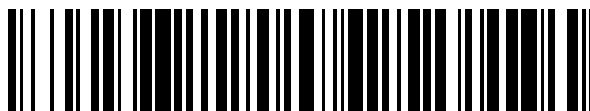


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 725 884**

51 Int. Cl.:

**C07C 35/21** (2006.01)

**A61K 31/045** (2006.01)

**A61K 31/59** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 31/593** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.11.2014 PCT/ES2014/070855**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.05.2015 WO15075291**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.11.2014 E 14864477 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.02.2019 EP 3072873**

54 Título: **Análogos de vitamina D con interés farmacéutico**

30 Prioridad:

**20.11.2013 ES 201331689**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**30.09.2019**

73 Titular/es:

**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE  
COMPOSTELA (33.3%)  
Edificio Emprendia - Campus Vida  
15782 Santiago de Compostela - A Coruña, ES;  
UNIVERSIDADE DA CORUÑA (33.3%) y  
SERVIZO GALEGO DE SAÚDE (SERGAS) (33.3%)**

72 Inventor/es:

**PÉREZ FERNÁNDEZ, ROMÁN;  
SEOANE RUZO, SAMUEL;  
MOURIÑO MOSQUERA, ANTONIO;  
MAESTRO SAAVEDRA, MIGUEL;  
CASTELAO FERNÁNDEZ, JOSÉ ESTEBAN y  
GOGOI, PRANJAL**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 725 884 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Análogos de vitamina D con interés farmacéutico

5 **Campo técnico**

La presente invención se dirige a compuestos de interés farmacéutico. Más en particular, se dirige a los compuestos de fórmula (I), a los procedimientos de obtención de los mismos, a los intermedios de su síntesis y a los procedimientos de obtención de estos últimos.

10

**Antecedentes de la invención**

La 1,25 $\alpha$ -dihidroxitamina D<sub>3</sub> (1,25D) es el metabolito más activo de la vitamina D. Ejerce sus acciones biológicas uniéndose de forma específica a su receptor nuclear, el receptor de la vitamina D (VDR). El sistema endocrino de la vitamina D juega un papel fundamental en la regulación del metabolismo fosfo-cálcico, estimulando la absorción intestinal de estos minerales esenciales y su movilización en el tejido óseo. Así, el déficit de vitamina D o la resistencia a sus acciones, produce manifestaciones clínicas a nivel óseo, como el raquitismo en niños o la osteomalacia en adultos.

15

20

Aunque las acciones sobre el metabolismo fosfo-cálcico son las más conocidas, estudios epidemiológicos, bioquímicos, celulares, o de genética molecular han demostrado su implicación en otros procesos fisiológicos, al inhibir la proliferación e inducir la diferenciación celular, y procesos patológicos, como psoriasis, diabetes, osteoporosis, enfermedades autoinmunitarias, degenerativas, endocrinológicas, cardiovasculares, infecciosas, o tumorales (De Luca H. Historical overview of Vitamin D. En Vitamin D, 3<sup>a</sup> Ed; Feldman D, Pike JW, Adams JS (Eds). Academic Press, Londres, Reino Unido, 2011, Volumen 1, pp 3-12).

25

En cáncer, el tratamiento con vitamina D bloquea el ciclo celular e induce apoptosis, inhibiendo así el crecimiento tumoral y, por tanto contribuyendo a la supresión tumoral. Numerosos estudios han evaluado el uso de la vitamina D como agente antineoplásico, solo o en combinación con otros fármacos para el tratamiento del cáncer. La vitamina D se ha combinado con agentes que causan daño en el ADN (como cisplatino o doxorrubicina), con agentes que bloquean el ensamblaje de los microtúbulos (como taxanos), con inhibidores de la topoisomerasa (como etopósido), o con agentes antimetabólicos (como 5-fluoracilo) (Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD, Black DM, Demay MB, Manson JE, Murad MH, Kovacs CS. The nonskeletal effects of vitamin D: an endocrine society scientific Statement. Endocr Rev. 2012;33(3):456-92; Deeb K, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signaling pathways in cáncer: potential for anticancer therapeutics. Nature Rev Cancer 2007; 7:684-700; Ma Y, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D in combination cáncer treatment. J Cancer 2010; 1:101-7). Sin embargo, la principal limitación de la vitamina D para su uso clínico es que su administración a dosis farmacológicas induce hipercalcemia (Deeb K, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signaling pathways in cáncer: potential for anticancer therapeutics. Nature Rev Cancer 2007; 7:684-700). Por tanto, el desarrollo de análogos de la vitamina D no hipercalcémicos es de especial relevancia para su uso en el tratamiento de patologías en las que la vitamina D ya ha demostrado su utilidad en estudios preclínicos. Por ejemplo, un análogo de la vitamina D, el calcipotriol, se está comercializando para el tratamiento de la psoriasis, siendo su administración tópica debido a los posibles riesgos de inducir hipercalcemia (Menter A, Korman NJ, Elmets CA, Feldman SR, Gelfand JM, Gordon KB, Gottlieb A, Koo JYM, Lebwohl M, Lim HW, Van Voorhees AS, Beutner KR, Bhushan R. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis. J Am Acad Dermatol 2009; 60:643-59). El documento WO2006/039763 divulga análogos de vitamina D que tienen una estructura en forma de anillo D basado en un resto de hidroxilhexiltrimetilciclopentilo para su uso en el tratamiento de enfermedades óseas.

30

35

40

45

Así, el desarrollo de nuevos análogos de vitamina D con las mismas propiedades de la hormona natural, pero con escasa o nula capacidad de inducir hipercalcemia, es un objetivo a alcanzar para su utilización en la práctica clínica.

50

**Sumario de la invención**

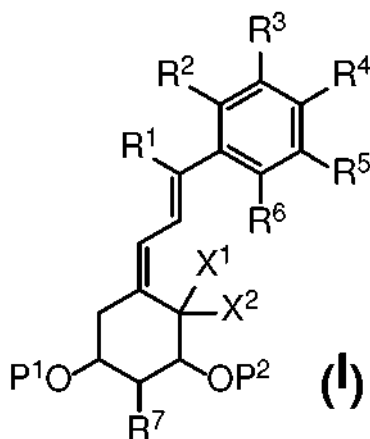
Los autores de la presente invención han obtenido compuestos de fórmula (I) que presentan cierta afinidad por el receptor de la vitamina D, son activos en un orden similar a la 1,25 $\alpha$ -dihidroxitamina D<sub>3</sub> (1,25D), con la ventaja de presentar una menor o nula hipercalcemia. Dicha ventaja permite el empleo terapéutico a dosis a las que la vitamina D es tóxica.

55

Aunque estos compuestos de fórmula (I) están altamente funcionalizados, el procedimiento para su preparación consta de pocas etapas de síntesis. Una ventaja adicional es que los intermedios obtenidos en esa ruta sintética presentan una elevada versatilidad en cuanto a la naturaleza de los sustituyentes, incluyendo el marcaje isotópico de los mismos.

60

Así, en un aspecto, la invención se dirige a un compuesto de fórmula (I), o uno de sus estereoisómeros, o sus sales farmacéuticamente aceptables,



en la que cada uno de  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$  y  $R^7$  se selecciona independientemente de entre hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), alqueno (C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>), hidroxialqueno (C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>), alquino (C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>), hidroxialquino (C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>), heteroalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), heteroalqueno (C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>), heteroalquino (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), arilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), heteroarilo (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>), aril (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), alquilalilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), arilalilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), ariloxilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), alquilcarboxi (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), arilcarboxi (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), carbociclo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) y heterociclo (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>), en la que  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$  y  $R^7$  están opcionalmente sustituidos por hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) o hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>),

$X^1$  y  $X^2$  son hidrógenos o bien forman conjuntamente con el átomo de carbono al que están unidos un grupo metileno (=CH<sub>2</sub>), y

cada uno de  $P^1$  y  $P^2$  se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), arilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), y -SiR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, en la que cada uno de R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup> y R<sup>c</sup> se selecciona entre alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), arilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), ariloxi (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) y heterociclo (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>). Como ejemplos no limitativos de los grupos  $P^1$  y  $P^2$  se pueden citar metoximetiléter, metoximetiléter, benciloximetiléter, metiltiometiléter, trimetilsilietoximetiléter, acetato, pivalato, benzoato y p-nitrobenzoato,

en la que 1 y 9 átomos de hidrógeno del compuesto de fórmula (I) están opcionalmente sustituidos por isótopos de hidrógeno, deuterio (<sup>2</sup>H) o tritio (<sup>3</sup>H), y/o entre 1 y 9 átomos de carbono del compuesto de fórmula (I) están opcionalmente sustituidos por isótopos de <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) junto con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

Ocho, más preferentemente de dos a cuatro átomos de carbono, que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, tal como -CCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub>, -CCCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CCCH<sub>3</sub>,

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un fármaco.

### Descripción de los dibujos

**FIGURA 1.** Experimento de unión competitiva de 1,25D y diferentes análogos según la presente invención al receptor de vitamina D. Concentraciones crecientes de 1,25D y de los análogos (desde 10<sup>-11</sup> hasta 10<sup>-5</sup> [M]) se incubaron con el receptor de vitamina D en un ensayo de unión competitiva por el receptor. El valor de CI<sub>50</sub> que corresponde al 50% de la inhibición de la polarización de cada compuesto y que deriva de los valores de las curvas de dosis-respuesta se indica en la descripción (Tabla 1). Los valores representan la media de al menos dos experimentos. Las barras de error representan la desviación estándar (DE).

**FIGURA 2.** Experimento de transactivación (ensayo indicador) de 1,25D y de diferentes análogos según la presente invención. Las células MCF-7 fueron transfectadas con el vector indicador de la 24-hidroxilasa (vector pCYP24A1-Luc) durante 24 horas. Estas células se trataron con 1,25D y los diferentes análogos durante 24 horas a concentración de 10<sup>-11</sup>-10<sup>-6</sup> [M]. A continuación se determinó la actividad luciferasa y se calculó la CE<sub>50</sub>, que representa la concentración del análogo que incrementa la actividad transcripcional en un 50% según las curvas de dosis-respuesta, como se indica en la descripción (Tabla 2). Los experimentos se realizaron al menos en dos ocasiones. Las barras de error representan la desviación estándar (DE).

**FIGURA 3.** Ensayo de proliferación en la línea celular de adenocarcinoma de mama humano MCF-7. Las células MCF-7 se sembraron en placa de 24 pocillos, transcurridas 24 horas, las células se trataron con 1,25D y los diferentes análogos según la presente invención a 10<sup>-8</sup> y 10<sup>-7</sup> [M] durante 48 horas y posteriormente se incubaron con el reactivo MTT durante 1 hora. La absorbancia se determinó a 570 nm. Los valores se representaron en las gráficas como media ± DE. Como valor de proliferación en el control se consideró un 100% para el crecimiento normal de las células MCF-7 tratadas con el vehículo.

**FIGURA 4.** Ensayo de proliferación en la línea celular de adenocarcinoma de próstata humano PC-3. Las células

PC-3 se sembraron en placa de 24 pocillos, transcurridas 24 horas, las células se trataron con 1,25D y los diferentes análogos según la presente invención a  $10^{-8}$  y  $10^{-7}$  [M] durante 48 horas y posteriormente se incubaron con el reactivo MTT durante 1 hora. La absorbancia se determinó a 570 nm. Los valores se representaron en las gráficas como media  $\pm$  DE. Como valor de proliferación en el control se consideró un 100% para el crecimiento normal de las células PC-3 tratadas con el vehículo.

**FIGURA 5.** Ensayo de proliferación en la línea celular de adenocarcinoma de ovario humano SKOV-3. Las células SKOV-3 se sembraron en placa de 24 pocillos, y transcurridas 24 horas, se trataron con 1,25D y los diferentes análogos según la presente invención a  $10^{-8}$  y  $10^{-7}$  [M] durante 48 horas y posteriormente se incubaron con el reactivo MTT durante 1 hora. La absorbancia se determinó a 570 nm. Los valores se representaron en las gráficas como media  $\pm$  DE. Como valor de proliferación en el control se consideró un 100% para el crecimiento normal de las células SKOV-3 tratadas con el vehículo.

**FIGURA 6.** Ensayo de proliferación en la línea celular de queratinocitos humanos HaCaT. Las células HaCaT se sembraron en placa de 24 pocillos, y transcurridas 24 horas, se trataron con 1,25D y los diferentes análogos según la presente invención a  $10^{-8}$  y  $10^{-7}$  [M] durante 48 horas y posteriormente se incubaron con el reactivo MTT durante 1 hora. La absorbancia se determinó a 570 nm. Los valores se representaron en las gráficas como media  $\pm$  DE. Como valor de proliferación en el control se consideró un 100% para el crecimiento normal de las células HaCaT tratadas con el vehículo.

**FIGURA 7.** Las células MCF-7 se sembraron durante 10 días sobre un colchón de matrigel hasta que formaron una estructura celular en 3D. Estos esferoides se trataron con la 1,25D y diferentes análogos según la presente invención a una concentración de  $10^{-7}$  [M] durante 7 días. Concluido el tratamiento los esferoides se tiñeron con DAPI (4', 6-diamino-2-fenilindol) durante 1 hora y se fotografiaron en un microscopio invertido con luz ultravioleta. Se midió el tamaño de estos esferoides y los valores se representaron como media  $\pm$  DE en unidades relativas. En la figura podemos observar que los análogos PG-136p y PG-403 según la presente invención inhiben el crecimiento tridimensional de forma similar a 1,25D. Como valor control se consideran aquellas células tratadas con el vehículo.

**FIGURA 8.** El tratamiento con los análogos PG-128, PG-136p, PG-152, PG-156, PG-403, PG-385, y PG-433 según la presente invención no producen hipercalcemia en ratones (ausencia de diferencias significativas con respecto al control). La 1,25D y los diferentes análogos se inyectaron intraperitonealmente cada 2 días durante 21 días a una dosis de 0,3  $\mu$ g/Kg. Una vez terminado el tratamiento se valoraron los niveles de calcio en el suero y los valores de representaron como media  $\pm$  DE en mg/dl.

**FIGURA 9.** El tratamiento con los análogos PG-136p y PG-403 según la presente invención a dosis de 0,1, 0,5, 1, y 5  $\mu$ g/kg no produce hipercalcemia en ratones. La 1,25D (dosis de 0,3  $\mu$ g/kg) y los análogos (dosis de 0,1, 0,5, 1, y 5  $\mu$ g/kg) se inyectaron intraperitonealmente cada 2 días durante 21 días. Una vez terminado el tratamiento se valoraron los niveles de calcio en el suero y los valores de representaron como media  $\pm$  DE en mg/dl.

**FIGURA 10.** El tratamiento con los análogos PG-136p y PG-403 según la presente invención a dosis de 0,1, 0,5, 1, y 5  $\mu$ g/kg no modifica el peso corporal de los ratones con respecto a los animales control (tratados con vehículo). La 1,25D (dosis de 0,3  $\mu$ g/kg) y los análogos (dosis de 0,1, 0,5, 1, y 5  $\mu$ g/kg) se inyectaron intraperitonealmente cada 2 días durante 21 días. Los animales se pesaron cada dos días durante el tratamiento. Los valores de representaron como media  $\pm$  DE en mg/dl.

**FIGURA 11 (A y B).** Los análogos según la presente invención regulan genes diana de la vitamina D de forma semejante a 1,25D. Células MCF-7 se trataron durante 24 horas con diferentes análogos a dosis de  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$  y  $10^{-7}$  M. Los extractos proteicos se sometieron a electroforesis, se transfirieron a membranas de PVDF, y se incubaron con anticuerpos anti-p21, anti-p27, anti-p53 (A), o anti-E-cadherina (B) (anti-GAPDH se utilizó como control de carga). Las bandas de transferencia Western se cuantificaron por densitometría y los datos se expresaron como la relación entre anti-p21, anti-p27, anti-p53 y anti-GADPH.

**FIGURA 12.** En esta figura se muestran los resultados obtenidos al tratar un grupo de 32 ratones con el análogo PG136 después de haber sido inyectados con células MCF-7-Luc.

**FIGURA 13.** En esta figura se muestran los resultados obtenidos al tratar un grupo de 32 ratones con el análogo PG136 después de haber sido inyectados con células MDA-MB-231-Luc.

**FIGURA 14.** Se muestra la tasa de supervivencia de los ratones tratados con el análogo PG136 después de haber sido inyectados con células MDA-MB-231-Luc, y se comparan con ratones control.

## Descripción detallada de la invención

### Definiciones

“Alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)” se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, formada por átomos de carbono e hidrógeno, sin saturaciones, de 1 a 12, preferiblemente ocho, más preferiblemente de uno a cuatro átomos de carbono, que se une al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, que opcionalmente puede estar marcado isotópicamente de modo que uno o más hidrógenos se sustituyen por deuterio (<sup>2</sup>H) o tritio (<sup>3</sup>H) y/o uno o más carbonos se sustituyen por carbono-11 (<sup>11</sup>C), carbono-13 (<sup>13</sup>C) o carbono-14 (<sup>14</sup>C), opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo consistente en un átomo de halógeno, un grupo alquilcarboxi (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo arilcarboxi (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), un grupo alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo ciano, un grupo nitro, un grupo tioalcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo heteroalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo heterocíclico (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>) o CF<sub>3</sub>. Ejemplos de grupos alquilo incluyen sin limitación metilo, etilo, n-propilo, *i*-propilo, n-butilo, *i*-butilo, n-pentilo, ciclopropilo, etc.

5 "Carbociclo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a una cadena hidrocarbonada cerrada formada por átomos de carbono e hidrógeno, sin insaturaciones, de 1 a 12, preferiblemente ocho, más preferiblemente de cinco a ocho átomos de carbono, que se une al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, que opcionalmente puede estar marcado isotópicamente de modo que uno o más hidrógenos se sustituyen por deuterio (<sup>2</sup>H) o tritio (<sup>3</sup>H) y/o uno o más carbonos se sustituyen por carbono-11 (<sup>11</sup>C), carbono-13 (<sup>13</sup>C) o carbono-14 (<sup>14</sup>C).

10 "Alquenilo (C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, formada por átomos de carbono e hidrógeno, que contiene al menos una insaturación, conjugada o no, de 2 a 12, preferiblemente de dos a ocho, más preferiblemente de dos a cuatro átomos de carbono, que se une al resto de la molécula mediante un enlace sencillo y que opcionalmente puede estar marcado isotópicamente de modo que uno o más hidrógenos se sustituyen por <sup>2</sup>H o <sup>3</sup>H y/o uno o más carbonos se sustituyen por <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C. Los radicales alquenilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como un átomo de halógeno, un grupo carboxi, un grupo alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo ciano, un grupo nitro, un grupo tioalcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo heteroalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo heterocíclico (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>) o CF<sub>3</sub>. Ejemplos de grupos alquenilo incluyen sin limitación vinilo, alilo, butenilo (por ejemplo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo), o pentenilo (por ejemplo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 4-pentenilo).

20 "Alquinilo (C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, formada por átomos de carbono e hidrógeno, que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono, conjugado o no, de dos a doce, preferiblemente de dos a se sustituyen por <sup>2</sup>H o <sup>3</sup>H y/o uno o más carbonos se sustituyen por <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C. Los radicales alquinilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como un átomo de halógeno, un grupo carboxi, un grupo alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo ciano, un grupo nitro, un grupo tioalcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo heterocíclico (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>) o CF<sub>3</sub>.

25 "Hidroalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, cíclica o acíclica formada por átomos de carbono e hidrógeno, sin insaturaciones, de 1 a 12, preferiblemente de uno a ocho átomos de carbono, y que se une al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, que está sustituido por un grupo hidroxilo. Ejemplos de hidroalquilo sustituido incluyen sin limitación, 5-metil-5-hidroxihexilo y 6-metil-6-hidroxiheptilo, 5-etil-5-hidroxiheptilo y 6-etil-6-hidroxiocilo. Ejemplos de hidroalquilo no sustituido incluyen sin limitación 5-hidroxihexilo y 6-hidroxiheptilo, 5-hidroxiheptilo y 6-hidroxiocilo.

30 "Hidroalquenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, formada por átomos de carbono e hidrógeno, que contiene al menos una insaturación, conjugada o no, de 2 a 12, preferiblemente de dos a ocho, más preferiblemente de dos a cuatro átomos de carbono, que se une al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, que opcionalmente puede estar marcado isotópicamente de modo que uno o más hidrógenos se sustituyen por <sup>2</sup>H o <sup>3</sup>H y/o uno o más carbonos se sustituyen por <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C. Los radicales alquenilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como un átomo de halógeno, un grupo carboxi, un grupo alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo ciano, un grupo nitro, un grupo tioalcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo heteroalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo heterocíclico (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>).

40 "Hidroalquinilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, formada por átomos de carbono e hidrógeno, que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono, conjugado o no, de dos a doce, preferiblemente de dos a ocho, más preferiblemente de dos a cuatro átomos de carbono, que se une al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, tal como -CCH, -CH<sub>2</sub>CCH, -CCCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CCCH<sub>3</sub>, y que opcionalmente puede estar marcado isotópicamente de modo que uno o más hidrógenos se sustituyen por <sup>2</sup>H o <sup>3</sup>H y/o uno o más carbonos se sustituyen por <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C. Los radicales alquinilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como un átomo de halógeno, un grupo carboxi, un grupo alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo ciano, un grupo nitro, un grupo tioalcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo heterocíclico (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>) o CF<sub>3</sub>.

50 "Ariilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)" se refiere a un hidrocarburo aromático de 6 a 10 átomos de carbono, tal como fenilo o naftilo, y que opcionalmente puede estar marcado isotópicamente de modo que uno o más hidrógenos se sustituyen por <sup>2</sup>H o <sup>3</sup>H y/o uno o más carbonos se sustituyen por <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C. Los radicales ariilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo consistente en un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, un grupo carboxi, un grupo alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo ciano, un grupo nitro, un grupo tioalcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) o CF<sub>3</sub>.

55 "Ariil (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a uno o varios grupos ariilo unidos al resto de la molécula mediante un radical alquilo, por ejemplo, bencilo, 3-(fenil)-propilo, etc.

60 "Heterociclo (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>)" se refiere a un anillo estable de 3 a 15 miembros formado por átomos de carbono y de 1 a 5 heteroátomos escogidos entre nitrógeno, oxígeno y azufre, preferiblemente un anillo de 4 a 8 miembros formado por uno o más heteroátomos, y más preferiblemente un anillo de 5 a 6 miembros con uno o más heteroátomos. Para los propósitos de esta invención, los grupos heterocíclicos pueden ser sistemas monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos, que pueden incluir anillos condensados; y el átomo de nitrógeno o de azufre del anillo heterocíclico puede estar opcionalmente oxidado; el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado; y el radical heterocíclico puede estar parcial o totalmente saturado. Los radicales heterocíclicos (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>) pueden ser aromáticos (por ejemplo, pueden tener uno o más anillos aromáticos) en cuyo caso se consideran como "heteroariilos (C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>)" para los

propósitos de la presente invención. El anillo heterocíclico puede estar opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo consistente en un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, un grupo carboxi, un grupo alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo tioalcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), un grupo ciano, un grupo nitro o CF<sub>3</sub>. Ejemplos de tales heterociclos incluyen sin limitación, furano, tiofeno, pirrol, imidazol, triazol, isotiazol, benzotiofeno, benzofurano, indol, benzoimidazol, tetrahidrofurano.

"Alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a un radical de fórmula -O-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, etc.

"Tioalcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a un radical de fórmula -S-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), por ejemplo, tiometoxi, tioetoxi, tiopropoxi, etc.

"Ariloxilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)" se refiere a un radical de fórmula -O-arilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), por ejemplo fenoxi, benciloxi, etc.

"Alquilcarboxi (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a un grupo alquilo que se une al resto de la molécula mediante el oxígeno de un grupo carboxi (-CO<sub>2</sub>-).

"Arilcarboxi (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)" se refiere a un grupo arilo que se une al resto de la molécula mediante el oxígeno de un grupo carboxi (-CO<sub>2</sub>-).

"Alquilacilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a un grupo alquilo que se une al resto de la molécula mediante un grupo carbonilo (-CO-).

"Arilacilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)" se refiere a un grupo arilo que se une al resto de la molécula mediante un grupo carbonilo (-CO-).

"Heteroalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a un grupo alquilo en el que uno o más carbonos están sustituidos por heteroátomos, preferentemente de 1 a 5, donde el heteroátomo se puede seleccionar entre oxígeno, azufre, selenio, telurio, nitrógeno, fósforo, arsénico.

"Heteroalqueno (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a un grupo alqueno en el que uno o más carbonos están sustituidos por heteroátomos, preferentemente de 1 a 5, donde el heteroátomo se puede seleccionar entre oxígeno, azufre, selenio, telurio, nitrógeno, fósforo, arsénico.

"Heteroalqueno (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)" se refiere a un grupo alqueno en el que uno o más carbonos están sustituidos por heteroátomos, preferentemente de 1 a 5, donde el heteroátomo se puede seleccionar entre oxígeno, azufre, selenio, telurio, nitrógeno, fósforo, arsénico.

Los compuestos de la presente invención pueden incluir diastereoisómeros y/o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales, o isómeros dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por ejemplo *Z*, *E*). Dichos isómeros, diastereómeros, enantiómeros y sus mezclas están dentro del alcance de la presente invención.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" tal como se usa en la presente descripción, se refiere a sales orgánicas o inorgánicas farmacéuticamente aceptables de un compuesto de la invención. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico; y ácidos orgánicos tales como ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido etanosulfónico, ácido aspártico y ácido glutámico.

Las sales de ejemplo incluyen, pero sin limitación, sales de sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato ácido, tartrato, oleato, tannato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucuronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato "mesilato", etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato (es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). Una sal farmacéuticamente aceptable puede comprender la inclusión de otra molécula tal como un ion acetato, un ion succinato u otro contraión. El contraión puede ser una parte orgánica o inorgánica que estabilice la carga del compuesto precursor. Por otra parte, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener más de un átomo cargado en su estructura. Cuando los que múltiples átomos cargados son parte de la sal farmacéuticamente aceptable, pueden tener múltiples contraiones. Por ello, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener uno o más átomos cargados y/o uno o más contraiones.

Si el compuesto de la invención es una base, es posible preparar la sal farmacéuticamente aceptable deseada mediante cualquier método disponible en la técnica, por ejemplo, mediante el tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido metanosulfónico, ácido fosfórico, y similares, o con un ácido orgánico, tales como ácido acético, ácido maleico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, un ácido piranosidílico, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, un ácido α-hidroxi, tal como ácido cítrico o ácido tartárico, un aminoácido tal como ácido aspártico o ácido glutámico, un ácido aromático tal como ácido benzoico o ácido cinámico, un ácido

sulfónico, tal como ácido p-toluenosulfónico o ácido etanosulfónico, o similares.

Si el compuesto de la invención es un ácido, es posible preparar la sal farmacéuticamente aceptable deseada mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, mediante tratamiento del ácido libre con una base inorgánica u orgánica tal como una amina (primaria, secundaria o terciaria), un dióxido de metal alcalino o un hidróxido de metal alcalinotérreo, o similares. Los ejemplos ilustrativos de sales adecuadas incluyen, pero sin limitación, sales orgánicas derivadas de aminoácidos, tales como glicina y arginina, amoniaco, aminas primarias, secundarias y terciarias, y aminas cíclicas, tales como piperidina, morfolina y piperazina, y las sales inorgánicas derivadas de sodio, calcio, potasio, magnesio, hierro, cobre, zinc, aluminio y litio.

Normalmente la sal es un mesilato, un clorhidrato, un fosfato, un bencenosulfonato o un sulfato. Más normalmente, la sal es un mesilato o un clorhidrato.

Las sales, por ejemplo, sales con cualquiera de los ácidos inorgánicos u orgánicos mencionados arriba, pueden ser monosales o bis-sales. Por lo tanto, por ejemplo, la sal mesilato puede ser el mono-mesilato o el bis-mesilato.

#### Compuestos de fórmula (I)

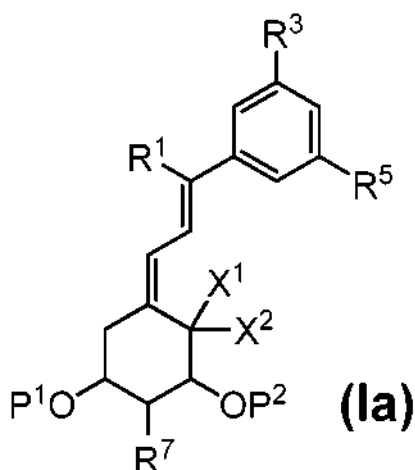
Los compuestos de fórmula (I) de la presente invención presentan afinidad por el receptor de vitamina D, y se unen de manera específica al receptor de vitamina D (VDR); además inhiben la proliferación celular de forma equivalente a 1,25D en líneas celulares de queratinocitos, cáncer de mama, ovario y próstata, inducen transactivación de genes diana de vitamina D, como 24-hidroxilasa, y regulan la expresión de genes diana de vitamina D como p21, p27, p53 o E-cadherina. Los compuestos de fórmula (I) no inducen hipercalcemia tras su administración *in vivo*, lo cual los hace de especial interés para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la deficiencia de vitamina D como raquitismo, osteomalacia, o fracturas, o con patologías en las que la vitamina D pueda tener una especial indicación como, sin descartar otras, psoriasis, diabetes, osteoporosis, enfermedades autoinmunitarias, degenerativas, endocrinológicas, cardiovasculares, infecciosas, o tumorales.

Los compuestos de fórmula (I) están altamente funcionalizados, pueden tener diferentes sustituyentes en las diferentes posiciones del anillo aromático y en otros carbonos del sistema.

En una realización particular, en un compuesto de fórmula (I), cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>5</sup> se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) e hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) y R<sup>3</sup> se selecciona entre alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) e hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>). Más preferiblemente, R<sup>1</sup> es alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) y R<sup>3</sup> es hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>).

En otra realización particular, R<sup>7</sup> en un compuesto de fórmula (I) es hidrógeno. En otra realización particular, R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>6</sup> en un compuesto de fórmula (I) son hidrógeno.

En una realización particular, el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de fórmula (Ia),



en la que R<sup>1</sup> es hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) o hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), R<sup>3</sup> es hidrógeno o hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), R<sup>5</sup> es hidrógeno o hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), R<sup>7</sup> es hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) alquilo o hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), y X<sup>1</sup>, X<sup>2</sup>, P<sup>1</sup> y P<sup>2</sup> tienen los mismos valores que se definieron anteriormente.

En una realización particular, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sup>1</sup> es alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), R<sup>3</sup> es hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) y R<sup>5</sup> es hidrógeno. En otra realización particular, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sup>1</sup> es alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), R<sup>3</sup> es hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) y R<sup>5</sup> es hidroxialquilo.

En una realización más particular, R<sup>1</sup> se selecciona del grupo constituido por etilo, propilo, butilo, hexilo y heptilo.

En una realización particular, en un compuesto de fórmula (Ia), R<sup>1</sup> es hidrógeno, R<sup>3</sup> es hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) y R<sup>5</sup> es hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>).

5 En otra realización particular, al menos uno de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>5</sup> en un compuesto de fórmula (I) o (Ia) es un hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) ramificado.

En otra realización particular, X<sup>1</sup> y X<sup>2</sup> en un compuesto de fórmula (I) o (Ia) son metileno.

10

#### Derivados isotópicos

Los derivados isotópicos de los compuestos de la invención son útiles para su uso como patrones internos en diferentes técnicas de espectrometría de masas o cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a resonancia magnética nuclear. Los compuestos de la invención que incorporan <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C, <sup>2</sup>H o <sup>3</sup>H son útiles además como radiofármacos, por ejemplo pero sin limitación, para llevar a cabo técnicas de diagnóstico e investigación "in vivo" por imagen, permitiendo la detección externa de la biodistribución del radiofármaco dentro del organismo. En particular el marcaje con <sup>11</sup>C es útil en las técnicas de tomografía de emisión de positrones (PET).

15

En la presente invención, un compuesto que "incorpora marcaje isotópico" se refiere a un compuesto de la invención en donde entre 1 y 9 átomos de hidrógeno están sustituidos por isótopos de hidrógeno, deuterio o tritio, y/o entre 1 y 9 átomos de carbono están sustituidos por isótopos <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C. Preferiblemente entre 3 y 9 átomos de hidrógeno y entre 1 y 3 átomos de carbono están sustituidos por isótopos. Preferiblemente 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 átomos de hidrógeno están sustituidos por deuterio o tritio.

20

Así, en una realización particular los compuestos de fórmula (I), según se han definido anteriormente, incorporan marcaje isotópico. En una realización más preferida, el marcaje isotópico se selecciona de entre <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C, <sup>2</sup>H y <sup>3</sup>H. En una realización todavía más preferida, el marcaje isotópico es <sup>11</sup>C.

25

En una realización particular, un compuesto de fórmula (I) incorpora marcaje isotópico en R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> y/o R<sup>5</sup>. En una realización particular, el marcaje isotópico en R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> y/o R<sup>5</sup> se selecciona de entre el grupo constituido por <sup>2</sup>H<sub>n</sub>-alquilo, <sup>3</sup>H<sub>n</sub>-alquilo, <sup>2</sup>H<sub>n</sub>-hidroxialquilo, <sup>3</sup>H<sub>n</sub>-hidroxialquilo y <sup>2</sup>H<sub>n</sub>-fenilo, donde n tiene un valor entre 1 y 6. En una realización particular, el marcaje isotópico en R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> y/o R<sup>5</sup> se selecciona entre el grupo constituido por alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) y fenilo, donde uno o más carbonos son <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C.

30

En otro aspecto, la invención se dirige al uso de compuestos de fórmula (I) según se han definido anteriormente, caracterizados porque incorporan marcaje isotópico, como patrones internos en técnicas espectroscópicas y espectrométricas. La invención también se refiere a los compuestos de fórmula (I) según se han definido anteriormente, caracterizados porque incorporan marcaje isotópico, para su uso como patrones internos en técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

35

En otro aspecto, la invención se refiere a los compuestos de fórmula (I), según se han definido anteriormente, caracterizados porque incorporan marcaje isotópico seleccionado entre <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C, <sup>2</sup>H o <sup>3</sup>H para su uso como radiofármacos. Un radiofármaco puede servir por ejemplo pero sin limitación, para llevar a cabo técnicas de diagnóstico e investigación "in vivo" por imagen, permitiendo la detección externa de la biodistribución del radiofármaco dentro del organismo. Alternativamente, la invención se refiere al uso de los compuestos de fórmula (I), según se han definido anteriormente, caracterizados porque incorporan marcaje isotópico seleccionado de entre <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C, <sup>2</sup>H o <sup>3</sup>H como radiofármacos. De forma preferida, los compuestos de fórmula (I), según se han definido anteriormente, caracterizados porque incorporan <sup>11</sup>C, son útiles como radiofármacos en técnicas de tomografía de emisión de positrones (PET).

40

En una realización particular, el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en:

- (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)pent-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuterometilheptil) fenil)pent-2-eniliden)- 4-  
 55 metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)hex-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuterometilheptil)fenil)hex-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-  
 1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)hept-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)hept-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-  
 60 1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)non-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)non-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-  
 diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)dec-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)dec-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-

65



diol,

(1R,3S,Z)-5-((E)-9-hidroxi-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)-9-metildec-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-9-hidroxi-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)-9-metildec-2-eniliden)-4-

5 metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-9-hidroxi-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)-9-metildec-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-9-hidroxi-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)-9-metildec-2-eniliden)-4-

10 metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3,5-bis(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)aliliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3,5-bis(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil) aliliden)-4- metilenociclohexano-1,3-

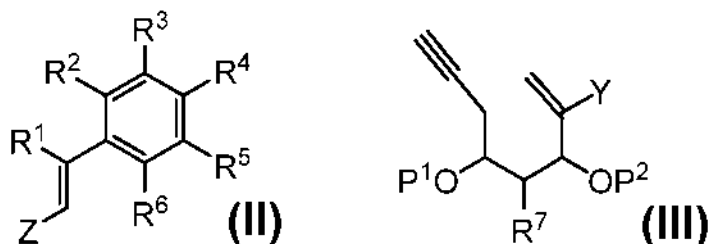
15 diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(5-hidroxi-5-metilhexil)fenil)pent-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6,6,6-trideutero-5-hidroxi-5-trideuterohexil)fenil)pent-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-

20 diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(5-hidroxi-5-metilhexil)fenil)hept-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol, y  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6,6,6-trideutero-5-hidroxi-5-trideuterohexil)fenil)hept-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-

Síntesis de los compuestos de fórmula (I)

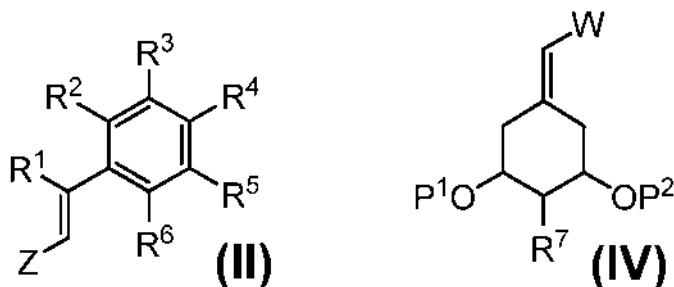
20 En otro aspecto, la invención se dirige a un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula (I) en la que X<sup>1</sup> y X<sup>2</sup> son metileno, que comprende un acoplamiento de los compuestos (II) y (III) en presencia de un catalizador metálico, que se selecciona entre el grupo típico de catalizadores para una reacción de acoplamiento, por ejemplo y sin sentido limitativo, Pd(OAc)<sub>2</sub>, PdCl<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd(dba)<sub>2</sub>, Ni(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, (Ph<sub>3</sub>P)<sub>2</sub>PdCl<sub>2</sub>, compuestos de Cu y compuestos de Hf.

25



30 en la que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, P<sup>1</sup> y P<sup>2</sup> tienen los mismos valores que los definidos anteriormente, Y es un halógeno o un grupo atractor de carga seleccionado del grupo que comprende alquilsulfonato, arilsulfonato, triflato y fosfato, y Z se selecciona de entre haluro de Indio, alquilindio di(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), diarililitilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), alquil (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) arilindio (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), haluro de cinc, dialquilboro (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) y alcoxiboro di(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>).

35 La invención también se dirige a un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula (I) que comprende un acoplamiento de los compuestos (II) y (IV) en presencia de un catalizador metálico, que se selecciona entre el grupo típico de catalizadores para una reacción de acoplamiento, por ejemplo y sin sentido limitativo, Pd(OAc)<sub>2</sub>, PdCl<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd(dba)<sub>2</sub>, Ni(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, (Ph<sub>3</sub>P)<sub>2</sub>PdCl<sub>2</sub>, compuestos de Cu y compuestos de Hf.



40 en la que Z se selecciona entre cloro, bromo y yodo, W se selecciona entre alquilsulfonato (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), arilsulfonato (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), halógeno, fosfato y SiR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, y en la que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, P<sup>1</sup>, P<sup>2</sup>, R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup> y R<sup>c</sup> tienen los mismos valores que los definidos anteriormente.

45 La elevada funcionalización de los compuestos de fórmula (I) que le confieren una elevada versatilidad solamente se puede obtener a partir de compuestos de fórmula (II) y (III), o alternativamente (II) y (IV), con esa misma elevada funcionalidad.

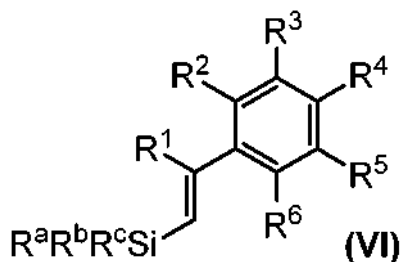
Los compuestos de fórmula (II) modificados funcionalmente se pueden preparar a partir del compuesto (II) mediante

la transformación del grupo funcional Z. Así, en una realización particular la invención se refiere a un procedimiento para la obtención de un compuesto de fórmula (II) modificado funcionalmente a partir de un compuesto de fórmula (II) mediante a) una reacción de metalación, y b) intercambio del metal por un grupo seleccionado de entre haluro de indio, diarilindio, alquilarilindio, haluro de cinc, dialquilboro y dialcoxiboro.

5 Un experto en la materia conoce las condiciones para realizar dicha transformación, como por ejemplo, la sustitución del yoduro se puede llevar a cabo por metalación con un organolitio, posterior captura con isopropóxido de boro e intercambio de los sustituyentes del boro (*Org. Lett.* 2003 (5) 523-525), esto también se puede llevar a cabo mediante una reacción de acoplamiento de Suzuki, por ejemplo con bis(pinacol)diborano en presencia de un catalizador de paladio, como por ejemplo, Pd(OAc)<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>, en presencia de una base como por ejemplo carbonato de sodio, hidróxido de bario, fosfato potásico, carbonato de cesio, carbonato potásico, hidróxido de talio, fluoruro de cesio, fluoruro de potasio, hidróxido sódico. (*J. Am. Chem. Soc.* **2002** (27) 8001-8006). Un experto en la materia también conoce otras posibilidades como por ejemplo, la sustitución del bromuro se puede llevar a cabo por metalación con un organolitio, y posterior reacción con tricloruro de indio (*Org. Lett.* **2004** (6) 4555-4558). En otro ejemplo, la sustitución del bromuro se puede llevar a cabo por metalación con un organolitio, y posterior reacción con dicloruro de cinc (*Synlett* **2003** 861-863). En otro ejemplo, la sustitución del yoduro se puede llevar a cabo por metalación directa con cinc, y posterior reacción con el complejo cianuro de cobre(I)-cloruro de litio (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2006** (45) 6040-6044).

20 En la reacción de intercambio de metal pueden emplearse trihaluro de indio, haluro de dialquilindio, haluro de diarilindio, haluro de alquilarilindio, dihaluro de cinc, haluro de dialquilboro o dialcoxiboro.

En una realización particular, la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (II) como se ha descrito anteriormente, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (VI) con un agente halogenante,

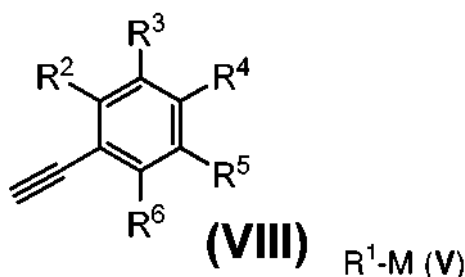


en la que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup> y R<sup>c</sup> tienen los mismos valores que los definidos anteriormente.

30 En una realización particular, el agente halogenante es un agente yodante, clorante o bromante. En una realización particular, el agente halogenante se selecciona entre yodo, N-yodosuccinimida, N-yodosacarina, 1,3-diyodo-5,5,-dimetilhidantoina, tetrafluoro-borato de bis(piridinina)yodonio), bromo, N-bromosuccinimida, cloro, N-clorosuccinimida.

35 En una realización particular, la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de los compuestos de fórmula (VI), como se han descrito anteriormente, que comprende:

a) la reacción de un compuesto de fórmula (VIII) con un compuesto de fórmula (V) en presencia de un catalizador



en la que R<sup>1</sup> se selecciona entre alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) e hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), M se selecciona entre Li, Mg-Hal, Zn-Hal, Sn(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>R<sup>c</sup>) y Si(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>R<sup>c</sup>),

Hal es cloro, bromo o yodo y

R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup> y R<sup>c</sup> tienen los mismos valores que los definidos anteriormente, y

b) reacción del intermedio obtenido en la etapa a) con un agente sililante.

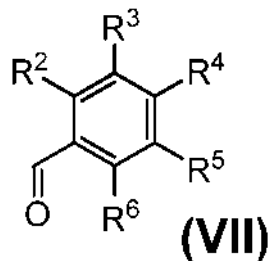
Según una realización preferida, el catalizador que se emplea se selecciona entre el grupo típico de catalizadores para una reacción de acoplamiento, por ejemplo y sin sentido limitativo, Pd (OAc)<sub>2</sub>, PdCl<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd(dba)<sub>2</sub>, Ni(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, (Ph<sub>3</sub>P)<sub>2</sub>PdCl<sub>2</sub>, Cu, Hf, Al. La selección de este catalizador dependerá del resto de condiciones de la reacción como se describe a continuación. Preferiblemente, cuando M es Li, Zn-Hal o Sn(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>R<sup>c</sup>) la reacción es catalizada por catalizadores de Pd; cuando M es Mg- 20 Hal la reacción es catalizada por catalizadores de Cu; cuando M es Si(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>R<sup>c</sup>) la reacción es catalizada por catalizadores de Hf o Al.

Alternativamente, en una realización particular la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de los compuestos de fórmula (VI), como se han descrito anteriormente, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (VIII) con cianuro de trimetilsililo catalizada por Pd o con hidruros de trialquilsilano, y atrapado posterior del organometálico resultante mediante el tratamiento con un agente sililante.

En una realización particular, el agente sililante se selecciona entre cloruro de trimetilsilicio, cloruro de trietilsilicio y cloruro de tri-*iso*-propilsilicio.

Cuando en un compuesto de fórmula (I), R<sup>1</sup> es hidrógeno, necesariamente R<sup>1</sup> en un compuesto de fórmula (II) es hidrógeno.

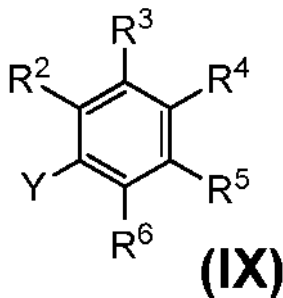
Así, en una realización particular la invención se dirige a un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (II) en la que R<sup>1</sup> es hidrógeno, que comprende la homologación del grupo aldehído de un compuesto de fórmula (VII) por yodo



en la que R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> tienen los mismos valores que los definidos anteriormente.

La condiciones para llevar a cabo dicha homologación del aldehído por yodo son conocidas por el experto en la materia, y así puede llevarse a cabo, por ejemplo, por tratamiento de (VII) con yodoformo en presencia de cloruro de cromo(II), con tetrayodometano en presencia de trifenilfosfina, con yodometilentrifenilfosfonio en presencia de una base como por ejemplo *n*-butil litio, *f*-butil litio, *n*-hexil litio, hexametildisilazano de litio, hexametildisilazano de sodio, *f*-butóxido de sodio o *i*-butóxido de potasio (*Chem. Rev.* **1999** (99) 991-1045).

Los compuestos de fórmula (VIII) son conocidos por un experto en el estado de la técnica ya que un elevado número son comerciales. En todo caso, los procedimientos para la preparación de compuestos de fórmula (VIII) son conocidos por el experto en la materia ya que han sido descritos en bibliografía, como por ejemplo, el procedimiento llevado a cabo a partir de compuestos de fórmula (VII) mediante una reacción de Corey-Fuchs (*Synthesis* **2013**, 45, 1513-1518), la reacción de Ohira-Bestmann (*Synlett* **1996**, 521-522), o a partir de compuestos aromáticos de estructura (IX) mediante una reacción de Sonogashira por acoplamiento con un alquino catalizada por Pd (*J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7471-7474),



en la que Y es un halógeno (F, Cl, Br, I) o un buen grupo saliente (triflato, mesilato, tosilato, fosfato). De este modo el experto en la materia dispone de herramientas para preparar el compuesto de fórmula (VIII) que sea de su interés o bien adquirirlo a los proveedores habituales.

Actividad biológica

La administración de los compuestos de fórmula (I) de la presente invención induce una inhibición significativa de la proliferación en líneas celulares no tumorales de queratinocitos, así como en líneas celulares tumorales de mama, ovario y próstata. La inhibición de la proliferación celular es similar a la obtenida por 1,25D a dosis equivalentes. Por ensayos de *unión* (unión a receptor de vitamina D), se demuestra que los compuestos de fórmula (I) de la presente invención presentan una unión específica a VDR, y por medio de ensayos de transactivación, que inducen la expresión de genes diana de 1,25D, como el gen de la 24-hidroxilasa. Los compuestos de fórmula (I) de la presente invención, a concentraciones similares a 1,25D, regulan la expresión de genes diana de 1,25D, como p21, p27, p53 o E-cadherina. Los datos muestran que, *in vivo*, la administración intraperitoneal de los compuestos de fórmula (I) de la presente invención no inducen hipercalcemia a dosis de 0,3 µg/kg peso, al contrario de lo que ocurre con la administración de 1,25D a las mismas dosis. En particular, los análogos PG-136 y PG-403 inyectados intraperitonealmente en ratones cada dos días durante 21 días a dosis de 5 µg/kg de peso no elevan significativamente la calcemia, en relación a los animales controles (tratados con placebo).

Así, un aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un fármaco. En otro aspecto la invención se dirige a un compuesto de fórmula (I) como se ha definido anteriormente para su uso como fármaco.

Dicho fármaco puede estar indicado para el tratamiento de enfermedades o dolencias relacionadas con la deficiencia de vitamina D como raquitismo, osteoporosis, osteodistrofia, osteomalacia, o fracturas. Así, otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un fármaco para el tratamiento de dolencias relacionadas con la deficiencia de vitamina D. Dicho aspecto también se puede formular como compuesto de fórmula (I) para uso en el tratamiento de enfermedades o dolencias relacionadas con la deficiencia de vitamina D. La presente invención también se refiere a un método para tratar enfermedades o dolencias relacionadas con una deficiencia de vitamina D que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) junto con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables en un sujeto que lo necesite, en particular un ser humano.

En una realización particular, las enfermedades y dolencias relacionadas con la deficiencia de vitamina D se seleccionan del grupo que consiste en raquitismo, osteoporosis, osteodistrofia, osteomalacia, y fracturas.

Dicho fármaco también puede estar indicado para el tratamiento de patologías en las que la vitamina D pueda tener una especial indicación, como por ejemplo, psoriasis, diabetes, osteoporosis, enfermedades autoinmunitarias, degenerativas, endocrinológicas, cardiovasculares, infecciosas, o tumorales. Así, otro aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un fármaco para el tratamiento de psoriasis, diabetes, enfermedades autoinmunitarias, degenerativas, endocrinológicas, cardiovasculares, metabólicas, infecciosas, o tumorales. Dicho aspecto también se puede formular como compuesto de fórmula (I) para uso en el tratamiento de psoriasis, diabetes, enfermedades autoinmunitarias, degenerativas, endocrinológicas, cardiovasculares, metabólicas, infecciosas, o tumorales. La presente invención también se refiere a un método de tratamiento de psoriasis, diabetes, enfermedades autoinmunitarias, degenerativas, endocrinológicas, cardiovasculares, metabólicas, infecciosas, o tumorales, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) junto con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables en un sujeto que lo necesite, en particular un ser humano.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un fármaco para el tratamiento de una enfermedad neoplásica. Dicho aspecto también se puede formular como compuesto de fórmula (I) para uso en el tratamiento de una enfermedad neoplásica. La presente invención también se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad neoplásica que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) junto con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables en un sujeto que lo necesite, en particular un ser humano.

En una realización particular, las enfermedades neoplásicas se seleccionan entre el grupo de cáncer de mama, ovario, próstata, pulmón, leucemia, tumores sólidos y tumores hematológicos.

En otro aspecto, la invención se refiere a una combinación de al menos un compuesto de fórmula (I) y al menos un compuesto antineoplásico. En una realización particular, el compuesto antineoplásico se selecciona entre el grupo que consiste en agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos antineoplásicos, inhibidores de la topoisomerasa, inhibidores de la mitosis, agentes hormonales, reguladores del sistema inmunitario y terapias dirigidas.

En una realización particular, el agente alquilante se selecciona de entre mostazas nitrogenadas, nitrosoureas, alquilsulfonatoestriazinas, etileniminas y fármacos con platino; el antimetabolito se selecciona entre 5-fluorouracilo, 6-mercaptopurina, capecitabina, cladribina, clofarabina, citarabina, floxiridina, fludarabina, gemcitabina, hidroxiurea, metotrexato, pemetrexed, pentostatin y tioguanina; el antibiótico antineoplásico se selecciona entre antraciclinas y no antraciclinas; el inhibidor de la topoisomerasa se selecciona de entre inhibidores de la topoisomerasa I e inhibidores de la topoisomerasa II; el inhibidor de la mitosis se selecciona de entre taxenos, epotilones, alcaloides de la vinca y

estramustina; el agente hormonal se selecciona de entre antiestrogénicos, inhibidores de la aromataasa, progestinas, antiandrógenos, agonistas de la hormona liberadora de la hormona gonadotropina (GNRH) y análogos de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH); el regulador del sistema inmunitario se selecciona de entre terapia con anticuerpos monoclonales (inmunoterapias pasivas) inmunoterapias y adyuvantes no específicos, medicamentos  
 5 inmunomodulantes y vacunas contra el cáncer; y la terapia dirigida se selecciona de entre imatinib (Gleevec®), gefitinib (Iressa®), sunitinib (Sutent®), bortezomib (Velcade®) y trastuzumab (Herceptin®).

En una realización más particular, las mostazas nitrogenadas se seleccionan entre mecloretamina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida y melfalán; las nitrosoureas se seleccionan de entre estreptozocina, carmustina y lomustina;  
 10 los alquilsulfonatos consisten en busulfán; las triazinas se seleccionan de entre dacarbazina y temozolomida; las etileniminas se seleccionan de entre tiotepa y altretamina; los medicamentos con platino se seleccionan de entre cisplatino, carboplatino y oxaliplatino; las antraciclinas se seleccionan de entre daunorubicina, doxorubicina, epirubicina e idarubicina; las no antracinas se seleccionan de entre actinomicina D, bleomicina y mitomicina-C; los inhibidores de la topoisomerasa I se seleccionan de entre topotecan e irinotecán; los inhibidores de la topoisomerasa  
 15 II se seleccionan de entre etopósido, tenipósido y omitoxantrona; los taxenos se seleccionan de entre paclitaxel y docetaxel; los epotilones consisten en ixabepilone; los alcaloides de la vinca se seleccionan de entre vinblastina, vincristina y vinorelbina; los antiestrogénicos se seleccionan de entre fulvestrant, tamoxifeno y toremifeno; los inhibidores de la aromataasa se seleccionan de entre anastrozol, exemestano y letrozol; las progestinas consisten en acetato de megestrol; los antiandrógenos se seleccionan de entre bicalutamida, flutamida y nilutamida; los análogos de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) se seleccionan de entre leuprolida y goserelin; la terapia con anticuerpos monoclonales (inmunoterapias pasivas) se selecciona de entre rituximab y alemtuzumab; las  
 20 inmunoterapias y adyuvantes no específicos se seleccionan de entre BCG, interleucina-2 e interferón-alfa; los medicamentos inmunomoduladores se seleccionan de entre talidomida y lenalidomida; y las vacunas contra el cáncer consisten en sipuleucel-T (Provenge®).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de la combinación de al menos un compuesto de fórmula (I) y al menos un compuesto antineoplásico según se ha descrito anteriormente, para la preparación de un fármaco para el  
 25 tratamiento de una enfermedad neoplásica. Dicho aspecto también se puede formular como la combinación de al menos un compuesto de fórmula (I) y al menos un compuesto antineoplásico según se ha descrito anteriormente, para su uso en el tratamiento de una enfermedad neoplásica. La presente invención también se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad neoplásica que comprende administrar a un paciente en necesidad de dicho  
 30 tratamiento, en particular un ser humano, una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación de al menos un compuesto de fórmula (I) y al menos un compuesto antineoplásico según se ha descrito anteriormente, junto con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

La terapia de combinación se puede llevar a cabo mediante la administración simultánea, separada o secuencial de al menos una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) y de al menos un compuesto antineoplásico. La administración simultánea significa que al menos un compuesto de fórmula (I) y al menos un  
 35 compuesto antineoplásico se administran por la misma vía y al mismo tiempo o sustancialmente al mismo tiempo. La administración separada significa que al menos un compuesto de fórmula (I) y al menos un compuesto antineoplásico se administran por diferentes vías. La administración secuencial significa que al menos un compuesto de fórmula (I) y al menos un compuesto antineoplásico se administran a diferentes tiempos por una ruta igual o diferente.

En otro aspecto la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) como se ha descrito anteriormente junto con uno o más excipientes o vehículos  
 45 farmacéuticamente aceptables.

La composición farmacéutica de la invención puede obtenerse mediante la mezcla de un compuesto de fórmula (I) con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y por tanto se puede administrar en una pluralidad de formas farmacéuticas para su administración, como por ejemplo en forma sólida o líquida.  
 50

Dado que los compuestos de fórmula (I) no causan hipercalcemia, es posible administrar la composición farmacéutica por vías de administración diferentes, como por ejemplo por vía oral, bucal, sublingual, tópica, ocular, nasal, pulmonar, ótica, o vaginal, intrauterina, rectal, entérica o parenteral o cualquier composición en la forma de gel, pomada, crema  
 55 o bálsamo para su administración por vía tópica, ocular, nasal, vaginal o rectal. De forma preferida, la invención se refiere a la administración oral. La composición farmacéutica puede administrarse en una única administración, en aplicaciones múltiples o mediante liberación controlada.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" tal como se utiliza en este documento, se refiere a la cantidad de un compuesto que, cuando se administra, es suficiente para prevenir el desarrollo de, o aliviar, en cierta medida, uno o más de los síntomas de la enfermedad o dolencia considerada. La dosis particular de compuesto administrado de acuerdo con esta invención, por supuesto, se determinará según las circunstancias particulares que rodean el caso, incluyendo el compuesto administrado, la vía de administración, la dolencia particular que se trata, y consideraciones similares.  
 60

En una realización particular, el compuesto de fórmula (I) en la composición farmacéutica está comprendido en  
 65

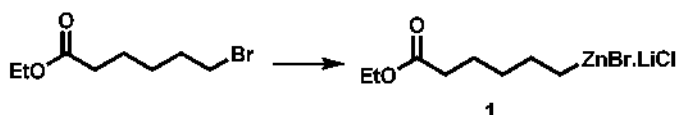
cantidades entre 0,0001 y 10 mg/kg al día, preferiblemente entre 0,001 y 1 mg/kg al día, más preferiblemente entre 0,005 y 0,1 mg/kg al día.

La expresión "excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables" se refiere a que cada componente debe ser compatible con los otros componentes de la composición farmacéutica y también debe ser adecuado para su uso en contacto con el tejido u órgano de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones acordes con una relación beneficio/riesgo razonable.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención y no se deben interpretar como una limitación de la misma.

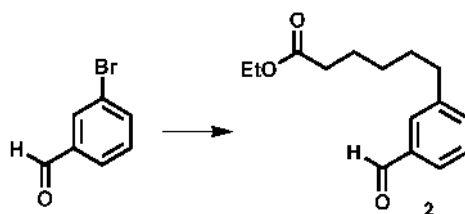
A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Además, la palabra "comprende" incluye el caso "consiste en". Para los expertos en la materia, otros objetivos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención. Además, la presente invención cubre todas las posibles combinaciones de realizaciones particulares y preferidas aquí indicadas.

### Preparación del compuesto de organocinc (1)



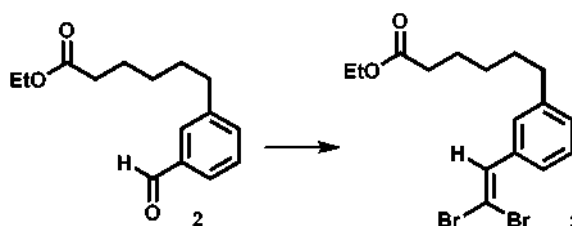
LiCl anhidro (1,14 g, 26,89 mmol) se secó en un tubo de reacción a 160 °C durante 20 min con alto vacío. Zn en polvo (1,75 g, 26,89 mmol) se añadió bajo atmósfera de argón y la mezcla se secó de nuevo a 160 °C con alto vacío. El tubo de reacción se purgó y se rellenó con argón tres veces. THF (15 ml) se añadió y el Zn se activó con 1,2-dibromoetano (0,06 ml, 0,67 mmol) y TMSCl (0,017 ml, 0,13 mmol). 6-Bromo-hexanoato de etilo (3 g, 13,45 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a 55 °C durante toda la noche. La solución de 1 se separó cuidadosamente del cinc sobrante usando una jeringa seca.

### Preparación del éster (2)



3-Bromobenzaldehyde (1,5 g, 8,1 mmol) se disolvió en THF (5 ml). Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (0,074 g, 0,08 mmol) y t-Bu<sub>3</sub>P (0,162 ml, 0,162 mmol, 1M) se añadieron. La solución del compuesto de organocinc 1 en THF (~1,5 equivalentes) se añadió a la reacción. La mezcla se agitó durante 30 min a ta (temperatura ambiente) y entonces se detuvo con NH<sub>4</sub>Cl (sat. ac.: solución acuosa saturada). La mezcla se extrajo con Et<sub>2</sub>O. La fase orgánica combinada se secó, concentró y purificó por cromatografía ultrarrápida, obteniéndose el éster 2 (1,95 g, 7,858 mmol, 97%). RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 9,96 (s, 1H), 7,60-7,72 (m, 2H), 7,37-7,46 (m, 2H), 4,08 (q, J= 7,1 Hz, 2H), 2,66 (t, J= 7,5 Hz, 2H), 2,26 (t, J= 7,4 Hz, 2H), 1,56-1,71 (m, 4H), 1,26-1,42 (m, 2H), 1,21 (t, J= 7,1 Hz, 3H); HRMS (EI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup> calculado para C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub> 248,1412, encontrado 248,1413.

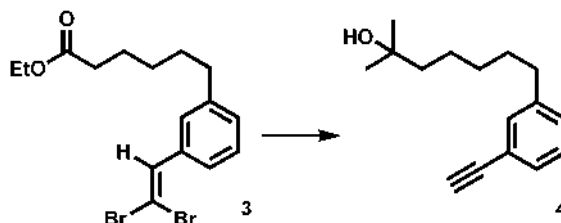
### Preparación del dibromuro vecinal (3)



Ph<sub>3</sub>P (3,96 g, 15,1 mmol) y Zn (0,987 g, 15,1 mmol) se agitaron en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 ml) a ta. Después de agitar 15 min, la mezcla se enfrió a 0 °C. CBr<sub>4</sub> (5 g, 15,1 mmol) se añadió. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h y a ta durante 1,5 h. La solución del éster 2 (1,5 g, 6,04 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml) se añadió a la reacción mediante una cánula. Después

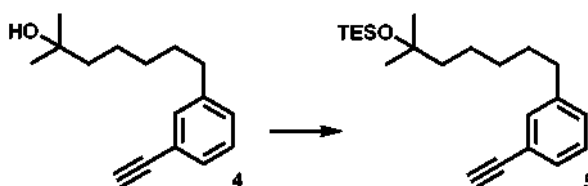
de agitar durante 1 h a ta, la reacción se filtró a través de celita y los sólidos se lavaron con Et<sub>2</sub>O. La fase orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida proporcionando el dibromuro **3** (2,24 g, 5,54 mmol, 92%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,3 (s, 1H), 7,2-6,9 (m, 4H), 3,97 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H), 2,47 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,14 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,4-1,58 (m, 4H), 1,16-1,28 (m, 2H), 1,09 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>Br<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 401,9830, encontrado 401,9841.

#### Preparación del alquino (4)



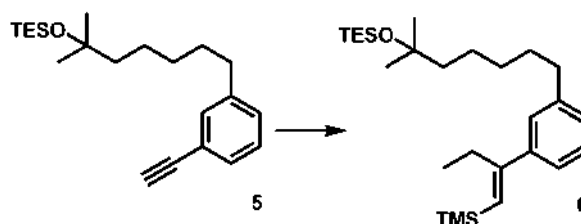
Una solución de MeLi en Et<sub>2</sub>O (19,8 ml, 29,7 mmol, 1,5 M) se añadió a una solución del dibromuro **3** (2 g, 4,95 mmol) en THF (30 ml) a -78 °C. La mezcla de reacción se dejó alcanzar ta y se detuvo con NH<sub>4</sub>Cl (ac. sat.). La mezcla se extrajo con Et<sub>2</sub>O. La fase orgánica se secó, concentró y se purificó por cromatografía rápida proporcionando el alquino **4** (0,89 g, 3,86 mmol, 78%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,91-7,16 (m, 4H), 2,85 (s, 1H), 2,38 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,35-1,49 (m, 2H), 1,07-1,29 (m, 6H), 0,99 (s, 6H); **HRMS (EI+): [M+H]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>O 231,1749, encontrado 231,1754.

#### Preparación del silileter (5)

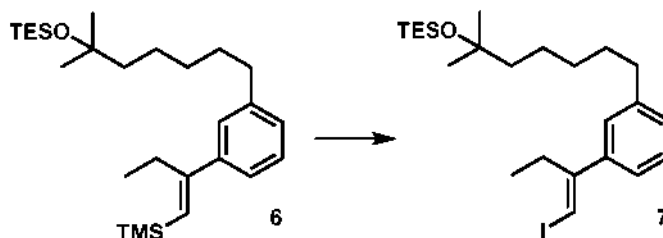


TESOTf (2,34 ml, 10,33 mmol) y Et<sub>3</sub>N (2,86 ml, 20,66 mmol) se añadieron a una solución del alquino **4** (1,58 g, 6,89 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 ml) a -78 °C. Tras agitar durante 3 h a -78 °C, la reacción se detuvo con NH<sub>4</sub>Cl (sat. ac.). La mezcla se extrajo con Et<sub>2</sub>O. La fase orgánica se secó, concentró y se purificó por cromatografía rápida proporcionando el silileter **5** (2,25 g, 6,53 mmol, 95%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,98-7,2 (m, 4H), 2,9 (s, 1H), 2,44 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,39-1,55 (m, 2H), 0,99-1,08 (m, 6H), 1,04 (s, 6H), 0,81 (t, *J* = 7,9 Hz, 9H), 0,42 (q, *J* = 7,5 Hz, 6H); **HRMS (CI+): [M+H]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>22</sub>H<sub>37</sub>OSi 345,2614, encontrado 345,2618.

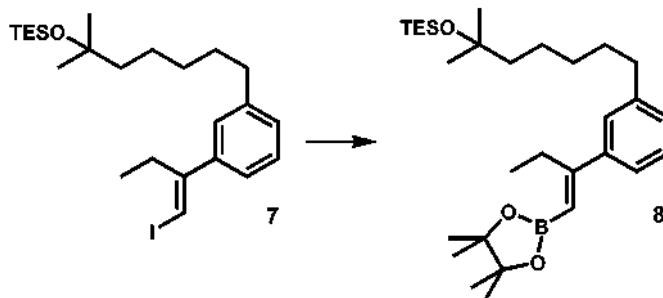
#### Preparación del (*E*)-vinilsilano (6)



LiCl anhidro (0,177 g, 4,18 mmol) y CuI (0,206 g, 2,081 mmol) se secaron en un tubo de reacción a 120 °C durante 3 h al vacío. Se añadió THF (3 ml) y se agitó durante 30 min a ta. La mezcla se enfrió a -60 °C. Después de 5 min, una solución de EtMgBr en THF (1,4 ml, 4,18 mmol, 3M) se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a -60 °C durante 1h. Una solución del alquino **5** (0,3 g, 0,87 mmol) y HMPA (0,7 ml) en THF (5 ml) se añadió mediante una cánula a la mezcla de reacción a -60 °C. Tras 15 min, se añadió una mezcla de HMPA (0,3 ml) y TMSCl (0,53 ml, 4,18 mmol, recién destilado). La mezcla se dejó alcanzar ta durante 7 h y entonces se vertió sobre NH<sub>4</sub>Cl (ac. sat.). La mezcla se extrajo con Et<sub>2</sub>O. La fase orgánica se secó, concentró y se purificó por cromatografía rápida proporcionando el vinilsilano **6** (0,309 g, 0,691 mmol, 79%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,9-7,2 (m, 4H), 5,66 (s, 1H), 2,44-2,67 (m, 4H), 1,16- 1,69 (m, 8H), 1,12 (s, 6H), 0,79-0,98 (m, 12H), 0,5 (q, *J* = 7,8 Hz, 6H), 0,13 (bs, 9H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>27</sub>H<sub>50</sub>OSi<sub>2</sub> 446,3400, encontrado 446,3405.

Preparación del (*E*)-yoduro vinílico (**7**)

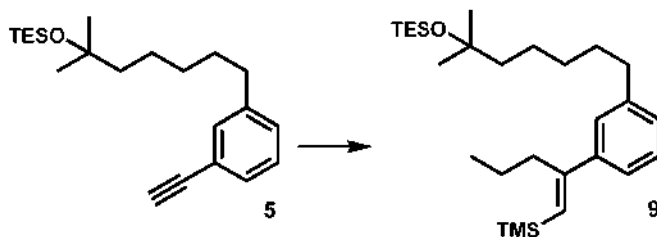
- 5 Una solución de vinilsilano **6** (0,3 g, 0,671 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml) se enfrió a -45 °C. N- yodosuccinimida (0,151 g, 0,671 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó durante 3 h a -45 °C. La reacción se detuvo con Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (sat. ac.) a -45 °C y entonces dejó que alcanzara ta. La mezcla se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La fase orgánica combinada se secó, concentró y purificó por cromatografía rápida proporcionando el yoduro vinílico **7** (0,331 g, 0,661 mmol, 99%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,91-7,13 (m, 4H), 6,19 (s, 1H), 2,38-2,61 (m, 4H), 1,09-1,56 (m, 8H), 1,02 (bs, 6H), 0,73-10 0,89 (m, 12H), 0,41 (q, J=7,8 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>24</sub>H<sub>41</sub>OSi 500,1971, encontrado 500,1974.

Preparación del (*E*)-1-alkenilboronato (**8**)

- 15 Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,0155 g, 0,019 mmol), KOAc (0,188 g, 1,92 mmol, secado a vacío a 120 °C durante 2 h) y bis(pinacolato)diborano (0,195 g, 0,77 mmol) se añadieron sucesivamente a una solución del yoduro vinílico **7** (0,32 g, 0,64 mmol) en DMSO (3 ml). Después de agitar 1 h a 80 °C, la mezcla de reacción se enfrió a ta y se añadió agua. La mezcla se extrajo con Et<sub>2</sub>O. La fase orgánica combinada se secó, se concentró y se purificó por cromatografía rápida proporcionando el éster vinilborónico **8** (0,227 g, 0,453 mmol, 71%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,97-7,25 20 (m, 4H), 5,54 (s, 1H), 2,82 (t, J=7,5 Hz, 2H), 2,52 (t, J=7,5 Hz, 2H), 1,23 (bs, 12H), 1,1 (bs, 6H), 0,79-1 (m, 12H), 0,48 (q, J=7,6 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>30</sub>H<sub>53</sub>BO<sub>3</sub>Si 500,3857, encontrado 500,3853.

Preparación del (*E*)-vinilsilano (**9**)

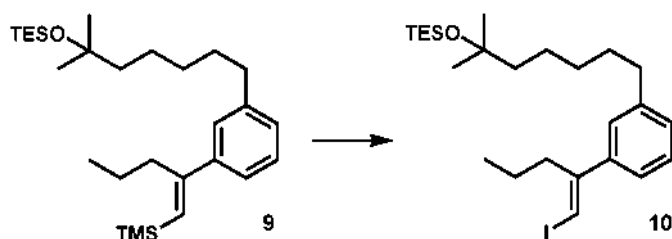
25



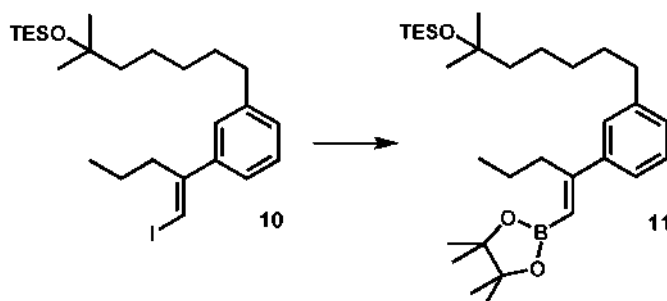
- 30 Siguiendo el procedimiento de preparación del (*E*)-vinilsilano (**6**), utilizando LiCl anhidro (0,177 g, 4,18 mmol), CuI (0,207 g, 2,09 mmol), THF (5 ml), cloruro de propilmagnesio en THF (2,09 ml, 4,18 mmol, 2M), alquino **5** (0,3 g, 0,87 mmol), HMPA (0,7 ml), THF (5 ml), HMPA (0,3 ml) y TMSCl (0,53 ml, 4,18 mmol); proporcionó el vinilsilano **9** (0,280 g, 0,607 mmol, 70%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,05-7,31 (m, 4H), 5,78 (s, 1H), 2,57-2,72 (m, 4H), 1,6-1,77 (m, 2H), 1,29-1,53 (m, 8H), 1,23 (bs, 6H), 0,88-1,06 (m, 12H), 0,61 (q, J<sub>1</sub>=7,9 Hz, J<sub>2</sub>=8 Hz, 6H), 0,24 (s, 3H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>28</sub>H<sub>52</sub>OSi<sub>2</sub> 460,3556, encontrado 460,3552.

35



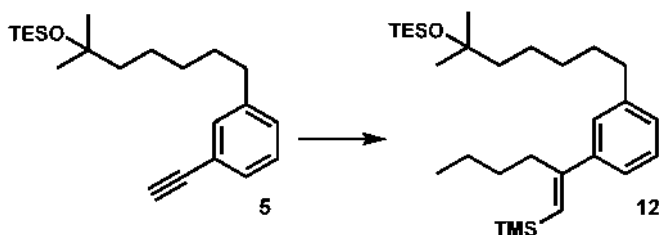
Preparación del (*E*)-yoduro vinílico (**10**)

5 Siguiendo el procedimiento de preparación del (*E*)-vinilyoduro (**7**), utilizando vinilsilano **9** (0,28 g, 0,61 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml), N-yodosuccinimida (0,137 g, 0,61 mmol); proporcionó el yoduro vinílico **10** (0,3 g, 0,583 mmol, 96%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,07-7,25 (m, 4H), 6,38 (s, 1H), 2,56-2,73 (m, 4H), 1,56-1,71 (m, 2H), 1,19 (bs, 6H), 0,89-1,01 (m, 12H), 0,57 (q, *J* = 7,5 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>25</sub>H<sub>43</sub>OSil 514,2127, encontrado 514,2125.

10 Preparación del (*E*)-1-alquenilboronato (**11**)

15 Siguiendo el procedimiento de preparación del (*E*)-1-alquenilboronato (**8**), utilizando Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,0095 g, 0,0116 mmol), KOAc (0,115 g, 1,17 mmol), bis(pinacolato)diborano (0,119 g, 0,47 mmol) yoduro vinílico **10** (0,2 g, 0,39 mmol), DMSO (3 ml); proporcionó el éster vinilborónico **11** (0,172 g, 0,334 mmol, 86%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,96-7,23 (m, 4H), 5,57 (s, 1H), 2,8 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 2,51 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,45-1,6 (m, 2H), 1,22 (bs, 12H), 1,1 (bs, 6H), 0,79-0,92 (m, 12H), 0,48 (q, *J* = 7,6 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>31</sub>H<sub>55</sub>BO<sub>3</sub>Si 514,4013, encontrado 514,4014.

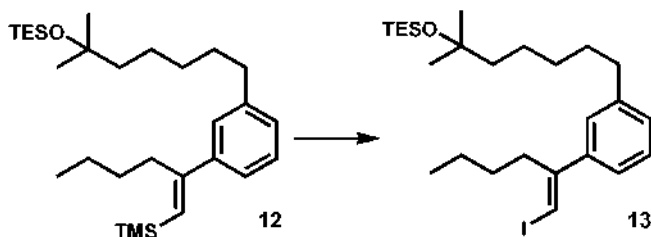
20

Preparación del (*E*)-Vinilsilano (**12**)

25 Siguiendo el procedimiento de preparación del (*E*)-vinilsilano (**6**), utilizando LiCl anhidro (0,177 g, 4,18 mmol), CuI (0,207 g, 2,09 mmol), THF (3 ml), cloruro de butilmagnesio en THF (2,09 ml, 4,18 mmol, 2M), **5** alquino (0,3 g, 0,87 mmol), HMPA (0,6 ml), THF (5 ml), HMPA (0,3 ml) y TMSCl (0,53 ml, 4,18 mmol); proporcionó el vinilsilano **12** (0,273 g, 0,575 mmol, 66%). **RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,18-7,25 (m, 3H), 7,08 (d, *J* = 6,8, 1H), 5,73 (s, 1H), 2,59-2,66 (m, 4H), 1,62-1,7 (m, 2H), 1,30-1,46 (m, 10H), 1,21 (s, 6H), 0,97 (t, *J* = 7,9, 9H), 0,89 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), 0,59 (q, *J* = 7,9 Hz, 6H), 0,21 (s, 9H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>29</sub>H<sub>54</sub>OSi<sub>2</sub> 474,3713, encontrado 474,3715.

30

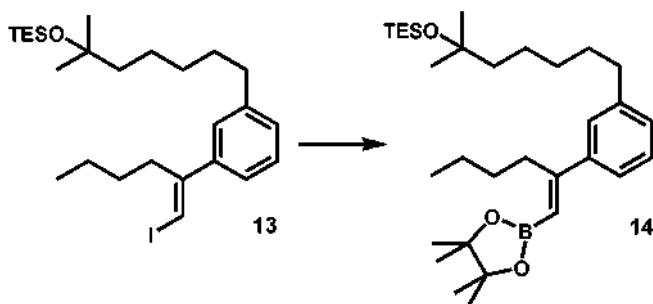
## Preparación del (E)-yoduro vinílico (13)



- 5 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-vinilyoduro (7), utilizando vinilsilano **12** (0,176 g, 0,37 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml), *N*-yodosuccinimida (0,084 g, 0,37 mmol); proporcionó el yoduro vinílico **13** (0,195 g, 0,37 mmol, >99%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,9-7,1 (m, 4H), 6,2 (s, 1H), 2,4-2,58 (m, 4H), 1,38-1,4 (m, 2H), 1,13-1,3 (m, 10H), 1,02 (s, 6H), 0,79 (m, 12H), 0,41 (q, *J* = 7,6 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>26</sub>H<sub>45</sub>OSi 528,2284, encontrado 528,2293.

10

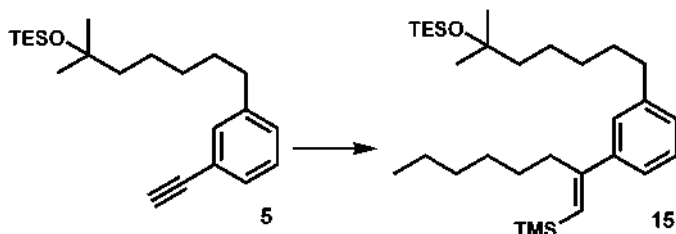
## Preparación del (E)-1-alquenilboronato (14)



- 15 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-1-alquenilboronato (8), utilizando Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,005 g, 0,0061 mmol), KOAc (0,057 g, 0,58 mmol), bis(pinacolato)diborano (0,053 g, 0,21 mmol) yoduro vinílico **13** (0,1 g, 0,19 mmol), DMSO (3 ml); proporcionó el éster vinilborónico **14** (0,086 g, 0,163 mmol, 86%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,03-7,14 (m, 3H), 6,93 (t, *J*=6,4 Hz, 1H), 5,47 (s, 1H), 2,73 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,43 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,35-1,57 (m, 3H), 1,14 (s, 12H), 1,02 (s, 6H), 0,67-0,84 (m, 12H), 0,40 (q, *J* = 7,3 Hz, 6H) **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>32</sub>H<sub>57</sub>BO<sub>3</sub>Si 528,4170, encontrado 528,4169.

20

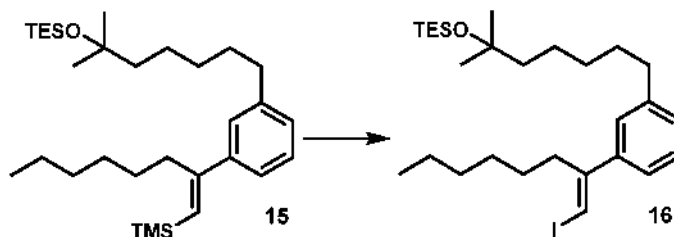
## Preparación del (E)-vinilsilano (15)



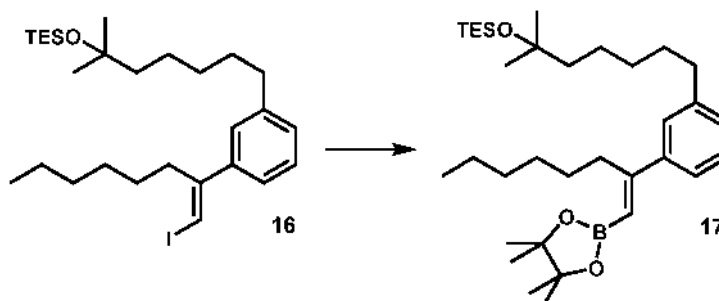
25

- 25 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-vinilsilano (6), utilizando LiCl anhidro (0,236 g, 5,57 10 mmol), CuI (0,276 g, 2,786 mmol), THF (3 ml), bromuro de hexilmagnesio en THF (2,8 ml, 5,572 mmol, 2M), alquino **5** (0,4 g, 1,16 mmol), HMPA (0,9 ml), THF (5 ml), HMPA (0,3 ml) y TMSCl (0,7 ml, 5,57 mmol); proporcionó el vinilsilano **15** (0,375 g, 0,746 mmol, 64%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,8-7,13 (m, 4H), 5,57 (s, 1H), 2,38-2,54 (m, 4H), 1,04 (s, 6H), 0,66-0,87 (m, 12H), 0,42 (q, *J* = 7,5 Hz, 6H), 0,04 (s, 9H); **HRMS (CI+): [M+H]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>31</sub>H<sub>59</sub>OSi<sub>2</sub> 503,4104, encontrado 503,4107.

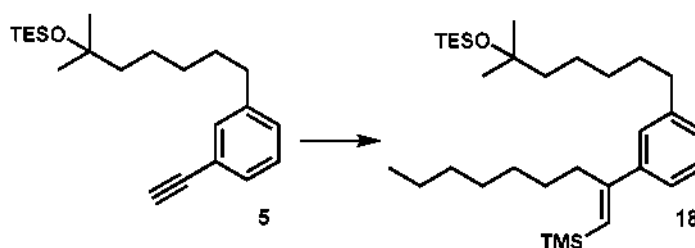
30

Preparación del (*E*)-yoduro vinílico (**16**)

5 Siguiendo el procedimiento de preparación del (*E*)-vinilyoduro (**7**), utilizando vinilsilano **15** (0,28 g, 0,557 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml), N-yodosuccinimida (0,125 g, 0,557 mmol); proporcionó el yoduro vinílico **16** (0,26 g, 0,467 mmol, 84%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,9-7,12 (m, 4H), 6,2 (s, 1H), 2,36-2,58 (m, 4H), 1,35-1,58 (m, 2H), 1,02 (s, 6H), 0,66-0,84 (m, 12H), 0,4 (q, J= 7,5 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>28</sub>H<sub>49</sub>OSil 556,2597, encontrado 556,2608.

10 Preparación del (*E*)-1-alkenilboronato (**17**)

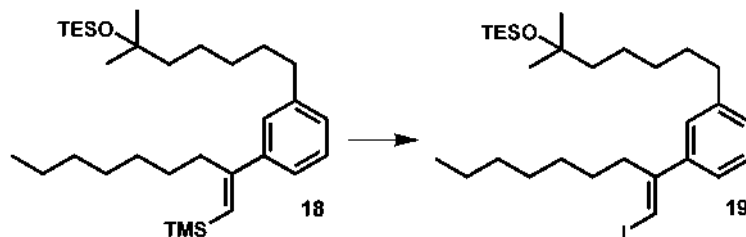
15 Siguiendo el procedimiento de preparación del (*E*)-1-alkenilboronato (**8**), utilizando Pd (dppf)Cl<sub>2</sub>.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,0114 g, 0,014 mmol), KOAc (0,138 g, 1,4 mmol), bis(pinacolato)diborano (0,142 g, 0,56 mmol) yoduro vinílico **16** (0,26 g, 0,467 mmol), DMSO (3 ml); proporcionó el éster vinilborónico **17** [0,156 g, 0,28 mmol, 60%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,92-7,27 (m, 4H), 5,55 (s, 1H), 2,81 (t, J= 7,2 Hz, 2H), 2,5 (t, J= 7,5 Hz, 2H), 1,45-1,64 (m, 2H), 1,22 (s, 12H), 1,01 (s, 6H), 0,72-0,92 (m, 12H), 0,48 (q, J= 7,5 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>34</sub>H<sub>61</sub>BO<sub>3</sub>Si 556,4483, encontrado 556,4461.

20 Preparación del (*E*)-vinilsilano (**18**)

25 Siguiendo el procedimiento de preparación del (*E*)-vinilsilano (**6**), utilizando LiCl anhidro (0,233 g, 5,5 mmol), CuI (0,276 g, 2,786 mmol), THF (3 ml), bromuro de heptilmagnesio en Et<sub>2</sub>O (5,5 ml, 5,5 mmol, 1M), alquino **5** (0,4 g, 1,16 mmol), HMPA (1 ml), THF (5 ml), HMPA (0,5 ml) y TMSCl (0,7 ml, 5,57 mmol); proporcionó el vinilsilano **18** (0,506 g, 0,979 mmol, 84%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,01- 7,13 (m, 3H), 6,88-6,98 (m, 1H), 5,58 (s, 1H), 2,38-2,53 (m, 4H), 1,42-1,58 (m, 2H), 1,05 (bs, 6H), 0,67-0,87 (m, 12H), 0,43 (q, J= 7,5 Hz, 6H), 0,04 (bs, 9H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>32</sub>H<sub>60</sub>OSi<sub>2</sub> 516,4183, encontrado 516,4180.

30

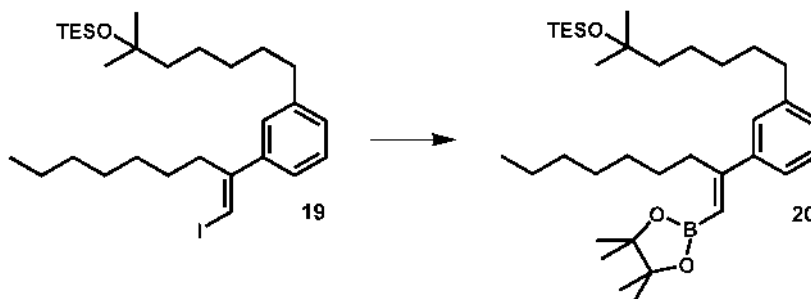
## Preparación del (E)-yoduro vinílico (19)



- 5 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-vinilyoduro (7), utilizando vinilsilano **18** (0,4 g, 0,774 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml) y N-yodosuccinimida (0,174 g, 0,774 mmol); se obtuvo el yoduro vinílico **19** [0,44g, 0,771 mmol, >99%]. **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,02-7,13 (m, 1H), 6,89-7,01 (m, 3H), 6,21 (bs, 1H), 2,39-2,59 (m, 4H), 1,40-1,58 (m, 2H), 1,04 (bs, 6H), 0,66-0,86 (m, 12H), 0,41 (q, J = 7,5 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>29</sub>H<sub>51</sub>IOSi 570,2754, encontrado 570,2755.

10

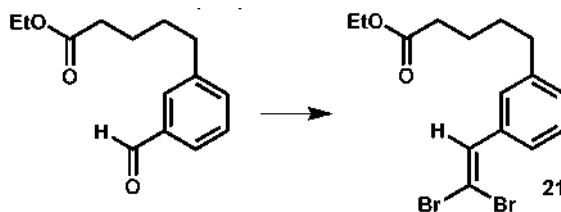
## Preparación del (E)-1-alkenilboronato (20)



- 15 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-1-alkenilboronato (8), utilizando Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,017 g, 0,021 mmol), KOAc (0,206 g, 2,1 mmol), bis(pinacolato)diborano (0,213 g, 0,84 mmol) yoduro vinílico **19** (0,4 g, 0,7 mmol), DMSO (3 ml); proporcionó el éster vinilborónico **20** (0,343 g, 0,6 mmol, 86%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,91-7,23 (m, 4H), 5,54 (s, 1H), 2,79 (t, J=7,0 Hz, 2H), 2,49 (t, J=7,3 Hz, 2H), 1,44-1,63 (m, 2H), 1,19 (bs, 12H), 1,08 (bs, 6H), 0,71-0,91 (m, 12H), 0,46 (q, J = 7,8 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>35</sub>H<sub>63</sub>BO<sub>3</sub>Si 570,4640, encontrado 570,4641.

20

## Preparación del dibromuro vecinal (21)

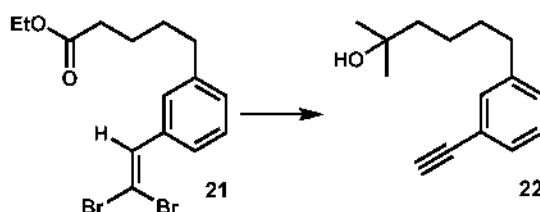


25

- 25 Siguiendo el procedimiento de preparación del dibromuro vecinal (3), utilizando Ph<sub>3</sub>P (3,162 g, 12,056 mmol), Zn (0,788 g, 12,056 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 ml), CBu (3,998 g, 12,056 mmol), 3-formil-bencenopentanoato de etilo (1,13 g, 4,822 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml); proporcionó el dibromuro vecinal **21** (1,571 g, 4,027 mmol, 84%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,36 (s, 1H), 7,00-7,32 (m, 4H), 4,02 (q, J=7,1 Hz, 2H), 2,44-2,67 (m, 2H), 2,13-2,33 (m, 2H), 1,48-1,67 (m, 4H), 1,15 (t, J = 7,1 Hz, 3H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>Br<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 387,9673, encontrado 387,9673.

30

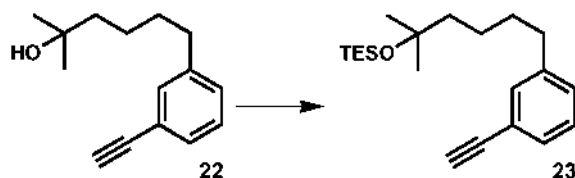
## Preparación del alquino (22)



Seguendo el procedimiento de preparación del alquino (**4**), utilizando MeLi en Et<sub>2</sub>O (16,1 ml, 24,15 mmol, 1,5 M), dibromuro germinal **21** (1,57 g, 4,02 mmol), THF (20 ml); se obtuvo el **22** (0,765 g, 3,536 mmol, 88%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,03-7,29 (m, 4H), 2,98 (s, 1H), 2,53 (t, J= 7,7 Hz, 2H), 1,47-1,61 (m, 2H), 1,22-1,47 (m, 4H), 1,12 (bs, 6H); HRMS (EI+): **[M+H]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O 216,1514, encontrado 216,1517.

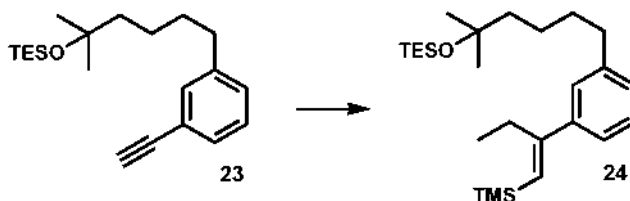
5

#### Preparación del silileter (**23**)



10 Seguendo el procedimiento de preparación del silileter (**5**), utilizando TESOTf (1,0 ml, 4,86 mmol), Et<sub>3</sub>N (1,345 ml, 9,71 mmol), alquino **22** (0,7 g, 3,24 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 ml); se obtuvo el silileter **23** (1,023 g, 3,098 mmol, 96%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,07-7,3 (m, 4H), 2,99 (s, 1H), 2,54 (t, J= 7,6 Hz, 2H), 1,46 (m, 2H), 1,13 (s, 6H), 0,88 (t, J= 7,8 Hz, 9H), 0,5 (q, J=7,5Hz, 6H); HRMS (CI+): **[M+H]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>21</sub>H<sub>35</sub>OSi 331,2457, encontrado 331,2461.

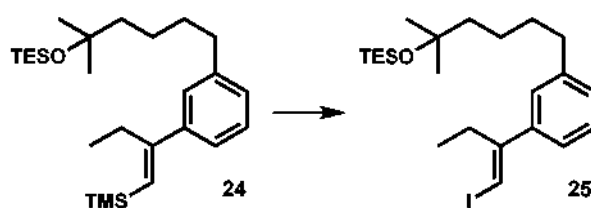
#### 15 Preparación del (*E*)-vinilsilano (**24**)



20 Seguendo el procedimiento de preparación del (*E*)-vinilsilano (**6**), utilizando LiCl (0,154 g, 3,63 mmol), CuI (0,179 g, 1,82 mmol), THF (3 ml), solución de EtMgBr en THF (1,21 ml, 3,63 mmol, 3M), alquino **23** (0,25 g, 0,757 mmol), HMPA (0,7 ml), THF (5 ml), HMPA (0,3 ml) y TMSCl (0,46 ml, 3,63 mmol); se obtuvo el vinilsilano **24** (0,246 g, 0,568 mmol, 75%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,05-7,17 (m, 3H), 6,19-7,01 (m, 1H), 5,62 (s, 1H), 2,53 (q, J= 7,6 Hz, 4H), 1,44-1,59 (m, 2H), 1,06 (s, 6H), 0,78-0,94 (m, 12H), 0,46 (q, J= 7,8 Hz, 6H), 0,09 (bs, 6H); HRMS (EI+): **[M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>26</sub>H<sub>48</sub>OSi<sub>2</sub> 432,3243, encontrado 432,3247.

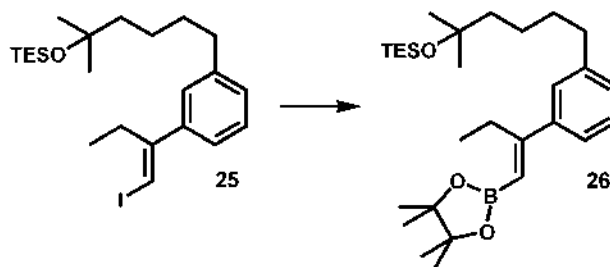
25

#### Preparación del (*E*)-yoduro vinílico (**25**)

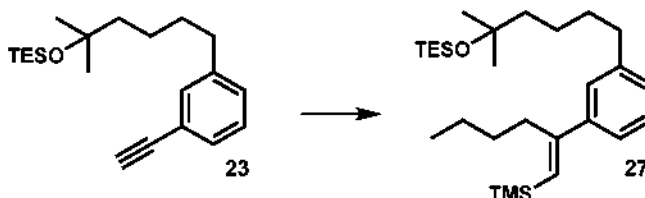


30 Seguendo el procedimiento de preparación del (*E*)-vinilyoduro (**7**), utilizando el vinilsilano **24** (0,322 g, 0,744 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml) y *N*-yodosuccinimida (0,167 g, 0,744 mmol) proporcionó el yoduro vinílico **25** (0,322 g, 0,662 mmol, 89%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,92-7,12 (m, 4H), 6,19 (s, 1H), 2,36-2,64 (m, 4H), 1,37-1,53 (m, 2H), 1,03 (bs, 6H), 0,73-0,89 (m, 12H), 0,40 (q, J= 7,9 Hz, 6H); HRMS (EI+): **[M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>23</sub>H<sub>39</sub>OSi 486,1815, encontrado 486,1822.

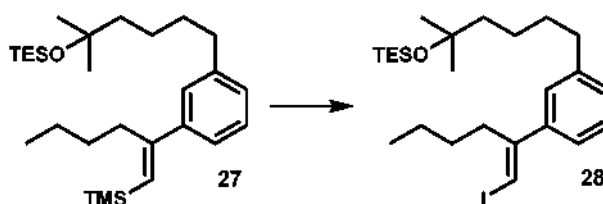
35

Preparación del (*E*)-1-alquenilboronato (**26**)

- 5 Siguiendo el procedimiento de preparación del (*E*)-1-alquenilboronato (**8**), utilizando Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,0146 g, 0,018 mmol), KOAc (0,182 g, 1,85 mmol), bis(pinacolato)diborano (0,188 g, 0,74 mmol) y solución de yoduro vinílico **25** (0,3 g, 0,62 mmol) en DMSO (3 ml); se obtuvo el 1-alquenilboronato **26** (0,216 g, 0,444 mmol, 72%). **RMN<sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,94-7,24 (m, 4H), 5,53 (s, 1H), 2,81 (q, J= 7,4 Hz, 2H), 2,52 (t, J= 7,6 Hz, 2H), 1,44-1,59 (m, 2H), 1,21 (bs, 12H), 1,1 (bs, 6H), 0,94 (t, J= 7,5 Hz, 3H), 0,85 (t, J= 7,8 Hz, 9H), 0,46 (q, J= 7,6 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>29</sub>H<sub>52</sub>BO<sub>3</sub>Si 487,3778, encontrado 487,3773.

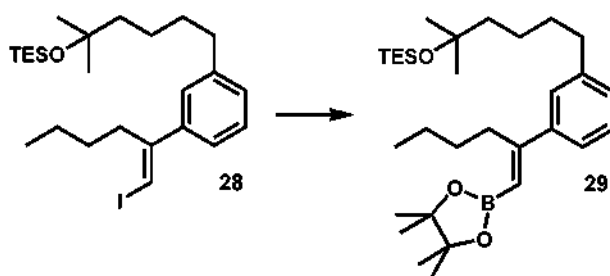
Preparación del (*E*)-vinilsilano (**27**)

- 15 Siguiendo el procedimiento de preparación del (*E*)-vinilsilano (**6**), utilizando LiCl (0,148 g, 3,49 mmol), CuI (0,173 g, 1,74 mmol), THF (3 ml), una solución de BuMgCl en THF (1,74 ml, 3,49 mmol, 2M), el alquino **23** (0,24 g, 0,73 mmol), HMPA (0,61 ml), THF (5 ml), HMPA (0,3 ml) y TMSCl (0,44 ml, 3,49 mmol); proporcionó el vinilsilano **27** (0,221 g, 0,479 mmol, 66%). **RMN<sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,02-7,15 (m, 3H), 6,9-6,99 (m, 1H), 5,58 (s, 1H), 2,42-2,57 (m, 4H), 1,42-1,57 (m, 2H), 1,06 (bs, 6H), 0,69-0,88 (m, 12H), 0,43 (q, J= 7,8, 6H), 0,06 (bs, 9H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>OSi<sub>2</sub> 460,3556, encontrado 460,3552.

Preparación del (*E*)-yoduro vinílico (**28**)

- 25 Siguiendo el procedimiento de preparación del (*E*)-vinilyoduro (**7**), utilizando el vinilsilano **27** (0,19 g, 0,412 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml) y *N*-yodosuccinimida (0,093 g, 0,412 mmol) se obtuvo el yoduro vinílico **28** (0,21 g, 0,408 mmol, >99%). **RMN<sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,89-7,11 (m, 4H), 6,19 (s, 1H), 2,4-2,57 (m, 4H), 1,38-1,53 (m, 4H), 1,37-1,53 (m, 2H), 1,03 (bs, 6H), 0,69-0,84 (m, 12H), 0,39 (q, J= 7,8 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>25</sub>H<sub>43</sub>OSi 514,2128, encontrado 514,2130.

## Preparación del (E)-1-alquenilboronato (29)



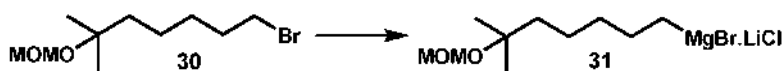
- 5 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-1-alquenilboronato (8), utilizando Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,0095 g, 0,0116 mmol), KOAc (0,1145 g, 1,167 mmol), bis(pinacolato)diborano (0,1185 g, 0,4668 mmol) y solución de yoduro vinílico **28** (0,2 g, 0,389 mmol) en DMSO (2 ml); proporcionó el 1-alquenilboronato **29** [0,144 g, 0,28 mmol, 72%]. **RMN<sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ = 6,82-7,35 (m, 4H), 5,53 (s, 1H), 2,80 (t, J= 7,2 Hz, 2H), 2,49 (t, J= 7,6 Hz, 2H), 1,21 (bs, 12H), 1,08 (bs, 6H), 0,69-0,95 (m, 12H), 0,46 (q, J= 7,9 Hz, 6H); **HRMS (EI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>31</sub>H<sub>55</sub>BO<sub>3</sub>Si 514,4013, encontrado 514,4013.

## Preparación del éter (30)



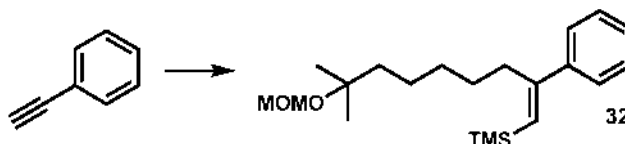
- 15 DMAP (0,088 g, 0,72 mmol) y *i*-Pr<sub>2</sub>NEt (2,5 ml, 14,35 mmol) se añadieron sucesivamente a una solución de 7-bromo-2-metil-heptan-2-ol (1,5 g, 7,17 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml) a ta. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Después de agitar 15 min a 0 °C, MOMCl (1,36 ml, 17,93 mmol) se añadió gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C 1 h y luego a ta durante 1,5 h. La reacción se detuvo con solución acuosa saturada de NH<sub>4</sub>Cl y se extrajo con Et<sub>2</sub>O. La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida y se obtuvo el compuesto **30** (1,56 g, 6,162 mmol, 86%). **RMN<sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ = 4,61 (bs, 2H), 3,32 (t, J=6,8 Hz, 2H), 3,27 (bs, 3H), 1,12 (bs, 6H); **HRMS (EI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>BrO<sub>2</sub> 251,0725, encontrado 251,0729.

## Preparación del reactivo de Grignard (31)



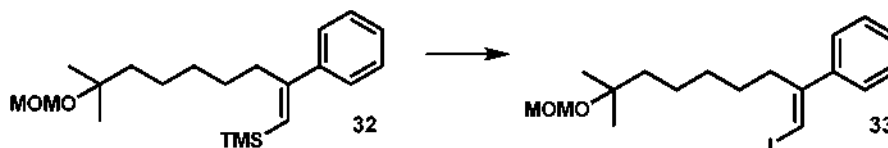
- 25 LiCl anhidro (1,67 g, 39,5 mmol) y Mg (1,2 g, 49,37 mmol) se secaron en un tubo de reacción durante 12 h a 110 °C al vacío. THF (20 ml) se añadió y se agitó durante 5 min a ta. El Mg se activó con unas gotas de dibromoetano. Una solución del compuesto **30** (5 g, 19,75 mmol) en THF (14 ml) se añadió a la mezcla mediante una cánula. La mezcla se agitó vigorosamente durante 3 h a ta. La solución del reactivo de Grignard **31** fue transferida, con cuidado de no remover el Mg sobrante, a un matraz seco mediante una cánula.

## Preparación del (E)-vinilsilano (32)



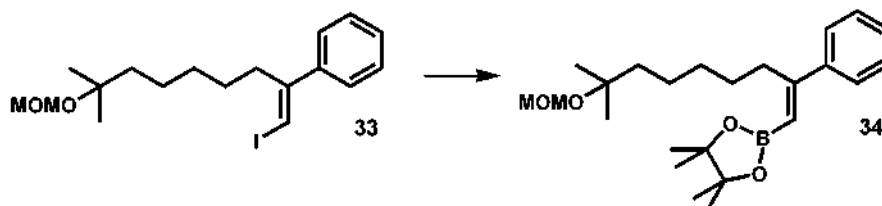
- 35 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-vinilsilano (6), utilizando LiCl (0,149 g, 3,50 mmol), CuI (0,349 g, 3,52 mmol), THF (3 ml), una solución de **31** en THF (14,68 ml, 8,81 mmol, 0,6M), fenilacetileno (0,15 g, 1,468 mmol), HMPA(1,2 ml), THF (5 ml), HMPA(0,6 ml) y TMSCl (0,46 ml, 3,67 mmol); proporcionó el vinilsilano **32** (0,358 g, 1,027 mmol, 70%). **RMN<sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ = 7,04-7,25 (m, 5H), 5,60 (s, 1H), 4,55 (s, 2H), 3,20 (s, 3H), 2,48 (t, J=7,2 Hz, 2H), 1,05 (bs, 6H), 0,07 (bs, 9H); **HRMS (EI<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>Si 348,2485, encontrado 348,2488.

## Preparación del (E)-yoduro vinílico (33)



- 5 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-vinilyoduro (7), utilizando el vinilsilano **32** (0,35 g, 1,004 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml) y N-yodosuccinimida (0,226 g, 1,01 mmol) proporcionó el yoduro vinílico **33** (0,343 g, 0,853 mmol, 85%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,19-7,25 (m, 5H), 6,32 (bs, 1H), 4,62 (bs, 2H), 3,28 (bs, 3H), 2,63 (t, J=7,4 Hz, 2H), 1,13 (bs, 6H); **HRMS (EI+):** [M]<sup>+</sup> calculado para C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>O<sub>2</sub>I 402,1056, encontrado 402,1056.

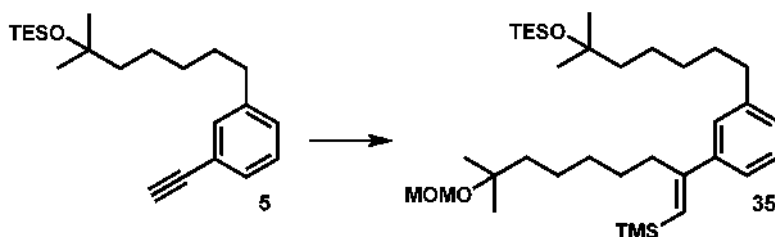
## 10 Preparación del (E)-1-alquenilboronato (34)



- 15 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-1-alquenilboronato (8), utilizando Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,017 g, 0,0212 mmol), KOAc (0,207 g, 2,117 mmol), bis(pinacolato)diborano (0,215 g, 0,847 mmol) y una solución de yoduro vinílico **33** (0,285 g, 0,708 mmol) en DMSO (2 ml); se obtuvo el 1- alquenilboronato **34** (0,22 g, 0,547 mmol, 77%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,18-7,29 (m, 2H), 7,02- 7,18 (m, 3H), 5,44 (bs, 1H), 4,48 (bs, 2H), 3,14 (bs, 3H), 2,71 (t, J= 7,2 Hz, 2H), 1,11 (bs, 12H), 0,99 (bs, 6H); **HRMS (EI+):** [M]<sup>+</sup> calculado para C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>BO<sub>4</sub> 402,2941, encontrado 402,2944.

20

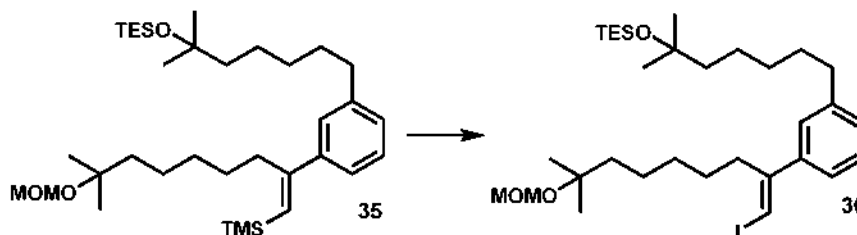
## Preparación del (E)-vinilsilano (35)



- 25 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-vinilsilano (6), utilizando LiCl (0,074 g, 1,741 mmol), CuI (0,1724 g, 1,741 mmol), THF (3 ml), una solución de **31** en THF (7,25 ml, 4,35 mmol, 0,6M), el 15 alquino **5** (0,25 g, 0,725 mmol), HMPA (0,8 ml), THF (5 ml), HMPA (0,4 ml) y TMSCl (0,23 ml, 1,81 mmol); proporcionó el vinilsilano **35** (0,384 g, 0,649 mmol, 89%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,15- 7,25 (m, 3H), 7,04-7,11 (m, 1H), 5,71 (bs, 1H), 4,71 (bs, 2H), 3,37 (bs, 3H), 2,61 (t, J= 7,7 Hz, 4H), 1,57- 1,73 (m, 2H), 1,21 (bs, 6H), 1,19 (bs, 3H), 1,18 (bs, 3H), 0,95 (t, J= 7,8 Hz, 9H), 0,57 (q, J= 7,6 Hz, 6H), 0,19 (bs, 9H); **HRMS (EI+):** [M]<sup>+</sup> calculado para C<sub>35</sub>H<sub>66</sub>O<sub>3</sub>Si<sub>2</sub> 590,4550, encontrado 590,4557.

30

## Preparación del (E)-yoduro vinílico (36)



35

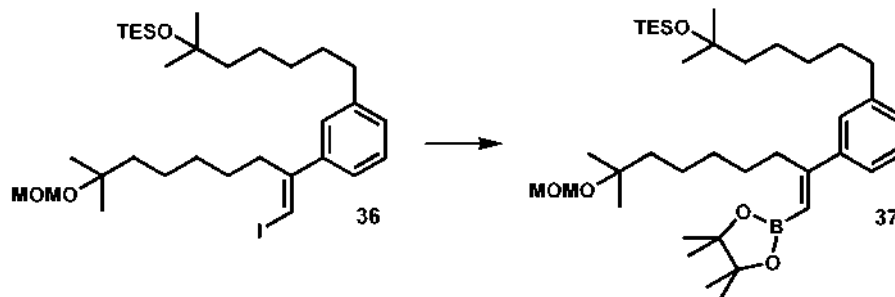
- Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-vinilyoduro (7), utilizando el vinilsilano **35** (0,3 g, 0,5075 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml) y N-yodosuccinimida (0,114 g, 0,5075 mmol); se obtuvo el yoduro vinílico **36** (0,248 g, 0,385 mmol, 76%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,07-7,25 (m, 4H), 6,38 (bs, 1H), 4,71 (bs, 2H), 3,36 (bs, 3H), 2,57-2,76 (m,



4H), 1,58-1,73 (m, 2H), 1,21 (bs, 12H), 0,97 (t,  $J=7,8$  Hz, 9H), 0,59 (q,  $J=8,4$  Hz, 6H); **HRMS (EI+):**  $[M]^+$  calculado para  $C_{32}H_{57}IO_3Si$  644,3122, encontrado 644,3125.

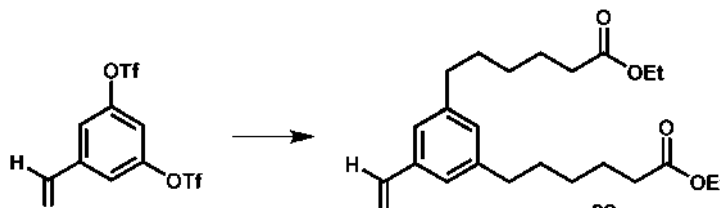
#### Preparación del (E)-1-alquenilboronato (37)

5



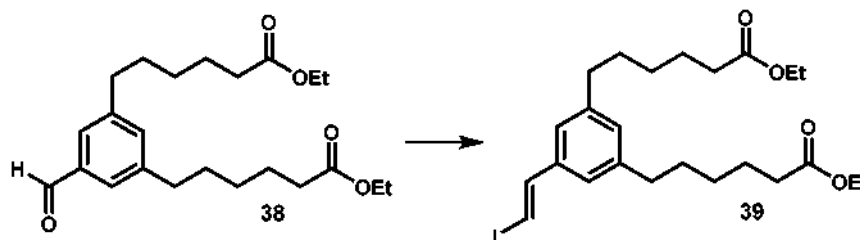
Seguendo el procedimiento de preparación del (E)-1-alquenilboronato (8), utilizando  $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$  (0,008 g, 0,0093 mmol), KOAc (0,0912 g, 0,93 mmol), bis(pinacolato)diborano (0,0945 g, 0,372 mmol) y una solución de yoduro vinílico **36** (0,2 g, 0,31 mmol) en DMSO (3 ml); se obtuvo el 1-alquenilboronato **37** (0,127 g, 0,197 mmol, 64%). **RMN  $^1H$  (250 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta = 7,05-7,3$  (m, 4H), 5,62 (bs, 1H), 4,67 (bs, 2H), 3,33 (bs, 3H), 2,88 (t,  $J=7,1$  Hz, 2H), 2,58 (t,  $J=7,6$  Hz, 2H), 1,53-1,73 (m, 2H), 1,29 (bs, 12H), 1,17 (bs, 12H), 0,94 (t,  $J=7,8$  Hz, 9H), 0,55 (q,  $J=7,8$  Hz, 6H); **HRMS (EI+):**  $[M]^+$  calculado para  $C_{38}H_{69}BO_5Si$  644,5007, encontrado 644,5007.

#### 15 Preparación del éster (38)



$Pd(OAc)_2$  (0,0145 g, 0,065 mmol) y S-Phos (0,053 g, 0,129 mmol) se agitaron en dioxano (3 ml) durante 15 min a ta. Una solución de trifluorometanosulfonato de 5-formil-1,3-fenileno (1,3 g, 3,23 mmol) en dioxano (7 ml) y una solución del compuesto de organocinc **31** en THF (13 mmol) se añadieron sucesivamente. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a ta y luego se detuvo con  $NH_4Cl$  (ac. sat). La mezcla se extrajo con  $Et_2O$ . La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida obteniéndose el éster **38** (0,964 g, 2,469 mmol, 76%). **RMN  $^1H$  (250 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta = 9,9$  (s, 1H), 7,45 (d,  $J=1,5$  Hz, 2H), 7,19 (bs, 1H), 4,05 (q,  $J=7,1$  Hz, 4H), 2,6 (t,  $J=7,7$  Hz, 4H), 2,24 (t,  $J=7,4$  Hz, 4H), 1,53-1,68 (m, 8H), 1,24-1,39 (m, 4H), 1,18 (t,  $J=7,1$  Hz, 6H); **HRMS (EI+):**  $[M]^+$  calculado para  $C_{23}H_{34}O_5$  390,2406, encontrado 390,2410.

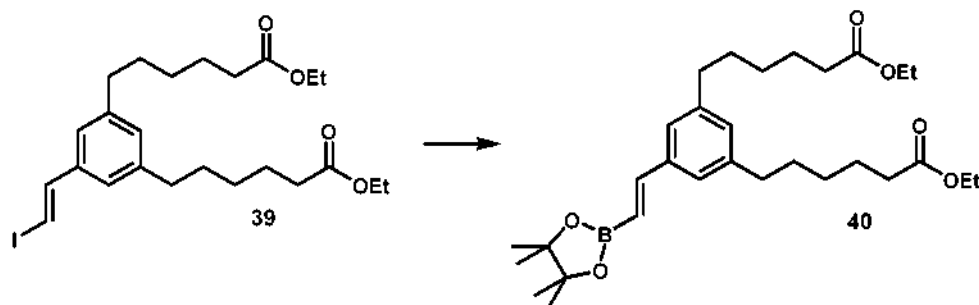
#### Preparación del (E)-yoduro vinílico (39)



$CrCl_2$  anhidro (0,567 g, 4,61 mmol) se suspendió en THF (10 ml) bajo atmósfera de argón. Una solución del aldehído **38** (0,3 g, 0,768 mmol) y yodoformo (0,605 g, 1,536 mmol) en THF (5 ml) se añadió gota a gota a la suspensión a  $0^\circ C$ . Tras agitar 4h a  $0^\circ C$ , la mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con  $Et_2O$ . La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida obteniéndose el yoduro vinílico **39** [0,296 g, 0,575 mmol, 75% (E/Z = 14/1)]. **RMN  $^1H$  (250 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta = 7,37$  (d,  $J=14,9$  Hz, 1H), 6,91 (bs, 3H), 6,79 (d,  $J=14,9$  Hz, 1H), 4,11 (q,  $J=7,1$  Hz, 4H), 2,56 (t,  $J=7,7$  Hz, 4H), 2,28 (t,  $J=7,5$  Hz, 4H), 1,53-1,75 (m, 8H), 1,29-1,43 (m, 4H), 1,24 (t,  $J=7,1$  Hz, 6H); **HRMS (EI+):**  $[M]^+$  calculado para  $C_{24}H_{35}O_4I$  514,1580, encontrado 514,1577.

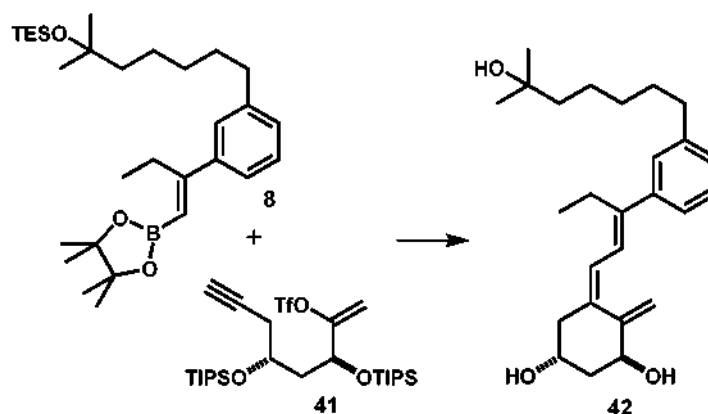
40

## Preparación del (E)-1-alquenilboronato (40)

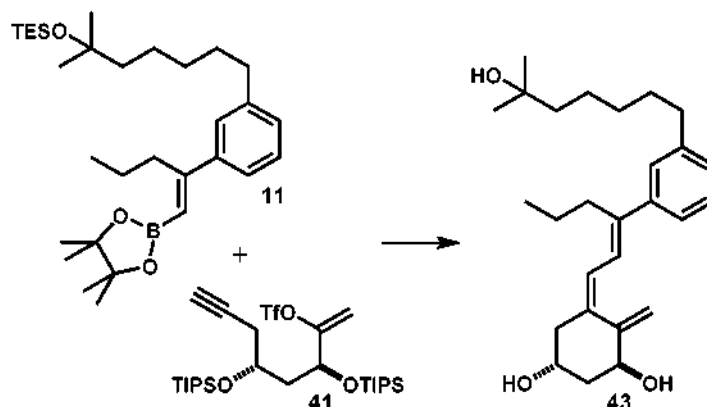


- 5 Siguiendo el procedimiento de preparación del (E)-1-alquenilboronato (8), utilizando Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,012 g, 0,0146 mmol), KOAc (0,143 g, 1,458 mmol), bis(pinacolato)diborano (0,185 g, 0,729 mmol) y una solución de yoduro vinílico **39** (0,25 g, 0,486 mmol) en DMSO (3 ml); se obtuvo el éster borónico vinílico **40** (0,17 g, 0,33 mmol, 68%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7,31 (d, J=18,4 Hz, 1H), 7,06 (d, J=1,1 Hz, 2H), 6,86 (bs, 1H), 6,08 (d, J=18,4 Hz, 1H), 4,06 (q, J=7,1 Hz, 4H), 2,52 (t, J= 7,6 Hz, 4H), 2,23 (t, J= 7,5 Hz, 4H), 1,48-1,68 (m, 8H), 1,25 (bs, 12H), 1,18 (t, J= 7,1 Hz, 6H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>30</sub>H<sub>47</sub>BO<sub>6</sub> 514,3466, encontrado 514,3470.

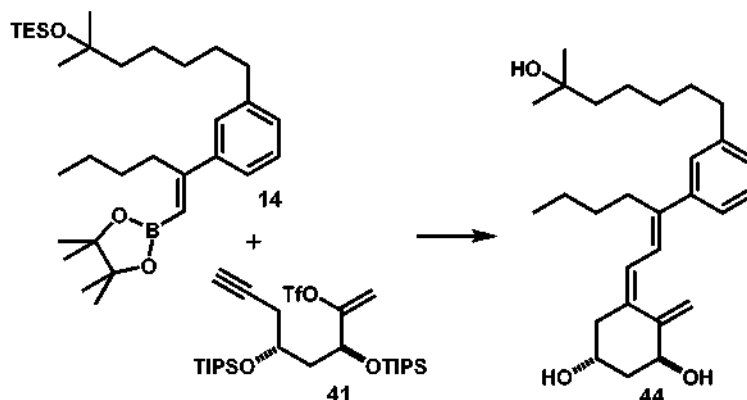
## EJEMPLO 1. Preparación del triol (43) - cód. PG-152



- 15 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (3 ml, 2M ac.) y (Ph<sub>3</sub>P)<sub>2</sub>PdCl<sub>2</sub> (0,007 g, 0,01 mmol) se añadieron sucesivamente a una solución del éster borónico **8** (0,1 g, 0,2 mmol) y enol triflato **41a** (0,14 g, 0,233 mmol) en THF (10 ml). La mezcla se agitó vigorosamente durante 1,5 h a ta. La mezcla de reacción se diluyó con H<sub>2</sub>O y se extrajo con Et<sub>2</sub>O. La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida obteniéndose el compuesto protegido que se disolvió en THF (5 ml). Se agregó una solución de TBAF en TFIF (1,2 ml, 1,2 mmol, 1 M). La mezcla de reacción se agitó durante 24 h a ta y entonces se diluyó con NH<sub>4</sub>Cl (ac. sat). La mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida proporcionando el triol **42** (0,053 g, 0,133 mmol, 67%). **RMN <sup>1</sup>H (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 6,99-7,24 (m, 4H), 6,66 (d, J= 11,4 Hz, 1H), 6,43 (d, J=11,4 Hz, 1H), 5,35 (bs, 1H), 5,03 (bs, 1H), 4,45 (t, J= 5,7 Hz, 1H), 4,17-4,29 (m, 1H), 2,51-2,73 (m, 5H), 2,37 (q, J<sub>1</sub>=7,0 Hz, J<sub>2</sub>=13,3 Hz, 1H), 1,97 (t, J=5,5 Hz, 2H), 1,55-1,73 (m, 3H), 1,19 (bs, 6H), 1,06 (t, J= 7,5 Hz, 3H); **HRMS (EI+): [M]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>26</sub>H<sub>38</sub>O<sub>3</sub> 398,2820, encontrado 398,2819; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +19,1° (c=1,2 en EtOH).

**EJEMPLO 2. Preparación del triol (43) - cód. PG-152**

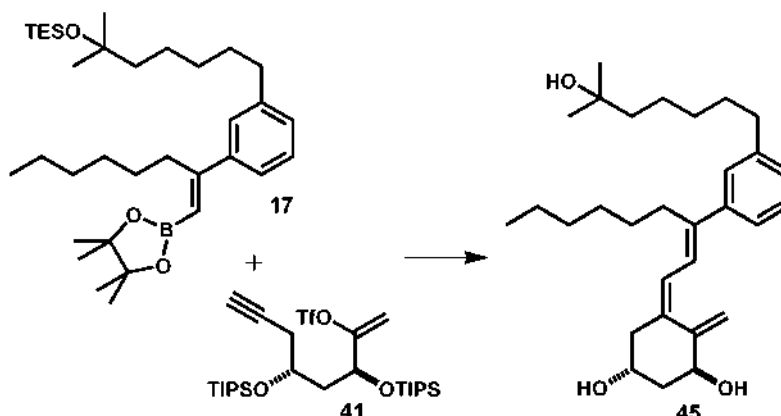
- 5 Siguiendo el procedimiento de preparación del triol (**42**), utilizando  $K_3PO_4$  (3 ml, 2M ac),  $(Ph_3P)_2PdCl_2$  (0,0116 g, 0,0165 mmol), una solución de éster borónico **11** (0,17 g, 0,33 mmol) y de enol triflato **41** (0,252 g, 0,419 mmol) en THF (10 ml), THF (5 ml) y una solución de TBAF en THF (1,98 ml, 1,98 mmol, 1M), proporcionó el triol **43** (0,095 g, 0,23 mmol, 70%). **RMN  $^1H$  (250 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  = 6,98-7,24 (m, 4H), 6,68 (d,  $J=11,4$  Hz, 1H), 6,42 (d,  $J=11,3$  Hz, 1H), 5,34 (bs, 1H), 5,04 (bs, 1H), 4,45 (t,  $J=5,6$  Hz, 1H), 4,16-4,29 (m, 1H), 2,50-2,72 (m, 5H), 2,37 (q,  $J=7,0$  Hz,  $J_2=13,3$  Hz, 1H), 1,97 (t,  $J=5,5$  Hz, 2H), 1,53-1,72 (m, 3H), 1,19 (bs, 6H), 0,92 (t,  $J=7,3$  Hz, 3H); **HRMS (EI+):  $[M]^+$**  calculado para  $C_{27}H_{40}O_3$  412.2977, encontrado 412.2979;  $[\alpha]_D^{25} = +18,9^\circ$  (c=1,7 in EtOH).
- 10

**EJEMPLO 3. Preparación del triol (44) - cód. PG-128**

- 15 Siguiendo el procedimiento de preparación del triol (**42**) usando  $K_3PO_4$  (3 ml, 2 M ac),  $(Ph_3P)_2PdCl_2$  (0.0066 g, 0.0094 mmol), una solución del éster borónico **14** (0,1 g, 0,189 mmol) y enol triflato **41** (0,167 g, 0,278 mmol) en THF (10 ml), THF (5 ml) y una solución de TBAF en THF (1,134 ml, 1,134 mmol, 1M) proporcionó el triol **44** (0,061 g, 0,143 mmol, 76%). **RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  = 7,00-7,24 (m, 4H), 6,66 (d,  $J=11,4$  Hz, 1H), 6,42 (d,  $J=11,5$  Hz, 1H), 5,35 (bs, 1H), 5,04 (bs, 1H), 4,46 (t,  $J=5,7$  Hz, 1H), 4,2-4,3 (m, 1H), 2,53-2,73 (m, 5H), 2,38 (q,  $J=7,1$  Hz,  $J_2=13,3$  Hz, 1H), 1,98 (t,  $J=5,4$  Hz, 2H), 1,54- 1,72 (m, 3H), 1,19 (bs, 6H), 0,89 (t,  $J=6,8$  Hz, 3H); **HRMS (EI+):  $[M]^+$**  calculado para  $C_{28}H_{42}O_3$  426,3133, encontrado 426,3127;  $[\alpha]_D^{25} = +14,2^\circ$  (c=1,1 en EtOH).
- 20

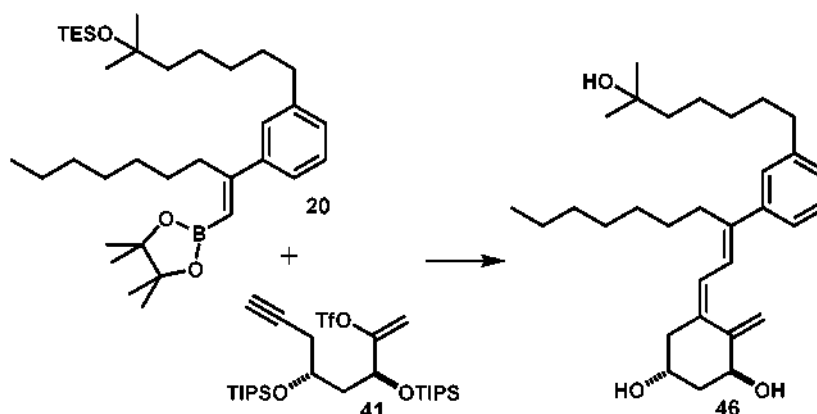
25

## EJEMPLO 4. Preparación del triol (45) - cód. PG-156



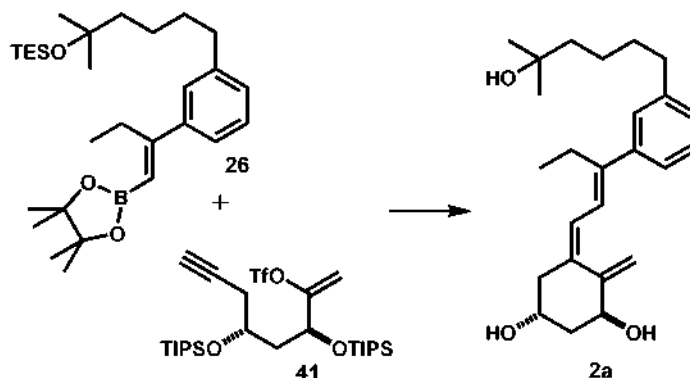
- 5 Siguiendo el procedimiento de preparación del triol (42), utilizando  $K_3PO_4$  (3 ml, 2M ac),  $(Ph_3P)_2PdCl_2$  (0,0063 g, 0,009 mmol), una solución de éster borónico **17** (0,1 g, 0,179 mmol) y de enol triflato **41** (0,252 g, 0,179 mmol) en THF (10 ml), THF (5 ml) y una solución de TBAF en THF (2,1 ml, 1,07 mmol, 1M), se obtuvo el triol **45** (0,055 g, 0,121 mmol, 68%). **RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  = 7,14-7,24 (m, 3H), 7,04 (d,  $J$ = 7,3 Hz, 1H), 6,66 (d,  $J$ =11,4 Hz, 1H), 6,43 (d,  $J$ = 11,3 Hz, 1H), 5,36 (bs, 1H), 5,05 (bs, 1H), 4,46 (t,  $J$ = 5,7 Hz, 1H), 4,23-4,29 (m, 1H), 2,56-2,72 (m, 5H), 2,38 (q,  $J$ =7,0 Hz,  $J_2$ =13,3 Hz, 1H), 1,99 (t,  $J$ =5,3 Hz, 2H), 1,57-1,70 (m, 3H), 1,2 (bs, 6H), 0,86 (t,  $J$ =6,9 Hz, 3H); **[M] $^+$**  calculado para  $C_{30}H_{46}O_3$  454,3446, encontrado 454,3448;  $[\alpha]_D^{25}$  = +20,0° (c=1,3 en EtOH).

## EJEMPLO 5. Preparación del triol (46) - cód. PG-403



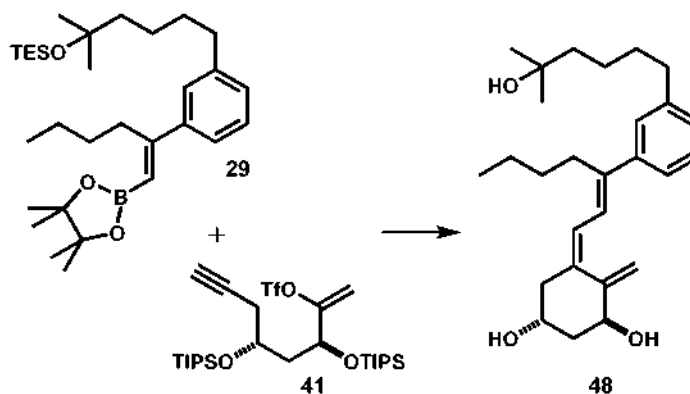
- 15 Siguiendo el procedimiento de preparación del triol (42), utilizando  $K_3PO_4$  (4,5 ml, 2M ac),  $(Ph_3P)_2PdCl_2$  (0,012 g, 0,0175 mmol), una solución de éster borónico **20** (0,2 g, 0,35 mmol) y de enol triflato **41** (0,252 g, 0,42 mmol) en THF (10 ml), THF (5 ml) y una solución de TBAF en THF (2,1 ml, 2,1 mmol, 1M), se obtuvo el triol **46** (0,129 g, 0,275 mmol, 79%). **RMN  $^1H$  (250 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  = 6,99-7,24 (m, 4H), 6,66 (d,  $J$ =11,4 Hz, 1H), 6,42 (d,  $J$ =11,4 Hz, 1H), 5,35 (bs, 1H), 5,04 (bs, 1H), 4,45 (t,  $J$ = 5,5 Hz, 1H), 4,16-4,32 (m, 1H), 2,53-2,74 (m, 5H), 2,37 (q,  $J$ =6,9 Hz,  $J_2$ =13,3 Hz, 1H), 1,97 (t,  $J$ =5,4 Hz, 2H), 1,54-1,72 (m, 3H), 1,19 (bs, 6H), 0,87 (t,  $J$ =6,6 Hz, 3H); **HRMS (EI $^+$ ):** **[M] $^+$**  calculado para  $C_{31}H_{48}O_3$  468.3603, encontrado 468.3606;  $[\alpha]_D^{25}$  = +21,7° (c=0,3 in EtOH).
- 20
- 25

## EJEMPLO 6. Preparación del triol (47) - cód. PG-149

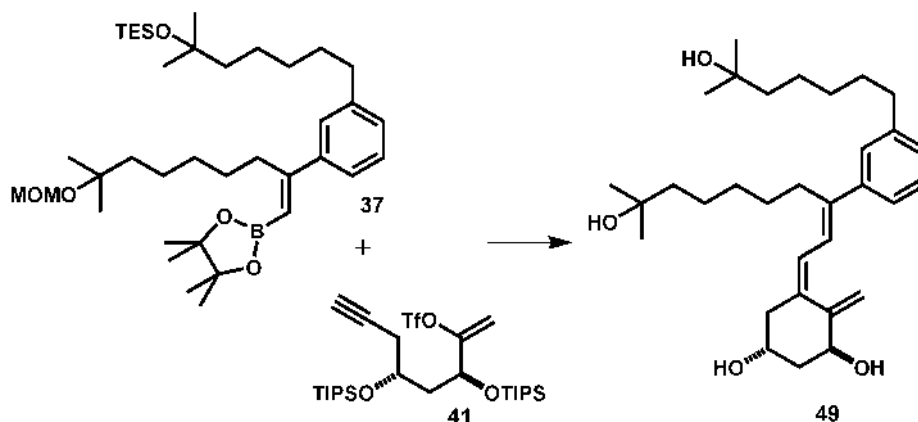


- 5 Siguiendo el procedimiento de preparación del triol (**42**) usando  $K_3PO_4$  (3 ml, 2M ac),  $(Ph_3P)_2PdCl_2$  (0,0094 g, 0,0134 mmol), una solución del éster borónico **26** (0,13 g, 0,267 mmol) y triflato de enol **41** (0,204 g, 0,339 mmol) en THF (10 ml), THF (5 ml) y una solución de TBAF en THF (1,6 ml, 1,6 mmol, 1M) se obtuvo el triol **47** (0,069 g, 0,179 mmol, 67%). **RMN  $^1H$  (250 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  = 7,15-7,23 (m, 3H), 6,99-7,08 (m, 1H), 6,66 (d,  $J=11,4$  Hz, 1H), 6,41 (d,  $J=11,4$  Hz, 1H), 5,32 (bs, 1H), 5,02 (bs, 1H), 4,43 (t,  $J=5,4$  Hz, 1H), 4,15-4,27 (m, 1H), 2,54-2,75 (m, 6H), 2,35 (q,  $J=7,2$  Hz,  $J_2=13,2$  Hz, 1H), 1,91-2,0 (m, 2H), 1,18 (bs, 6H), 1,04 (t,  $J=7,5$  Hz, 3H); **HRMS (EI+):  $[M]^+$**  calculado para  $C_{25}H_{36}O_3$  384,2664, encontrado 384,2654;  $[\alpha]_D^{25} = +17,1^\circ$  (c=0.15 in EtOH).
- 10

## EJEMPLO 7. Preparación del triol (48) - cód. PG-141



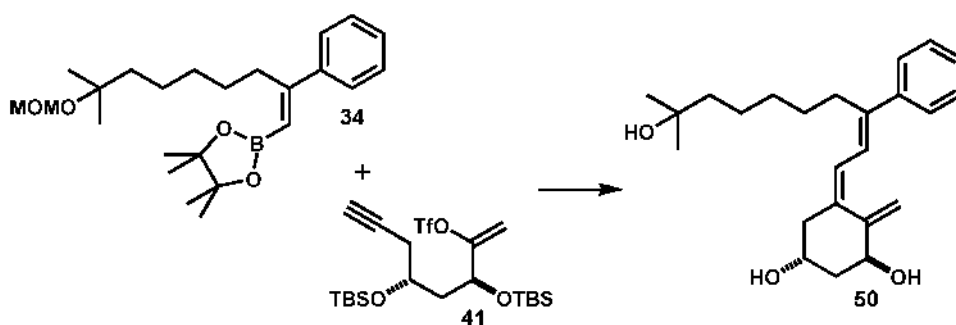
- 15 Siguiendo el procedimiento de preparación del triol (**42**), utilizando  $K_3PO_4$  (3 ml, 2 M ac),  $(Ph_3P)_2PdCl_2$  (0,0068 g, 0,0097 mmol), una solución de éster borónico **29** (0.1 g, 0,194 mmol) y de enol triflato **41** (0.252 g, 0,284 mmol) en THF (10 ml), THF (5 ml) y una solución de TBAF en THF (2,1 ml, 1,16 mmol, 1M), se obtuvo el triol **48** (0,053 g, 0,128 mmol, 66%). **RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  = 7,01-7,07 (m, 3H), 7,04 (d,  $J=6,8$  Hz), 6,66 (d,  $J=11,3$  Hz, 1H), 6,43 (d,  $J=11,3$  Hz, 1H), 4,45 (t,  $J=4,9$  Hz, 1H), 4,25 (bs, 1H), 2,58-2,71 (m, 5H), 2,51 (t,  $J=7,4$  Hz, 1H), 2,37 (q,  $J=7,1$  Hz,  $J_2=13,1$  Hz, 1H), 1,89-2,07 (m, 3H), **10** 1,57-1,69 (m, 3H), 1,19 (bs, 6H), 0,89 (t,  $J=6,7$  Hz, 3H); **HRMS (EI+):  $[M]^+$**  calculado para  $C_{27}H_{40}O_3$  412,2977, encontrado 412,2969;  $[\alpha]_D^{25} = +17,1^\circ$  (c=1,5 en EtOH).
- 20
- 25

**EJEMPLO 8. Preparación del triol (49) - cód. PG-385**

5

$K_3PO_4$  (2 ml, 2M ac.) y  $(Ph_3P)_2PdCl_2$  (0,0054 g, 0,008 mmol) se añadieron sucesivamente a una solución del éster borónico **37** (0,1 g, 0,155 mmol) y enol triflato **41** (0,112 g, 0,186 mmol) en THF (2 ml). La mezcla se agitó vigorosamente durante 2 h a ta. La mezcla de reacción se diluyó con  $H_2O$  y se extrajo con  $Et_2O$ . La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida obteniéndose el compuesto protegido que se disolvió en THF (5 ml). Se agregó una solución de TBAF en TFIF (0,93 ml, 0,93 mmol, 1 M). La mezcla de reacción se agitó durante 12 h a ta y entonces se diluyó con  $NH_4Cl$  (ac. sat). La mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida proporcionando el triol, que se disolvió en MeOH (10 ml). Se añadió la resina AG50W-X4 (3 g, peso húmedo, recién lavada con MeOH) y la mezcla se agitó durante 10 h a ta. La mezcla se filtró y se lavó varias veces con EtOAc. La solución se evaporó al vacío y el residuo se purificó por cromatografía rápida en columna proporcionando el tetraol **49** (0,041 g, 0,0822 mmol, 53%). **RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CD_3OD$ ):**  $\delta$  = 7,12-7,17 (m, 3H), 6,98-7,02 (m, 1H), 6,71 (d,  $J=11,3$  Hz, 1H), 6,40 (d,  $J=11,3$  Hz, 1H), 5,33 (bs, 1H), 4,94 (d,  $J=2$  Hz, 1H), 4,39 (q,  $J_1=4,5$  Hz,  $J_2=6,6$  Hz, 1H), 4,14 (m, 1H), 3,27-3,29 (m, 1H), 2,65 (t,  $J=7,4$  Hz, 2H), 2,54-2,62 (m, 3H), 2,32 (q,  $J_1=7,2$  Hz,  $J_2=13,2$  Hz, 1H), 1,83-1,97 (m, 2H), 1,55-1,66 (m, 2H), 1,13 (bs, 6H), 1,12 (bs, 6H); **HRMS (EI+):  $[M]^+$**  calculado para  $C_{32}H_{50}O_4$  498,3709, encontrado 498,3691;  $[\alpha]_D^{25} = +11,7^\circ$  ( $c=1,15$  en EtOH).

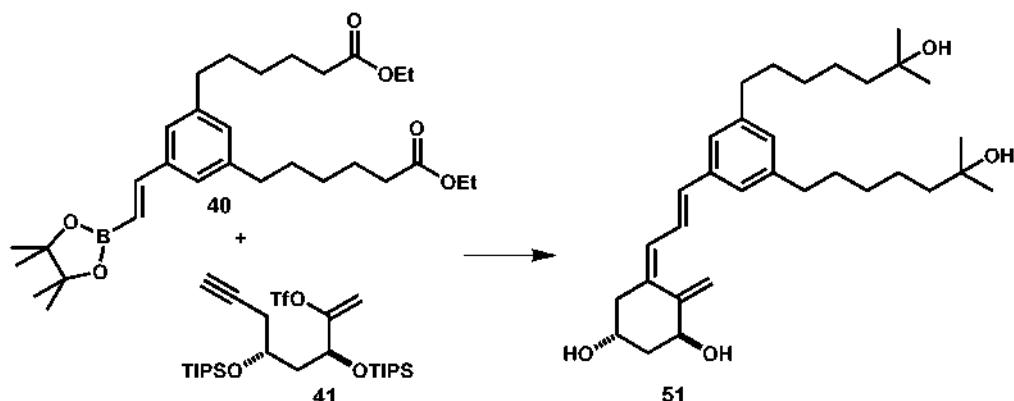
20

**EJEMPLO 9. Preparación del triol (50) - cód. PG-366**

25 Siguiendo el procedimiento de preparación del tetraol (**50**), utilizando  $K_3PO_4$  (6 ml, 2 M ac.),  $(Ph_3P)_2PdCl_2$  (0,0174 g, 0,0245 mmol), una solución de éster borónico **34** (0,2 g, 0,497 mmol) y enol triflato **41** (0,308 g, 0,596 mmol) en THF (8 ml), THF (5 ml), una solución de TBAF en THF (2 ml, 2 mmol, 1M), MeOH (15 ml) y resina AG50W-X4 (3 g, peso húmedo, recién lavada con MeOH); se obtuvo el tetraol **50** (0,14 g, 0,378 mmol, 76%). **RMN  $^1H$  (250 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  = 7,03-7,25 (m, 5H), 6,59 (d,  $J=11,4$  Hz, 1H), 6,29 (d,  $J=11,4$  Hz, 1H), 5,2 (bs, 1H), 4,94 (bs, 1H), 4,25-4,36 (m, 1H), 4,01-4,16 (m, 1H), 2,38-2,95 (m, 6H), 2,24 (q,  $J_1=7,0$  Hz,  $J_2=13,1$  Hz, 1H), 1,76-1,89 (m, 2H), 1,04 (bs, 6H); **HRMS (EI+):  $[M]^+$**  calculado para  $C_{24}H_{34}O_3$  370,2508, encontrado 370,2492;  $[\alpha]_D^{25} = +33,61^\circ$  ( $c=2,11$  en EtOH).

30

## EJEMPLO 10. Preparación del tetraol (51) - cód. PG-433



- 5  $K_3PO_4$  (2,5 ml, 2M ac.) y  $(Ph_3P)_2PdCl_2$  (0,007 g, 0,0097 mmol) se añadieron sucesivamente a una solución del éster borónico **40** (0,1 g, 0,194 mmol) y enol triflato **41** (0,14 g, 0,233 mmol) en THF (3 ml). La mezcla se agitó vigorosamente durante 1 h a ta. La mezcla de reacción se diluyó con  $H_2O$  y se extrajo con  $Et_2O$ . La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida obteniéndose el compuesto protegido que se disolvió en THF (5 ml). Se agitó durante 15 min y entonces se añadió una solución de  $MeMgBr$  en THF (0,97 ml, 0,97 mmol, 1M).
- 10 La mezcla se agitó 4 h a ta y se diluyó con  $NH_4Cl$  (ac. sat) y la mezcla se extrajo con  $EtOAc$ . La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida obteniéndose el diol protegido que se disolvió en THF (5 ml). Una solución de TBAF en THF (0,78 ml, 0,78 mmol, 1M) se adicionó. La mezcla de reacción se agitó durante 5 h a ta y entonces se diluyó con  $NH_4Cl$  (ac. sat). La mezcla se extrajo con  $EtOAc$ . La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida proporcionando el tetraol **51** (0,07 g, 0,14 mmol, 72%). **RMN  $^1H$  (250 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  = 7,09 (dd,  $J_r=10,9$  Hz,  $J_2=15,6$  Hz, 1H), 6,97 (bs, 2H), 6,83 (bs, 1H), 6,49 (d,  $J=15,6$  Hz, 1H), 6,18 (d,  $J=10,9$  Hz, 1H), 5,37 (bs, 1H), 5,05 (bs, 1H), 4,46 (t,  $J=5,5$  Hz, 1H), 4,15-4,27 (m, 1H), 2,47-2,66 (m, 6H), 2,25-2,39 (m, 2H), 1,96 (t,  $J=5,3$  Hz, 2H), 1,52-1,69 (m, 4H), 1,18 (bs, 12H); **HRMS (EI+):  $[M]^+$**  calculado para  $C_{32}H_{50}O_4$  498,3709, encontrado 498,3691;  $[\alpha]_D^{25} = +12,3^\circ$  ( $c=1,46$  en EtOH).

20 **ACTIVIDAD BIOLÓGICA****MÉTODOS Y RESULTADOS****Cultivo celular**

- 25 Las líneas celulares de adenocarcinoma mamario humano (MCF-7), de próstata (PC3), y de ovario (SKOV-3) se obtuvieron de la European Collection of Cell Cultures. La línea celular de queratinocitos HaCaT se obtuvo del Dr. Miguel Quintanilla (Departamento de Biología del Cáncer, IIB Alberto Sois, CSIC, Madrid). Las células se cultivaron en placas de 90 mm en medio de cultivo esencial DMEM, suplementado con un 10% de suero fetal bovino libre de hormonas esteroideas, 100 U/ml de penicilina, 100  $\mu$ g/ml de estreptomycin y 2 mM de aminoácidos no esenciales (L-glutamina) a 37°C en atmósfera húmeda  $O_2/CO_2$  (95/5%).

**Compuestos**

- 35 La 1,25-dihidroxitamina D3 (1,25D) y los diferentes análogos PG-136p; PG-152; PG-128; PG-156; PG-403; PG-385, y PG-433 se resuspendieron en etanol absoluto a una concentración de  $10^{-3}$  M, y a partir de esta solución, se obtuvieron las concentraciones usadas para cada experimento (desde  $10^{-5}$  hasta  $10^{-11}$  M).

**Afinidad de unión de 1,25D y sus análogos por el receptor de la vitamina D (VDR)**

- 40 La afinidad de la 1,25-dihidroxitamina D3 (1,25D) y sus análogos por VDR se determinó por ensayo de desplazamiento competitivo (Polarscreen Vitamin D receptor competitor assay, Red, Invitrogen). La fluorescencia polarizada se determinó en placas negras de 384 pocillos a 200 ms/pocillo utilizando un aparato Mithras LB 940 (Berthold Technologies). Los compuestos se evaluaron en un intervalo de concentraciones comprendido entre  $10^{-11}$  M –  $10^{-5}$  M, calculando la  $CI_{50}$  para 1,25D y cada análogo. La actividad de cada análogo se expresó como porcentaje en relación a la actividad de la hormona natural (1,25D), que se normalizó al 100%.

- 50 Los resultados obtenidos indican que, de los compuestos analizados, el compuesto PG-136p es el que presenta mayor afinidad por VDR ( $CI_{50}$ :  $7,11 \times 10^{-9}$ , 24%), en relación a la hormona 1,25D ( $CI_{50}$ :  $1,74 \times 10^{-9}$ , 100% unión). Los otros compuestos tienen el siguiente porcentaje de afinidad: PG-152: 10%, PG-128: 12%; PG-156: 9%, y PG-403: 7% (FIGURA 1; TABLA 1).





µl de dimetilsulfóxido (DMSO) a cada pocillo para solubilizar el formazán incorporado por las células. Finalmente se midió la absorbancia en cada pocillo en un lector automático de placas, a una longitud de onda de 590 nm.

5 Los resultados obtenidos indican que la proliferación celular en la línea MCF-7 tras el tratamiento con  $10^{-7}$  M de 1,25D es de 66% (100% en células control), y con los análogos: PG-136p: 65%; PG-152: 69%; PG-128: 74%; PG-156: 78%; PG-403: 69%; PG-385: 69%, y PG-433: 69% (FIGURA 3; TABLA 3).

TABLA 3. Porcentaje de proliferación celular en distintas líneas celulares de 1,25 D y análogos (100% células control).

10

Porcentaje de proliferación celular					
	MCF-7	MCF-7	PC-3	SKOV-3	HaCaT
Compuesto	2D (%)	3D (%)	2D (%)	2D (%)	2D (%)
1,25D	66	61	77	78	69
PG-136p	65	69	78	78	68
PG-152	69	74	83	82	71
PG-128	74	84	84	81	71
PG-156	78	79	80	76	74
PG-403	69	55	79	83	71
PG-385	69				
PG-433	69				

15

En la línea celular de cáncer de próstata PC-3, la proliferación celular tras el tratamiento con  $10^{-7}$  M de 1,25D es de 77% (100% en células control), y con  $10^{-7}$  M de los análogos: PG-136p: 78%; PG-152: 83%; PG-128: 84%; PG-156: 80%, y PG-403: 79% (FIGURA 4; TABLA 3).

En la línea celular de cáncer de ovario SKOV-3, la proliferación celular tras el tratamiento con  $10^{-7}$  M de 1,25D es de 78% (100% en células control), y con  $10^{-7}$  M de los análogos: PG-136p: 78%; PG-152: 82%; PG-128: 81%; PG-156: 76%, y PG-403: 83% (FIGURA 5; TABLA 3).

20

En la línea celular de queratinocitos HaCaT, la proliferación celular tras el tratamiento con  $10^{-7}$  M de 1,25D es de 69% (100% en células control), y con  $10^{-7}$  M de los análogos: PG-136p: 68%; PG-152: 71%; PG-128: 71%; PG-156: 74%, y PG-403: 71% (FIGURA 6; TABLA 3).

25

Para el cultivo celular en 3D, se utilizó un fondo de 200 µl de Matrigel (BD Biosciences) en cada uno de los pocillos de placas multipocillo de 24. Se incubaron a 37°C durante 20 minutos para que solidificasen y posteriormente se cargó sobre el matrigel solidificado la suspensión celular ( $5 \times 10^3$  células por cada 100 µl de volumen de medio) y se realizó otra incubación a 37 °C durante 30 minutos para que las células penetrasen correctamente en la base de matrigel. Se añadieron 500 µl de medio DMEM a cada pocillo, y las células se mantuvieron en cultivo durante 10 días. Transcurrido este tiempo, se empezaron a tratar las células con cada uno de los 5 análogos utilizados y con 1,25D. Pasados otros 10 días se realizaron fotografías de los pocillos con un microscopio (Nikon eclipse Ti-S) equipado con una cámara ProgRes C3 y se cuantificó el diámetro de las esferas manualmente.

30

35

Los resultados obtenidos indican que la proliferación-crecimiento celular en 3D en la línea MCF-7 tras el tratamiento con  $10^{-7}$  M de 1,25D fue de 61% (100% en células control), y con  $10^{-7}$  M de los análogos: PG-136p: 69%; PG-152: 74%; PG-128: 84%; PG-156: 79%, y PG-403: 55% (FIGURA 7; TABLA 3).

### Efectos calcémicos

40

La movilización de calcio de los análogos se determinó en 28 ratones macho CD-1 (edad entre 6-8 semanas). Se establecieron 6 grupos de 4 ratones a los cuales se les inyectaron 0,3 µg/kg peso de cada análogo o 1,25D disueltos por vía intraperitoneal (i.p.) en aceite de sésamo cada dos días durante 3 semanas. Un séptimo grupo de 4 ratones tratados con el vehículo (aceite de sésamo) sirvió como control. Los niveles de calcio en sangre se determinaron por medio de *QuantiChomCalciumAssay Kit* (BioAssaySystems, Flayward, CA, USA). Además, se realizó un ensayo de dosis-respuesta para valorar el efecto de la administración de los análogos PG136p y PG-403 y la hormona (1,25D) a distintas dosis sobre los niveles de calcio. Este ensayo se realizó en ratones macho (5 ratones por grupo), y las dosis utilizadas fueron: 0,1, 0,5, 1, y 5 µg/kg peso de cada uno de los análogos o de 1,25D, administradas i.p. cada dos días

45

durante 21 días. Además, se utilizó un grupo control (ratones tratados con aceite de sésamo).

Los resultados obtenidos en el primer ensayo indican que el tratamiento con 1,25D a dosis de 0,3 µg/kg peso induce un significativo incremento de calcio en sangre (14,7±0,58 mg/dl) en relación a los ratones tratados con vehículo (11,9±0,7 mg/dl) (FIGURA 8, TABLA 4). Los niveles de calcio en sangre en los ratones tratados con los análogos, expresados en porcentaje con respecto al inducido tras el tratamiento con 1,25D, fueron: PG-136p:0%; PG-152: 41%; PG-128: 34%; PG-156: 0%; PG-403: 0%; PG-385: 9%, y PG-433: 8% (FIGURA 8; TABLA 4).

TABLA 4. Actividad calcémica de 1,25D y análogos en ratones inyectados con 0,3 µg/kg peso cada dos días durante 21 días.

	Actividad calcémica
Compuestos	%
1,25D	100
PG-136	0
PG-152	41
PG-128	34
PG-156	0
PG-403	0
PG-385	9
PG-433	8

Los resultados obtenidos en el segundo ensayo de dosis-respuesta (valoración de calcemia con distintas concentraciones de 1,25D y los análogos PG136p y PG-403), indican que 1,25D induce un incremento significativo en la calcemia (con respecto a los controles) a dosis de 0,5 µg/kg peso. Ninguno de los dos análogos analizados (PG136p y PG-403) induce aumento de calcemia (respecto a los controles) a ninguna dosis utilizada (0,1, 0,5, 1, y 5 µg/kg peso) (FIGURA 9). En este experimento, se cuantificó también el peso de los animales, para ver si había modificación a lo largo del tratamiento. Mientras que el tratamiento con 1,25D a dosis de 0,5 µg/kg peso produjo una disminución significativa en el peso de los animales, el tratamiento con los análogos PG136p y PG-403 a la misma dosis o a dosis superiores (1 y 5 µg/kg peso), no modificó significativamente el peso corporal de los ratones (FIGURA 10).

### **Transferencia Western**

Para valorar la expresión proteica de genes regulados por 1,25D tras la administración de los análogos, se realizaron siembras de MCF-7 en placas Petri que se trataron durante 48 h a concentraciones diferentes con cada análogo o con 1,25D ( $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ). Posteriormente se realizó una extracción proteica que se utiliza para la electroforesis. Cada muestra se resuspendió en tampón de canga compuesto por 50 mM Tris-HCl pH 6,8, 2% SDS, 2% de β-mercaptoetanol y azul de bromofenol. Las muestras se cargaron en un gel de SDS-PAGE al 12% y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa durante 2 horas a 4°C. Tras bloqueo con PBS (al que se le añadió 0,1 g de caseína y 0,1% de Tween 20 durante 1 hora a temperatura ambiente), las membranas se incubaron toda la noche a 4°C con anticuerpos policlonales anti-p21, anti-p27 y anti-p53. Para los compuestos PG-385 y PG-433 se realizó una transferencia Western con E-cadherina.

Después de varios lavados con tampón PBST, se incubó con un segundo anticuerpo *anti-IgG anti-Ig de conejo* (1:5000) conjugado con peroxidasa durante 1 hora a temperatura ambiente. La membrana se volvió a lavar 5 veces con tampón PBST y finalmente se añadió el reactivo de quimioluminiscencia (Pierce, sustrato ECL para transferencia Western) para su marcaje. El inmunomarcaje se detectó utilizando placas de autorradiografía.

Los resultados obtenidos indican que, al igual que 1,25D, todos los análogos utilizados a dosis de  $10^{-7}$  M inducen la expresión proteica de p53, p27 y p21 (FIGURA 11 A) que, como se ha comentado, son genes diana de 1,25D implicados en el control del ciclo celular (p21 y p27) y en muerte celular/reparación del ADN (p53). Para los compuestos PG-385 y PG-433 se utilizó E-cadherina como gen diana de 1,25D (FIGURA 11B).

### **Análisis estadístico**

Los valores resultantes para cada experimento se expresan como media ±desviación estándar. Los resultados se compararon mediante el análisis de la varianza de un factor, también denominado como ANOVA, utilizando un nivel de significación de  $p<0,05$ .

**Actividad biológica antitumoral in vivo**

5 Para estudiar la actividad antitumoral del análogo PG136 *in vivo* se utilizaron 32 ratones hembra inmunodeprimidos CB17-Prkdcscld, llamados SCID (PRBB, Barcelona, España) de 8 semanas de edad. Estos ratones se inyectaron de forma subcutánea con  $5 \times 10^6$  células tumorales de mama MCF-7 y MDA-MB-231 transfectadas de forma estable con el plásmido pcDNA3-Luciferasa que codifica para el gen de la luciferasa (llamadas MCF-7-Luc y MDA-MB-231-Luc). Dos grupos de 8 ratones se inyectaron con células MCF-7-Luc y otros 2 grupos de 8 ratones con células MDA-MB-231-Luc. Quince días después de la inyección los ratones se comenzaron a tratar de forma intraperitoneal cada 2 días durante 28 días con el análogo PG136 a una dosis de 5Dg/kg disuelto en aceite de sésamo usado como vehículo. El grupo control se trata de la misma forma e intervalo con aceite de sésamo. El tamaño tumoral se determina cada siete días una vez comenzado el tratamiento usando un sistema de obtención de imágenes in vivo (IVIS, Caliper Life Sciences, Alameda, USA), y el tamaño tumoral se calcula mediante un mapa de intensidades obtenido usando el software Living Image (Caliper Life Sciences). En el caso de los 2 grupos de ratones inyectados con células MDA-MB-231-Luc el experimento se continuó hasta el día 60 y se realizaron cálculos de supervivencia Kaplan-Meier.

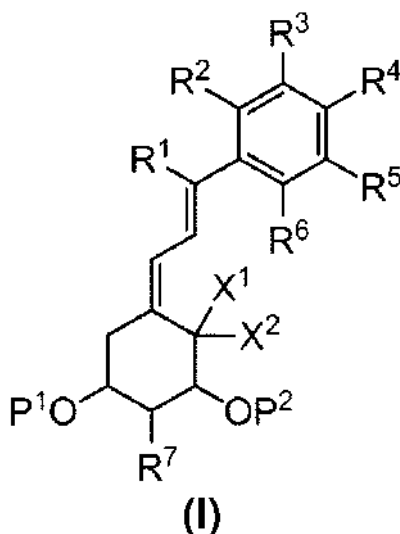
10

15

20 Los resultados obtenidos indican que los tumores generados en ratones inyectados con células MCF-7-Luc y MDA-MB-231-Luc tienen menor volumen ( $p < 0,05$  y  $p \leq 0,0001$  respectivamente) cuando son tratados con el análogo PG136 (Figura 12 y Figura 13) con respecto al grupo control inyectado con células MDA-MB-231-Luc y tratados con el vehículo. Además, los ratones inyectados con células MDA-MB-231-Luc y tratados con el análogo PG136 poseen una mayor tasa de supervivencia ( $p = 0.042$ ) que los ratones control (figura 14).

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I), o uno de sus estereoisómeros, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo,



5

en el que cada uno de  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$  y  $R^7$ , se selecciona Independientemente de entre hidrógeno, alquilo ( $C_1-C_{12}$ ), hidroxialquilo ( $C_1-C_{12}$ ), alqueno ( $C_2-C_{12}$ ), hidroxialqueno ( $C_2-C_{12}$ ), alquino ( $C_2-C_{12}$ ), hidroxialquino ( $C_2-C_{12}$ ), heteroalquilo ( $C_1-C_{12}$ ), heteroalqueno ( $C_2-C_{12}$ ), heteroalquino ( $C_1-C_{12}$ ), arilo ( $C_6-C_{10}$ ), heteroarilo ( $C_3-C_{15}$ ), aril ( $C_6-C_{10}$ ) alquilo ( $C_1-C_{12}$ ), alquilacilo ( $C_1-C_{12}$ ), arilacilo ( $C_6-C_{10}$ ), alcoxilo ( $C_1-C_{12}$ ), ariloxilo ( $C_6-C_{10}$ ), alquilcarboxi ( $C_1-C_{12}$ ), arilcarboxi ( $C_6-C_{10}$ ), carbociclo ( $C_1-C_{12}$ ) y heterociclo ( $C_3-C_{15}$ ), en donde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$  y  $R^7$  están opcionalmente sustituidos por hidrógeno, alquilo ( $C_1-C_{12}$ ) o hidroxialquilo ( $C_1-C_{12}$ ),  $X^1$  y  $X^2$  son hidrógeno o bien forman conjuntamente con el átomo de carbono al que están unidos un grupo metileno ( $=CH_2$ ), y cada uno de  $P^1$  y  $P^2$  se selecciona, independientemente entre hidrógeno, alquilo ( $C_1-C_{12}$ ), arilo ( $C_6-C_{10}$ ), y  $-SiR^aR^bR^c$ , en donde cada uno de  $R^a$ ,  $R^b$  y  $R^c$  se selecciona entre alquilo ( $C_1-C_{12}$ ), arilo ( $C_6-C_{10}$ ), alquilo ( $C_1-C_{12}$ ), alcoxilo ( $C_1-C_{12}$ ), ariloxilo ( $C_6-C_{10}$ ) y heterociclo ( $C_3-C_{15}$ ), en donde entre 1 y 9 átomos de hidrógeno del compuesto de fórmula (I) están opcionalmente sustituidos por isótopos de hidrógeno, deuterio ( $^2H$ ) o tritio ( $^3H$ ), y/o entre 1 y 9 átomos de carbono del compuesto de fórmula (I) están opcionalmente sustituidos por isótopos  $^{11}C$ ,  $^{13}C$ ,  $^{14}C$ .

20

2. El compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, en el que cada uno de  $R^1$  y  $R^5$  se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo ( $C_1-C_{12}$ ) e hidroxialquilo ( $C_1-C_{12}$ ) y  $R^3$  se selecciona de entre alquilo ( $C_1-C_{12}$ ) e hidroxialquilo ( $C_1-C_{12}$ )

o

25 en donde  $R^1$  es alquilo ( $C_1-C_{12}$ ) y  $R^3$  es hidroxialquilo ( $C_1-C_{12}$ ).

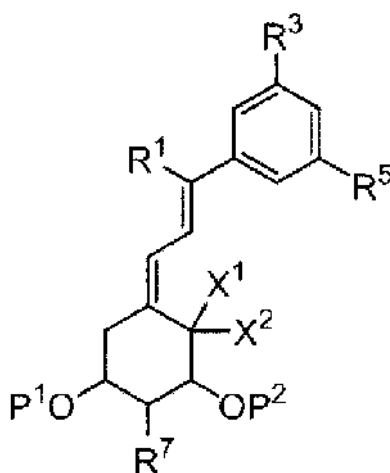
3. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que  $R^7$  es hidrógeno;

o

en el que  $R^2$ ,  $R^4$  y  $R^6$  son hidrógeno.

30

4. El compuesto de fórmula (Ia) según la reivindicación 1,



(Ia)

en la que R<sup>1</sup> es hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) o hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>),  
 R<sup>3</sup> es hidrógeno o hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), R<sup>5</sup> es hidrógeno o hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>),  
 R<sup>7</sup> es hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) o hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), y  
 X<sup>1</sup> y X<sup>2</sup>, P<sup>1</sup> y P<sup>2</sup> son como se han definido en la reivindicación 1.

5. El compuesto de fórmula (I) o (Ia), según las reivindicaciones 1 o 4, respectivamente, en donde al menos uno de R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>5</sup> es un hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) ramificado.

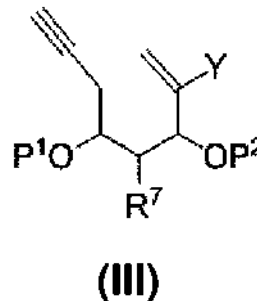
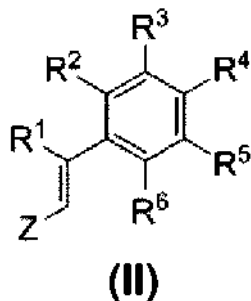
6. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por** que comprende un marcaje isotópico.

7. El compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, seleccionado entre el grupo que consiste de:

- (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)pent-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuterometilheptil)fenil)pent-2-eniliden)-4-  
 metilenciclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)hex-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuterometilheptil)fenil)hex-2-eniliden)-4-  
 metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)hept-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)hept-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-  
 1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)non-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)non-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-  
 diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)dec-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)dec-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-  
 diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-9-hidroxi-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)-9-metildec-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-9-hidroxi-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)-9-metildec-2-eniliden)-4-  
 metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-9-hidroxi-3-(3-(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)-9-metildec-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-9-hidroxi-3-(3-(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)-9-metildec-2-eniliden)-4-  
 metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3,5-bis(6-hidroxi-6-metilheptil)fenil)aliliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3,5-bis(7,7,7-trideutero-6-hidroxi-6-trideuteroheptil)fenil)aliliden)-4-metilenociclohexano-1,3-  
 diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(5-hidroxi-5-metilhexil)fenil)pent-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6,6,6-trideutero-5-hidroxi-5-trideuterohexil)fenil)pent-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-  
 diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(5-hidroxi-5-metilhexil)fenil)hept-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-diol,  
 (1R,3S,Z)-5-((E)-3-(3-(6,6,6-trideutero-5-hidroxi-5-trideuterohexil)fenil)hept-2-eniliden)-4-metilenociclohexano-1,3-  
 diol.

8. Un procedimiento para preparar compuestos de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1,

(i) en el que X<sup>1</sup> y X<sup>2</sup> son metileno, que comprende un acoplamiento de los compuestos (II) y (III) en presencia de un catalizador metálico, que se selecciona de entre Pd(OAc)<sub>2</sub>, PdCl<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd(dba)<sub>2</sub>, Ni(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, (Ph<sub>3</sub>P)<sub>2</sub>PdCl<sub>2</sub>, compuestos de Cu y compuestos de Hf



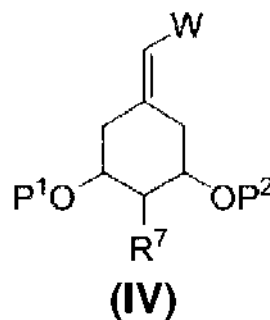
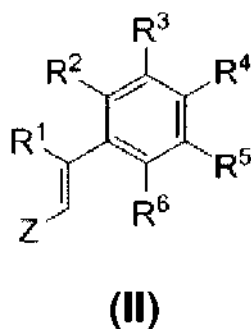
5

en los que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, P<sup>1</sup> y P<sup>2</sup> son como se han definido en la reivindicación 1, Y es un halógeno o un grupo atractor de carga seleccionado del grupo que comprende alquilsulfonato, arilsulfonato, triflato y fosfato, y Z se selecciona de entre haluro de indio, dialquilindio (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), diarillitio (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), alquil (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) arilindio (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), haluro de cinc, dialquilboro (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>) y dialcoxiboro(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>)

10

o  
(ii) que comprende un acoplamiento de los compuestos (II) y (IV) en presencia de un catalizador metálico, que se selecciona entre Pd(OAc)<sub>2</sub>, PdCl<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd(dba)<sub>2</sub>, Ni(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, (Ph<sub>3</sub>P)<sub>2</sub>PdCl<sub>2</sub>, compuestos de Cu y compuestos de Hf,

15



Z se selecciona entre cloro, bromo y yodo, W se selecciona entre alquilsulfonato (C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), arilsulfonato (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), halógeno, fosfato y SiR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, y en el que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, P<sup>1</sup>, P<sup>2</sup>, R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup> y R<sup>c</sup> son como se han definido en la reivindicación 1.

20

9. Uso de un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido en la reivindicación 6, como patrón interno en técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

25

10. Compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido en la reivindicación 6, para su uso en la preparación de un radiofármaco.

30

11. Compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en un medicamento.

35

12. Compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en el tratamiento de enfermedades o dolencias relacionadas con la deficiencia de vitamina D, o para su uso en el tratamiento de la psoriasis, diabetes, enfermedades autoinmunitarias, degenerativas, endocrinológicas, cardiovasculares, metabólicas, infecciosas o tumorales.

40

13. Compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en el tratamiento de enfermedades neoplásicas.

45

14. Una combinación de al menos un compuesto de fórmula (I), como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, y al menos un compuesto antineoplásico.

15. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, junto con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

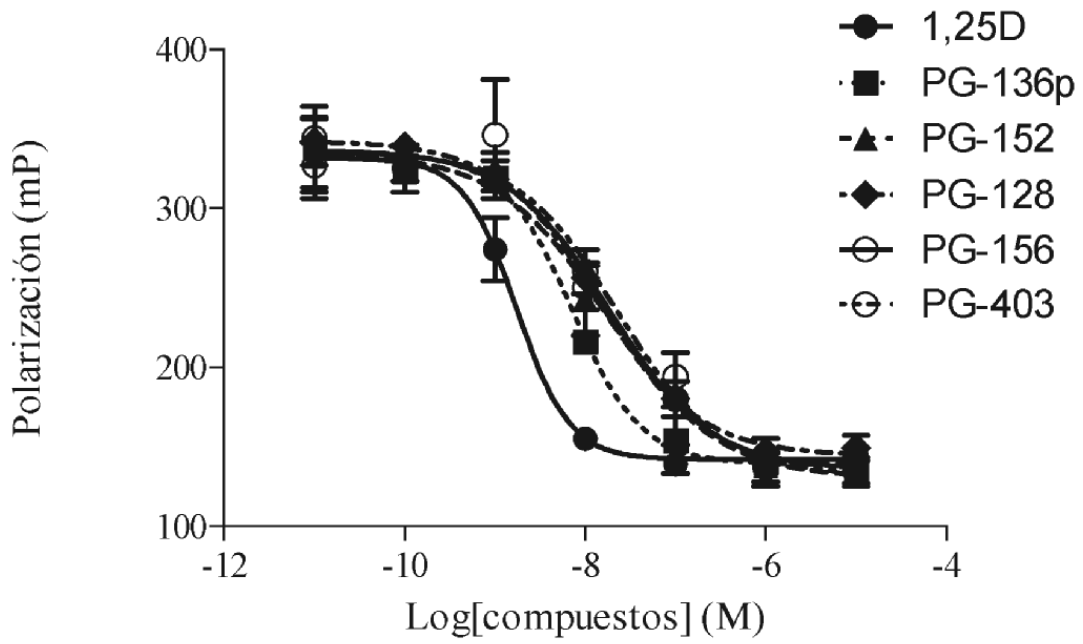


Figura 1

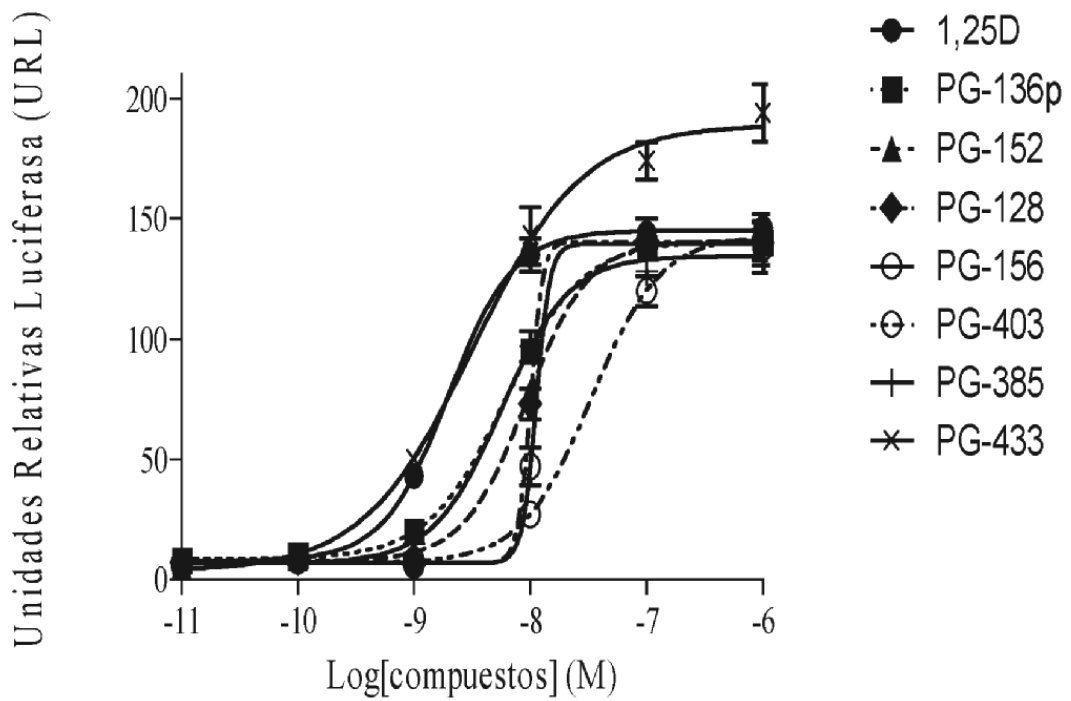


Figura 2

Células MCF-7

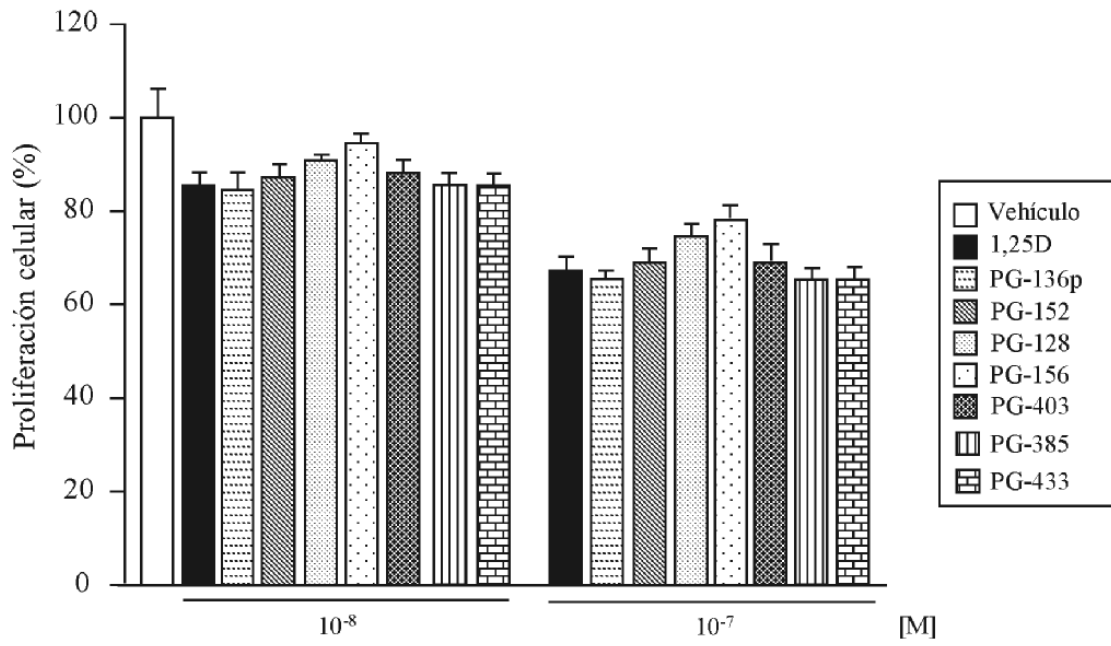


Figura 3

Células PC3

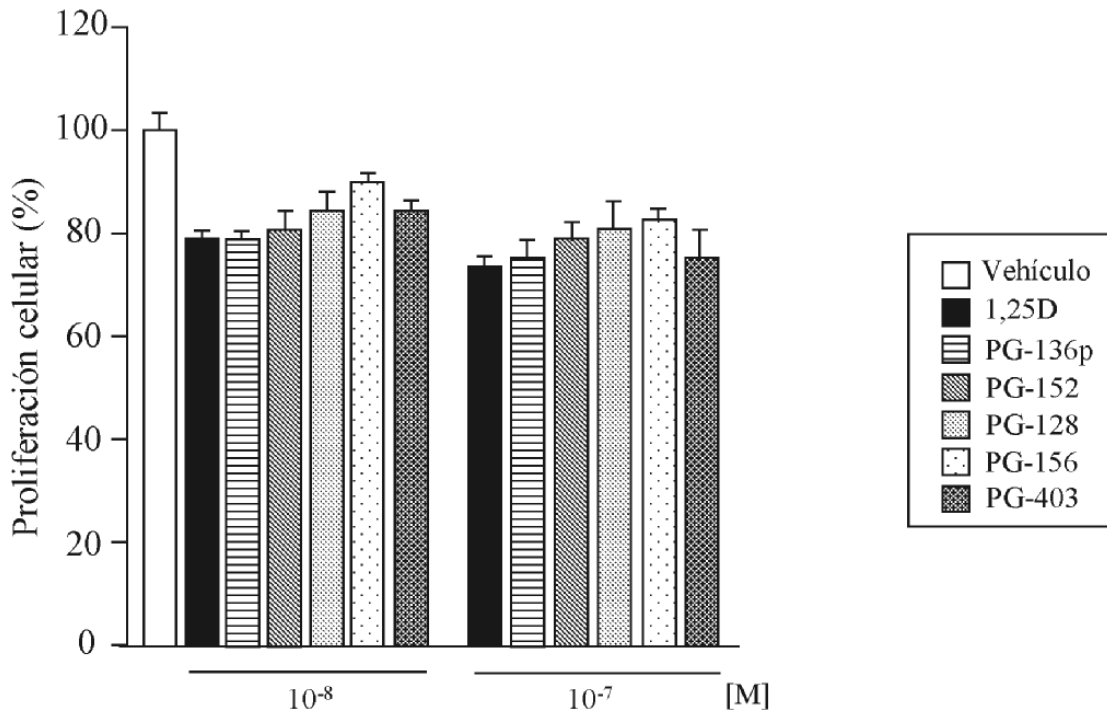
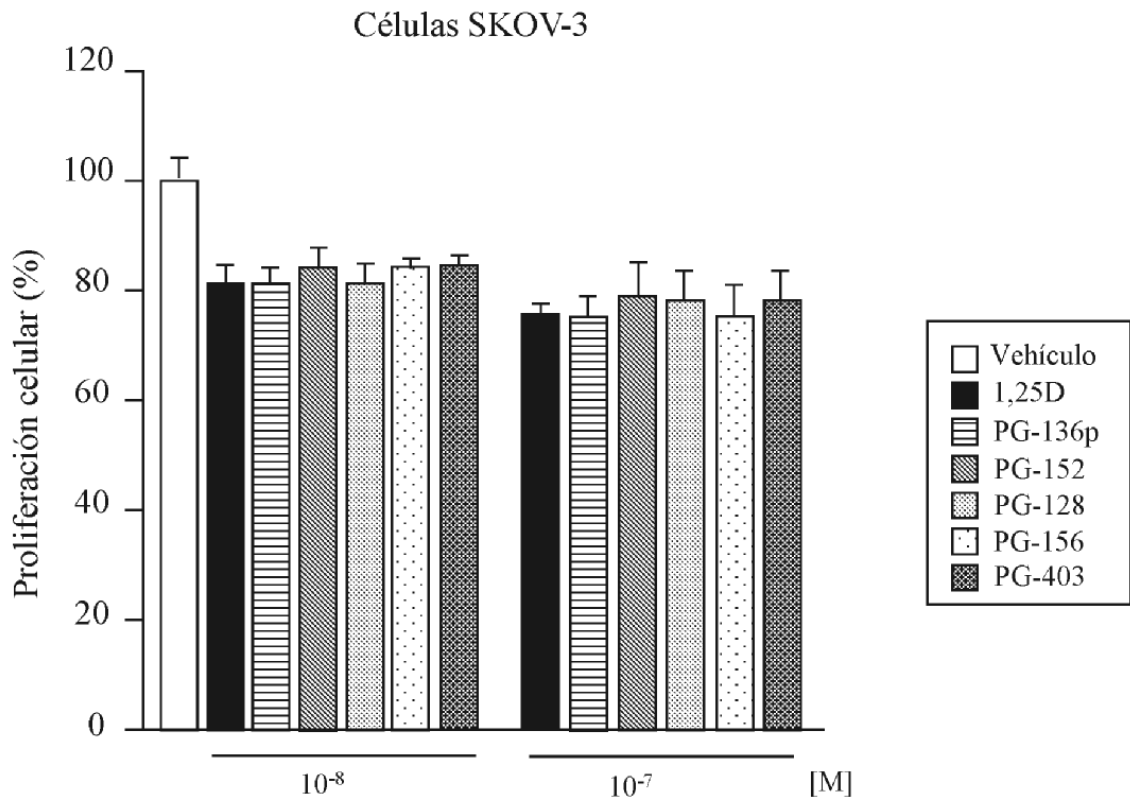
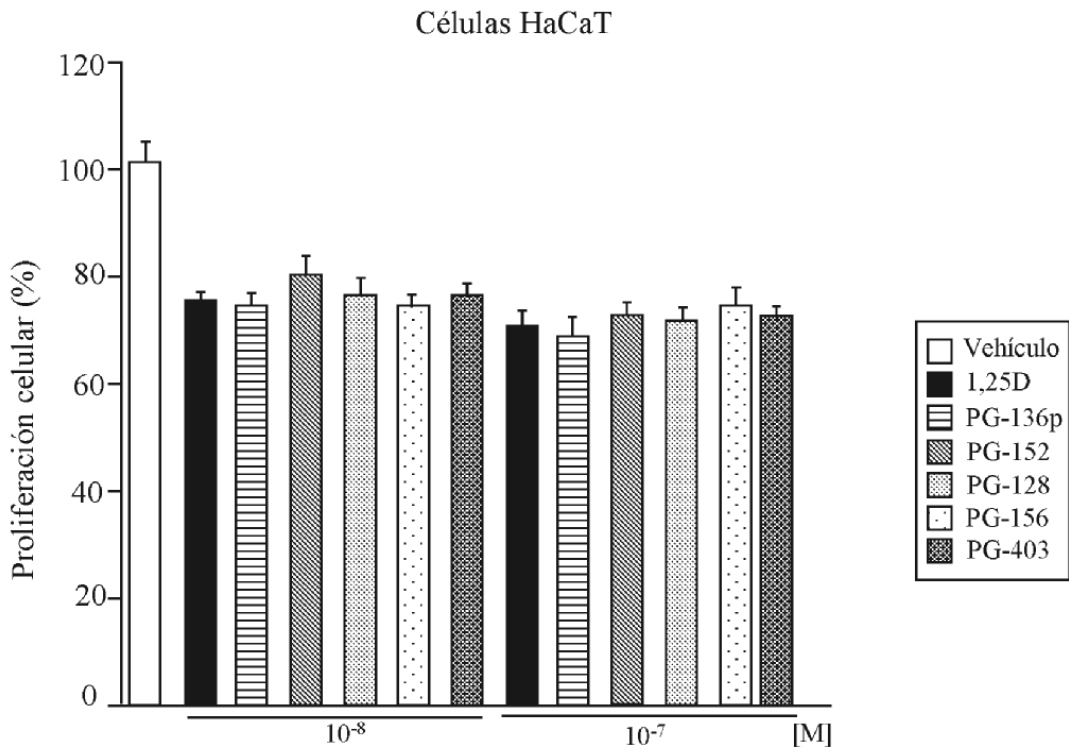


Figura 4





**Figura 5**



**Figura 6**

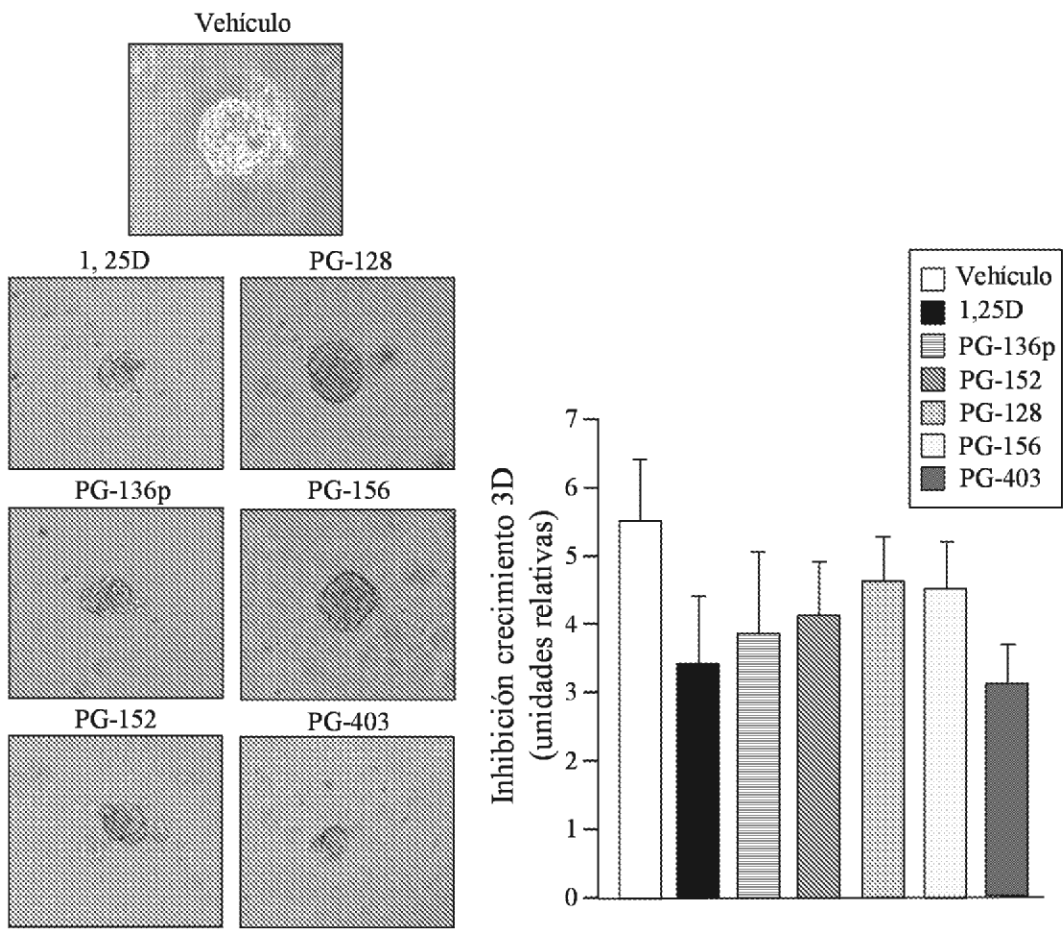


Figura 7

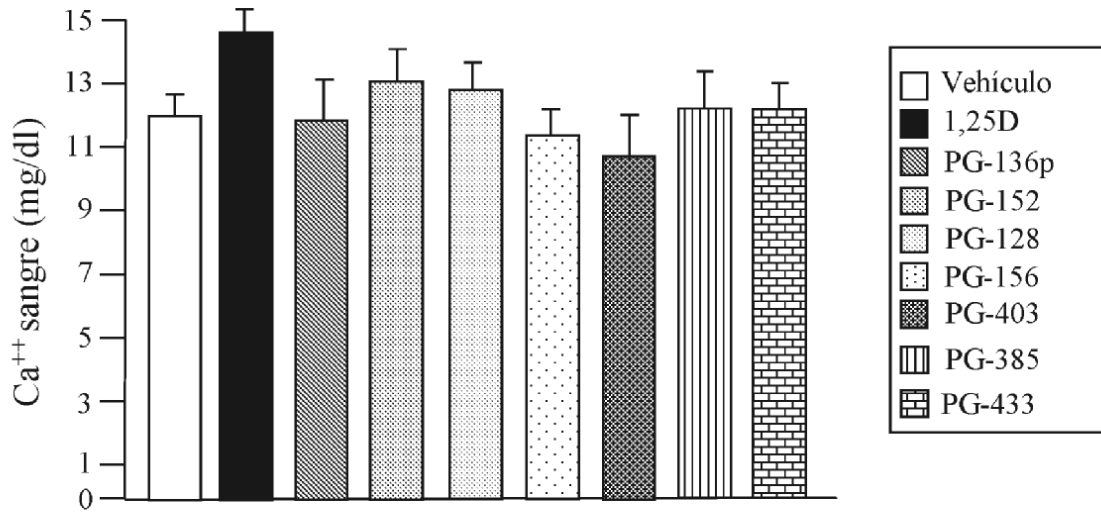


Figura 8

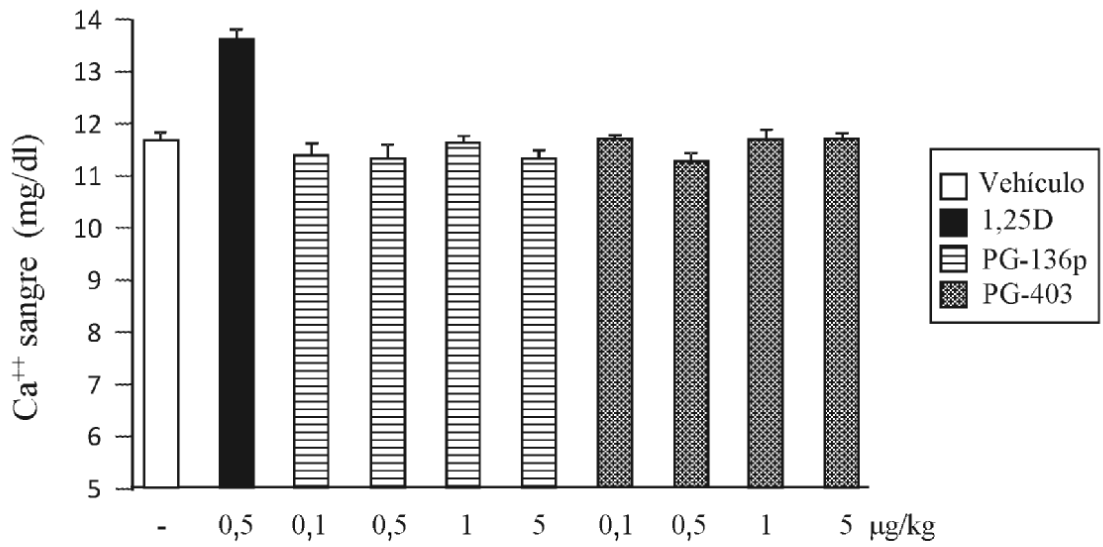


Figura 9

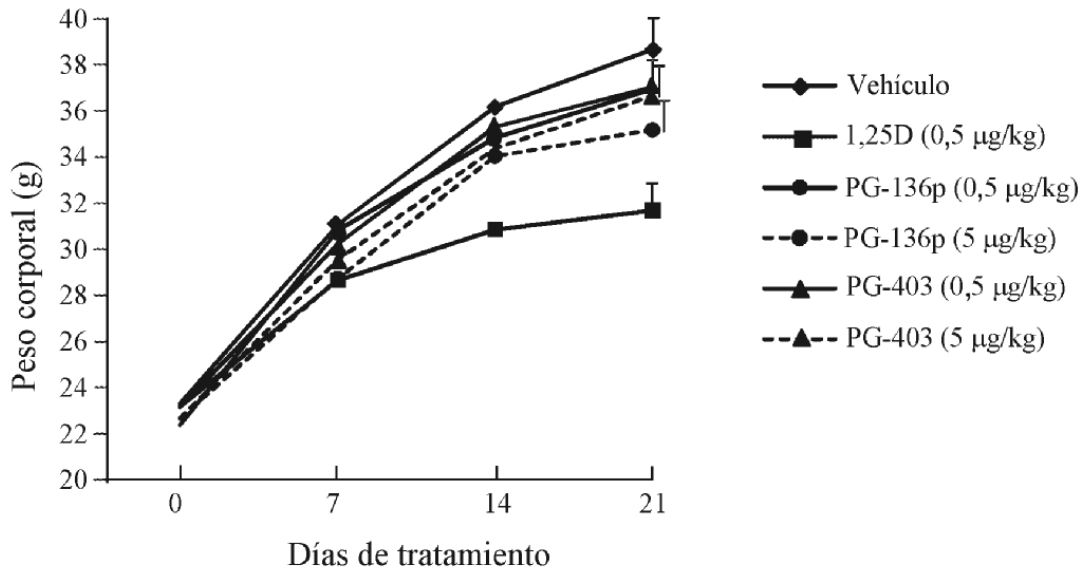


Figura 10

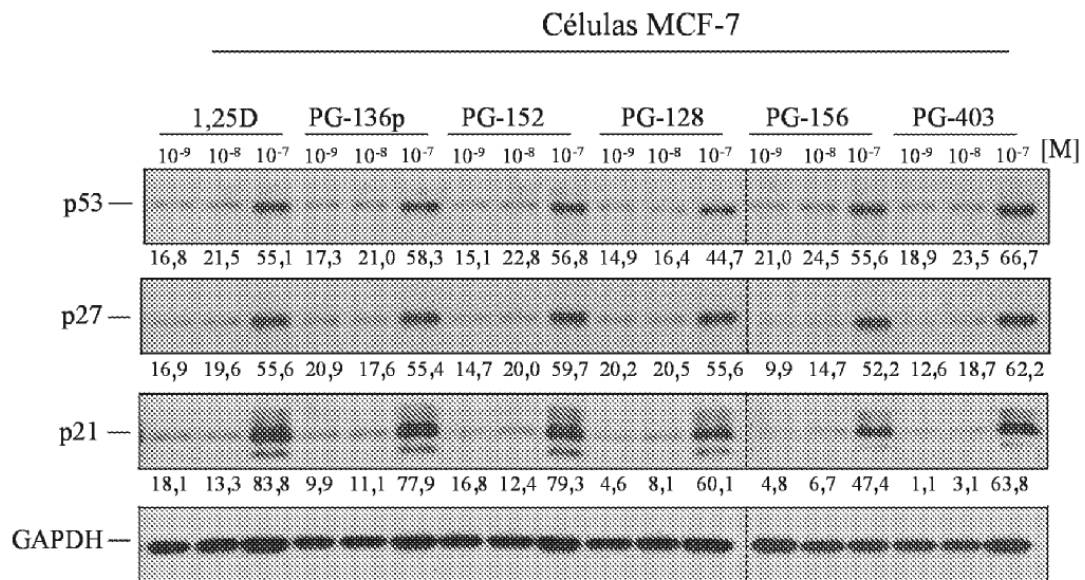


Figura 11A

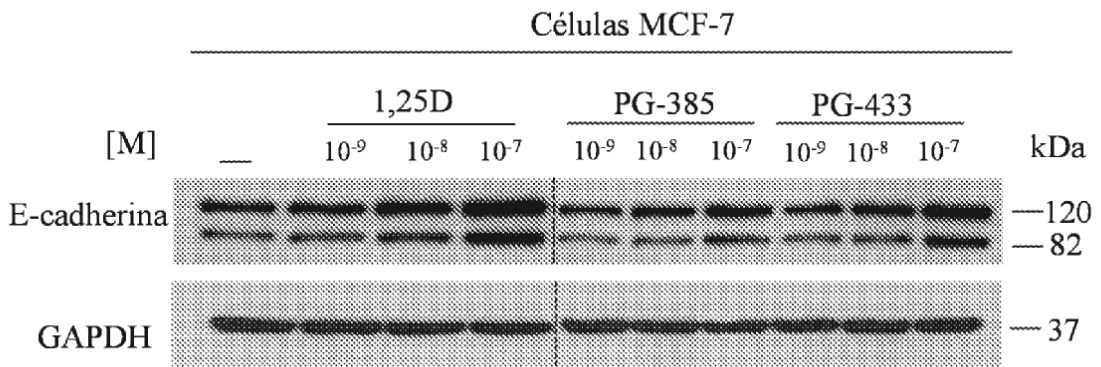


Figura 11B

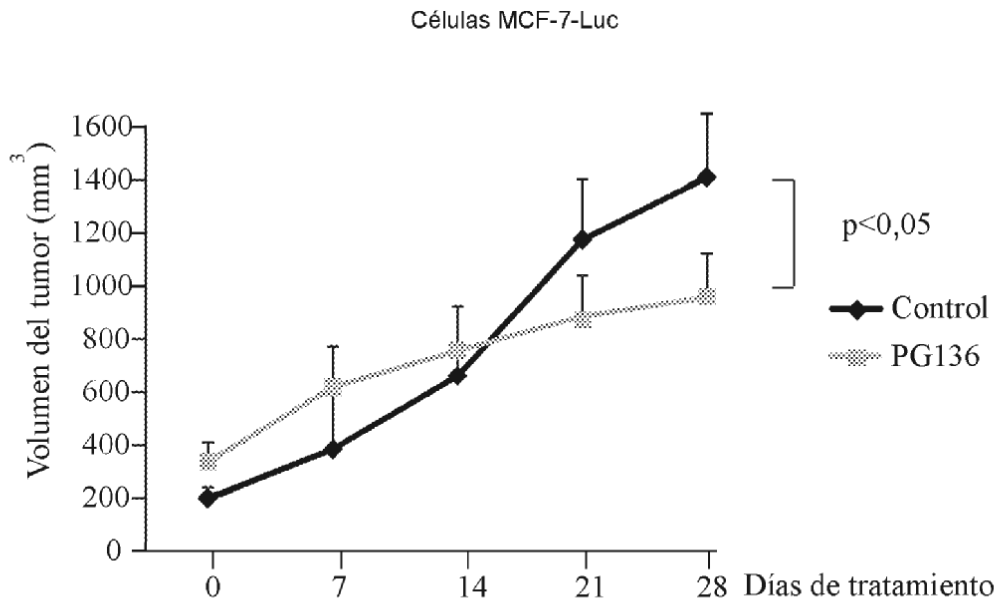


Figura 12

Células MDA-MB-231-Luc

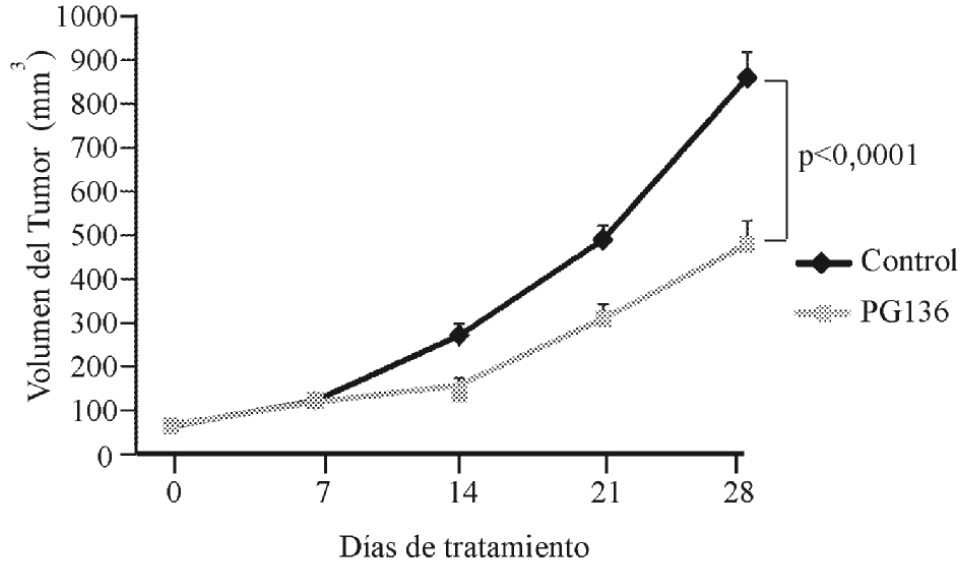


Figura 13

Supervivencia en ratones inyectados con MDA-MB-231-Luc

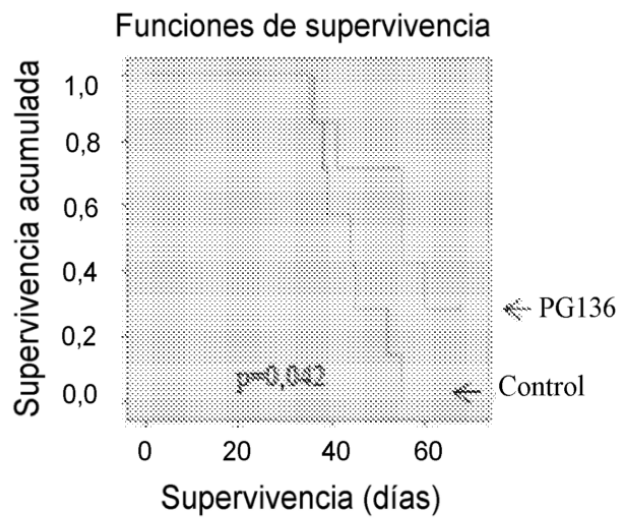


Figura 14