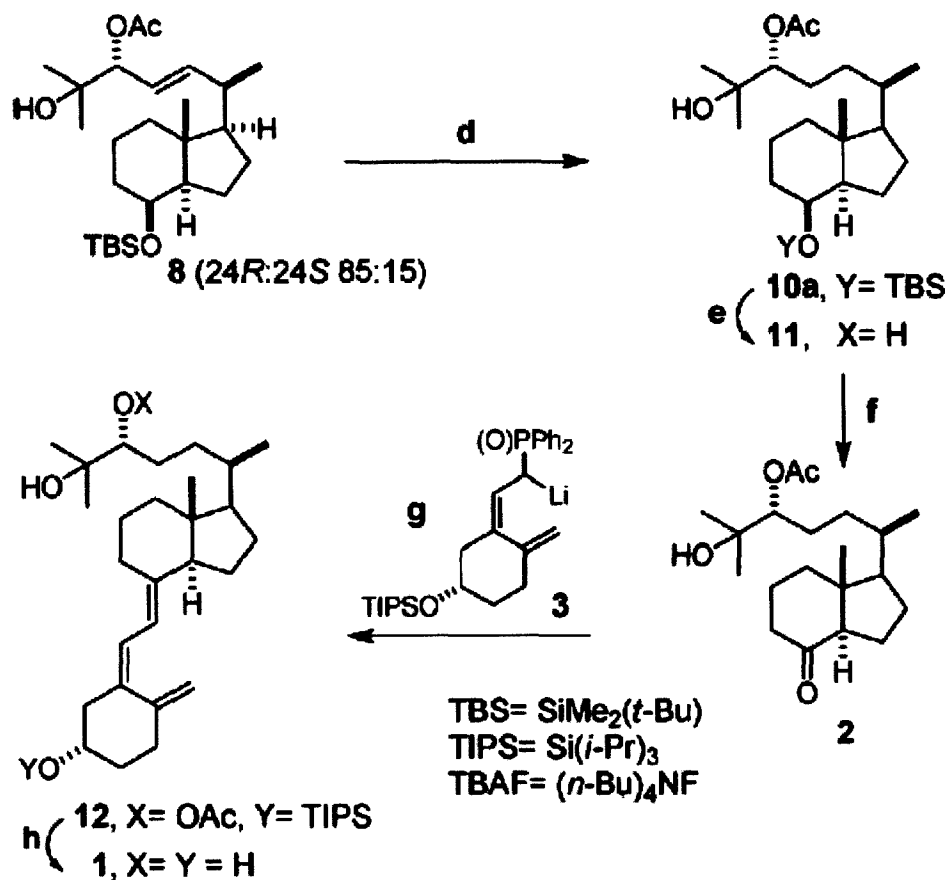
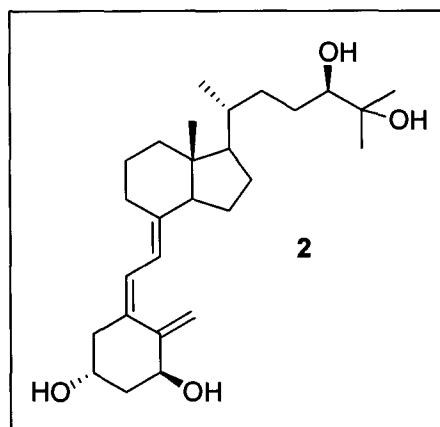
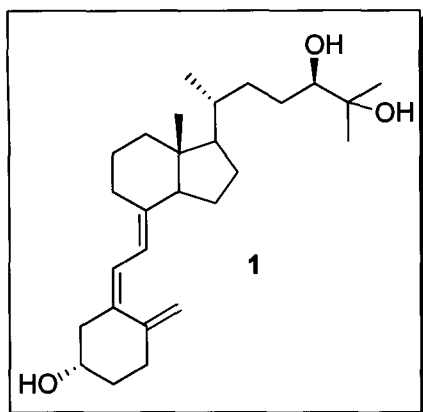


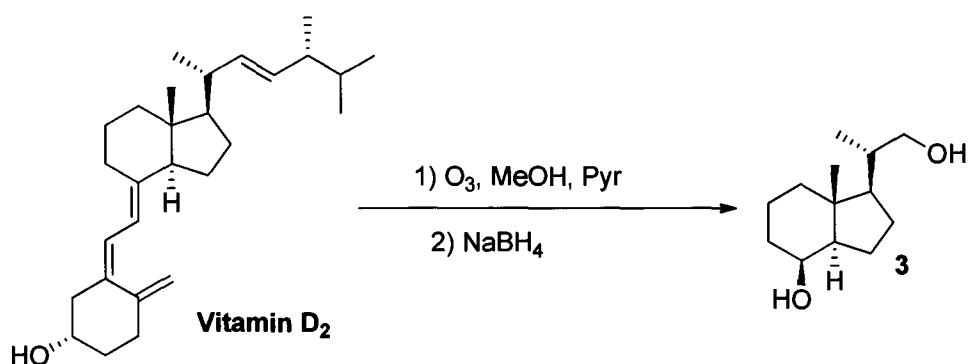
Fig. 4. Synthesis of $24R,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. (d) H_2 , PtO_2 , EtOAc (85%); (e) HF (48%), $\text{CH}_3\text{CN}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 72 h (93%); (f) PDC , CH_2Cl_2 (92%); (g) THF , -78°C (96%); (h) TBAF , THF ; NaOMe , THF (88%).

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención es un procedimiento de obtención de análogos de la Vitamina D_3 de fórmula 1, y 2, que comprende:

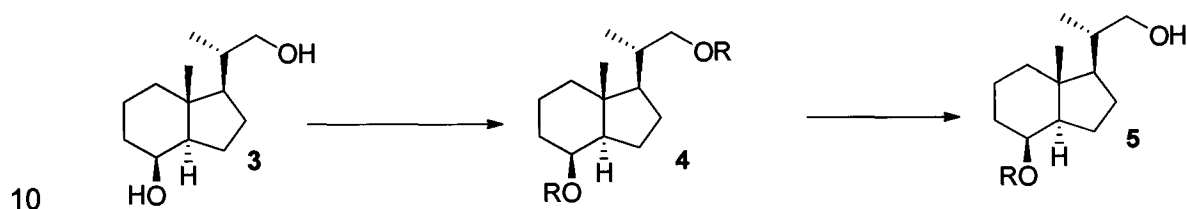


- Ozonolisis reductora de la Vitamina D₂ para dar el compuesto de fórmula 3, según el esquema siguiente:



- 5 En una realización preferible, esta ozonolisis se realiza en dos etapas y en presencia de NaBH₄ como agente reductor, y se obtiene un rendimiento del 84%.

- Protección de los grupos hidroxilo, seguido de desprotección selectiva del hidroxilo primario para dar el compuesto de fórmula 5, donde R es un grupo protector de alcohol, según el esquema siguiente:



La protección de los grupos alcoholes se realiza a temperatura ambiente. En una realización preferible, la desprotección selectiva se lleva a cabo en condiciones de temperatura creciente desde 0° a temperatura ambiente (ta). En otra realización preferible grupo protector de alcohol R es *terc*-butildimetilsilil)(TBS).

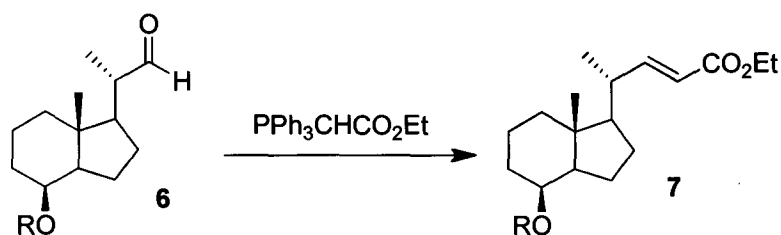
- 5 En la presente solicitud se entiende por “grupo protector del alcohol” a aquel grupo o reactivo químico que induce una modificación química del grupo alcohol donde se introduce eliminando su reactividad, con el fin de obtener quimioselectividad en la reacción química subsecuente.

- 10 - Oxidación del alcohol de fórmula 5 para dar el compuesto de fórmula 6, preferiblemente en presencia de TEMPO como agente oxidante.



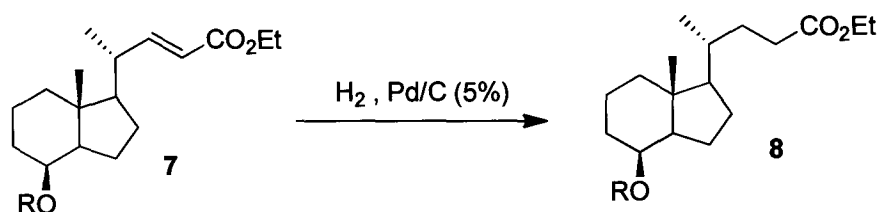
Esta reacción se lleva a cabo con un rendimiento del 81%.

- Reacción de Wittig del aldehído 6 para obtener el éster α,β -insaturado 7 con un rendimiento del 98%.



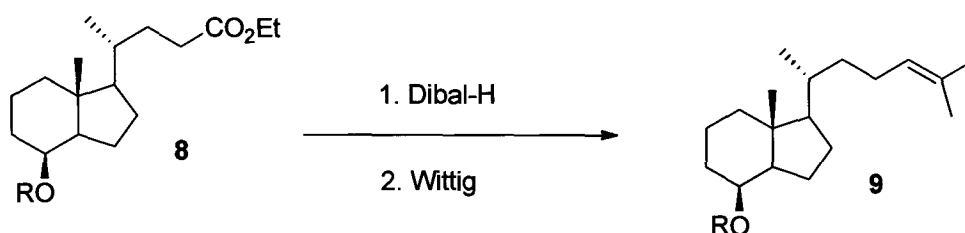
15

- Hidrogenación catalítica del doble enlace del compuesto 7 para dar el ester 8, en un rendimiento del 83% según el esquema de reacción:



- Reacción del éster **8** con Dibal-H seguido de una reacción de Wittig para dar el alqueno **9**, en un rendimiento global del 60%.

5

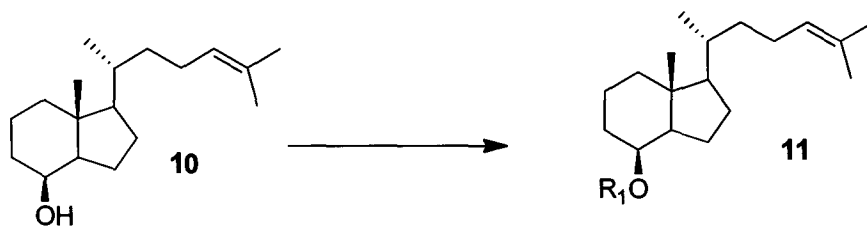


- Desprotección del alcohol protegido del compuesto **9** anterior, para dar el alcohol **10** en un rendimiento del 95%, según el esquema de reacción:

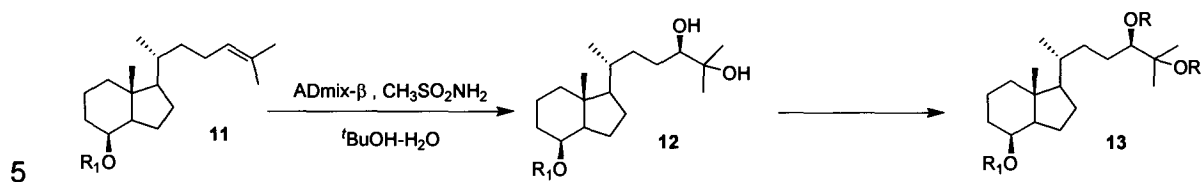
10



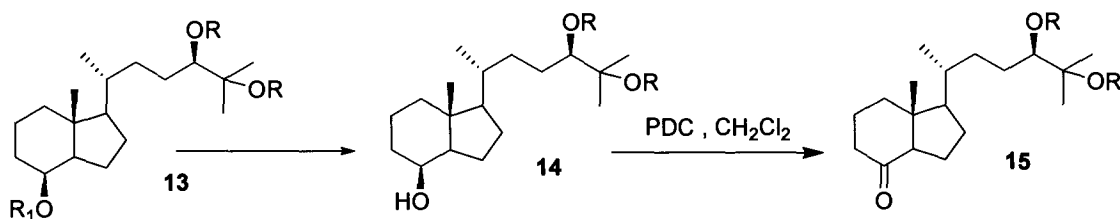
- Protección del grupo hidroxilo del compuesto **10** con un grupo protector R_1 distinto del grupo R anterior para dar el compuesto **11** en un rendimiento del 82%, según el esquema de reacción:



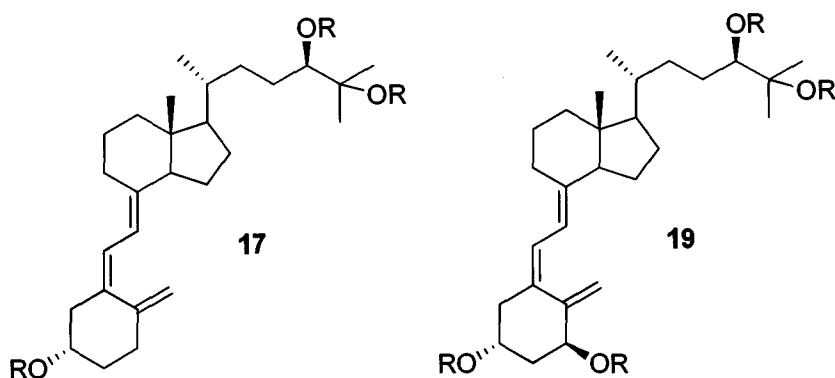
- Dihidroxilación asimétrica del alqueno **11** anterior, para dar el diol **12** que se protegió mediante los grupos protectores R₂.



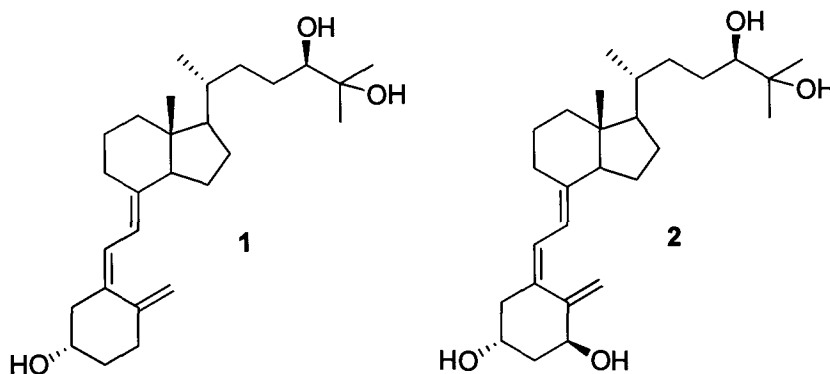
- Desprotección del alcohol protegido por el grupo protector R₁ y oxidación del alcohol **14** resultante para dar la cetona **15**.



- 10
- acoplamiento de Wittig-Horner de **15** con los óxidos de fosfina **16** y **18** correspondientes para dar los compuestos de fórmula **17** y **19**:



- Desprotección de los grupos protectores de **17** y **19** para dar los compuestos de fórmula **1** y **2**:

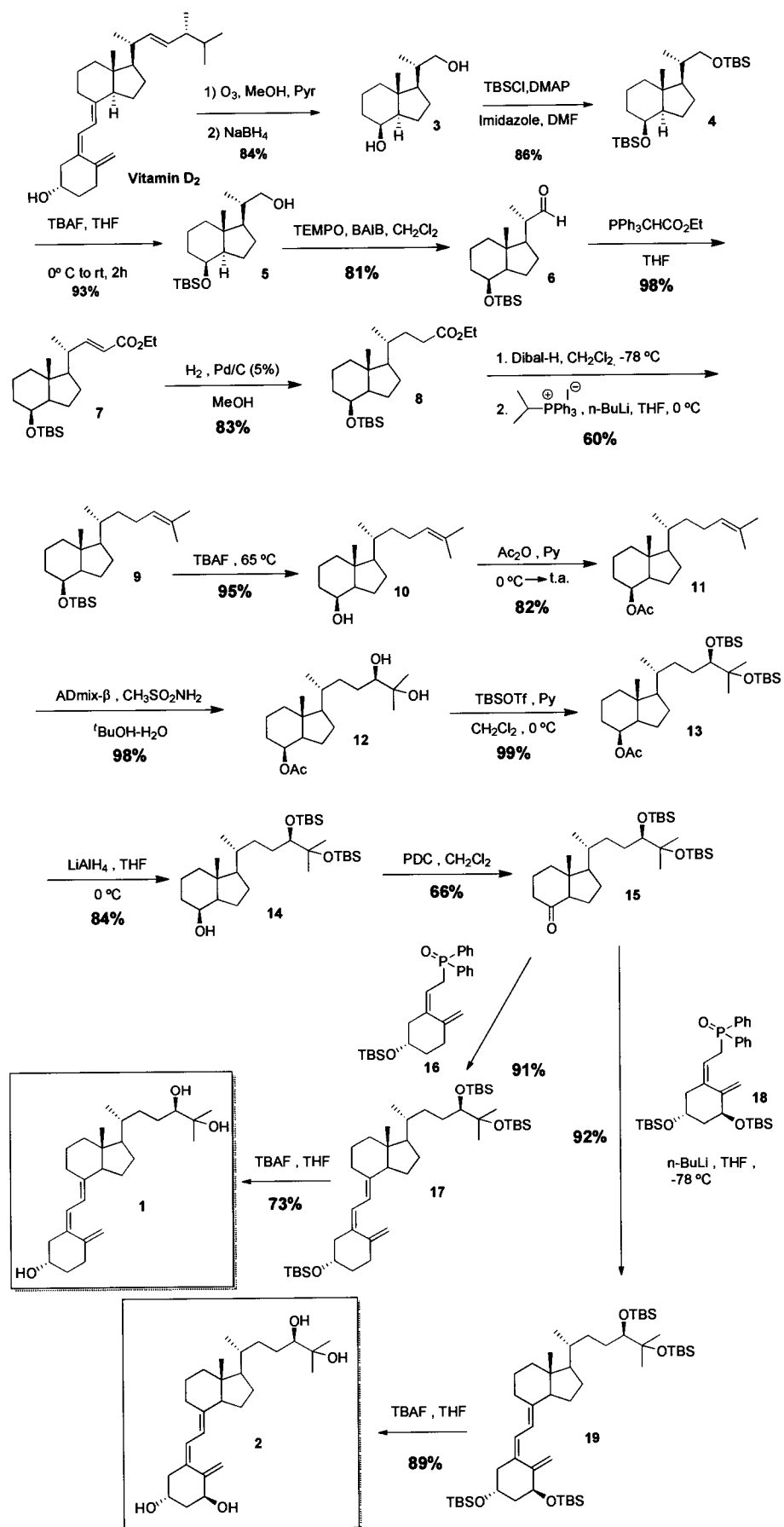


5

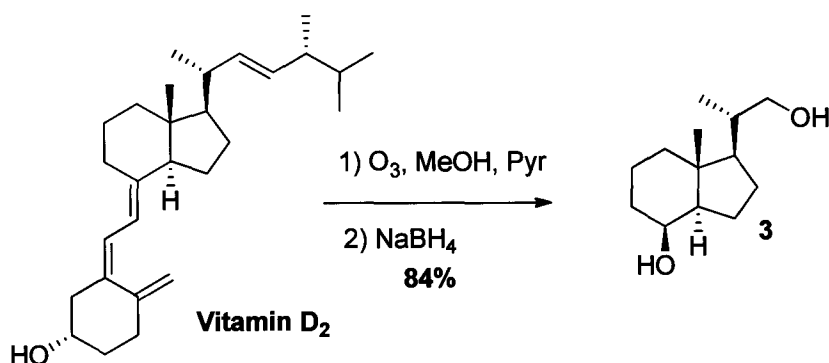
Con la intención de mostrar la presente invención de un modo ilustrativo aunque en ningún modo limitante, se aportan los siguientes ejemplos.

EJEMPLOS

- 10 **Ejemplo 1:** Preparación de los metabolitos **1** y **2** según el esquema siguiente:



Síntesis de 3



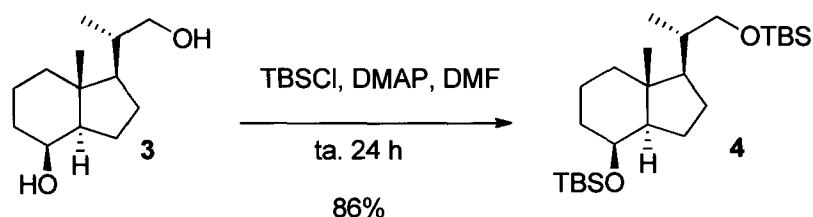
Se añadieron 30 mL de piridina a una disolución de Vitamina D₂ (20 g, 50,4 mmol) en MeOH (250 mL) y CH₂Cl₂ (50 mL). Se purgó la disolución resultante con O₂ y se enfrió hasta -78°C. Después de eso, se pasó una corriente de ozono hasta que tomó color azul grisáceo (3h). El exceso de ozono presente se purgó con corriente de Ar, y se añadió NaBH₄ (2 g, 52,86 mmol) en agitación durante 2h. Se añadió de nuevo NaBH₄ (2,00 g, 52,86 mmol) y se dejó reposar a temperatura ambiente. Se añadieron por última vez 2g de NaBH₄ (16 g, 423 mmol) en agitación durante 12h manteniendo la temperatura ambiente. Se eliminaron los residuos volátiles con rotavapor. Se acidificó añadiendo HCl al 10% y se extrajo con CH₂Cl₂. Se concentró la fase orgánica y se cromatografió sobre sílica gel (20% AcOEt/hexano) para obtener el diol de Inhoffen-Lythgoe 3 (9,0239 g, 84%) en forma de sólido blanco.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ_H 4,07 (s, 1H, CH-8); 3,61 (dd, 1H, J₁ = 3,09 Hz; J₂ = 10,5 Hz, CH-22); 3,34 (dd, 1H, J₁ = 6,7 Hz, J₂ = 10,5 Hz, CH-22); 2,03-1,96 (m, 3H); 1,88-1,78 (m, 3H); 1,63-1,39 (m, 5H); 1,37-1,23 (m, 2H); 1,19-1,12 (m, 2H); 1,01 (d, 3H, J = 7,03 Hz, CH₃-21); 0,94 (s, 3H, CH₃-18).

RMN-¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ_C 69,19 (CH-8); 67,70 (CH₂-22); 52,95 (CH-14 ó 17); 52,37 (CH-14 ó 17); 41,86 (C-13); 40,23 (CH₂); 38,25 (CH); 33,53 (CH₂); 26,67 (CH₂); 22,59 (CH₂); 17,41 (CH₂); 16,65 (CH₃-21); 13,58 (CH₃-18).

SM (ESI⁺) ([m/z], %): 212 ([M]⁺, 2); 194 (34); 179 (33); 163 (18); 135 (36); 125 (54); 111 (100); 95 (63); 81 (67).

HRMS (ESI⁺): m/z 235,1671 calculado para C₁₃H₂₄NaO₂, obtenido 235,1668.

Síntesis de 4

A una disolución del diol **3** (1 mmol) en DMF (10 mL) se le añadió imidazol (4 mmol), TBSCl (3 mmol) y una cantidad catalítica de 4-dimetilaminopiridina (DMAP, SIGMA-ALDRICH). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24h. Se añadió entonces una disolución acuosa saturada de NH_4Cl y se extrajo con EtOAc. Se secó la fase orgánica con Na_2SO_4 , se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (5% EtOAc/hexano) para obtener el compuesto **4** (8,945 g, 86%) en forma de líquido incoloro.

Compuesto 4. Aceite incoloro, **Rf**: 0.86 (30% AcOEt/hexano).

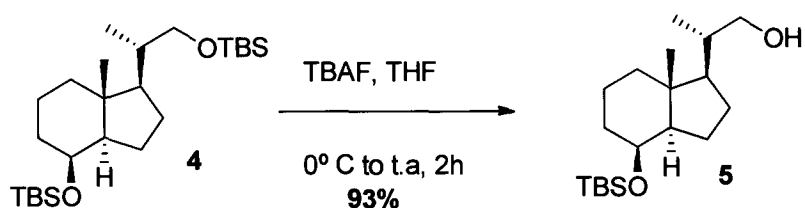
^1H -RMN (CDCl_3 , δ): 4.07 (1H, s, CH-8), 3.63 (1H, dd, $J=9.5, 3.3$ Hz, CH_2 -22), 3.34 (1H, dd, $J=9.5, 7.1$ Hz, CH_2 -22), 2.04 (1H, dt, $J=12.8, 3.1$ Hz, CH), 1.96 – 1.54 (5H, m), 1.52-1.14 (7H, m), 1.05 (3H, d, $J=6.5$ Hz, CH_3 -21), 1.01 (3H, s, CH_3 -18), 0.95 (18H, s, CH_3 - $^t\text{BuSi}$), 0.09 (12H, s, CH_3 -Si).

^{13}C - RMN (CDCl_3 , δ): 69.48 (CH-8), 67.91 (CH_2 -22), 53.48, 52.94 (CH-17, CH-14), 42.23 (C-13), 40.72 (CH_2), 34.58 (CH-20), 34.58 (CH_2), 26.70 (CH_2), 25.90 (CH_3 - $^t\text{BuSi}$), 23.28 (CH_2), 18.41 (C- $^t\text{BuSi}$), 18.08 (C- $^t\text{BuSi}$), 17.75 (CH_2), 16.96 (CH_3 -20), 13.91 (CH_3 -18), -4.74 (CH_3 -Si), -5.09 (CH_3 -Si), -5.27 (CH_3 -Si), -5.32 (CH_3 -Si).

EM (EI^+) [m/z , (%)]: 441.36 ($[\text{M} + 1]^+$, 100); 391.32 (3); 359.24 (3); 309.26 ($[\text{M}-\text{OTBS}]^+$,

5); 291.19 (9); 259.08 (4); 233.07 (3).

EMAR (EI^+): Calculada para $\text{C}_{25}\text{H}_{52}\text{O}_2\text{Si}_2$: 441.3578. Encontrada: 441.3572.

Síntesis de 5

Sobre una disolución del diol protegido **4** (1.9g, 4.41mmol) en THF (4 ml), se añadió una disolución 1.0 M en THF de TBAF (4.4ml, 4.4mmol) y la mezcla resultante se dejó agitando a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación se añadió una disolución saturada de NH₄Cl (2ml) y la fase acuosa resultante se extrajo con AcOEt (3x5 ml). Las fases orgánicas reunidas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y concentraron a vacío. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: hexano→5% AcOEt/hexano), aislándose así el alcohol **5** (1.33g, 93%).

Compuesto 5. Aceite incoloro; R_f: 0.44 (20% AcOEt/hexano).

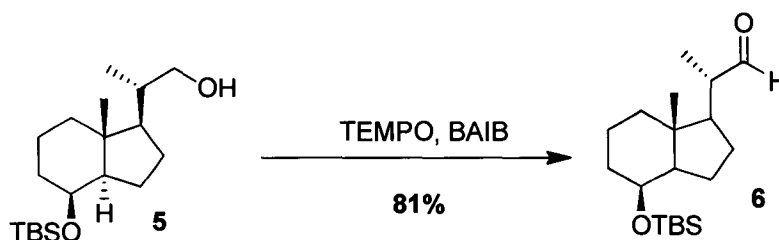
¹H-RMN (CDCl₃, δ): 3.98 (1H, s, CH-8), 3.59 (1H, dd, J=10.6, 3.2Hz, CH₂-22), 3.32 (1H, dd, J=10.5, 6.8 Hz, CH₂-22), 1.98-1.83 (2H, m), 1.77 (2H, m), 1.70-1.60 (1H, m), 1.60-1.44 (2H, m), 1.44-1.04 (6H, m), 0.99 (3H, d, J=6,6 Hz, CH₃-21), 0.91 (3H, s, CH₃-18), 0.87 (9H, s, CH₃-^tBuSi), -0.01 (3H, s, CH₃-Si), -0.02 (3H, s, CH₃-Si).

¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 69.26 (CH-8), 67.75 (CH₂-22), 53.06, 52.77 (CH-14, CH-17), 42.07 (C-13), 40.51 (CH₂), 38.25 (CH-20), 34.36 (CH₂), 26.76 (CH₂), 25.75 (CH₃-^tBuSi), 23.06 (CH₂), 17.96 (C-^tBuSi), 17.58 (CH₂), 16.63 (CH₃-21), 13.72 (CH₃-18), -4.96 (CH₃-Si), -5.22 (CH₃-Si).

EM (ESI⁺) [m/z, (%): 349.26 [(M+Na)⁺, (100)], 327.21 [(M+1)⁺, (15)], 227.21 (21).

EMAR (ESI⁺): Calculada para C₁₉H₃₈NaO₂Si: 349.25394; Encontrada: 349.25333.

Síntesis de 6



Sobre una disolución del alcohol monoprotegido **5** (2.1 g, 6.43 mmol) en CH₂Cl₂ (40 mL), se añadió BAIB (2.38g, 7.39 mmol) y TEMPO (200.9 mg, 1.29 mmol). La mezcla resultante se dejó en agitación a t.a. durante 6 h. Tras la evaporación del disolvente se le añadió tBuOMe (40 mL) y la fase orgánica se lavó con una disolución de Na₂S₂O₃ al 10% (3x20 mL) y posteriormente con una disolución de NaHCO₃ al 10% (mL). Los extractos orgánicos reunidos, se secaron, filtraron y concentraron a vacío. El residuo

obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: 3% AcOEt/hexano), aislándose así el aldehído **6** (1.7 g, **81%**).

Compuesto 6. Aceite incoloro; **Rf**: 0.79 (20% AcOEt/hexano).

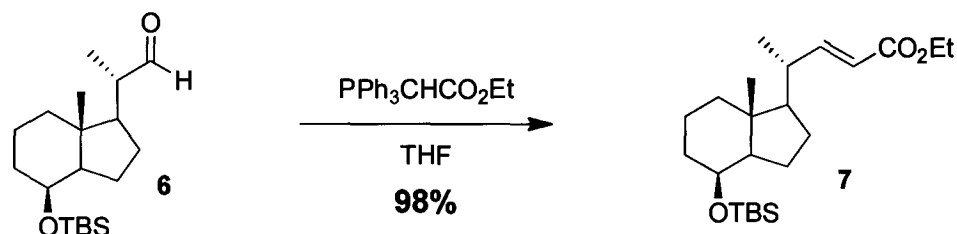
¹H-RMN (CDCl₃, δ): 9.58 (1H, d, *J*=3.2Hz, CH-22), 4.02 (1H, s, CH-8), 2.34 (1H, m, CH-20), 2.00-1.63 (5H, m), 1.51-1.15 (7H, m), 1.09 (3H, d, *J*=7.1, CH₃-21), 0.95 (3H, s, CH₃-18), 0.87 (9H, s, CH₃-^tBuSi), 0.01 (3H, s, CH₃-Si), 0.00 (3H, s, CH₃-Si).

¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 205.44 (CHO), 69.08 (CH-8), 52.55, 51.72, 49.04 (CH-20, CH-77, CH-14), 42.45 (C-13), 40.36 (CH₂), 34.26 (CH₂), 26.22 (CH₂), 25.81 (CH₃-^tBuSi), 23.41 (CH₂), 17.56 (CH₂), 14.14, 13.05 (CH₃-21, CH₃-18), -4.90 (CH₃-Si), -5.48 (CH₃-Si).

EM (ESI⁺) [m/z, (%)]: 347.24 [(M+Na)⁺, (100)], 325.25 [(M+1)⁺, (64)], 209.15 (60), 267.26 (77).

EMAR (ESI⁺): Calculada para: C₁₉H₃₆NaO₂Si: 347.233884. Encontrada: 347.23768.

15 Síntesis de 7



Sobre una disolución del aldehído **6** (90mg, 0.277 mmol) en THF (4ml) se añadió PPh₃CHCO₂ (190 mg, 0.555 mmol) y la mezcla resultante se mantuvo en agitación a t.a. durante 15 h. A continuación se evaporó el THF. El producto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: 5% AcOEt/hexano) aislándose así el alqueno **7** (108 mg, **98%**).

Compuesto 7. Aceite incoloro; **Rf**: 0.75(20% AcOEt/hexano).

¹H-RMN (CDCl₃, δ): 6.83 (1H, dd, *J*=9.0, 15.6 Hz, CH-22), 5.73 (1H, dd, *J*=0.7, 15.6 Hz, CH-23), 4.18 (2H, q, *J*=7.1 Hz, CH₂-OEt), 4.01 (1H, s, CH-8), 2.25 (1H, m, CH-20), 1.95 (1H, m), 1.82 (1H, m), 1.68 (2H, m), 1.55 (1H, m), 1.39 (3H, m), 1.29 (3H, t, *J*=7.1

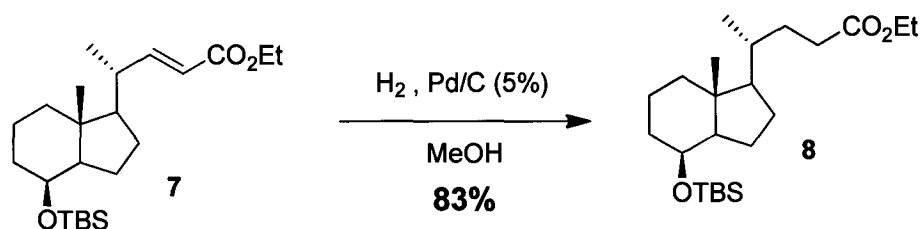
Hz, CH₃-OEt), 1.18 (4H, m) 1.07 (3H, d, $J=6.6$ Hz, CH₃-21), 0.96 (3H, s, CH₃-18), 0.89 (9H, s, CH₃-^tBuSi), 0.02 (3H, s, CH₃-Si), -0.009 (3H, s, CH₃-Si).

¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 167.1 (C=O), 154.8 (CH-22), 118.8 (CH-23), 69.2 (CH-8), 60.0 (CH₂-OEt), 55.5 (CH-17), 52.8 (CH-14), 42.4 (C-13), 40.5 (CH₂-9), 39.4 (CH-20), 34.3 (CH₂), 27.3 (CH₂), 25.8 (CH₃-^tBuSi), 23.0 (CH₂), 19.0 (CH₃-21), 18.0 (C-^tBuSi), 17.6 (CH₂), 14.2 (CH₃-OEt), 13.9 (CH₃-18), -4.7 (CH₃-Si), -5.1 (CH₃-Si).

EM (ESI) [m/z, (%)]: 395 (M⁺+1, 40), 394 (M⁺, 45), 212 (100), 192 (25).

EMAR (ESI): 394.2909 calculada para C₂₃H₄₂O₃. Encontrada: 394.2902.

10 Síntesis de 8



Sobre una disolución del alqueno **7** (1.73 g, 4.39 mmol) en MeOH (10 ml), se añadió Pd/C y la suspensión resultante se agitó vigorosamente bajo una atmósfera de H₂ durante 24 h. A continuación se filtró a vacío para retirar el catalizador y los líquidos filtrados se concentraron a vacío para finalmente purificar el producto obtenido por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: 4% AcOEt/hexano), aislándose así el compuesto **8** (1.4 g, 83%).

Compuesto 8: Aceite incoloro: **Rf:** 0.71(20% AcOEt/hexano).

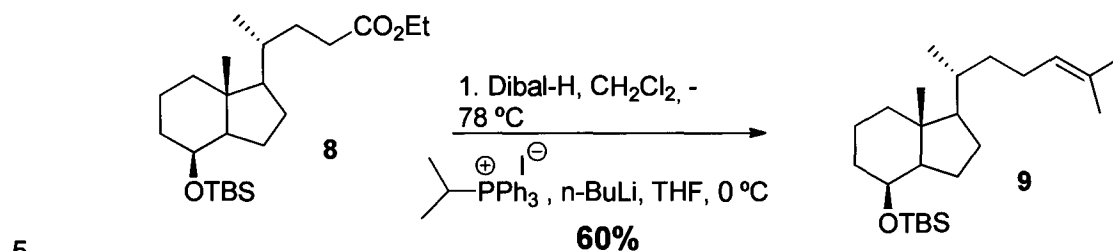
¹H-RMN (CDCl₃, δ): 4.10 (1H, q, $J=7.1$ Hz, CH₂-OEt), 3.98 (1H, s, CH-8), 2.32 (1H, m, CH-23), 2.18 (1H, m, CH-23), 1.93 (1H, m), 1.78 (3H, m), 1.65 (1H, m), 1.52 (1H, m), 1.35 (4H, m), 1.24 (3H, t, $J=7.1$ Hz, CH₃-OEt), 1.05 (2H, m), 0.89 (6H, s, CH₃-18, CH₃-21), 0.87 (9H, s, CH₃-^tBuSi), -0.01 (3H, CH₃-Si), -0.02 (3H, CH₃-Si).

¹³C-RMN (CDCl₃, δ): 174.3 (C=O), 69.4 (CH-8), 60.1 (CH₂-OEt), 56.4 (CH-17), 53.0 (CH-14), 42.1 (C-13), 40.6 (CH₂), 34.9 (CH-20), 34.4 (CH₂), 31.3 (CH₂-23), 30.8 (CH₂-22), 27.2 (CH₂), 25.8 (CH₃-^tBuSi), 23.0 (CH₂), 18.2 (C-^tBuSi), 18.0 (CH₃-21), 17.6 (CH₂), 14.2 (CH₃-OEt), 13.7 (CH₃-18), -4.7 (CH₃-Si), -5.1 (CH₃-Si).

EM (ESI) [m/z, (%)]: 396 (M^+ , 100), 322 (49), 298 (38), 225 (42), 198 (23), 165 (31).

EMAR (ESI): 396.3062 calculado para $C_{23}H_{44}O_3Si$. Encontrado: 396.3055.

Síntesis de 9



Sobre una disolución de **8** (104,7 mg, 0.26 mmol) en DCM anhidro (8ml), se añadió a -78 °C una disolución 1M de Dibal-H (0.53 ml) y se dejó en agitación durante 2h. A continuación se añadió t-BuOMe y H_2O prolongó la agitación hasta la formación de un gel blanco. A continuación se añadió H_2O (0.20 ml) y NaOH 4N (0.17 ml). Una vez formado un sólido blanco se añadió Na_2SO_4 , se dejó en agitación durante 30 min, se filtró y concentró a vacío obteniéndose el aldehído que al ser inestable no pudo ser caracterizado.

10

Sobre una disolución de yoduro de isopropil-trifosfonio (816mg, 1.89 mmol) en THF (10ml) enfriada a 0°C, se añadió una disolución 2,5 M de n-BuLi en hexano (0.75 ml, 1.89 mmol) y se dejó en agitación a t.a durante 30 min. A continuación se añadió una disolución del aldehído en THF (5ml) vía cánula dejándose en agitación a t.a durante 30 min. Finalmente la mezcla se diluyó con una disolución saturada de NH_4Cl y la fase acuosa resultante se extrajo con AcOEt (3x30 ml). Las fases orgánicas resultantes se lavaron con H_2O y NaCl, se secaron, filtraron, se eliminó el disolvente a vacío y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: hexano 2% AcOEt/hexano), aislándose así el alqueno **7** (290 mg, 60%).

15

20

Compuesto 9: aceite incoloro: Rf: 0.8 (10% AcOEt/ hexano).

1H -NMR ($CDCl_3$, δ): 5.12 (1H, m, CH-24), 4.02 (1H, m, CH-8), 2.03 (3H, m), 1.84 (3H, m), 1.71 (3H, s, CH_3 -26 o CH_3 -27), 1.63 (3H, s, CH_3 -26 o CH_3 -27), 1.56 (1H, m), 1.34 (8H, m), 1.09 (4H, m), 0.94 (3H, CH_3 -18), 0.92 (12H, s, CH_3 - t Bu y CH_3 -21), 0.04 (3H, CH_3 -Si), 0.03 (3H, CH_3 -Si).

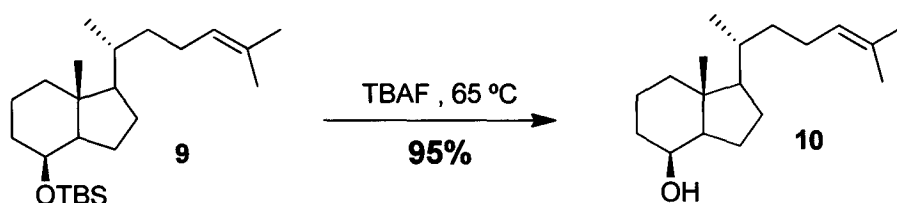
25

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ): 130.8 (C-25), 125.3 (C-24), 69.5 (CH-8), 56.8 (CH-17), 53.0 (CH-14), 42.1 (C-13), 40.7 (CH₂-9), 35.9 (CH₂), 35.1 (CH-20), 34.5 (CH₂), 27.3 (CH₂), 25.8 (CH₃-^tBu), 25.7 (CH₃-26 o CH₃-27), 24.7 (CH₂), 23.1 (CH₂), 18.5 (CH₃-21), 18.0 (C-^tBu), 17.7 (CH₂), 17.6 (CH₃-26 o CH₃-27), 13.7 (CH₃-18), -4.7 (CH₃-Si), -5.1 (CH₃-Si).

5 **EM (ESI) [m/z , (%)]:** 379 ($M^+ + 1$, 52), 378 (M^+ , 100), 282 (39), 235 (29), 190 (22).

EMAR (ESI): 379.3369 calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{47}\text{OSi}$. Encontrado: 379.3362.

Síntesis de 10



10 Sobre una disolución de **9** (100 mg, 0.265 mol) en THF (4 ml), se añadió TBAF (1 ml) y se dejó en agitación en placa calefactora a 65 °C durante 16 h. Se añadió una disolución saturada de NH_4Cl (5 mL) y la fase acuosa resultante se extrajo con acetato de etilo (3x3 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron con Na_2SO_4 , se filtraron y concentraron a vacío. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: 5% AcOEt/hexano), aislándose así el compuesto **10** (68mg, 95%).

15

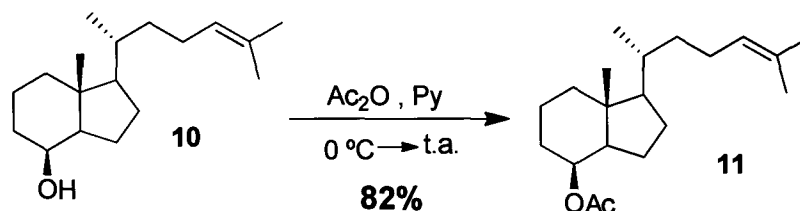
Compuesto 10: Aceite incoloro: **R_f**: 0.49(20% AcOEt/hexano).

^1H NMR (CDCl_3 , δ): 5.09 (1H, t, CH-24), 4.09 (1H, s, OH), 2.11 – 1.94 (6H, m, J = 13.2, 7.3, 4.7 Hz), 1.94 – 1.75 (5H, m), 1.68 (3H, s, CH₃-26), 1.59 (3H, s, J = 10.6 Hz, CH₃-27), 1.57 – 1.39 (3H, m), 1.37 – 1.21 (1H, m, CH-20), 1.20 – 0.96 (1H, m, CH-14), 0.93 (3H, s, CH₃-21), 0.91 (3H, s, CH₃-18).

20

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ): 130.93 (CH-25), 125.17 (CH₂-24), 69.41 (CH-OH), 56.62 (CH-17), 52.61 (CH-14), 41.85 (C-13), 40.39 (CH₂-12), 35.90 (CH₂-22), 35.12 (CH-20), 33.53 (CH₂-9), 25.72 (CH₂-15), 25.66 (CH₂-23), 24.69 (CH₃-26), 22.54 (CH₂-16), 18.47 (CH₃-21), 17.99 (CH₂-11), 17.62 (CH₃-27), 13.52 (CH₃-18).

25

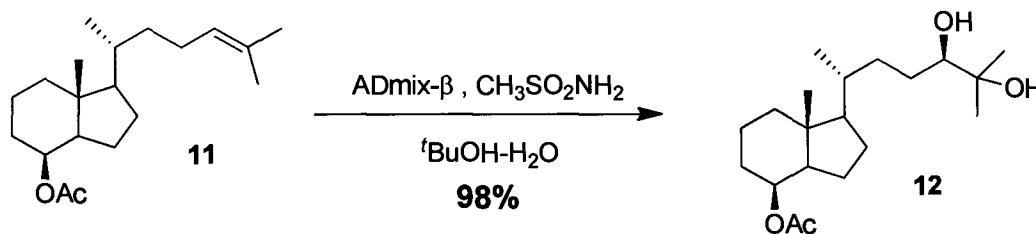
Síntesis de 11

Sobre una disolución de **10** (68 mg, 0.257 mmol) en piridina (1 ml) enfriada a 0 °C, se añadió a 0 °C Ac_2O (397 mg, 3.86 mol), se retiró el baño frío y la mezcla se agitó a t.a. durante 12 horas. A continuación se añadió H_2O (5 ml) y la fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3x3 ml). Las fases orgánicas reunidas se secaron, filtraron y concentraron a vacío. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en gel de sílice (fase móvil: hexano \rightarrow 2% AcOEt /hexano), aislándose así el compuesto **11** (65 mg, **82%**).

Compuesto 11: Aceite incoloro: **R_f**: 0.56 (30% AcOEt /hexano).

¹H RMN (CDCl_3 , δ): 5.43 (1H, s, CH-8), 4.90 (2H, m, CH-24), 2.02 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-OAc}$), 1.92-1.76 (2H, m, CH_2), 1.72 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-26}$ o $\text{CH}_3\text{-27}$), 1.68-1.55 (3H, m, $\text{CH}_3\text{-26}$ o 27), 1.55-1.34 (7H, m), 1.34-1.15 (4H, m), 1.15-1.01 (1H, m), 0.94 (3H, d, J = 6.5 Hz, $\text{CH}_3\text{-21}$), 0.88 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$).

¹³C RMN (CDCl_3 , δ): 170.86 (C=O), 130.99 (C-25), 125.13 (CH-24), 76.73 (CH-8), 56.41 (CH-17), 51.35 (CH-14), 42.00 (C-13), 40.02 (CH_2), 35.85 ($\text{CH}_2\text{-22}$), 35.20 (CH-20), 30.55 (CH-9), 27.08 ($\text{CH}_2\text{-23}$), 25.72 ($\text{CH}_3\text{-26}$ o 27), 24.66 (CH_2), 22.69 (CH_2), 21.37 ($\text{CH}_3\text{-OAc}$), 18.51 ($\text{CH}_3\text{-21}$), 17.94 (CH_2), 17.64 ($\text{CH}_3\text{-26}$ o 27), 13.00 ($\text{CH}_3\text{-18}$).

Síntesis de 12

Sobre una disolución de **11** (55 mg, 0.18 mol) en $\text{t-BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (5 ml (1:1)) se añadió $\text{ADmix-}\beta$ (150 mg) y $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{NH}_2$ (17.3 mg, 0.18 mol) dejándose en agitación durante 3 días. A continuación se añadió Na_2SO_3 (310 mg) sólido a 0 °C y se dejó en agitación durante 1 hora en las mismas condiciones observándose la desaparición del color

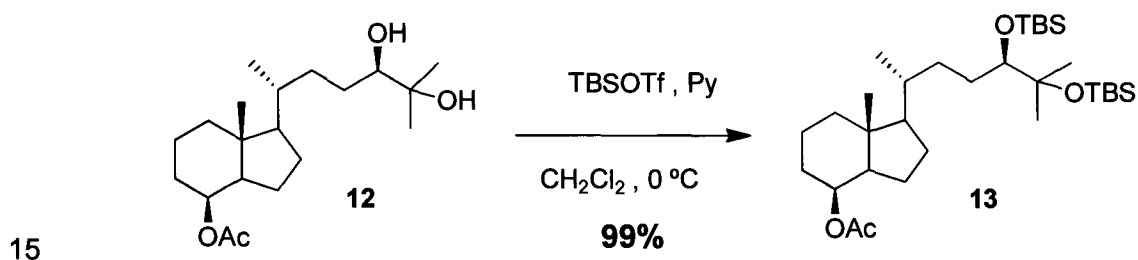
amarillo. Posteriormente se extrajo la fase acuosa con AcOEt (3x3 ml) y las fases orgánicas reunidas se secaron, filtraron y se concentraron a vacío. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en gel de sílice (fase móvil: 30% AcOEt/hexano), aislándose así el compuesto **12** (60 mg, 98%).

5 **Compuesto 12:** Aceite incoloro: Rf: 0.14(30% AcOEt/hexano).

¹H RMN (CDCl₃, δ): 5.13 (1H, s, CH-8), 3.41-3.12 (1H, m, CH-24), 2.54 (1H, s, OH), 2.45 (1H, s, OH), 2.10-1.98 (3H, m, CH₃-OAc), 1.91-1.55 (10H, m), 1.55-1.21 (6H, m), 1.17 (3H, s, CH₃-26 o 27), 1.14 (3H, s, CH₃-26 o 27), 0.90 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, CH₃-21), 0.87 (3H, s, CH₃-18).

10 **¹³C RMN (CDCl₃, δ):** 171.00 (C=O), 78.76 (CH-24), 76.78 (C-25), 73.16 (CH-8), 56.38 (CH-17), 51.28 (CH-14), 41.97 (C-13), 39.97 (CH₂), 35.22 (CH-20), 32.69 (CH₂-22), 30.49 (CH₂), 28.01 (CH₂-23), 27.12 (CH₃-26 o 27), 26.52 (CH₃-26 o 27), 23.20 (CH₂), 22.63 (CH₂), 21.06 (CH₃-OAc), 18.42 (CH₂), 17.89 (CH₃-18), 14.18 (CH₃-21).

Síntesis de 13



15 Sobre una disolución de **12** (60mg, 0.176 mol) en DCM (2ml) se añadió piridina (90 ul) y a 0°C se añadió TBSOTF (170 ul) y se dejó alcanzar la t.a. bajo agitación. Pasadas 12 horas, se añadió NaHCO₃ (1ml). A continuación se extrajo la fase acuosa con DCM (3x1 ml) y las fases orgánicas reunidas se secaron, filtraron y concentraron a vacío. El

20 residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: 3% AcOEt/hexano), aislándose así el compuesto **13** (99 mg, 99%).

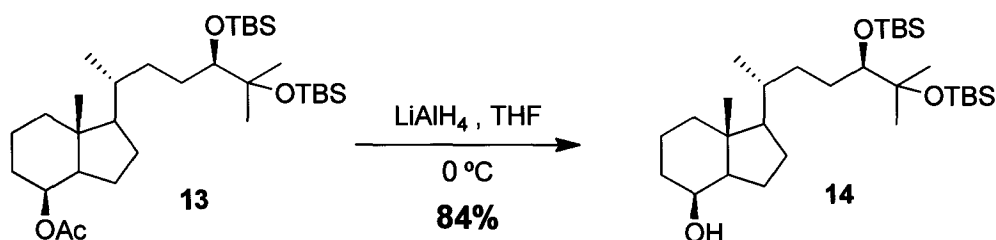
Compuesto 13: Aceite incoloro: Rf: 0.67 (30% AcOEt/hexano).

¹H RMN (CDCl₃, δ): 5.18 (1H, s, CH-8), 3.23 (1H, s, CH-24), 2.04 (3H, s, *J* = 19.7 Hz, CH₃-OAc), 1.93 – 1.59 (10H, m), 1.53 – 1.25 (13H, m), 1.19 (3H, d, *J* = 11.6 Hz, CH₃-26 o 27), 1.12 (3H, d, *J* = 5.9 Hz, CH₃-26 o 27), 0.91 (9H, d, *J* = 4.8 Hz, CH₃-^tBuSi), 0.87 (9H, s, CH₃-^tBuSi), 0.14 – 0.00 (12H, m, CH₃-Si).

25

¹³C RMN (CDCl₃, δ): 170.90 (C=O), 81.04 (CH-24), 77.34 (CH-25), 71.49 (CH-8), 56.47 (CH-17), 51.34 (CH-14), 41.97 (C-13), 40.01 (CH₂), 36.11 (CH-20), 33.72 (CH₂-22), 30.56 (CH₂), 29.51 (C-^tBuSi), 28.97 (C-^tBuSi), 27.14 (CH₂-23), 25.88 (CH₃-^tBuSi), 25.87 (CH₃-^tBuSi), 24.01 (CH₃-26 o 27), 23.49 (CH₃-26 o 27), 22.69 (CH₂), 21.40 (CH₂),
 5 18.69 (CH₃-OAc), 18.21 (CH₂), 18.13 (CH₃-21) 12.98 (CH₃-18), -1.98 (CH₃-Si), -1.98 (CH₃-Si), -3.19 (CH₃-Si), -4.00 (CH₃-Si).

Síntesis de 14



10

Sobre una disolución de **13** (98 mg, 0.172 mol) en THF (2.5 ml) se añadió a 0°C LiAlH₄ (10.13 mg, 0.26 mol) y se dejó en agitación durante 1 hora. A continuación se añadió éter (2 ml) y posteriormente H₂O (6-7 gotas) para destruir el LiAlH₄. Una vez que la disolución tornó de gris a blanco, el residuo obtenido se secó, filtró y concentró a vacío
 15 para posteriormente purificarlo por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: 30% AcOEt/hexano), aislándose así el compuesto **14** (75mg, **84%**).

Compuesto 14: Aceite incoloro: **R_f**: 0.23(10% AcOEt/hexano).

¹H RMN (CDCl₃, δ): 5.18 (1H, s, CH-8), 3.23 (1H, s, CH-24), 1.91 – 1.76 (1H, m, CH-8), 1.66 – 1.53 (3H, m, CH₃-18), 1.52 – 1.23 (17H, m), 1.19 (3H, d, *J* = 11.6 Hz, CH₃-26 o 27), 1.12 (3H, d, *J* = 5.9 Hz, CH₃-26 o 27), 0.96 (3H, d, *J* = 11.7 Hz, CH₃-21), 0.91 (9H, d, *J* = 4.8 Hz, CH₃-^tBuSi), 0.87 (9H, s, CH₃-^tBuSi), 0.14 – 0.00 (12H, m, CH₃-SiO).
 20

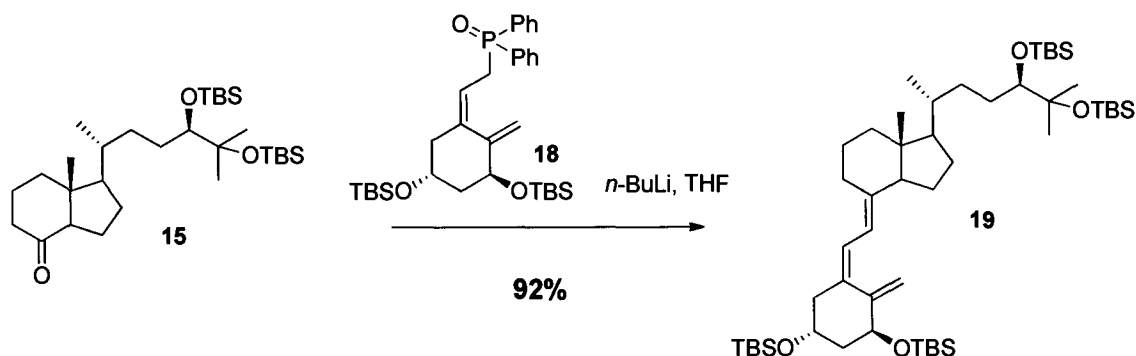
¹³C RMN (CDCl₃, δ): 81.04 (CH₂-24), 77.34 (CH-25), 71.49 (CH-8), 56.47 (CH-17), 51.34 (CH-14), 41.97 (C-13), 40.01 (CH₂), 36.11 (CH-20), 33.72 (CH₂), 30.56 (CH₂), 29.51 (C-^tBuSi), 28.97 (C-^tBuSi), 27.14 (CH₂-23), 25.88 (CH₃-^tBuSi), 25.87 (CH₃-^tBuSi),
 25 23.88 (CH₃-26 o 27), 23.49 (CH₃-26 o 27), 22.69 (CH₂), 21.40 (CH₂), 18.21 (CH₂), 18.13 (CH₃-21) 12.98 (CH₃-18), -1.98 (CH₃-Si), -1.98 (CH₃-Si), -3.19 (CH₃-Si), -4.00 (CH₃-Si).

Sobre una disolución del óxido de fosfina **16** (952 mg, 2.10mmol) en THF (4 ml) enfriada a -78°C y protegida de la luz se añadió gota a gota una disolución 2.5M de n-BuLi en hexano (824µl, 2.061mmol) observándose la aparición progresiva de un color rojo púrpura. Finalizada la adición, la mezcla se mantuvo con agitación a la misma temperatura durante 1 hora. A continuación se añadió vía cánula y gota a gota una disolución de la cetona **15** (230mg, 0.44mmol) en THF (4 ml) y se prolongó la agitación en ausencia de luz, a la misma temperatura durante 4 horas. Posteriormente se añadió lentamente una disolución saturada de NH₄Cl (10 ml), se retiró el baño frío y se mantuvo la agitación dejando que la mezcla alcanzase la t.a., se extrajo con AcOEt (3x10ml) y las fases orgánicas reunidas se lavaron con una disolución saturada de NaCl (10 ml), se secaron, filtraron y concentraron a vacío. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: hexano → 10% AcOEt/hexano) y se obtuvo el trieno **17** (335 mg, **91%**).

Compuesto 17: Aceite incoloro: **Rf**:0.67(10% AcOEt/hexano).

¹H RMN (CDCl₃, δ): 6.30 – 6.13 (1H, d, CH-6), 6.05 (1H, d, *J* = 11.3 Hz, CH-7), 5.00 (1H, d, *J* = 27.0 Hz, CH-19), 4.81 (1H, d, *J* = 1.3 Hz, CH-19), 3.91 – 3.79 (1H, m, CH-3), 3.23 (1H, dd, *J* = 11.3, 8.6 Hz, CH-24), 2.86 (2H, d, *J* = 12.3 Hz, CH₂), 2.48 (1H, dd, *J* = 13.1, 3.2 Hz, CH-14), 2.38 (2H, ddd, *J* = 16.6, 10.7, 6.0 Hz, CH₂), 2.30 – 2.21 (2H, m, CH₂-9), 2.20 – 2.08 (1H, m, CH-20), 2.07 – 2.00 (2H, m, CH), 1.96 – 1.84 (2H, m, CH₂), 1.78 – 1.26 (11H, m), 1.28 – 1.19 (3H, m, CH₃), 1.14 (3H, s, CH₃), 0.93 (9H, s, CH₃-^tBuSi), 0.92 (9H, s, CH₃-^tBuSi), 0.91 (9H, s, CH₃-^tBuSi), 0.62 (3H, d, *J* = 36.0 Hz, CH₃-21), 0.09 (18H, dd, *J* = 10.5, 8.0 Hz, CH₃-Si), 0.07 (3H, s, CH₃-18).

¹³C RMN (CDCl₃, δ): 145.38 (C-10), 141.59 (C-8), 136.27 (C-5), 121.41 (CH-6), 117.80 (CH-7), 112.15 (CH₂-19), 81.03 (CH-24), 77.34 (CH-25), 70.63 (CH-3), 56.52 (CH-14), 56.33 (CH-17), 46.93 (CH₂), 45.78 (CH₂), 44.84 (C-13), 40.58 (CH₂), 36.90 (CH₂), 36.43 (CH-20), 33.92 (CH₂-22), 29.50 (C-^tBuSi), 29.49 (C-^tBuSi), 29.02 (C-^tBuSi), 29.53 (CH₂), 29.09 (CH₂), 28.96 (CH₂-23), 25.89 (CH₃-^tBuSi), 25.87 (CH₃-^tBu), 25.85 (CH₃-^tBu), 24.83 (CH₃-26 o 27), 23.8 (CH₃-26 o 27), 19.53 (CH₂), 18.02 (CH₂), 18.00 (CH₃-21), 11.21 (CH₃-18), -1.94 (CH₃-Si), -1.95 (CH₃-Si), -1.97 (CH₃-Si), -3.18 (CH₃-Si), -3.19 (CH₃-Si), -3.20 (CH₃-Si).

Síntesis de 19

Sobre una disolución del óxido de fosfina **18** (202 mg, 0.346 mol) en THF (4 mL) enfriada a -78°C se añadió gota a gota una disolución 2.5M de n-BuLi en hexano (136 μ L, 0.339 mol) observándose la aparición progresiva de un color rojo púrpura. Finalizada la adición, la mezcla se mantuvo con agitación a la misma temperatura durante 1h. A continuación se añadió vía cánula y gota a gota una disolución de la cetona **15** (37.1 mg, 0.070 mol) en THF (4 mL) y se prolongó la agitación en ausencia de luz, a la misma temperatura durante 4 horas. Posteriormente se añadió lentamente una disolución saturada de NH₄Cl (1 mL), se retiró el baño frío y se mantuvo la agitación dejando que la mezcla alcanzase la t.a., se extrajo con AcOEt (3x10mL) y las fases orgánicas reunidas se lavaron con una disolución saturada de NaCl (10 mL), se secaron, filtraron y concentraron a vacío. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: 10% AcOEt/hexano) y se obtuvo el trieno **19** (58 mg, 92%).

Compuesto 19: Aceite incoloro: **Rf:** 0.6(10% AcOEt/hexano).

¹H RMN (CDCl₃, δ): 6.37-6.20 (1H, d, J = 16.1 Hz, CH-6), 6.17-5.92 (1H, d, J = 35.0, 17.2 Hz, CH-7), 5.25 (1H, d, J = 31.7, 15.3 Hz, CH-19), 4.99-4.72 (1H, dd, J = 14.1 Hz, CH-19), 4.28-4.16 (1H, m, CH-1), 4.10 (1H, d, J = 16.2, 9.6 Hz, CH-3), 2.97-2.73 (1H, t, J = 12.8 Hz, CH-24), 2.56-2.14 (9H, m), 2.12-1.26 (11H, m), 1.19 (3H, s, CH₃-26 o CH₃-27), 1.11 (3H, s, CH₃-26 o 27) 1.09 (3H, s, CH-18), 0.93 (9H, s, CH₃-tBuSi), 0.92 (9H, s, CH₃-tBuSi), 0.91 (9H, s, CH₃-tBuSi), 0.90 (9H, s, CH₃-tBuSi), 0.60-0.44 (3H, m, CH-21), 0.07 (24H, m, CH₃-Si).

¹³C RMN (CDCl₃, δ): 148.33 (C-10), 141.24 (C-8), 134.87 (C-5), 123.22 (CH-6), 117.79 (CH-7), 111.17 (CH₂-19), 81.08 (CH-24), 76.33 (CH-25), 71.50 (CH-1), 67.45 (CH-3), 56.50 (CH-14), 56.35 (CH-17), 46.06 (CH₂), 45.81 (CH₂), 44.84 (C-13), 40.61 (CH₂),

Chemical reaction scheme showing the conversion of compound **19** to compound **2** using TBAF in THF, yielding **89%**.

Compound **19** is a complex polycyclic molecule featuring a bicyclic core, a long chain, and two OTBS groups. The reaction conditions are TBAF, THF.

Compound **2** is the resulting product, which is a complex polycyclic molecule featuring a bicyclic core, a long chain, and two OH groups.

Sobre una disolución de **19** (56 mg, 0.0629 mol) en THFseco (2ml), bajo atmósfera inerte de Argón y en condiciones de oscuridad, se añadió gota a gota una disolución de TBAF 1M (629 µl). Tras 24 h se añadió 2 equivalentes más de TBAF y se dejó 12 h más. Transcurrido ese tiempo se añadió una disolución saturada de NH₄Cl (10 mL) y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (3x10 mL). Tras el tratamiento habitual de las fases orgánicas reunidas, el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (fase móvil: hexano→80% AcOEt/hexano). Aislándose de este modo el compuesto **2** (24 mg, **89%**).

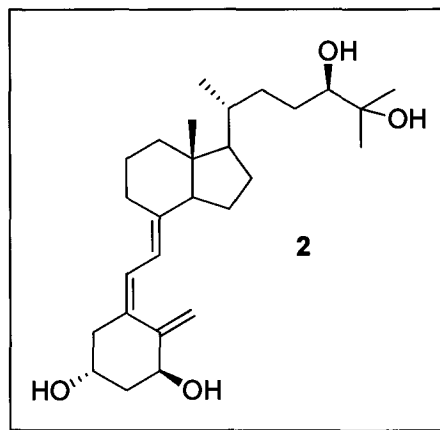
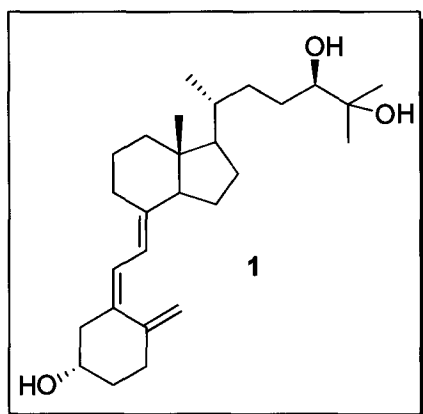
¹H RMN (MeOD, δ): 6.32 (1H, d, *J* = 11.1 Hz, CH-6), 6.08 (1H, d, *J* = 11.1 Hz, CH-7), 5.50 (1H, d, *J* = 18.3 Hz, CH-19), 5.38-5.19 (1H, m, CH-19), 4.35 (1H, t, *J* = 5.8 Hz, CH-1), 4.10 (1H, d, *J* = 16.2, 9.6 Hz, CH-3), 3.41-3.26 (1H, m, CH-24), 3.25-3.13 (1H, m), 2.94-2.75 (2H, m, *J* = 11.8, 3.5 Hz, CH₂), 2.60-2.41 (2H, m, *J* = 13.5, 3.5 Hz, CH₂-4), 2.34-2.15 (5H, m, *J* = 13.8, 6.7 Hz), 2.12-1.75 (5H, m), 1.74-1.18 (5H, m), 1.17 (6H, s, CH₃-26, CH₃-27), 1.12 (3H, s, CH₃-18), 1.01-0.88 (2H, m, CH-12), 0.59 (3H, s, CH₃-21).

¹³C RMN (MeOD, δ): 149.88 (C-10), 142.64 (C-8), 135.72 (C-5), 124.95 (CH-6), 119.03 (CH-7), 112.08 (CH-19), 79.82 (CH-24), 73.94 (CH-25), 71.50 (CH-1), 67.45 (CH-3),

58.16 (CH-14), 57.66 (CH-17), 47.04 (CH₂), 46.19 (C-13), 43.76 (CH₂), 41.98 (CH₂), 37.29 (CH-20), 34.25 (CH₂-22), 30.05 (CH₂), 28.80 (CH₂-23), 28.75 (CH₂), 25.75 (CH₃-26 o 27), 25.74 (CH₃-26 o 27), 24.69 (CH₂), 23.37 (CH₂), 19.34 (CH₃-21), 12.46 (CH₃-18).

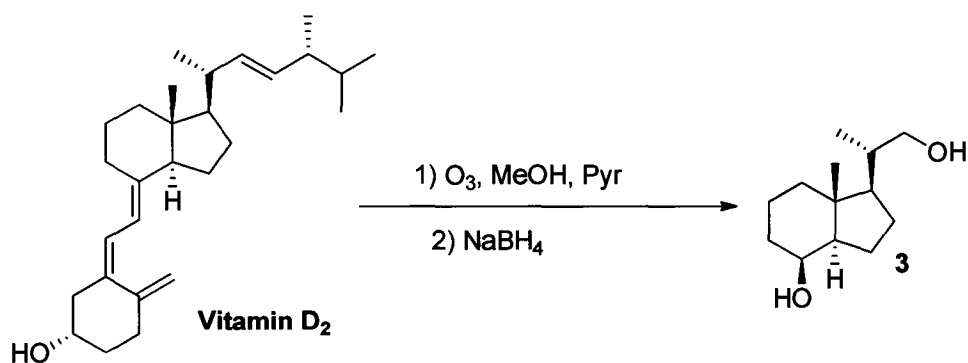
REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de obtención de metabolitos de la Vitamina D₃ de fórmula 1, y 2, que comprende las etapas de:



5

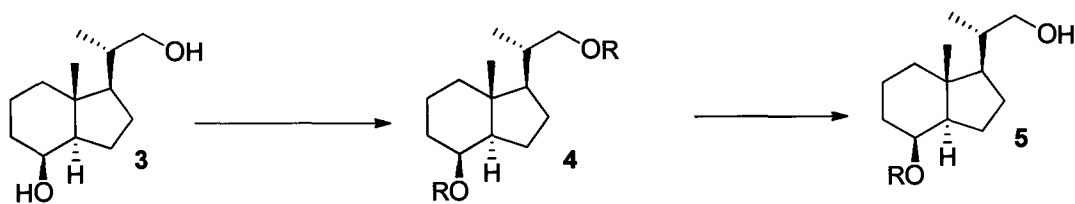
- Ozonolisis reductora de la Vitamina D₂ para dar el compuesto de fórmula 3, según el esquema siguiente:



10

En una realización preferible, esta ozonolisis se realiza en dos etapas y en presencia de NaBH₄ como agente reductor.

- Protección de los grupos hidroxilo, seguido de desprotección selectiva del hidroxilo primario para dar el compuesto de fórmula 5, donde R es un grupo protector de alcohol, según el esquema siguiente:

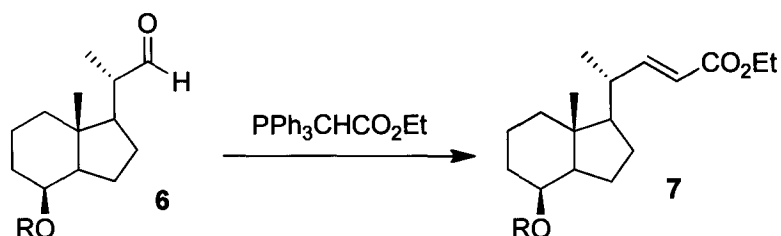


La protección de los grupos alcoholes se realiza a temperatura ambiente. En una realización preferible, la desprotección selectiva se lleva a cabo en condiciones de temperatura creciente desde 0° a temperatura ambiente (ta). En otra realización preferible grupo protector de alcohol R es *terc*-butildimetilsilil)(TBS).

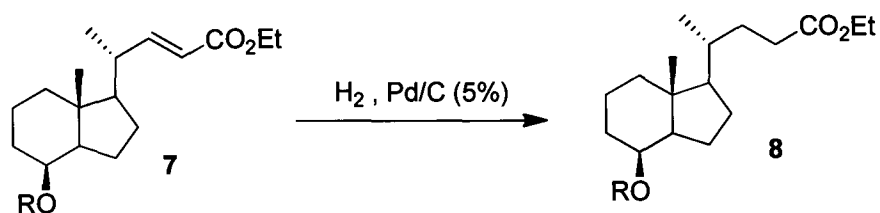
- Oxidación del alcohol de fórmula 5 para dar el compuesto de fórmula 6, preferiblemente en presencia de TEMPO como agente oxidante.



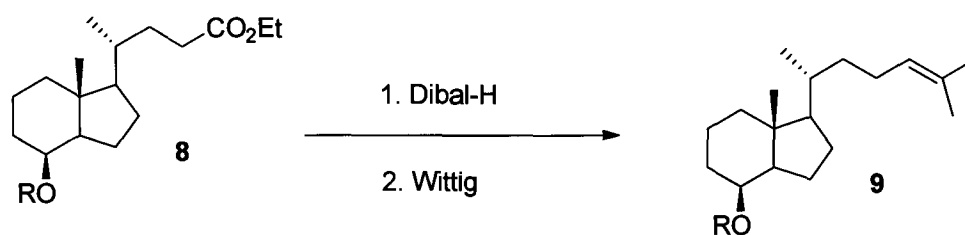
- Reacción de wittig del aldéhidido 6 para obtener el éster α,β -insaturado 7.



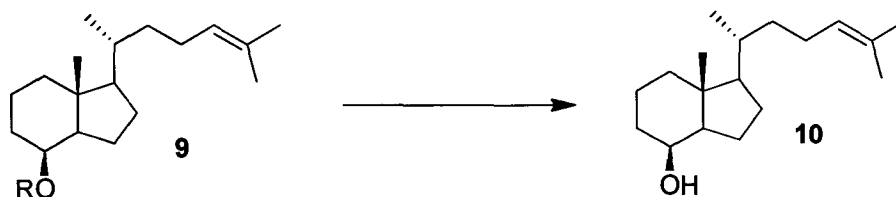
- Hidrogenación catalítica del doble enlace del compuesto 7 para dar el éster 8.



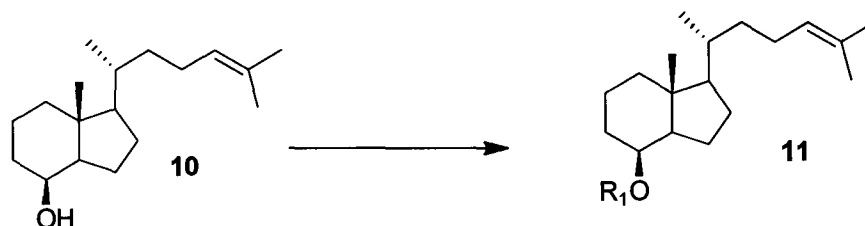
- 5 - Reacción del éster **8** con Dibal-H seguido de una reacción de Wittig para dar el alqueno **9**.



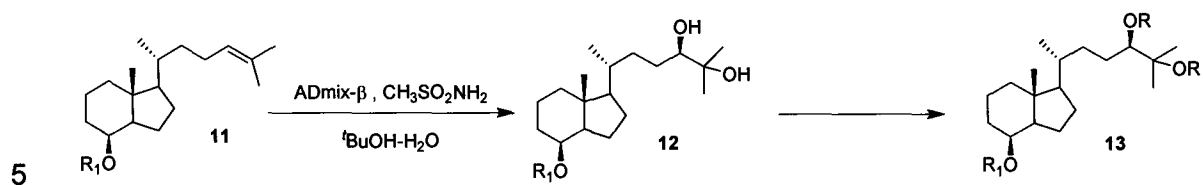
- 10 - Desprotección del alcohol protegido del compuesto **9** anterior, para dar el alcohol **10**.



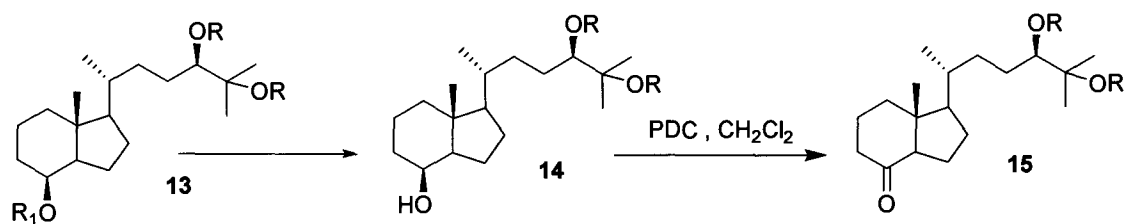
- Protección del grupo hidroxilo del compuesto **10** con un grupo protector R_1 distinto del grupo R anterior para dar el compuesto **11**.



- Dihidroxilación asimétrica del alqueno **11** anterior, para dar el diol **12** que se protegió mediante los grupos protectores R.

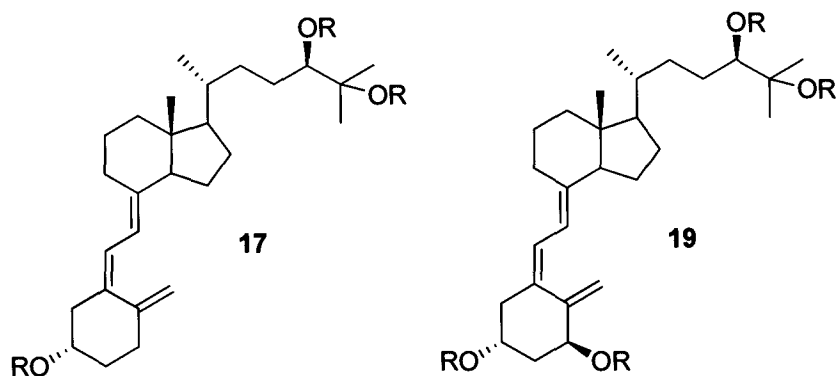


- Desprotección del alcohol protegido por el grupo protector R_1 y oxidación del alcohol **14** resultante para dar la cetona **15**.

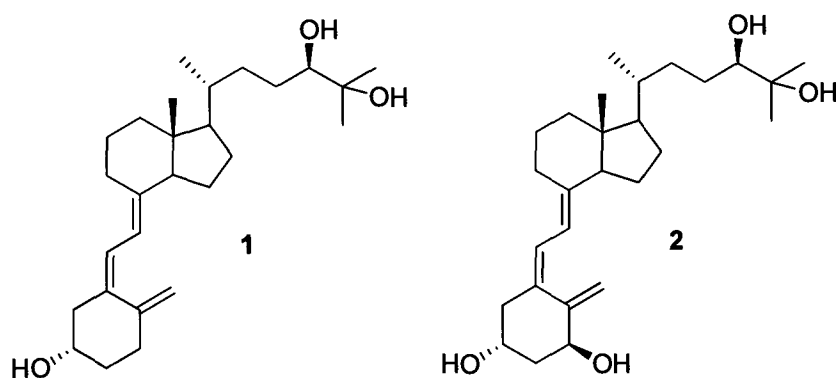


- acoplamiento de Wittig-Horner de **15** con los óxidos de fosfina **16** y **18** correspondientes para dar los compuestos de fórmula **17** y **19**:

15



- Desprotección de los grupos protectores de **17** y **19** para dar los compuestos de fórmula **1** y **2**:



5

2. Procedimiento de obtención según reivindicación 1, caracterizado en que la oxidación para obtener el compuesto **15** se realiza en presencia de PDC como agente oxidante.
3. Procedimiento de obtención según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en que dichos grupos protectores de alcohol son TBS o Acetilo.
4. Procedimiento de obtención según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en que dicha desprotección de los grupos alcohol se realiza en medio ácido y a temperatura ambiente.

10



21 N.º solicitud: 201400492

22 Fecha de presentación de la solicitud: 20.06.2014

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	NICOLETTI, D. et al. "A short approach to 24 R,25-dihydroxyvitamin D ₃ ". Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 2010, Volumen 121, páginas 43-45. Ver página 43, resumen y apartado 2; página 44, figuras 1-4.	1-4
A	KAUFMANN, M. et al. "Clinical Utility of Simultaneous Quantification of 25-Hydroxyvitamin D and 24,25-Dihydroxyvitamin D by LC-MS/MS Involving Derivatization With DMEQ-TAD". The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2014, Volumen 99, Número 7, páginas 2567-2574. [Disponible en línea el 26.03.2014]. Ver página 2567, resumen; página 2568, columna 2, párrafo 4 – página 2569, columna 1, párrafo 1; página 2569, figura 1.	1-4
A	SARDINA, F.J. et al. "Studies on the Side-Chain Hydroxylated Metabolites of Vitamin D. 2. Stereocontrolled Synthesis of 25-Hydroxyvitamin D ₂ ". Journal of Organic Chemistry 1986, Volumen 51, páginas 1264-1269. Ver página 1264, resumen; página 1265, figura 2.	1-4
A	HATAKEYAMA, S. et al. "Synthesis and biological characterization of 1 α ,24,25-trihydroxy-2 β -(3-hydroxypropoxy)vitamin D ₃ (24-hydroxylated ED-71)". Steroids 2001, Volumen 66, páginas 267-276. Ver página 267, resumen; páginas 275, figuras 4 y 5.	1-4
A	DANIEWSKI, A.R. et al. "Efficient Synthesis of the A-Ring Phosphine Oxide Building Block Useful for 1 α ,25-Dihydroxy Vitamin D ₃ and Analogs". Journal of Organic Chemistry 2002, Volumen 67, páginas 1580-1587. Ver página 1580, resumen; página 1581, esquema 1.	1-4

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
29.01.2016

Examinador
G. Esteban García

Página
1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07C401/00 (2006.01)**A61K31/593** (2006.01)**A23L1/303** ()

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07C, A61K, A23L

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, XPESP, BIOSIS, MEDLINE, PUBCHEM, REGISTRY, CAPLUS, GOOGLE SCHOLAR

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 29.01.2016

Declaración**Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)**

Reivindicaciones 1-4
Reivindicaciones

SI
NO

Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)

Reivindicaciones 1-4
Reivindicaciones

SI
NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	NICOLETTI, D. et al. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 2010, Vol. 121, pp. 43-45.	2010
D02	KAUFMANN, M. et al. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2014, Vol. 99, N° 7, pp. 2567-2574	26.03.2014
D03	SARDINA, F.J. et al. Journal of Organic Chemistry 1986, Vol. 51, pp. 1264-1269	1986

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la invención es un procedimiento de obtención de **metabolitos de la Vitamina D₃** de fórmulas **1** y **2** que comprende la ozonolisis reductora de la Vitamina D₂, que se utiliza como producto de partida, y un acoplamiento de Wittig-Horner de la cetona **15**, que conforma el núcleo central de la molécula final, con el óxido de fosfina correspondiente.

El documento D01 divulga un procedimiento para la síntesis de un metabolito de la vitamina D₃, la 24*R*,25-dihidroxitamina D₃ (**1**), que se diferencia del compuesto **1** de la invención en la configuración del C20 (ver página 43, resumen; página 44, figuras 1 y 2). Este procedimiento se basa en una aproximación de Wittig-Horner del tipo Lythgoe, por reacción de una ciclohexanona **2** (análoga a la cetona **15** de la invención, aunque con diferente configuración estereoquímica, y protección de los grupos hidroxilo) con un derivado de óxido de fosfina **3**, análogo al derivado **16** de la invención (ver página 44, figura 4). El producto de partida de la síntesis es el aldehído **4** (isómero óptico del compuesto **6** de la invención), que se obtiene a partir de la vitamina D₂ (ver página 43, apartado 2; página 44, figura 3).

Aunque el procedimiento divulgado en el documento D01 utiliza como producto inicial la vitamina D₂ y comprende una etapa de reacción de Wittig-Horner entre una cetona y un derivado de fosfina análogos a los utilizados en una de las etapas del procedimiento de la invención, existen numerosas diferencias entre ambos procedimientos, como son las etapas de construcción de la cadena lateral del producto final o las de protección/desprotección de los grupos hidroxilo presentes en éste. Además, los productos finales de ambos procedimientos presentan diferente configuración estereoquímica en el carbono en posición 20.

El documento D02 divulga un método tandem basado en cromatografía líquida y espectrometría de masas para ensayar simultáneamente múltiples metabolitos de vitamina D, que incluyen la 24,25-(OH)₂D₃ (derivado dihidroxilado de la vitamina D₃, compuesto **1** de la invención) (ver página 2567, resumen). Dentro de este estudio se divulga un procedimiento para la síntesis del derivado hexadeuterado de este producto (d₆-24,25-(OH)₂D₃), que se inicia con el diol (**2**), que es exactamente el compuesto **3** de la invención y que a su vez se obtiene a partir de la vitamina D₂. Este compuesto se transforma en la cetona **3**, que es análoga a la cetona **15** de la invención, pero que tiene un grupo hidroxilo libre y el otro protegido como acetato, además de estar hexadeuterado. La cetona **3** se acopla finalmente con el anión derivado de la fosfina **4**, que es equivalente al compuesto **16** de la invención, para dar el derivado dihidroxilado **1** de la vitamina D₃ (página 2568, columna 2, párrafo 4-página 2569, columna 1, párrafo 1; página 2569, figura 1).

Como ocurre en el caso anterior, el procedimiento divulgado en el procedimiento D02 utiliza como producto inicial la vitamina D₂ y comprende como etapas fundamentales la ozonolisis inicial de ésta y el acoplamiento de Wittig-Horner entre una cetona y un derivado de fosfina análogos a los utilizados en una de las etapas del procedimiento de la invención, pero existen también algunas diferencias, como son los grupos protectores de los hidroxilos presentes en las moléculas intermedias implicadas. Además, el producto final del procedimiento divulgado en D02 es un derivado hexadeuterado.

El documento D03 divulga un procedimiento para la preparación de 25-hidroxitamina D₂ (**1**) a partir de vitamina D₂ (**2a**), que comprende la ozonolisis reductora de ésta para dar el dihidroxiderivado **3** (compuesto **3** de la invención), y que construye el sistema trieno mediante un acoplamiento de Horner-Wittig de la cetona **13** (análoga a la cetona **15** de la invención, aunque con una insaturación en la cadena lateral) y el anión del óxido de fosfina **14**, que se diferencia del compuesto **16** de la invención en el grupo protector del hidroxilo (ver página 1264, resumen; página 1265, figura 2).

El producto final obtenido en el procedimiento divulgado en D03 se diferencia del compuesto **1** de la invención en la cadena lateral, que en el primer caso está insaturada y contiene un único grupo hidroxilo, además de un metilo adicional.

Por lo tanto, los documentos citados muestran sólo el estado de la técnica del campo al que pertenece la invención. Ninguno de ellos, tomado solo o en combinación con los otros, divulga o contiene sugerencia alguna que pudiera dirigir al experto en la materia al procedimiento de obtención de los análogos de la vitamina D₃ recogido en la solicitud.

En consecuencia, se considera que el objeto de las reivindicaciones 1-4 de la solicitud reúnen los requisitos de novedad y actividad inventiva establecidos en los Artículos 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986.