

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 486 840**

51 Int. Cl.:

C07J 41/00 (2006.01)

C07J 9/00 (2006.01)

C07J 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.1997 E 03011093 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.04.2014 EP 1389623**

54 Título: **Síntesis estereoselectiva de compuestos 24-hidroxilados útiles para preparar aminoesteroles, análogos de vitamina D y otros compuestos**

30 Prioridad:

06.12.1996 US 32378 P

05.12.1997 US 985876

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

19.08.2014

73 Titular/es:

**OHR PHARMACEUTICAL, INC. (100.0%)
489 5th Avenue, 28th Floor
New York, NY 10017, US**

72 Inventor/es:

**KINNEY, WILLIAM A.;
JONES, STEVEN;
ZHANG, XUEHAI;
RAO, MEENA N.;
BULLIARD, MICHEL;
MECKLER, HAROLD y
LEE, NANCY**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 486 840 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

Síntesis estereoselectiva de compuestos 24-hidroxilados útiles para preparar aminoesteroles, análogos de vitamina D y otros compuestos.

5

Antecedentes de la invención

Se han aislado varias composiciones de aminoesteroles del hígado del tiburón mielga, *Squalus acanthias*. Un aminoesterol importante es la escualamina (24-sulfato de 3 β -(N-[3-aminopropil]-1,4-butanodiamina)-7 α ,24 ζ -dihidroxi-10 5 α -colestano), cuya estructura química se muestra en la figura 1. Este aminoesterol, que incluye un grupo sulfato en la posición C-24, es el objeto de la patente de EE.UU. n° 5.192.756 de Zasloff, y col. Esta patente describe propiedades antibióticas de la escualamina.

Sin embargo, desde el descubrimiento de la escualamina, se han descubierto varias otras propiedades interesantes de este compuesto. Por ejemplo, como se describe en las solicitudes de patente de EE.UU. n° 08/416.883 (presentada el 20 de abril, 1995) y 08/478.763 (presentada el 7 de junio, 1995), la escualamina puede funcionar como un agente antiangiogénico.

Se describen usos adicionales de la escualamina (p. ej., como un agente para inhibir la NHE3 y como un agente para inhibir el crecimiento de células endoteliales) en la solicitud de patente de EE.UU. n° 08/474.799 (presentada el 7 de junio, 1995) y la solicitud de patente de EE.UU. n° 08/840.706 (presentada el 25 de abril, 1997).

Se han inventado procedimientos para sintetizar la escualamina, tales como los procedimientos descritos en el documento WO 94/19366 (publicado el 1 de septiembre, 1994).

25

Esta solicitud PCT se refiere a la solicitud de patente de EE.UU. n° 08/023.347. Además, la solicitud de patente de EE.UU. n° 08/474.799 también describe el aislamiento de la escualamina y técnicas de síntesis.

A partir del descubrimiento de la escualamina, se han descubierto otros aminoesteroles en el hígado del tiburón mielga y se han investigado. Un aminoesterol importante que se ha aislado e identificado tiene la estructura mostrada en la figura 2. En esta solicitud, el compuesto que tiene la estructura mostrada en la figura 2 se denominará "compuestos 1436" o simplemente "1436". Este compuesto tiene la fórmula molecular general C₃₇H₇₂N₄O₅S y un peso molecular calculado de 684,53017. Como la escualamina, este aminoesterol tiene un grupo sulfato en la posición C-24.

35

El compuesto 1436 se ha descrito previamente en las solicitudes de patente de EE.UU. n° 08/483.057 y 08/487.443, presentada cada una el 7 de junio, 1995.

Como se describe además en estas solicitudes de patente, el compuesto 1436 tiene una variedad de propiedades interesantes. Por ejemplo, el compuesto 1436 inhibe la proliferación de linfocitos T humanos, así como la proliferación de una amplia variedad de otras células y tejidos. Se describen usos adicionales del compuesto 1436 en la solicitud de patente provisional de EE.UU. n° 60/017.627 (presentada el 17 de mayo, 1996) y las solicitudes de patente de EE.UU. presentadas posteriormente n° 08/857.288 presentada el 16 de mayo, 1997 y 08/962.290 presentada el 31 de octubre, 1997.

45

Las solicitudes de patente de EE.UU. n° 08/483.057 y 08/487.443 describe la estructura del compuesto 1436, así como procedimientos para sintetizar y aislar el compuesto. Por ejemplo, como se describe en estas solicitudes, el compuesto 1436 se puede preparar a partir de un material de partida de escualamina.

50 Cuando la escualamina se aísla del hígado del tiburón mielga, el grupo sulfato está situado en la posición C-24, y no es difícil proporcionar el grupo sulfato en esta posición de una forma estereoselectiva. Igualmente, cuando el compuesto 1436 deriva de un material de partida de escualamina, el grupo sulfato ya está en la posición C-24, y por lo tanto, no es difícil obtener una estructura estereoselectiva en la posición C-24.

55 Sin embargo, se han encontrado dificultades cuando se intenta proporcionar un procedimiento para sintetizar escualamina o el compuesto 1436 a partir de materiales de partida disponibles en el comercio (es decir, no de aislados de hígado de tiburón). Estas dificultades incluyen rendimientos generales bajos del producto esteroide deseado, porque están implicadas muchas etapas en el procedimiento sintético. Se encuentran dificultades adicionales para proporcionar un grupo sulfato en la posición C-24. En particular, es difícil proporcionar el grupo

sulfato en la posición C-24 en una orientación altamente estereoselectiva. Véase, por ejemplo, Pechulis, y col., "Synthesis of 24 ξ -Squalamine, an Anti-Infective Steroidal Polyamine," *J. Org. Chem.*, 1995, Vol. 60, pp. 5121-5126; y Moriarty, y col., "Synthesis of Squalamine. A Steroidal Antibiotic from the Shark," *Tetrahedron Letters*, Vol. 35, No. 44, (1994), pp. 8103-8106.

5

Esta invención busca superar estas dificultades en la síntesis de la escualamina y el compuesto 1436.

La escualamina y el compuesto 1436 no son los únicos compuestos de interés que incluyen un sustituyente específico en una orientación estereoespecífica en la posición C-24. Por ejemplo, las solicitudes de patente indicadas antes describen muchos compuestos de aminoesterol diferentes que tienen diferentes sustituyentes en C-24. Como otro ejemplo de esteroide, el cerebrosterol, incluye un grupo hidroxilo en una orientación *S* en la posición C-24. MC 903, un análogo de 1,24-dihidroxitamina D, también incluye un grupo hidroxilo en una orientación *S* en la posición 24. La 1 α ,24(R)-dihidroxitamina D₃ incluye un grupo hidroxilo en una orientación *R* en la posición 24. Las estructuras químicas del cerebrosterol, MC 903 y 1 α ,24(R)-dihidroxitamina D₃ se muestran en las figuras 3A, 3B y 3C, respectivamente.

Debido a la importancia de la escualamina, el compuesto 1436, otros aminoesteroles, esteroides 24*R* y 24*S* hidroxilados y metabolitos de la vitamina D₃, ha habido un interés considerable en la preparación de compuestos con una orientación estereoespecífica única en la posición C-24. Se describen procedimientos para producir escualamina y el compuesto 1436 en los documentos de patente indicados antes. Estos procedimientos aunque son eficaces en la producción de escualamina y el compuesto 1436, no permiten la producción a gran escala de los materiales de aminoesterol deseados, debido a que se obtienen rendimientos relativamente bajos mediante estos procedimientos.

Otros investigadores han desarrollado procedimientos para producir de forma estereoselectiva cerebrosterol, MC 903 y 1 α ,24(R)-dihidroxitamina D₃. Se describe un procedimiento para producir cerebrosterol en Koch, y col., "A Stereoselective Synthesis and a Convenient Synthesis of Optically Pure (24*R*)- and (24*S*)-24 hydroxycholesterols," *Bulletin de la Societe Chimique de France*, 1983, (No. 7-8), Vol. II, pp. 189-194. Se describe un procedimiento para producir MC 903 en Calverley, "Synthesis of MC 903, a Biologically Active Vitamin D Metabolite Analogue," *Tetrahedron*, 1987, Vol. 43, No. 20, pp. 4609-4619. Se describe un procedimiento para producir 1 α ,24(R)-dihidroxitamina D₃ en Okamoto, y col. "Asymmetric Isopropylation of Steroidal 24-Aldehydes for the Synthesis of 24(R)-Hydroxycholesterol", *Tetrahedron: Asymmetry*, 1995, Vol. 6, No. 3, pp. 767-778.

Un procedimiento, como se describe en los artículos indicados antes, ha sido reducir un sistema 22-eno-24-ona de una forma estereoselectiva. Este esquema se ilustra en la figura 4A. El sistema 22-eno-24-ona (material **B** de la figura 4A) se puede producir en una sola etapa a partir del correspondiente 22-aldehído (material **A**) usando un reactivo de Wittig adecuado (preparado en 2 etapas). Por lo tanto, si este procedimiento de reducción fuera estereoselectivo, este sería un procedimiento de dos etapas conveniente para preparar alcoholes C-24 quirales (material **C**).

40

Desgraciadamente, esta reacción no es estereoespecífica. Calverley describió intentos de reducir una vitamina-D₃-22-eno-24-ona con borohidruro sódico y cloruro de cerio (III); sin embargo, solo consiguió una relación 38:61 del producto 24*S* deseado respecto al alcohol alílico 24*R* no deseado. En el procedimiento de Calverley, el producto debía purificarse por cromatografía y recristalización para separar el producto 24*R* del producto 24*S* deseado. Los alcoholes alílicos 24*S* y 24*R* pueden ser muy difíciles de separar. Por lo tanto, este procedimiento químico no es adecuado para usar a una gran escala.

Koch usando un esquema similar al descrito antes, no fue mucho más lejos en la producción de un producto 24*S* estereoespecífico. En la producción del cerebrosterol, Koch demostró que el hidruro de litio y aluminio, incluso sustituido con compuestos quirales, reducía un sistema colest-22-eno-24-ona **B** (figura 4A) en una relación 1:2 (alcoholes alílicos **C** 24*S* a 24*R*).

Usando un esquema de reacción diferente, como se ilustra en la figura 4B, Koch también mostró que la reducción de un sistema colest-22-eno-24-ona (material **D**), seguido de reducción parcial del triple enlace, daba solo selectividad moderada para el estereoisómero 24*S*, usando un reactivo de reducción de hidruro de litio y aluminio. Se obtuvo una relación 2:1 de alcoholes alílicos **C** 24*S* a 24*R* en este esquema de reacción.

Ha habido una reducción con éxito de un sistema 25-eno-24-ona relacionado usando el reactivo de 2,2'-dihidroxi-1,1'-binaftilo e hidruro de litio y aluminio de Noyori a -90 °C, para dar una selectividad 95:5 para el alcohol 24*R*. El

procedimiento se describe en Ishiguro, y col. "Stereoselective Introduction of Hydroxy-Groups into the 24-, 25-, and 26-Positions of the Cholesterol Side Chain," *J. C. S. Chem. Comm.*, 1981, pp. 115-117.

El material intermedio 25-eno-24-ona (que se puede producir en 4 etapas) es accesible de forma menos fácil que el sistema 22-eno-24-ona (que se puede producir en una etapa). Este factor disminuye la conveniencia de esta ruta. Además, la baja temperatura requerida para la reducción quiral también disminuye la viabilidad comercial de este procedimiento.

Un procedimiento largo ha sido alquilar una sulfona C-22 con un epóxido quiral. Debido a la poca selectividad obtenida de las reducciones quirales del material **B** mostrado antes (figura 4A), Koch encontró este procedimiento de 6 etapas a partir del 22-aldehído preferido, usando un reactivo basado en valina (que se puede producir en 4 etapas). En total, por este procedimiento eran necesarias 10 etapas para hacer lo que se podría hacer en 4 etapas, si estuviera disponible una técnica de reducción estereoselectiva.

Finalmente, Okamoto usó con éxito la adición catalizada de β -aminoalcohol quiral de diisopropilzinc a 24-aldehídos esteroideos para proporcionar 24*R*-hidroxicolesoles con buenos rendimientos con altas diastereoselectividades (97:3). Sin embargo, de nuevo, en total son necesarias más etapas para dar el alcohol puro deseado.

Resumen de la invención

Un objeto de esta invención es superar los diferentes problemas y desventajas descritos antes proporcionando un procedimiento para producir un compuesto de aminoesterol seleccionado del grupo que consiste en escualamina, compuesto 1436, y sales de los mismos, según las reivindicaciones 1 a 13. El procedimiento de la invención reduce de forma estereoselectiva un sustituyente alquilcetona insaturado. La alquilcetona está unida a una base de anillos condensados, tal como una base de anillos esteroidea o una base de anillos análoga a la vitamina D₃. En el procedimiento de la invención, la alquilcetona insaturada reacciona con un reactivo de oxazaborolidina quiral para reducir de forma estereoselectiva la alquilcetona insaturada a un alcohol alquílico insaturado. El alcohol alquílico insaturado se puede reducir más para producir un alcohol alquílico saturado.

En la invención, el reactivo de oxazaborolidina quiral preferiblemente es al menos un miembro seleccionado del grupo de compuestos ilustrados en las figuras 13A a 13D (compuestos 11, 12, 13 y 14). Estos compuestos ilustrados, complejos de borano de Me-CBS y Bu-CBS, se describirán a continuación. "CBS" significa reactivos de "Corey-Bakshi-Shibata", que se describirán con más detalle más adelante.

Un grupo de materiales de partida en los que se puede usar el procedimiento de esta invención, son compuestos que incluyen un sustituyente alquenona unido a una base de anillos condensados. Un ejemplo específico es un compuesto que tiene un sustituyente 22-eno-24-ona en una base de anillos esteroidea. En este caso, el material de alquenona reacciona con un reactivo de oxazaborolidina quiral adecuado para reducir de forma estereoselectiva la alquenona a un alcohol alílico. El alcohol alílico se puede reducir más para proporcionar una cadena lateral de alcano saturada hidroxilada de la base de anillos condensados.

Para esta realización de la invención, el sustituyente alquenona se puede producir de cualquier forma adecuada. Por ejemplo, el material de alquenona 22-eno-24-ona mencionado antes se puede producir haciendo reaccionar un sustituyente aldehído en C-22 (en una base de anillos esteroidea) con un reactivo de Wittig.

Un segundo grupo de compuestos en los que se puede usar el procedimiento de esta invención son compuestos de alquinona tales como compuestos que incluyen un sustituyente 22-ino-24-ona en una base de anillos esteroidea. En este procedimiento, la alquinona reacciona con un reactivo de oxazaborolidina quiral para reducir de forma estereoselectiva la alquinona a un alcohol propargílico. Si se desea, en este procedimiento, el alcohol propargílico se puede reducir más a un alcano saturado hidroxilado.

El material de partida 22-ino-24-ona en esta realización de la invención, se puede producir a partir de un aldehído C-22 en una base de anillos esteroidea. Este material de partida aldehído reacciona primero para producir un sustituyente 22-alquino en la base de anillos esteroidea, y después el sustituyente 22-alquino reacciona con un reactivo que contiene litio y anhídrido para producir el sustituyente 22-ino-24-ona en la base de anillos esteroidea.

Preferiblemente, el procedimiento de la invención produce al menos 90 % del isómero deseado. Se prefiere en particular una selectividad mayor de 95 %, y lo más ventajoso es mayor de 97 %. Más de 97 % del isómero deseado corresponde a más de 94 % de "ed" (exceso diastereoisomérico, que se calcula como $97\% - 3\% = 94\%$).

Breve descripción de los dibujos

Los aspectos ventajosos de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada que debe considerarse en conjunto con los dibujos adjuntos, en los que:

- La figura 1 ilustra la estructura química de la escualamina;
- La figura 2 ilustra la estructura química del compuesto 1436;
- 10 La figura 3A ilustra la estructura química del cerebrosterol;
- La figura 3B ilustra la estructura química de MC 903;
- 15 La figura 3C ilustra la estructura química de la 1 α ,24(R)-dihidroxitamina D₃;
- La figura 4A ilustra en general un primer mecanismo de reacción para producir un alcohol insaturado a partir de un material de partida aldehído;
- 20 La figura 4B ilustra en general un segundo mecanismo de reacción para producir un alcohol insaturado a partir de un material de partida aldehído;
- La figura 5 ilustra los mecanismos de reacción que muestran en general el procedimiento de la invención;
- 25 La figura 6A muestra un primer grupo de sustituyentes que se pueden incluir en un material de partida de anillos condensados en el procedimiento de la invención;
- La figura 7 ilustra un esquema de reacción para producir una alquenona a partir de un aldehído en el procedimiento de la invención;
- 30 La figura 8 ilustra un esquema de reacción para convertir un material de partida de alquinona en un alcohol saturado en una orientación estereoselectiva en el procedimiento de la invención;
- La figura 9 ilustra un esquema de reacción para producir el material de partida de alquinona usado en el procedimiento mostrado en la figura 8;
- 35 La figura 10A muestra un esquema de reacción general para producir un material aldehído para usar en el procedimiento de la invención a partir de un material de partida disponible comercialmente;
- 40 La figura 10B muestra un esquema de reacción para producir un aminoesterol a partir del material aldehído producido en el procedimiento de la figura 10A;
- La figura 10C muestra un esquema de reacción para usar el material aldehído producido en el procedimiento de la figura 10A para hacer un alcohol estereoespecífico;
- 45 La figura 11A ilustra la estructura química de un compuesto intermedio usado para hacer esteroides 24-hidroxiados estereoselectivos;
- La figura 11B ilustra un mecanismo de reacción para producir esteroides 24-hidroxiados estereoselectivos usando el compuesto intermedio de la figura 11A;
- 50 La figura 12 ilustra un mecanismo de reacción para producir el compuesto intermedio de la figura 11A así como esteroides 24-hidroxiados estereoselectivos;
- 55 Las figuras 13A y 13B son complejos de oxazaborolidina-borano usados para producir alcoholes alílicos *R* a partir de enonas;
- Las figuras 13C y 13D son complejos de oxazaborolidina-borano usados para producir alcoholes alílicos *S* a partir de enonas;

La figura 14 ilustra un mecanismo de reacción para producir un esteroide 24-hidroxilado estereoespecífico específico;

5 La figura 15A ilustra un mecanismo de reacción para producir el esteroide 29, que se puede usar para producir escualamina y el compuesto 1436;

La figura 15B ilustra un mecanismo de reacción para producir el compuesto 1436 a partir del esteroide 29;

10 La figura 16A ilustra un mecanismo de reacción general para producir una clase de esteroides incluyendo el esteroide 29;

La figura 16B ilustra un mecanismo de reacción específico para producir el esteroide 29 basado en el mecanismo general mostrado en la figura 16A; y

15

La figura 17 ilustra un mecanismo de reacción para producir la escualamina a partir del esteroide 37.

Descripción detallada de la invención

20 Como se ha descrito antes, se necesita en la materia un procedimiento estereoselectivo para sintetizar compuestos que tienen un esteroide 24-hidroxilado o estructura análoga a la vitamina D (p. ej., cerebrosterol, MC 903, o 1 α ,24(R)-dihidroxitamina D₃).

Los cuales se pueden modificar más para producir el producto final deseado.

25

La presente invención se refiere a un procedimiento para producir un compuesto de aminoesterol seleccionado del grupo que consiste en escualamina, el compuesto 1436, y sales de los mismos, de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 13.

30 El procedimiento de acuerdo con la invención, se puede usar para producir compuestos intermedios estereoespecíficos que se pueden modificar más para sintetizar escualamina, el compuesto 1436, otros aminoesteroides útiles, o esteroides. Dichos compuestos incluyen grupos estereoespecíficos (p. ej., grupos sulfato en una orientación *R* para la escualamina y el compuesto 1436) en la posición 24.

35 El procedimiento de acuerdo con la invención incluye procedimiento para reducir de forma estereoselectiva sistemas de colest-22-eno-24-ona y colest-22-ino-24-ona. En un procedimiento el reactivo (*R*)-metil-oxazaborolidina de Corey reacciona con un material de colest-22-eno-24-ona para producir el alcohol alílico 24S con buen rendimiento y estereoselectividad alta (>98:2). Este esquema de reacción se puede llevar a escala de cantidades de kilogramos debido a la temperatura moderada (-20 °C) usada y debido al coste razonable del reactivo de oxazaborolidina quiral.

40 El material de colest-22-eno-24-ona se prepara fácilmente a partir del material 22-aldehído, con alto rendimiento, sin necesidad de una etapa de cromatografía. Por consiguiente, este procedimiento es muy práctico en cuanto que proporciona el alcohol quiral en un número pequeño de etapas (2), con procedimientos que se pueden llevar fácilmente a escala de grandes cantidades.

45 En un procedimiento alternativo, el sistema de colest-22-ino-24-ona se reduce de forma estereoselectiva con un complejo de (*S*)-metil-oxazaborolidina-borano. El material colest-22-ino-24-ona (una cetona acetilénica) se puede preparar a partir de un material aldehído en dos etapas convenientes, haciendo así que este sea un procedimiento comercialmente práctico. Se han reducido otras cetonas propargílicas no esteroideas usando este reactivo, como se describe en Parker, K.A. y col. "Asymmetric Reduction. A Convenient Method for the Reduction of Alkynyl Ketones,"

50 *J. Org. Chem.*, 1996, Vol. 61, pp. 3214-3217.

Los procedimientos descritos antes se describirán en general más adelante, junto con las figuras 5-9. El procedimiento descrito antes se puede usar para hacer cualquier material que tenga la estructura base de anillos condensados general mostrada como compuesto **C** en la figura 5 (p. ej., cualquier compuesto que tenga un anillo de

55

6 carbonos que comparta 2 átomos de carbono con un anillo de 5 carbonos unido).

En general, el procedimiento de acuerdo con la invención incluye un procedimiento para reducir de forma estereoselectiva un sustituyente alquilcetona insaturado unido a una base de anillos condensados. El procedimiento se ilustra en general en la figura 5. En este procedimiento, el material de partida es una alquilcetona insaturada **C**,

unida a una base de anillos condensados. El enlace insaturado entre los carbonos 22 y 23 puede ser un doble enlace o un triple enlace. Esto se ilustra en la figura 5 usando una línea discontinua para el triple enlace.

El anillo condensado, como se muestra en la figura 5, puede tener grupos sustituyentes R1, R2 y R3. En la fórmula ilustrada, R1 y R2 juntos pueden ser, por ejemplo, dos anillos de 6 miembros condensados **J**, que forman una base de anillos condensada esteroidea, como se muestra en la figura 6A. Esta base de anillos esteroidea puede incluir grupos sustituyentes adecuados (p. ej., grupos alquilo, grupos hidroxilo, cadenas de amina, etc.), o insaturaciones.

R3, como se muestra en la figura 5, puede ser cualquier sustituyente adecuado, tal como un grupo alquilo de C a C, de cadena lineal, ramificada, arilo o en forma de anillo. El grupo R3 puede incluir cualquier grupo sustituyente adecuado, siempre que el grupo sustituyente no compita o interfiera de forma sustancial con las reacciones deseadas.

De acuerdo con el procedimiento descrito antes, el material de partida de alquilcetona insaturada reacciona con un reactivo de oxazaborolidina quiral para reducir de forma estereoselectiva la alquilcetona insaturada a un alcohol insaturado **D** o **E**. La selección de un reactivo de oxazaborolidina particular determinará la orientación estereoselectiva del producto final. Si se usa un reactivo de oxazaborolidina quiral que tiene una orientación estereoespecífica, entonces se seguirá el mecanismo de reacción mostrado en la parte superior de la figura 5. Si se selecciona un reactivo de oxazaborolidina quiral que tiene la orientación estereoespecífica opuesta, entonces se seguirá el mecanismo de reacción mostrado en la parte inferior de la figura 5. Los ejemplos de reactivos de oxazaborolidina adecuados incluyen complejos de borano de (*S*)-MeCBS, (*S*)-BuCBS, (*R*)-MeCBS o (*R*)-BuCBS (véase las figuras 13A a 13D). Estos reactivos se describen con más detalle más adelante.

Los materiales alcoholes insaturados intermedios **D** y **E** se producen con una orientación estereoespecífica. El enlace insaturado en la cadena de alquilo se puede reducir más en el procedimiento de la invención, si se desea, para producir un alcohol alquílico saturado **F** o **G**, como se muestra en la figura 5. Este producto de alcohol saturado se puede usar como un compuesto intermedio estereoespecífico conveniente para producir el producto final deseado.

Ahora se describirá un esquema de reacción más específico para obtener el material **F** en la figura 5. Primero, debe producirse el material de partida **C**, y en este esquema de reacción, el material **C** será un material de alquenona. El material de alquenona **C** se puede producir a partir de un sustituyente aldehído en una base de anillos condensados. Como se muestra en la figura 7, el sustituyente aldehído (material **A**) reacciona con un reactivo de Wittig **B** para producir el material de alquenona **C**. R1, R2 y R3 en la figura 7 tienen las mismas definiciones que los descritos antes en relación con las figuras 5 y 6A. El sustituyente X en el reactivo de Wittig en la figura 7 puede representar un grupo Ph₃P, un grupo (EtO)₂PO o un grupo (R4O)₂PO, en el que R4 es una cadena de alquilo que tiene 1-7 carbonos, de cadena lineal, ramificada, cíclica, o arilo.

El material de alquenona **C** reacciona con el complejo de borano de (*R*)-MeCBS (**13**) y (*R*)-BuCBS (**14**) para reducir de forma estereoselectiva la alquenona **C** a un alcohol alílico **D**. Véase el mecanismo de reacción superior de la figura 5. (*R*)-MeCBS (**13**) y (*R*)-BuCBS (**14**) son complejos de borano de reactivos de oxazaborolidina, cuyas estructuras se ilustran en las figuras 13C y 13D, respectivamente. Estos reactivos, sin el complejo de borano (BH₃), están disponibles en el comercio en Callery. La preparación de los complejos de borano de los reactivos de oxazaborolidina se describe con más detalle más adelante. Finalmente, como se muestra en la figura 5, el alcohol alílico **D** se reduce más para eliminar el enlace de insaturación y producir un alcano saturado hidroxilado **F**.

Se describe un mecanismo alternativo para producir el alcano saturado **F** junto con las figuras 8 y 9. En este caso, el alcano **F** se produce mediante un material de partida de alquinona **C**. Primero debe producirse el material de partida de alquinona **C**. Como se muestra en la figura 9, el material de alquinona **C** también se puede producir a partir de un material de partida aldehído **A**. En una primera etapa de reacción, el sustituyente aldehído en el material de partida **A** reacciona para producir un sustituyente alquil-alquino (material **H**) en la base de anillos condensados. Después, el alquino **H** reacciona con un reactivo que contiene litio y el anhídrido **I** para producir la alquinona **C** en la base de anillos condensados. En la figura 9, R1, R2 y R3 tienen las mismas definiciones que las descritas antes.

Una vez producido, el material de alquinona **C** reacciona con los complejos de borano (*S*)-MeCBS (**11**) o (*S*)-BuCBS (**12**) para reducir de forma estereoselectiva la alquinona a un alcohol propargílico **D**. Véase la figura 8. (*S*)-MeCBS (**11**) y (*S*)-BuCBS (**12**) son complejos de borano de reactivos de oxazaborolidina, cuyas estructuras se ilustran en las figuras 13A y 13B, respectivamente. Estos reactivos, sin el complejo de borano, están disponibles en el comercio en Callery. La preparación de los complejos de borano de los reactivos de oxazaborolidina se describe con más detalle

más adelante. Finalmente, el alcohol propargílico **D** se reduce después para eliminar la insaturación y producir un alcano saturado hidroxilado **F**.

Una vez que se ha proporcionado el grupo hidroxilo en la posición C-24, como se muestra en las figuras 5 y 8, se puede unir cualquier grupo funcional adecuado al esteroide por el oxígeno del hidroxilo. Por ejemplo, se puede unir un grupo acetato, un grupo benzoato, un grupo TMS-O, o un grupo fosfato en la posición C-24 de forma estereoespecífica.

El procedimiento de acuerdo con la invención ahora se describirá en términos más específicos en un procedimiento para producir compuestos químicos esteroideos específicos. Estos ejemplos específicos deben considerarse ilustradores de la invención, y no como limitantes de la misma.

I. Ejemplo - Producción de compuestos que tienen un sustituyente alcohol en C-24 (compuesto 1436 y escualamina)

A. Producción de materiales de ensayo y compuestos de referencia

La escualamina es un esteroide que contiene un alcohol 24R sulfatado, como se describe en R. M. Moriarty, y col. "Stereoselective Synthesis of Squalamine Dessulfate," *Tetrahedron Letters*, 1995, Vol. 36, No. 29, pp. 5139-5142.

La escualamina es un miembro de una clase de aminoesteroides naturales del tiburón que tienen potencial clínico como un agente antiinfeccioso (véase, K. S. Moore, y col. "Squalamine: An Aminoesterol Antibiotic from the Shark," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, Vol. 90, 1354-1358) y antiangiogénico (véase H. Brem, y col., *American Association of Neurological Surgeons*, April 30 - May 4, 1996, Minneapolis, MN).

La escualamina contiene un sistema de anillos de colestano con grupos 5 α -hidrido, 7 α -hidroxilo, 3 β -espermidinilo, y 24R-sulfato. El compuesto 1436 es similar a la escualamina en estructura, pero tiene un sustituyente 3 β -espermina en lugar del sustituyente 3 β -espermidinilo.

Inicialmente, se quería preparar un sistema modelo que incluye el compuesto **6**, como se muestra en la figura 11A. Se deseaba este sistema modelo del compuesto **6** porque el compuesto **6** contiene muchas de las características necesarias para sintetizar la escualamina y el compuesto 1436, pero carece del grupo 7-hidroxilo. Obsérvese, la correspondencia general entre el compuesto **6** y el compuesto general **C** ilustrado en las figuras 5, 7, 8 y 9. El compuesto **C** se usaría para sintetizar el alcohol alílico 24S mostrado como compuesto **7**, que después se reduciría para producir el alcohol 24R deseado, mostrado como compuesto **9**. Este esquema de reacción general se ilustra en la figura 11B. Obsérvese que el doble enlace 22-23 cambia la prioridad de los grupos en la determinación de *R* y *S* en las reglas de nomenclatura.

La figura 12 ilustra en general el procedimiento de reacción total para producir el compuesto **6**, y a partir del compuesto **6** la producción de los compuestos **9** y **10**, las muestras de referencia. Para evitar oscurecer el procedimiento, los detalles de cada etapa de reacción no están incluidos en esta parte del texto de la solicitud. Estas etapas de reacción se describen con más detalle más adelante en la "Sección experimental" de esta solicitud.

Inicialmente, el esteroide **1** (disponible en el comercio en Pharmacia o Upjohn) se redujo con litio en amoniaco para producir el material **2**. Es de destacar que el material **2** tiene la unión de anillos AB trans que contiene la escualamina. El grupo carbonilo en la posición C-3 después se protegió convirtiéndolo en un acetal etilénico, produciendo así el material **3**. El material **3** se oxidó usando clorocromato de piridinio para producir el material aldehído **4**.

En la siguiente etapa de reacción, el material **4** se hizo reaccionar con un reactivo de Wittig **5** para producir el material **6**. Este reactivo de Wittig **5** se puede preparar de la forma descrita en la sección experimental de esta solicitud. Durante esta reacción, se introdujo la cadena lateral de colest-22-eno-24-ona del sustrato **6** en una sola etapa a partir del aldehído en C-22 **4**, por reacción con el reactivo de Wittig **5**. El material **6** se produjo con rendimiento bueno por este procedimiento de reacción.

Después de producir el material **6**, este material se redujo para producir los productos alcoholes. Inicialmente, se prepararon dos productos alcoholes **9** y **10**, de modo que se podían comparar por espectroscopía de RMN de ¹³C. Se sabe que la señal de RMN debida a C-24 que incluye un alcohol *R* está a 0,4 ppm a campo alto desde la del correspondiente alcohol *S* (con una cadena lateral saturada). Véase, N. Koizumi, y col., "Carbon-13 Nuclear

Magnetic Resonance of 24-Substituted Steroids," *Chem. Pharm. Bull.*, 1979, Vol. 27, No. 1, pp. 38-42.

Los alcoholes **9** y **10** se produjeron como sigue. El compuesto **6** se redujo con hidruro de litio y aluminio para producir una mezcla de alcoholes alílicos **7** y **8**. El alcohol alílico 24-S (**7**) deseado se produce si el hidruro ataca el material **6** desde la cara alfa. El compuesto menos polar (alcohol **8**) se separó y después se redujo con hidrógeno (Pd/C). También se redujo una mezcla de compuestos **7** y **8** por comparación, porque el compuesto **7** puro no se podía separar de la mezcla de compuestos **7** y **8**. Se encontró que el alcohol alílico menos polar **8** (que se mueve más rápido en las placas de cromatografía en capa fina de gel de sílice ("TLC")) daba el alcohol 24S **10** no deseado, puesto de manifiesto por una señal de resonancia a 77,66 ppm en el espectro de RMN de ¹³C. La mezcla de **7** y **8** se redujo para producir los alcoholes saturados **9** y **10**, con señales de resonancias a 77,31 y 77,66. A partir de estos ensayos, los autores de la invención determinaron que el alcohol alílico **7** más polar debe tener la estereoquímica 24S, y el compuesto **9** debe tener la estereoquímica deseada 24R.

La reacción con el compuesto **6** era similar a la descrita en un artículo por Shen Zheng-Wu y Zhou Wei-Shan, "Study on the Syntheses of Brassinolide and Related Compounds. Part 14. Highly Stereoselective Construction of the Side-Chain of Brassinosteroids Utilizing the β -Alkylative 1,3-Carbonyl Transposition of the Steroidal 22-En-24-ona," *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1990, Vol. 1, pp. 1765-1767.

Zheng-Wu y Wei-Shan describieron que la adición de metil-litio a un sistema de colestano-22-eno-24-ona se lograba selectivamente por la cara alfa.

B. Producción selectiva de los compuestos **7** y **9**

1. Uso de los reactivos de Corey-Bakshi-Shibata ("reactivos CBS")

En un procedimiento de acuerdo con la invención, el compuesto **6** se reduce de forma estereoselectiva al compuesto **7** usando reactivos de tipo CoreyBakshi-Shibata ("reactivos CBS"). E.J. Corey ha descrito la reducción de cetonas α,β -insaturadas no esteroideas con complejos de oxazaborolidina-borano **11** y **12** (véase las figuras 13A y 13B, respectivamente, para la estructura química de los complejos **11** y **12**) para dar los alcoholes alílicos R de forma selectiva. Véase, E.J. Corey, y col., "A New System for Catalytic Enantioselective Reduction of Achiral Ketones to Chiral Alcohols. Synthesis of Chiral α -Hydroxy Acids," *Tetrahedron Letters*, 1990, Vol. 31, No. 5, pp. 611-614 y Patente de EE.UU. n° 4.943.635 fechada el 24 de julio, 1990.

Corey ha descrito además el uso de los catalizadores opuestos 13 y 14 (véase las figuras 13C y 13D, respectivamente) para dar los alcoholes alílicos S. Véase, E.J. Corey, y col., "Total Synthesis of (\pm)-Forskolin," *Journal of the American Chemical Society*, 1988, Vol. 110, pp. 3672-3673.

Las oxazaborolidinas, tales como (R)-MeCBS y (S)-MeCBS, están disponibles en el comercio en Gallery. Estos reactivos se combinan con borano para formar los complejos mostrados en las figuras 13C y 13A. (R)-MeCBS es el compuesto de la figura 13C sin el grupo BH₃. La producción del complejo de borano se describe con más detalle más adelante, en la sección experimental.

En vista de la información de Corey, el compuesto **6** se redujo con los reactivos **13** y **14** para producir el alcohol alílico S **7** deseado. Se intentaron una serie de reducciones en el compuesto **6**, y los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla. Reducción del compuesto **6** con (R)-(X)-CBS a -20 °C en tolueno

Entrada	Catalizador (% en moles)	BH ₃ -THF (eq)	Tiempo de adición (h)	Tiempo de reacción (h)	ed (%)*	Rendimiento aislado (%)
1	Me-CBS (20)	1	1,5	21	40	
2	Bu-CBS (20)	2	1,5	3	0,00	
3	Me-CBS (20)	1+1+0,5	1,5	22		
4	Me-CBS (20)	2,5	2,3	22	30-35	
5	Me-CBS (50)	2,5	2,3	2	80	56
6	Me-CBS (100)	1,5	2,5	22	40	
7	Me-CBS (100)	2,5	1,75	3	94-98	71

* exceso diastereoisomérico, calculado con TLC calibrada en los productos brutos

Como se demuestra mediante esta tabla, se produjo un amplio intervalo de selectividades en esta reacción. Las

selectividades iban desde bajas (entradas 1-4, 6), buenas (entrada 5), a excelentes (entrada 7). Las condiciones óptimas mostradas en la tabla implicaban el uso de cantidades estequiométricas de (*R*)-Me-CBS con 2,5 equivalentes de borano (de tetrahidrofurano con borano ("BH₃-THF")), lo que proporcionaba un buen rendimiento (71 %) y una excelente selectividad (ed de 94-98% por TLC cuantitativo) para el compuesto **7**. El experimento inicial se hizo con purificación por cromatografía en columna. Experimentos posteriores demostraron que esta reacción se podía llevar a cabo sin cromatografía con rendimiento alto (90 %) para producir solo el compuesto **7** dentro de los límites de detección de la RMN de ¹³C (>95%). El compuesto **7** se redujo con hidrógeno para producir el compuesto alcohol saturado **9**, que tenía una señal de resonancia de carbono a 77,29 ppm, confirmando la asignación previa (a campo alto aproximadamente a 0,4 ppm del compuesto **10**, situado a 77,66 ppm).

10

2. Uso de (*S*)-metil-oxazaborolidina

Como procedimiento alternativo de acuerdo con la invención, también tenía éxito la reducción estereoselectiva del sistema 22-ino-24-ona (véase la figura 8) con el reactivo de Corey (*S*)-metil-oxazaborolidina, para introducir el grupo hidroxil quiral en la posición C-24. El sustrato para la reducción, la cetona propargílica **16**, se preparó a partir del aldehído **4** en dos etapas de la forma mostrada en la figura 14. Como se ha indicado antes, las etapas del procedimiento se expondrán con más detalle en la "Sección experimental" de esta solicitud.

15

En este procedimiento alternativo, el aldehído **4** se homologó al alquino terminal **15** con 97 % de rendimiento con el reactivo diazofosfonato de Seyferth. Véase, Seyferth, y col., "Some Reactions of Dimethylphosphono-Substituted Diazoalkanes, (MeO)₂P(=O) CR Transfer to Olefins and 1,3-Dipolar Additions of (MeO)₂P(=O) C(N₂)R₁," *J. Org. Chem.*, 1971, Vol. 36, pp. 1379-1386 (este artículo se incorpora en su totalidad en el presente documento por referencia). La reacción se llevó a cabo usando la metodología desarrollada por Colvin y Gilbert. Véase, Colvin, y col., "A Simple Procedure for the Elaboration of Carbonyl Compounds into Homologous Alkynes," *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1977, pp. 869-874, y Gilbert, y col., "Elaboration of Aldehydes and Ketones to Alkynes: Improved Methodology," *J. Org. Chem.*, 1979, Vol. 44, No. 26, pp. 4997-4998.

20

25

Una parte del alquino terminal **15** se convirtió en el alquino trifluoroborato de litio y se hizo reaccionar con anhídrido isobutírico para producir la cetona propargílica **16** (véase la discusión en Brown y col., "Improved Highly Efficient Synthesis of α,β -Acetylenic Ketones. Nature of the Intermediate from the Reaction of Lithium Acetylide with Boron Trifluoride Etherate," *Tetrahedron Letters*, 1984, Vol. 25, No. 23, pp. 2411-2414). La reducción estereoselectiva de la cetona propargílica **16** se llevó a cabo usando 2 equivalentes de reactivo de (*S*)-metil-CBS-oxazaborolidina y metilsulfuro de boro ("BMS") en tetrahidrofurano a -30 °C (véase Parker, K.A. y Ledebor, M.R., "Asymmetric Reduction. A Convenient Method for the Reduction of Alkynyl Ketones," *J. Org. Chem.*, 1996, Vol. 61, pp. 3214-3217) para producir el alcohol propargílico **17**. El alcohol propargílico **17** se hidrogenó al alcohol **9**, como se muestra en la figura 14.

30

35

Con el fin de comparar, se preparó una mezcla epimérica de alcoholes propargílicos **17** y **18**, tratando una segunda parte del compuesto **15** con *n*-BuLi, seguido de la adición de isobutiraldehído. Los alcoholes propargílicos **17** y **18** se hidrogenaron para dar una mezcla de alcoholes **9** y **10**. Los espectros de RMN de ¹³C de los alcoholes **9** y **10** produjeron dos señales de resonancia de intensidades iguales a 77,29 y 77,63 ppm para el carbono C-24 (es decir, para las estereoquímicas *R* y *S*, respectivamente).

40

45

El espectro de RMN de ¹³C del alcohol **9** (preparado a través de los compuestos **16** y **17** en la figura 14) se comparó con los espectros de RMN de ¹³C de la mezcla epimérica de alcoholes **9** y **10**. Los espectros de RMN de ¹³C del producto hidrogenado del compuesto **17** mostraron una sola señal para el carbono C-24 a 77,29 ppm correspondiente a la estereoquímica *R* (24). Esto confirmaba que el compuesto **9** se producía a partir de los compuestos **4**, **15**, **16** y **17**, de una forma estereoespecífica.

50

C. Producción de esteroides que incluyen un grupo 7 α -hidroxilo

1. Uso del esteroide 21 como material de partida

Con estos resultados positivos en la mano en relación con la producción selectiva de un grupo 24(*R*)-hidroxilo, los autores de la invención buscaron un procedimiento para la síntesis del compuesto **32** (véase la figura 15B), que se puede usar para producir un esteroide que tiene un grupo 7 α -hidroxil, como está presente en la escualamina y el compuesto 1436. Este compuesto intermedio (compuesto **32**) se puede usar para preparar la escualamina y el compuesto 1436. Como se ha mencionado antes, se proporciona una descripción más detallada de la producción de diferentes compuestos y compuestos intermedios en la "Sección experimental" de esta solicitud de patente.

55

El procedimiento para producir el compuesto 1436 se ilustra en las figuras 15A y 15B. Esta descripción específica para el compuesto 1436 también se debe considerar junto con el procedimiento más generalizado ilustrado en las figuras 10A y 10B.

- 5 El procedimiento empezaba con el esteroide **21**, que es un esteroide relativamente barato, disponible en el comercio a granel en Pharmacia o Upjohn. Este esteroide **21** se convirtió en el acetal **22** con migración de la olefina (véase la figura 15A). La migración de la olefina era necesaria para dirigir la oxidación en la posición C-7. Por supuesto, como se muestra de forma más general en la figura 10A, el acetal específico **22** de la figura 15A no es necesario. Se puede usar cualquier grupo protector adecuado situado en el carbono C-3. Por ejemplo, los grupos R5 mostrados en
- 10 la figura 10A pueden ser iguales o diferentes, y cada uno puede ser un grupo alquilo que tiene 1-6 átomos de carbono. Además, los dos grupos R5 se pueden unir entre sí para formar, por ejemplo, un grupo etilendioxi, un grupo 1,3-propanodioxi, un grupo 2-metilen-1,3-propanodioxi o un grupo 2,2-dimetil-1,3-propanodioxi.

- Después, el C-22 se protege como un éter de t-butildimetilsililo (compuesto **23**) como se muestra en la figura 15A.
- 15 Este procedimiento también se ilustra de forma más general en la figura 10A. El grupo protector R6 en la posición C-22 del compuesto **123**, como se muestra en la figura 10A, no es necesario que sea un compuesto de éter de t-butildimetilsililo. En su lugar se puede usar cualquier grupo éter adecuado. En la figura 10A, R6 puede ser por ejemplo, formilo, acetilo, propionilo, pivaloilo, cianoacetilo, benzoilo, benzoilo sustituido (sustituido en orto o para con nitro, halógeno, alcoxi), metoxicarbonilo (metilcarbonato), etoxicarbonilo, benciloxicarbonilo, bencilo, bencilo sustituido (*o,p*-nitro, *p*-halógeno, *p*-metoxi), tetrahidrotiopiraniilo, tetrahidrotiofuranilo, metiltiometilo (MTM), trialkilsililo (alquilo = metilo, etilo, isopropilo, sec-butilo, *terc*-butilo, fenilo, o cualquier combinación de los mismos), tetrahidropiraniilo (THP), 2-metoxietoximetilo (MEM), y metoximetilo (MOM).
- 20

- 25 Una vez que se ha protegido de forma adecuada el sustituyente en C-22 del compuesto **23**, la oxidación alílica se logró con hexacarbonilcromo e hidropéroxido de *t*-butilo, o por oxidación con aire por radicales libres (véase, J. Foricher, y col., patente de EE.UU. n.º 5.030.739 fechada el 9 de julio, 1991) para producir el compuesto enona **24**. Esta patente de EE.UU. se incorpora en su totalidad en el presente documento por referencia. Este compuesto enona (compuesto **24**) se hidrogenó al compuesto **25**, y después se trató con K-Selectride® (tri-sec-butilborohidruro de potasio, disponible en el comercio en Aldrich) para producir el 7 α -alcohol **26**. En esta parte del procedimiento de síntesis, el procedimiento generalizado, mostrado en la figura 10A, corresponde a las etapas del procedimiento
- 30 mostrado en la figura 15A.

- El grupo hidroxilo alcohólico en C-7 (compuesto **26**) se protegió como el benzoato (compuesto **27**). En lugar de un
- 35 grupo benzoato, en este punto del procedimiento se puede usar cualquier grupo protector adecuado R7, como se ilustra en general en la figura 10A. Véase el compuesto **127**. El grupo protector R7 en la posición C-7 del compuesto **127** puede ser, por ejemplo, formilo, acetilo, propionilo, pivaloilo, cianoacetilo, benzoilo, benzoilo sustituido (sustituido en orto o para con nitro, halógeno, alcoxi), metoxicarbonilo (metilcarbonato), etoxicarbonilo, benciloxicarbonilo, bencilo, bencilo sustituido (*o,p*-nitro, *p*-halógeno, *p*-metoxi), benciloximetilo (BOM), benciloximetilo
- 40 sustituido (*o,p*-nitro, *p*-halógeno, *p*-metoxi), tetrahidrotiopiraniilo, tetrahidrotiofuranilo, metiltiometilo (MTM), trialkilsililo (alquilo = metilo, etilo, isopropilo, sec-butilo, *terc*-butilo, fenilo, o cualquier combinación de estos), tetrahidropiraniilo (THP), 2-metoxietoximetilo (MEM), y metoximetilo (MOM).

- Una vez que el grupo sustituyente en C-7 está adecuadamente protegido, el alcohol en C-22, protegido con el grupo
- 45 éter de t-butildimetilsililo, se liberó con anión fluoruro para dar el compuesto **28** (compuesto **128** en la figura 10A). Con el alcohol en C-22 selectivamente disponible, la oxidación en condiciones de Swern o con lejía y TEMPO, produjo de forma limpia el aldehído en C-22 de **29** (compuesto **129** en la figura 10A) con un rendimiento excelente, sin epimerización del grupo potencialmente inestable en C-20.

- 50 El aldehído **29** (**129** en la figura 10B) se hizo reaccionar con el iluro **5** o el anión del éster de fosfonato **30** para producir la enona **32** (**132** en la figura 10B), que es necesaria para la etapa de reducción estereoselectiva. Esto se ilustra en la figura 15B, y de forma más general en la figura 10B. El reactivo **30** se prefiere en esta etapa de reacción porque los subproductos se eliminan fácilmente en el tratamiento, haciendo innecesaria la cromatografía en

- 55 Las condiciones de reducción quiral en el sustrato modelo **6** como se ha descrito antes funcionan bien en este caso para liberar el alcohol alílico **S 33** con rendimiento alto (compuesto **133** en la figura 10B), sin la necesidad de cromatografía. No se detectó ninguno de los otros isómeros por TLC o espectroscopía de RMN. El espectro de RMN de protón era compatible con la estereoquímica **S** en la posición C-24 en cuanto que las señales de la olefina C-22-

23 estaban comprimidas (las señales de olefina de los alcoholes alílicos *R* tienden a estar más separadas). Además, la señal de resonancia del carbono en C-24 estaba en posiciones idénticas para los compuestos **7** y **33** (78,8 ppm), indicando así la presencia del hidroxilo en la posición C-24. Después de hidrogenación del compuesto **33**, se llevó a cabo análisis por rayos X en el producto de hidrogenación **34**, y este ensayo confirmó la asignación 24*R* deseada.

5 La etapa de hidrogenación se lleva a cabo mejor en tetrahidrofurano o acetato de etilo (no en alcohol) con el fin de disminuir la cantidad de productos de desoxigenación en C-24. El esquema de reacción más generalizado para estas etapas del procedimiento se ilustra en la figura 10B.

Las etapas finales del procedimiento de síntesis, mostradas en las figuras 10B y 15B, implicaban la desprotección del acetal en C-3 para producir el compuesto **35** (**135** en la figura 10B), sulfatación del alcohol en C-24 (compuestos **36** (figura 15B) y **136** (figura 10B)), y escisión del benzoato en C-7 (para producir el compuesto **37**). Los compuestos **36**, **136** y **37** se aíslan mejor como sus sales de sodio o potasio. Finalmente la aminación reductora con espermina y borohidruro sódico produjo el compuesto **38**, que corresponde al compuesto 1436 ilustrado en la figura 2. El rendimiento global del compuesto 1436 a partir del procedimiento de síntesis específico mostrado en las figuras 15A y 15B era aproximadamente 4 %.

La escualamina (**42**) también se puede producir por este mismo procedimiento general, aunque cuando se produce la escualamina, el compuesto **37** (figura 17) se acopla con el derivado de espermidina protegido **41** para dar el compuesto intermedio **43**. El grupo funcional nitrilo en **43** se reduce con hidrógeno gaseoso con catálisis de platino a pH ácido para dar la escualamina (**42**) con aproximadamente 60% de rendimiento para dos etapas. Si esta reducción no se llevaba a cabo a pH ácido, se obtenía un rendimiento muy bajo de escualamina. En este caso, los productos se obtuvieron a partir de la ciclación interna del nitrógeno en el nitrilo.

El derivado de espermidina **41** se ha usado como un equivalente de espermidina en otra publicación (Umeda, y col., *J. Antibiotics*, 40, 1303-1315, 1987), pero no se ha aplicado nunca a la síntesis de escualamina. En este caso es especialmente útil porque la función amino protegida (el nitrilo) es estable en las condiciones de aminación reductora, aunque se convierte fácilmente en una función amino (espermidina) por hidrogenación catalítica en condiciones que no afectan al sulfato. El sulfato se escindiría en condiciones ácidas fuertes, como en el caso de la eliminación de un grupo BOC. El derivado de espermidina **41** se preparó fácilmente en una etapa con buen rendimiento en las condiciones de reacción mejoradas (73 % frente a 42 % de rendimiento). El derivado de espermidina protegido con BOC usado por Moriarty y Frye es más difícil de preparar y no se puede escindir en presencia de un sulfato.

2. Uso del esteroide 50 como material de partida

El aldehído **29** de las figuras 15A y 15B también se puede preparar a partir del esteroide estigmasterol disponible en el comercio, el compuesto **50** mostrado en las figuras 16A y 16B, en 7 etapas. La figura 16A muestra un mecanismo de reacción generalizado para producir el compuesto **129**, y la figura 16B muestra un ejemplo más específico para producir el aldehído específico **29**. Las etapas de reacción específicas de la figura 16B también se describen con más detalle más adelante, en la "Sección experimental" de esta solicitud de patente.

En este procedimiento, primero el estigmasterol **50** se oxidó con aire, para dar la cetona insaturada **60**. El doble enlace de enona se redujo selectivamente por reducción del metal en disolución (Li/NH₃) para producir el hidrógeno en α requerido en la posición C-5 (compuesto **61**). La K-Selectride® (tri-sec-butilborohidruro de potasio de Aldrich) redujo el grupo funcional ceto contenido en el compuesto **61** para dar un grupo α -hidroxi en la posición C-7 (este es el compuesto **62**). La oxidación selectiva del grupo hidroxilo en C-3 se logró con carbonato de plata para producir el compuesto **63**. Después el grupo hidroxilo se protegió como el benzoato (compuesto **64**) en el procedimiento mostrado en la figura 16B. Sin embargo, como se ha indicado antes, junto con la figura 10A, la protección como un benzoato no es necesaria, pero se puede usar cualquier grupo protector R7 adecuado. R7 en la figura 16A tiene el mismo significado que el descrito antes en la figura 10A.

Después, la cetona en la posición C-3 se protegió como el acetal etilénico para producir el compuesto **65** (figura 16B). Otra vez, como se ha descrito antes junto con la figura 10A, se puede usar cualquier grupo o grupos protectores R5 adecuados en este procedimiento. R5 puede tener el mismo significado en la figura 16A que en la figura 10A. La ozonólisis produjo el compuesto **29** (o compuesto **129** en la figura 16A), que era idéntico al preparado para el esquema mostrado en la figura 15A.

Este aldehído **29** se puede usar para producir el compuesto 1436 y/o la escualamina, por el mismo procedimiento que el ilustrado en la figura 15B.

- En el procedimiento descrito antes, los ejemplos para R6 no son los únicos grupos protectores posibles para la posición C-22. La protección R6 adecuada para el hidroxilo de C-22 varía. Es necesario que el grupo protector se pueda eliminar solo en condiciones en las que los grupos protectores en C-3 y C-7 sean estables. Dependiendo de en que punto de la síntesis se protege C-22, la protección adecuada varía. Si C-22 se protege antes de la oxidación alílica, los grupos protectores sensibles a las condiciones de oxidación no son preferidos (p. ej., grupos protectores que contienen azufre). Los grupos protectores lábiles frente al hidrógeno también son menos adecuados si se aplican antes de la hidrogenación; sin embargo, es aceptable prácticamente cualquier grupo protector de OH que no requiera condiciones ácidas fuerte para la eliminación, si se aplica inmediatamente antes de la reducción con K-Selectride® (K-Selectride® es tri-sec-butilborohidruro de potasio de Aldrich). Los ésteres que se escinden fácilmente son particularmente útiles en cuanto que permiten la escisión selectiva en presencia de otro éster más estable en C-7. Los éteres de bencilo, éteres de benciloximetilo y carbonatos son los más útiles si se aplican después de la primera hidrogenación.
- 15 Como con R6, la protección R7 del OH en C-7 no debe requerir condiciones ácidas fuertes para la eliminación. Prácticamente todos los ésteres y éteres de sililo son adecuados para R7 siempre que R6 se pueda eliminar en su presencia.
- Se ilustra un procedimiento alternativo para formar el compuesto 134 a partir del compuesto 129 en la figura 10C.
- 20 Este procedimiento usa los compuestos intermedios de alquinona descritos antes junto con las figuras 8, 9 y 14. En la figura 10C, R5 y R7 tienen las definiciones descritas antes con respecto a las figuras 10A y 10B.

D. Conclusión en relación con la producción de esteroides hidroxilados en C-24

- 25 Los sistemas de colest-22-eno-24-ona y colest-22-ino-24-ona adecuados se pueden construir fácilmente en una y dos etapas, respectivamente, a partir de un aldehído en C-22. Estos sistemas después se pueden reducir selectivamente con complejos de oxazaborolidinaborano de Corey para producir el alcohol alílico 24-S y los alcoholes propargílicos 24-S. Estos materiales corresponden al alcohol 24-R después de eliminación de los enlaces múltiples C-22-23 (es decir, los enlaces de insaturación entre los carbonos C-22 y C-23). Este procedimiento se ha demostrado en los compuestos **6**, **16** y **32**. Estos procedimientos de dos o tres etapas proporcionan el acceso más rápido de una forma práctica y de escala ampliable a la clase de compuestos de aminoesterol que incluyen un alcohol C-24R u otro sustituyente. El alcohol en C-24R se puede convertir en un grupo sulfato u otro sustituyente adecuado en la posición C-24. El procedimiento de acuerdo con la invención elimina los procedimientos largos usados por otros para hacer la misma transformación, como se describe en los documentos indicados antes.

35 III. Sección experimental

A. General

- 40 Salvo que se indique otra cosa, 77,23 ppm se usó como la referencia para el CDCl₃ en los experimentos de RMN de ¹³C.

B. Preparación de compuestos específicos

- 45 1. Preparación del compuesto **2** (figura 12)

Se condensó amoniaco (60 ml) en un matraz en atmósfera de nitrógeno, y se añadió alambre de litio (98 mg, 14 mmol). El esteroide **1** (figura 12) (1,0 g, 3,0 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano anhidro (25 ml) y se añadió gota a gota. El esteroide **1** está disponible en el comercio en Pharmacia o Upjohn. Después de 40 min, la reacción se inactivó con cloruro amónico sólido hasta desaparición del color azul, y después la mezcla se dejó evaporar durante la noche. El sólido resultante se repartió entre agua (150 ml) y acetato de etilo (200 ml). La capa acuosa se extrajo con porciones de éter y diclorometano, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron para dar un sólido blanco. Este material se disolvió en diclorometano y se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución con gradiente con acetato de etilo en hexano de 10 a 40 %) para producir el compuesto **2** (710 mg, 71 %, P.f. 168-170 °C).

Compuesto **2**: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,64 (d de d, J = 10 y 2 Hz, 1H), 3,36 (d de d, J=10 y 3 Hz, 1H), 2,33-1,08 (m, 24H), 1,05 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 1,02 (s, 3H), 0,71 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 212,4, 68,1, 56,2, 53,9, 52,7, 46,8, 44,9, 42,8, 39,9, 38,9, 38,7, 38,4, 35,8, 35,6, 31,9, 29,1, 27,9, 24,5, 21,6, 16,9, 12,3, 11,6; Análisis

calculado para $C_{22}H_{36}O_2$: C, 79,46; H, 10,91. Encontrado: C, 79,54; H, 10,48.

2. Preparación del compuesto 3

5 Una disolución del compuesto **2** (710 mg, 2,14 mmol), etilenglicol (1,13 ml, 20 mmol) y ácido p-toluenosulfónico monohidrato (41 mg, 0,21 mmol) en benceno (90 ml) se calentó a reflujo durante la noche con eliminación de agua con una trampa Dean-Stark. La mezcla de reacción se enfrió, se lavó con disolución saturada de bicarbonato sódico y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, y se evaporó para dar el compuesto **3** (725 mg, 90 %, P.f. 184-186 °C).

10 Compuesto **3**: RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 3,94 (s, 4H), 3,64 (d de d, J = 10,3 y 3,1 Hz, 1H), 3,36 (d de d, J = 10,3 y 6,8 Hz, 1H), 1,98 - 1,94 (m, 1H), 1,83 - 1,76 (m, 1H), 1,7 - 1,0 (m, 22H), 1,04 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 0,82 (s, 3H), 0,68 (s, 3H); RMN ^{13}C (400 MHz, $CDCl_3$): δ 109,6, 68,2, 64,3, 56,4, 54,2, 52,7, 43,9, 42,9, 40,1, 39,0, 38,2, 36,2; 35,9, 35,7, 35,6, 32,1, 31,4, 28,8, 27,9, 24,5, 21,4, 16,9, 12,4, 11,6; IR (KBr, cm^{-1}): 3315, 2930, 1447, 1360, 1179, 1101; Análisis calculado para $C_{24}H_{40}O_3$: C, 76,55; H, 10,71. Encontrado: C, 74,91; H, 10,06.

15

3. Preparación del compuesto 4

Una suspensión de acetato de potasio (140 mg, 1,43 mmol) y clorocromato de piridinio (1,09 g, 5,06 mmol) en diclorometano (20 ml) se trató con el compuesto **3** (1,0 g, 2,65 mmol) en diclorometano (10 ml). Después de 1,25 h, la mezcla de reacción se diluyó con éter y se filtró a través de Celite® (Celite® es una forma de SiO_2 vendida por Aldrich). Las capas de éter se combinaron, se lavaron con disolución saturada de bicarbonato sódico y salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, y se evaporaron para dar un sólido blanco. Este material se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución con gradiente con acetato de etilo en hexano de 5 a 25 %) para proporcionar el compuesto **4** (604 mg, 61 %, P.f. 141-144 °C).

25

Compuesto **4**: RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 9,56 (d, J = 3,5 Hz, 1H), 3,94 (s, 4H), 2,34 (m, 1H), 1,93 - 0,86 (m, 23H), 1,11 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,82 (s, 3H), 0,70 (s, 3H); RMN ^{13}C (400 MHz, $CDCl_3$): δ 205,4, 109,6, 64,3, 55,9, 54,2, 51,3, 49,7, 43,8, 43,4, 39,9, 38,1, 36,2, 35,7, 32,1, 31,4, 28,7, 27,2, 24,8, 21,3, 13,6, 12,7, 11,6; IR (KBr, cm^{-1}): 3478, 2934, 2725, 1721, 1445, 1356, 1101; MS (+FAB): 375,3 (M+1, 60), 307,1 (100), 289,1 (45).

30

4. Preparación del compuesto 6

Una disolución del compuesto **4** (820 mg, 2,19 mmol) y el compuesto **5** (1,52 g, 4,38 mmol) en dimetilsulfóxido (4 ml) se calentó a 110 °C durante la noche, se enfrió, se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua y se secó. El material bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución con gradiente con acetato de etilo en hexano de 5 a 15 %) para dar el compuesto **6** (720 mg, 74 %, P.f. 168-169 °C). Se describe un procedimiento para preparar el compuesto **5** y su reacción con los aldehídos en C-22 en M. Fryberg, A.C. Oehlschlager, y A.M. Unrau, "The Synthesis of Possible Polyene Intermediates in Phytosterol Biosynthesis," *Tetrahedron*, 1971, Vol. 27, pp. 1261-1274. Este artículo se incorpora en su totalidad en el presente documento por referencia.

40

Compuesto **6**: RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,71 (d de d, J = 16 y 9 Hz, 1H), 6,06 (d, J = 16 Hz, 1H), 3,94 (s, 4H), 2,83 (hept, J = 7 Hz, 1H), 2,25 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,7-1,0 (m, 22H), 1,11 - 1,08 (m, 9H), 0,82 (s, 3H), 0,69 (s, 3H); RMN ^{13}C (400 MHz, $CDCl_3$): δ 204,9, 152,9, 126,3, 109,6, 64,3, 56,5, 55,2, 54,2, 43,8, 43,2, 40,2, 40,0, 38,4, 38,1, 36,2, 35,6, 32,0, 31,3, 28,7, 28,4, 24,4, 21,3, 19,5, 18,8, 18,7, 12,6, 11,6; Análisis calculado para $C_{29}H_{46}O_3 \cdot 0,1H_2O$: C, 78,36; H, 10,48. Encontrado: C, 78,21; H, 10,68.

45

5. Preparación de los compuestos 7 y 8

Una disolución del compuesto **6** (100 mg, 0,226 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano anhidro (2 ml), se trató con hidruro de litio y aluminio 1 M en tetrahidrofurano (380 ml, 0,38 mmol), y se calentó a reflujo durante 1 h en atmósfera de nitrógeno. Después de enfriar, la reacción se inactivó con metanol, se filtró a través de Celite® (SiO_2 , disponible en Aldrich), y se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución con gradiente con acetato de etilo en hexano de 7 a 10 %) para proporcionar el compuesto **8** puro (18 mg, 18%, P.f. 147-150°C, menos polar por TLC acetona/cloroformo al 5 %), seguido de dos fracciones mixtas del compuesto **7** (más polar) y el compuesto **8** (49 + 15 mg = 64 mg, 64 %).

55

Compuesto **8**: RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 5,49 (d de d, J = 15,4 y 8,2 Hz, 1H), 5,37 (d de d, J = 15,4 y 7,0 Hz, 1H), 3,94 (s, 4H), 3,77 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 2,3-1,0 (m, 25H), 1,02 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,92 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,87 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,82 (s, 3H), 0,68 (s, 3H); RMN ^{13}C (400 MHz, $CDCl_3$): δ 139,4, 128,6, 109,6, 78,42 (C24-R), 64,3, 56,6,

56,0, 54,2, 43,9, 42,8, 40,1, 40,0, 38,1, 36,2, 35,6, 34,1, 32,1, 31,3, 28,8, 24,4, 21,4, 20,6, 18,4, 12,5, 11,7, 11,6; Análisis calculado para C₂₉H₄₈O₃: C, 78,33; H, 10,88. Encontrado: C, 78,24; H, 10,87.

Mezcla de los compuestos **7** y **8**: RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 78,80, 78,37 (C24-S y R).

5

6. Síntesis del compuesto **10**

Una disolución del compuesto **8** (75 mg, 0,17 mmol) en acetato de etilo (4 ml) se trató con paladio sobre carbono al 10 % (76 mg) e hidrógeno (40 psi) en un aparato Parr durante 6 h. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite® (SiO₂, disponible en Aldrich), se evaporó y se recrystalizó (acetato de etilo en hexano) para proporcionar el compuesto **10** (18 mg, 24 %, P.f. 122-132 °C).

10

Compuesto **10**: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,30 (m, 1H), 2,0 - 1,0 (m, 29H), 0,93 - 0,89 (m, 9H), 0,81 (s, 3H), 0,65 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 109,7, 77,64 (DEPT, C24-S), 64,4, 56,7, 56,2, 56,1, 54,2, 43,9, 42,8, 40,2, 38,2, 36,2, 36,1, 35,7, 35,6, 33,4, 32,4, 32,1, 31,4, 30,9, 30,0, 28,8, 28,4, 24,4, 21,4, 19,3, 19,0, 18,7, 18,6, 18,5, 16,9, 12,3, 11,6; MS (+FAB): 447,3 (M+1, 100), 90,9 (80); Análisis calculado para C₂₉H₅₀O₃: C, 77,97; H, 11,28. Encontrado: C, 77,34; H, 10,84.

15

7. Síntesis de los compuestos **9** y **10**

20

Una mezcla de los compuestos **7** y **8** (8,5 mg, 0,019 mmol) en etanol (5 ml) se trató con paladio sobre carbono al 10 % (22 mg) e hidrógeno (40 psi). La mezcla de reacción se filtró a través de Celite® (SiO₂, disponible en Aldrich) y se evaporó para dar una mezcla de los compuestos **9** y **10** (8 mg).

25

Mezcla de los compuestos **9** y **10**: RMN ¹³C (400 MHz, DEPT, CDCl₃): δ 77,66, 77,31 (C24-S y R).

8. Síntesis estereoselectiva del compuesto **7**

Se combinaron (*R*)-difenílprolinol (0,286 g, 1,13 mmol) y trimetilboroxano (0,14 g, 1,13 mmol) en tolueno (30 ml). Esta mezcla se agitó a 50 °C durante 1 h y después se calentó a reflujo hasta que destilaron 20 ml de una mezcla azeótropa. Después de enfriar, se añadió complejo de borano-tetrahidrofurano 1 M (2,8 ml, 2,8 mmol) a temperatura ambiente, y la disolución se agitó durante 2 h. Después, se añadió una disolución del compuesto **6** (0,50 g, 1,13 mmol) en tolueno (15 ml) a -20 °C a lo largo de 1,75 h. Después de una hora adicional, la reacción se inactivó con agua (20 ml) y ácido clorhídrico al 5 % (20 ml). Después de agitar durante 30 min a temperatura ambiente, se añadió tolueno (50 ml), y la fase orgánica se lavó con salmuera (3 x 20 ml) a pH 7. La fase orgánica se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró a vacío para dar el compuesto **7** (0,48 g, ed calculado por calibración con TLC (CHCl₃/*i*-Pr₂O 80:20) = 94 - 98 %). Después de purificación por cromatografía, el alcohol se obtuvo en forma de un sólido blanco (0,36 g, 72 %, P.f. 157 °C).

30

35

Compuesto **7**: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5,43 (d de d, J = 15,3 y 8,3 Hz, 1H), 5,34 (d de d, J = 15,3 y 7 Hz, 1H), 3,93 (s, 4H), 3,72 (t, J = 7 Hz, 1H), 2,05 (m, 1H), 1,93 (m, 1H), 1,8 - 1,0 (m, 23H), 1,02 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,92 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,86 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,80 (s, 3H), 0,67 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 140,0, 128,6, 109,6, 78,82 (C24-S), 64,3, 56,7, 55,8, 54,2, 43,8, 42,8, 40,3, 40,1, 38,1, 36,2, 35,6, 34,1, 32,1, 31,3, 29,0, 28,7, 24,4, 21,4, 20,6, 18,6, 18,4, 12,4, 11,6; MS (+FAB): 445,3 (M+1, 48), 427,3 (37), 90,9 (100); Análisis calculado para C₁₉H₄₈O₃: C, 78,33; H, 10,88. Encontrado: C, 78,22; H, 10,59.

40

45

9. Síntesis del compuesto **9**

Una disolución de compuesto **7** (19 mg, 0,043 mmol) en acetato de etilo (10 ml) se trató con paladio sobre carbono al 10 % (5 mg) y 40 psi de hidrógeno durante 4 h. La reacción se filtró, se concentró a vacío, se recrystalizó en acetato de etilo en hexano, y se purificó por cromatografía ultrarrápida (diámetro de 1 cm, elución con gradiente de acetato de etilo en hexano de 7 a 8%) para proporcionar el compuesto **9** (11 mg, 57 %, P.f. 125-127 °C).

50

Compuesto **9**: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,94 (s, 4H), 3,31 (m, 1H), 2,0-1,0 (m, 29H), 0,92 - 0,89 (m, 9H), 0,81 (s, 3H), 0,66 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 109,7, 77,29 (DEPT, C24-R), 64,3, 56,7, 56,3, 54,2, 43,9, 42,8, 40,2, 38,2, 36,2, 35,9, 35,7, 33,7, 32,2, 32,1, 31,4, 30,8, 28,8, 28,5, 24,4, 21,4, 19,1, 18,8, 17,4, 12,3, 11,6; MS (+FAB): 447,4 (M+1).

55

10. Preparación del compuesto **15** (figura 14)

Una disolución de diazometilfosfonato de dimetilo (205 mg, 1,4 mmol) en THF (1 ml) se añadió gota a gota a una disolución de *t*-butóxido potásico (1,4 ml, K⁺ OtBu 1 M en THF, 1,4 mmol) en THF (2,4 ml) a -78 °C. La disolución amarilla resultante se agitó durante 10 min. El aldehído **4** (394 mg, 1,05 mmol) se disolvió en THF (5 ml) y se enfrió a -78 °C. La disolución de aldehído enfriada se transfirió rápidamente al matraz que contenía el fosfonato usando una cánula corta. El matraz que contenía el aldehído se lavó con THF (3 ml), se enfrió, y después se añadió de la misma forma. La reacción se agitó a -78 °C durante aproximadamente 12 h y se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se inactivó con disolución saturada de bicarbonato sódico y se extrajo con éter (4 x 25 ml). La capa de éter se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para dar un sólido bruto. La cromatografía en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos al 15 % dio el alquino **15** puro en forma de un sólido blanco (380 mg, 97 %, P.f. 173-175 °C).

Compuesto **15**: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,94 (s, 4H), 2,45 (m, 1H-20), 2,02 (d, J = 2 Hz, 1H-23), 1,21 (d, J = 7 Hz, 3H-21), 0,81 (s, 3H-19), 0,68 (s, 3H-18). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 109,63, 89,68, 68,58, 64,35, 56,36, 55,59, 54,30, 43,90, 42,81, 39,46, 38,16, 36,23, 35,69, 35,61, 32,07, 31,36, 31,18, 28,74, 27,74, 27,45, 24,35, 21,51, 21,24, 12,61.

IR (KBr, cm⁻¹): 3257, 2104, 1255, 686.

MS (CI, isobutano): m/e (intensidad relativa): 371 ([M+H]⁺, 100), 307 (20), 154 (82), 136 (72).

Análisis calculado para C₂₅H₃₈O₂: C, 81,03; H, 10,34. Encontrado: C, 80,85, H, 9,87.

11. Preparación del compuesto **16**

Una disolución de n-BuLi en hexanos (0,5 ml, 1,6 M, 0,81 mmol) se añadió gota a gota a una disolución del alquino **15** (100 mg, 0,27 mmol) en THF (5 ml) a -78 °C. La reacción se agitó durante 1 h, y se añadió gota a gota dietileterato de trifluoruro de boro (0,1 ml, 0,81 mmol). Después de agitar durante 15 min a -78 °C, se añadió en una porción anhídrido isobutírico (0,2 ml, 1,2 mmol). La reacción se agitó a -78 °C durante aproximadamente 30 min y se inactivó por adición de disolución de NaOH 0,2 N. La mezcla de reacción se extrajo con éter (3 x 10 ml), y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para dar un aceite bruto. La cromatografía en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos al 5 % dio la cetona propargílica **16** en forma de un aceite espeso (86 mg, 72%).

Compuesto **16**: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,94 (s, 4H), 2,63 (m, 2H, H-20 y H-25), 1,95 (m, 1H), 1,83 (m, 1H), 1,26 (d, J = 6,8 Hz, 3H-21), 1,18 (d, J = 6,8 Hz, 6H, H-25 y H-26), 0,82 (s, 3H-19), 0,70 (s, 3H-18). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 192,85, 109,59, 99,86, 80,62, 64,36, 56,16, 55,26, 54,28, 43,88, 43,33, 42,99, 39,33, 38,14, 36,23, 35,69, 35,62, 32,05, 31,35, 28,69, 28,18, 27,34, 24,39, 21,21, 20,64, 18,29, 12,78, 11,62. IR (KBr, cm⁻¹): 2206, 1675.

MS (CI, isobutano): m/e (intensidad relativa): 441 ([M+H]⁺, 85), 125 (23), 99 (100), 77 (35).

Análisis calculado para C₂₉H₄₄O₃: C, 79,04; H, 10,06; Encontrado: C, 78,45, H, 9,57.

12. Preparación del compuesto **17**

Una disolución de la cetona propargílica **16** (50 mg, 0,11 mmol) en THF (0,5 ml) se secó sobre tamices moleculares de 4 Å durante 2 h. La disolución de la cetona después se añadió mediante una jeringa a una disolución de (S)-MeCBS (0,18 ml, 1,3 M en tolueno, 0,23 mmol) en THF (0,5 ml) a temperatura ambiente. La disolución resultante se enfrió a -30 °C, y se añadió gota a gota una disolución de boro-sulfuro de metilo en THF (0,28 ml, 2 M en THF, 0,57 mmol) a lo largo de 5-10 min. La reacción se agitó a -30 °C durante aproximadamente 1 h, momento en el que la TLC indicaba que la reacción se había completado. La reacción se inactivó por adición lentamente de metanol (1 ml). La disolución se diluyó con éter, se lavó con disolución saturada de cloruro amónico, seguido de bicarbonato sódico al 5 % y después salmuera. La capa de éter se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío. La cromatografía en gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos al 20% para dar el alcohol propargílico **17** puro en forma de un sólido blanco (36 mg, 72 %).

Compuesto **17**: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 4,15 (m, 1H-24), 3,94 (s, 4H), 2,48 (m, 1H-20), 1,19 (d, J = 6,9 Hz, 3H-21), 0,98 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,96 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,81 (s, 3H-19), 0,67 (s, 3H-18). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 109,38, 90,84, 80,16, 68,13, 64,09, 56,12, 55,68, 54,11, 43,67, 42,57, 39,22, 37,93, 36,00, 35,47, 35,39, 34,68,

31,85, 31,13, 28,52, 27,62, 27,32, 24,15, 21,41, 21,00, 18,16, 17,32, 12,50, 11,38. (NOTA: se usó como referencia 77,00 ppm).

IR (KBr, cm^{-1}): 3464, 2230.

5

13. Preparación del compuesto **9**

Una disolución del alcohol propargílico **17** (35 mg, 0,08 mmol) en acetato de etilo (3 ml) se trató con paladio sobre carbono al 10 % (20 mg, 0,02 mmol), nitrito sódico (~2-3 mg) e hidrógeno (40 psig) en un aparato Parr durante 17 h. La reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite® (SiO_2 , disponible en Aldrich), y el filtrado se concentró a vacío. El sólido bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos al 20% para proporcionar el alcohol **9** (27 mg, 77%).

Compuesto **9**: RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 3,92 (s, 4H), 3,32 (m, 1H-24), 1,95 (m, 1H), 1,83 (m, 1H), 0,90 (d, J = 6,8 Hz, 6H, H-25 y H-26), 0,80 (s, 3H-19), 0,65 (s, 3H-18). RMN ^{13}C (400 MHz, DEPT, CDCl_3): δ 77,29 (C24-R).

15

14. Preparación de mezcla epimérica de los compuestos **17** y **18**

Una disolución de n-BuLi en hexanos (0,2 ml, 1,6 M, 0,32 mmol) se añadió gota a gota a una disolución del alquino **15** (40 mg, 0,11 mmol) en THF (2 ml) a -78°C . La reacción se agitó durante 15 minutos y se añadió HMPT (0,2 ml, 1,1 mmol). Después de agitar durante 1 h más a -78°C , se añadió isobutiraldehído (0,03 ml, 0,38 mmol) en una porción. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se inactivó por adición de disolución saturada de cloruro amónico. La mezcla de reacción se extrajo con éter (3 x 10 ml), y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró a vacío para dar un aceite bruto. La cromatografía en columna de gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos al 10 % separó el material de partida **15** sin reaccionar del producto **17** y **18** (20 mg, 43%, P.f. 138 - 140°C).

Mezcla de los compuestos **17** y **18**: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 4,15 (m, 1H-24), 3,94 (s, 4H), 2,48 (m, 1H-20), 1,19 (d, J = 6,6 Hz, 3H-21), 0,98 (d, J = 7,9 Hz, 3H), 0,96 (d, J = 7,3 Hz, 3H), 0,81 (s, 3H-19), 0,68 (s, 3H-18). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 109,63, 91,16, 80,28, 68,36, 64,35, 56,34, 55,87, 54,31, 43,90, 42,78, 39,44, 38,16, 36,23, 35,69, 35,61, 34,91, 32,08, 31,36, 28,74, 27,88, 27,59, 24,39, 21,65, 21,24, 18,41, 17,55, 12,75, 11,63.

30

IR (KBr, cm^{-1}): 3464, 2229.

35 MS (CI, isobutano): m/e (intensidad relativa): 443 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 90), 154 (17), 125 (22), 99 (100).

Análisis calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_3$: C, 78,68; H, 10,47; Encontrado: C, 78,13, H, 10,02.

15. Preparación de mezcla epimérica de los compuestos **9** y **10**

40

Una disolución de una mezcla de los alcoholes propargílicos **17** y **18** (20 mg, 0,045 mmol) en acetato de etilo (3 ml) se trató con paladio sobre carbono al 10 % (10 mg, 0,02 mmol), nitrito sódico (~1 mg) e hidrógeno (40 psig) en un aparato Parr durante 4 h. La reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite® (SiO_2 , disponible en Aldrich), y el filtrado se concentró a vacío. El sólido bruto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando acetato de etilo en hexanos al 20% para producir la mezcla de alcoholes **9** y **10** (16 mg, 80 %).

45

Mezcla de compuestos **9** y **10**: RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 3,92 (s, 4H), 3,32 (m, 1H-24), 1,95 (m, 1H), 1,83 (m, 1H), 0,90 (d, J = 6,8 Hz, 6H, H-25 y H-26), 0,80 (s, 3H-19), 0,65 (s, 3H-18). RMN ^{13}C (400 MHz, DEPT, CDCl_3): δ 77,63, 77,29 (C24-S+R).

50

En los procedimientos indicados antes, véase la discusión en los artículos de Seyferth, Colvin, Gilbert, Brown y Parker. Cada uno de estos artículos se ha discutido antes en esta solicitud de patente.

16. Método alternativo para la síntesis del compuesto **22** (figura 15A)

55

Una disolución del compuesto **21** (19 g, 57 mmol, disponible en el comercio en Pharmacia o Upjohn), etilenglicol (180 ml, 3,2 mol), y ácido p-toluenosulfónico monohidrato (2,72 g, 14,3 mmol) en tolueno (700 ml) se calentó a reflujo con separación de agua durante 25 h. Después de enfriar, se añadió disolución saturada de bicarbonato sódico (200 ml) y la fase orgánica se lavó con salmuera (2 x 100 ml) y se secó sobre sulfato sódico. Después de separar el

disolvente, el producto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución con gradiente con acetato de etilo en hexano de 0 a 40 %) y se recrystalizó (acetato de etilo en hexano - 150 ml) para dar el compuesto **22** (15,98 g, 75 %, P.f. 178-180 °C): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5,36 (m, 1H), 3,95 (m, 4H), 3,64 (d de d, J = 10,5 y 3,2 Hz, 1H), 3,37 (d de d, J = 10,5 y 7,0 Hz, 1H), 2,59 - 2,55 (m, 1H), 2,12 (d de d, J = 14,1 y 3,0 Hz, 1H), 2,0-1,0 (m, 19H), 1,06 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,71 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 140,3, 122,3, 109,6, 68,1, 64,6, 64,4, 56,6, 52,5, 49,8, 42,6, 41,9, 39,7, 38,9, 36,7, 36,5, 32,0, 31,8, 31,2, 27,9, 24,5, 21,2, 19,0, 16,9, 12,1; Análisis calculado para C₂₄H₃₈O₃: C, 76,96; H, 10,23. Encontrado: C, 76,88; H, 9,67.

16b. Condiciones para la síntesis del compuesto **22**

10

Se añadió clorotrimetilsilano (3,0 ml, 24 mmol) a una mezcla del compuesto **21** (1,78 g, 5,4 mmol) y etilenglicol (25 ml). Después de 27 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se trató con disolución de bicarbonato sódico al 5 % (50 ml), se extrajo con acetato de etilo (3 x 70 ml), se lavó con salmuera (5 x 15 ml), agua (15 ml), y se secó sobre sulfato magnésico. Después de separar el disolvente, el producto se recrystalizó en etanol (25 ml) para dar el compuesto **22** (1,41 g, 2 cosechas, 70 %, P.f. 180 - 182 °C).

15

17. Síntesis del compuesto **23**

Una mezcla del compuesto **22** (4,2 g, 11,2 mmol), imidazol (1,53 g, 22,47 mmol), 4-dimetilaminopiridina (192 mg, 1,57 mmol), y cloruro de terc-butildimetilsililo (2,61 g, 17,3 mmol) en dimetilformamida anhidra (60 ml) se agitó durante 4 h a temperatura ambiente, y después se diluyó con éter (150 ml) y cloruro de metileno (50 ml), se lavó con agua (3 x 50 ml), y se secó sobre sulfato sódico. Después de separar el disolvente, el producto se cristalizó en acetato de etilo y hexano (100 ml) para dar el compuesto **23** puro (5,41 g, 98 %, P.f. 131-133 °C): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5,35 (m, 1H), 3,95 (m, 4H), 3,59 (d de d, J = 9,6 y 3,2 Hz, 1H), 3,23 (t ancho, J = 9 Hz, 1H), 2,59 - 2,55 (m, 1H), 2,12 (d de d, J = 14,2 y 2,5, 1H), 2,1 - 1,0 (m, 19H), 1,03 (s, 3H), 0,99 (d, J = 6,2 Hz, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,69 (s, 3H), 0,03 (s, 6H); Análisis calculado para C₃₀H₅₂O₃Si: C, 73,71; H, 10,72. Encontrado: C, 73,28; H, 10,10.

20

25

18. Síntesis del compuesto **24**

Una disolución del compuesto **23** (3,42 g, 7,0 mmol), hexacarbonilcromo (420 mg, 1,9 mmol), e hidroperóxido de *terc*-butilo al 90% (2,2 ml, 19,8 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se calentó a reflujo durante 20 h. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con éter (150 ml), se lavó con salmuera (3 x 30 ml), y se secó sobre sulfato sódico. Después de evaporación, el producto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución con gradiente acetato de etilo en hexano de 0 a 30 %) para producir material de partida (compuesto **23**, 510 mg) y el compuesto **24** (1,53 g, 51 % basado en el material de partida recuperado, P.f. 147 - 149 °C): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5,63 (s, 1H), 3,94 (m, 4H), 3,57 (m, 1H), 3,22 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 2,39 (d ancho, J = 7 Hz, 1H), 2,4 - 1,0 (m, 18H), 1,18 (s, 3H), 0,97 (d, J = 6,2 Hz, 3H), 0,86 (s, 9H), 0,67 (s, 3H), 0,00 (s, 6H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 201,9, 164,6, 126,8, 109,0, 68,0, 64,7, 64,6, 51,4, 49,9, 49,7, 45,5, 43,4, 41,9, 39,1, 38,7, 38,6, 38,4, 35,8, 31,2, 28,2, 26,6, 26,1, 21,3, 18,5, 17,2, 17,1, 12,2, -5,2; MS (+FAB): 503,3 (M+1).

30

35

40

19. Síntesis alternativa del compuesto **24**

Una mezcla del compuesto **23** (489 mg, 1 mmol), N-hidroxiftalimida (326 mg, 2 mmol) y peróxido de benzoilo (10 mg, 0,008 mmol) en acetato de n-butilo (50 ml) se calentó a 110 °C y se trató con aire durante 6 h. Se evaporó el disolvente, y el residuo se trató con diclorometano (50 ml) y se filtró. Después de lavar la N-hidroxiftalimida recuperada (266 mg) con diclorometano, el filtrado se evaporó y el residuo se disolvió en 5 ml de piridina a 50 °C, se enfrió a 5-10 °C, se trató con 0,5 ml (5,3 mmol) de anhídrido acético y se dejó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en acetato de etilo al 25 % y se purificó por cromatografía ultrarrápida (diámetro de 2,5 cm, elución con gradiente con acetato de etilo en hexano de 0 a 25 %) para producir el compuesto **24** puro (398 mg, 77 %).

45

50

20. Síntesis del compuesto **25**

La hidrogenación de una disolución del compuesto **24** (360 mg, 0,715 mmol) en acetato de etilo (25 ml) y etanol (15 ml) se llevó a cabo con paladio sobre carbono al 10 % (360 mg) a 40 psi de hidrógeno en un agitador Parr. Después de 5 h, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite® (SiO₂, disponible en Aldrich), se evaporó y se concentró a vacío durante la noche, para dar el compuesto **25** (350 mg, 97 %), que era homogéneo por TLC: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,88 (m, 4H), 3,54 (d de d, J = 9 y 3 Hz, 1H), 3,22 (t, J = 9 Hz, 1H), 2,3 - 1,0 (m, 22H), 1,05 (s, 3H), 0,95 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,85 (s, 9H), 0,63 (s, 3H), 0,01 (s, 6H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 211,8, 108,8, 67,9, 64,4, 64,3,

55

55,0, 51,6, 50,1, 48,7, 45,9, 45,7, 42,7, 39,0, 38,7, 37,9, 36,0, 35,2, 31,2, 28,0, 26,1, 25,2, 21,9, 18,5, 17,1, 12,3, 11,1, -5,2; MS (+FAB): 505,3 (M+1); Análisis calculado para C₃₀H₅₂O₄Si: C, 71,38; H, 10,38. Encontrado: C, 71,57; H, 10,16.

5 21. Síntesis del compuesto **26**

Se añadió K-Selectride® 1 M (tri-sec-butilborohidruro de potasio de Aldrich) en THF (8,5 ml, 8,5 mmol) gota a gota a una disolución del compuesto **25** (800 mg, 1,58 mmol) en tetrahidrofurano (35 ml) a -50°C. La mezcla de reacción se agitó durante 5 h y después se inactivó por la adición cuidadosa de peróxido de hidrógeno al 30 % (10 ml) y disolución saturada de bicarbonato sódico (20 ml). La capa acuosa se extrajo con éter (3 x 50 ml), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución saturada de bicarbonato sódico (2 x 20 ml), agua (20 ml), y salmuera (20 ml). Después de secar, se separó el disolvente, y el producto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución con gradiente con acetato de etilo en hexano de 0 a 30 %) para producir el compuesto **26** (645 mg, 80%, P.f. 174-175 °C): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3,93 (s, 4H), 3,82 (s ancho, 1H), 3,58 (d ancho, J = 8 Hz, 1H), 3,25 (t ancho, J = 8 Hz, 1H), 2,0-1,0 (m, 22H), 0,99 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,82 (s, 3H), 0,67 (s, 3H), 0,03 (s, 6H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 109,4, 68,1, 68,0, 64,4, 52,8, 50,5, 45,8, 42,9, 39,7, 39,5, 39,3, 37,7, 36,5, 36,4, 35,9, 35,8, 31,4, 27,9, 26,2, 24,0, 21,1, 18,6, 17,1, 12,1, 10,6, -5,2.

22. Síntesis del compuesto **27**

Una disolución del compuesto **26** (11,88 g, 23,4 mmol) en piridina anhidra (110 ml) en atmósfera de nitrógeno se trató con 4-dimetilaminopiridina (3,43 g, 28,1 mmol) y cloruro de benzoilo (5,5 ml, 47,4 mmol) a temperatura ambiente, y después se calentó a reflujo durante 22 h. La mezcla de reacción se vertió en disolución saturada de bicarbonato sódico (500 ml) y se extrajo con acetato de etilo (200 ml). La fase acuosa se extrajo con más acetato de etilo (3 x 100 ml), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución saturada de bicarbonato sódico (3 x 50 ml) y salmuera (2 x 50 ml), se secaron sobre sulfato sódico y después se concentraron para dar el producto bruto. El sólido se recrystalizó en acetato de etilo en metanol para obtener el compuesto **27** puro (13,8 g, 96 %, P.f. 180-183°C): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,07 (d, J = 7 Hz, 2H), 7,59 (t, J = 7 Hz, 1H), 7,48 (t, J = 7 Hz, 2H), 5,15 (s ancho, 1H), 3,88 (m, 4H), 3,55 (d de d, J = 9,5 y 3,4 Hz, 1H), 3,15 (t, J = 9,5 Hz, 1H), 2,1 - 1,0 (m, 22H), 0,98 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,86 (s, 9H), 0,69 (s, 3H), 0,01 (s, 6H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 166,2, 133,0, 131,2, 129,8, 128,6, 109,2, 72,2, 68,0, 64,4, 52,9, 50,7, 47,4, 43,1, 39,6, 39,3, 38,8, 37,5, 37,4, 35,9, 35,7, 33,5, 31,4, 27,7, 26,2, 24,0, 21,3, 18,6, 17,0, 12,1, 10,7, -5,2; Análisis calculado para C₃₇H₅₈O₅Si-0,2H₂O: C, 72,31; H, 9,58. Encontrado: C, 72,13; H, 9,26.

35 23. Síntesis del compuesto **28**

Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (1 M, 27 ml, 27 mmol) en tetrahidrofurano a una disolución del compuesto **27** (10,8 g, 17,7 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (90 ml) a temperatura ambiente, y después la reacción se calentó a reflujo durante 6,5 h. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con agua (60 ml), salmuera (3 x 60 ml), y se secó sobre sulfato sódico. Después de separar el disolvente, el producto se purificó por cromatografía ultrarrápida (elución con gradiente con acetato de etilo en hexano de 0 a 25%) para dar el compuesto **28** (8,14 g, 93%, P.f. 117-119°C): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,06 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,59 (t, J = 7 Hz, 1H), 7,48 (t, J = 8 Hz, 2H), 5,16 (s ancho, 1H), 3,88 (m, 4H), 3,58 (d de d, J = 10,5 y 3,3 Hz, 1H), 3,33 (d de d, J = 11 y 6,5 Hz, 1H), 2,1 - 1,1 (m, 22H), 1,04 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,70 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 166,2, 133,0, 131,1, 129,8, 128,6, 109,2, 72,0, 68,0, 64,4, 64,3, 52,4, 50,7, 47,4, 43,0, 39,5, 38,8, 37,5, 37,4, 35,9, 35,6, 33,4, 31,4, 27,7, 23,9, 21,3, 16,9, 14,4, 12,0, 10,7; C₃₁H₄₄O₅-0,2H₂O: C, 74,42; H, 8,95. Encontrado: C, 74,47; H, 8,79.

24. Método alternativo para la síntesis del compuesto **29**

Una disolución de dimetilsulfóxido (3,0 ml, 42 mmol) en diclorometano (15 ml) se añadió a una disolución enfriada (de -70 a -60 °C) de cloruro de oxalilo en diclorometano 2 M (9 ml, 18 mmol) en atmósfera de nitrógeno. Después de 10 min, se añadió gota a gota una disolución del compuesto **28** (6,0 g, 12,1 mmol) en diclorometano (55 ml). Después de agitar durante 1 h, se añadió trietilamina (9 ml, 64 mmol) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Se añadió agua (120 ml) y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (3 x 100 ml), el cual a su vez se lavó con salmuera (3 x 100 ml) y agua (90 ml), y se secó sobre sulfato sódico. Después de evaporación, se obtuvo el producto **29** limpio, sin más purificación (6,0 g, 100 %, P.f. 166-168 °C): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9,52 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,06 (d, J = 7 Hz, 2H), 7,60 (t, J = 7 Hz, 1H), 7,49 (t, J = 7 Hz, 2H), 5,17 (m, 1H), 3,88 (m, 4H), 2,35 (m, 1H), 2,0 - 1,1 (m, 21H), 1,11 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,73 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 205,1,

166,1, 133,0, 131,0, 129,8, 128,7, 109,1, 71,9, 64,4, 64,3, 51,1, 50,2, 49,6, 47,4, 43,5, 39,4, 38,8, 37,5, 37,4, 35,9, 35,7, 33,4, 31,4, 27,1, 24,2, 21,2, 13,6, 12,3, 10,7.

24b. Condiciones para la síntesis del compuesto **29**

5

Se añadió una disolución de bromuro potásico (1,44 g, 12,0 mmol) en agua (60 ml) a una disolución del alcohol **28** (60,0 g, 0,12 mol) y óxido de 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidina (TEMPO) (360 mg, 2,4 mmol) en diclorometano (600 ml). La mezcla se enfrió en un baño de hielo-agua y se agitó enérgicamente. Se preparó una disolución de hipoclorito sódico por dilución de lejía Clorox comercial (5,28 %) con un volumen igual de agua para estar al 2,64 % (0,39 M, 10 324 ml, 0,12 mol, pH 11,3). Esta disolución de Clorox se ajustó a pH 9,5 por adición de polvo de bicarbonato sódico mientras se mantenía la temperatura entre 10-15 °C. La disolución de hipoclorito sódico se añadió gota a gota a la mezcla anterior y la mezcla de reacción se agitó durante 30 min. La capa acuosa se separó y se extrajo con diclorometano (2 x 100 ml). Los extractos de diclorometano combinados se lavaron con agua (2 x 150 ml) y salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato magnésico y se evaporaron. El residuo (69,1 g) se trituró con hexano (200 ml) a 15 reflujo durante 30 min y se enfrió a temperatura ambiente y después en el frigorífico durante 1 h. El polvo blanco se recogió por filtración, se lavó con hexano (2 x 40 ml) y se secó (50 °C, 0,1 mm, 5 h) para dar el aldehído **29** puro (47,5 g, 79%, P.f. 164-166 °C). Si se usa lejía en su concentración entera, la reacción falla en cuanto que el aldehído **29** se obtiene como una mezcla de isómeros en C-20.

20 25. Preparación del compuesto **30** (figura 15B)

Una disolución de 1-bromo-3-metil-2-butanona (Véase, M. Gaudry y A. Marquet, "1-Bromo-3-Methyl-2-Butanone," *Organic Synthesis*, Vol VI, pp. 193-195, cuyo artículo se incorpora en su totalidad en el presente documento por referencia) (10 g, 60 mmol) y fosfito de trietilo (10,3 ml, 60 mmol) se calentó a 120 °C en atmósfera de nitrógeno 25 durante 3 h con separación del bromuro de etilo por destilación. La mezcla de reacción enfriada se puso con alto vacío y después se destiló para producir el compuesto **30** (8,0 g, 60 %, p.e. 127-130 °C, 3 mm) (procedimiento de la tesis de Phu H. Le, UCSD, 1983, T.C. McMorris): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 4,15 (p, J = 7 Hz, 4H), 3,14 (d, J = 22,5 Hz, 2H), 2,87 (heptete, 7 Hz, 1H), 1,34 (t, J = 7 Hz, 6H), 1,13 (d, J = 7 Hz, 6H).

30 26. Preparación del compuesto **32**

Se lavó hidruro sódico (60 %, 44 mg, 1,1 mmol) con heptano (2 ml) y hexano (2 x 2 ml), y se evaporó con un flujo de nitrógeno. Se añadieron tetrahidrofurano anhidro (2 ml), el compuesto **30** (0,34 ml, 1,5 mmol), y una disolución del compuesto **29** (486 mg, 0,982 mmol) en tetrahidrofurano (3 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1 35 h, se enfrió a temperatura ambiente y se trató con agua (25 ml). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml), que a su vez se lavó con salmuera (3 x 50 ml), agua (2 x 50 ml), y se secó sobre sulfato sódico. Después de separar el disolvente, el producto se disolvió en metanol (5 ml) que contenía 4 gotas de piridina, y se añadió gota a gota en agua (100 ml) con agitación. El sólido resultante se filtró, se lavó con agua (3 x 20 ml), y se secó a vacío a 50 °C para dar el compuesto **32** puro (499 mg, 90%, P.f. 85 - 121 °C): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,06 (d, J = 7,4 40 Hz, 2H), 7,59 (t, J = 7,1 Hz, 1 H), 7,48 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 6,65 (d de d, J = 15,6 y 9 Hz, 1H), 6,02 (d, J = 15,6 Hz, 1 H), 5,15 (s ancho, 1H), 3,88 (s ancho, 4H), 2,80 (hept, J = 6,7 Hz, 1H), 2,25 (m, 1H), 2,0-1,0 (m, 21H), 1,08 (d, 3H), 1,06 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 0,89 (s, 3H), 0,72 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 204,7, 166,1, 152,5, 133,0, 131,1, 129,8, 128,6, 126,5, 109,2, 72,0, 64,4, 64,3, 55,0, 50,8, 47,4, 43,2, 40,1, 39,5, 38,8, 38,3, 37,5, 37,4, 35,9, 35,7, 33,4, 31,4, 28,2, 23,8, 21,2, 19,5, 18,8, 18,6, 13,6, 12,2, 10,7; MS (+FAB): 563,3 (M+1); Análisis calculado para 45 C₃₆H₅₀O₅·0,2H₂O: C, 76,34; H, 8,97. Encontrado: C, 76,26; H, 9,13.

En este proceso, se siguió el procedimiento de T.C. McMorris, y col., "Synthesis of Dehydro-Oogoniol, a Female-Activating Hormone of ACHLYA: The Progesterone Route," *Steroids*, 1989, Vol. 53, pp. 345-361. Este artículo se incorpora en su totalidad en el presente documento por referencia.

50

27. Preparación del compuesto **33**

Un matraz con una capa de argón se cargó con R-MeCBS 1 M (de Gallery) en tolueno (0,92 ml, 0,92 mmol) y complejo de borano-tetrahidrofurano 1 M en tetrahidrofurano (2,3 ml, 2,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 55 temperatura ambiente durante 2 h, se enfrió a -20 °C, y se trató con una disolución del compuesto **32** (520 mg, 0,92 mmol) en tolueno anhidro (15 ml) a lo largo de 1,5 h. Después de 1 h adicional, la mezcla de reacción se trató con cloruro amónico sólido y agua (2 ml), se calentó a temperatura ambiente, se diluyó con más agua (20 ml) y se extrajo en tolueno (2 x 80 ml). La capa de tolueno se lavó con disolución saturada de cloruro amónico (3 x 50 ml), se secó con sulfato magnésico y se evaporó para dar un sólido, que se recristalizó en acetato de etilo en hexano para dar el

compuesto **33** en dos cosechas (491 mg, 94 %, P.f. 196-199 °C): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,06 (d, J = 7 Hz, 2H), 7,59 (t, J = 7 Hz, 1 H), 7,48 (t, J = 7 Hz, 2H), 5,35 (m, 2H), 5,16 (s ancho, 1H), 3,88 (s ancho, 4H), 3,67 (t, J = 6,2, 1H), 2,1-1,0 (m, 23H), 1,03 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 0,89 (m, 6H), 0,82 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,70 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 166,1, 139,8, 133,0, 131,2, 129,9, 128,8, 128,6, 109,2, 78,8, 72,0, 64,4, 64,3, 55,6, 51,0, 47,4, 42,9, 40,2, 39,6, 38,8, 37,5, 37,4, 35,9, 35,7, 34,1, 33,5, 31,5, 28,8, 23,9, 21,3, 20,6, 18,6, 18,4, 12,2, 10,7; MS (+FAB): 565,3 (M+1); Análisis calculado para C₃₆H₅₂O₅-0,2H₂O: C, 76,07; H, 9,29. Encontrado: C, 75,93; H, 9,14.

28. Método alternativo para la síntesis del compuesto **34**

10 Una disolución de compuesto **33** (2,7 g, 4,8 mmol) en tetrahidrofurano (30 ml) se trató con nitrito sódico (89 mg, 1,3 mmol), hidróxido de paladio sobre carbono al 20% (0,5 g, catalizador de Pearlman), y 40 psi de hidrógeno en un aparato Parr. Después de 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite® (SiO₂, disponible en Aldrich) y se concentró para obtener el material bruto que se recristalizó en diclorometano en hexano (15 ml) para producir el compuesto **34** puro (2,13 g, 78 %, P.f. 205-208 °C): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,08 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,60 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,49 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 5,16 (s ancho, 1H), 3,88 (m, 4H), 3,28 (m, 1H), 2,0 - 1,0 (m, 27H), 0,93 - 0,90 (m, 9H), 0,89 (s, 3H), 0,69 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 166,2, 133,0, 131,2, 129,9, 128,6, 109,2, 77,0, 72,1, 64,4, 64,3, 56,0, 50,8, 47,3, 42,9, 39,6, 38,7, 37,5, 37,3, 35,8, 35,6, 33,6, 33,4, 32,1, 31,4, 30,7, 28,2, 23,8, 21,2, 19,1, 18,8, 17,4, 11,9, 10,7; MS (+FAB): 567,5 (M+1); Análisis calculado para C₃₆H₅₄O₅-0,3H₂O: C, 75,56; H, 9,62. Encontrado: C, 75,29; H, 9,04.

15

28b. Condiciones para la síntesis del compuesto **34**

Una mezcla del compuesto **33** (100 mg, 0,18 mmol), paladio sobre carbono al 10% (5 mg), trietilamina (5 gotas) en acetato de etilo (15 ml) se trató con un balón de hidrógeno durante 22 h. Después de filtrar a través de Celite®, la disolución se evaporó y se recristalizó en metanol (1 ml) y agua (unas gotas) para dar aproximadamente 95 % del compuesto **34** puro (81 mg, 80%).

25

29. Preparación del compuesto **35**

30 Una disolución del compuesto **34** (210 mg, 0,37 mmol) en acetona/agua al 90 % (16 ml) se trató con p-toluenosulfonato de piridinio (73 mg, 0,29 mmol) y se calentó a reflujo durante 12 h. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (25 ml), y este material posteriormente se lavó con agua (2 x 25 ml), se secó sobre sulfato sódico y se evaporó para dar el compuesto **35** (170 mg, 88%): RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,03 (d, J = 7 Hz, 2H), 7,60 (t, J = 7 Hz, 1H), 7,48 (t, J = 7 Hz, 2H), 5,20 (s ancho, 1H), 3,28 (m, 1H), 2,5 - 1,0 (m, 27H), 1,09 (s, 3H), 0,93 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 0,90 (d, J = 7 Hz, 3H), 0,89 (d, J = 7 Hz, 3H), 0,72 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 211,5, 165,9, 133,2, 130,9, 129,8, 128,7, 71,5, 56,1, 50,8, 47,2, 44,1, 42,9, 40,6, 39,6, 38,8, 38,4, 38,3, 35,8, 33,7, 32,1, 30,7, 28,3, 23,8, 21,6, 19,1, 18,8, 17,4, 12,0, 10,9; Análisis calculado para C₃₄H₅₀O₄-0,3H₂O: C, 77,32; H, 9,66; Encontrado: C, 77,06; H, 9,23.

35

30. Método alternativo para la síntesis del compuesto **36**

Se disolvieron complejo de trióxido de azufre-piridina (610 mg, 3,8 mmol) y el compuesto **35** (830 mg, 1,59 mmol) en piridina anhidra (7 ml) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 3 h, se evaporó, se disolvió en diclorometano (400 ml), se lavó con agua (100 ml) y salmuera (2 x 100 ml), se secó y se evaporó para obtener el compuesto **36** (1,06 g, 98 %) en forma de la sal de piridina: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,91 (m, 2H), 8,36 (t, J = 7 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 7 Hz, 2H), 7,91 (m, 2H), 7,57 (t, J = 7 Hz, 1H), 7,46 (t, J = 7 Hz, 2H), 5,15 (s ancho, 1H), 4,26 (m, 1 H), 2,4 - 1,0 (m, 27H), 1,06 (s, 3H), 0,88 (m, 9H), 0,66 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): δ 211,5, 165,9, 145,4, 142,7, 133,2, 130,7, 129,6, 128,7, 127,2, 85,1, 71,4, 56,0, 50,7, 47,1, 44,0, 42,8, 40,5, 39,4, 38,6, 38,3, 38,2, 35,7, 33,6, 31,1, 30,9, 28,0, 26,8, 23,7, 21,4, 18,7, 18,3, 17,8, 11,9, 10,8; MS (-LD): 606.

50

30b. Condiciones para la síntesis del compuesto **36**

Una mezcla del compuesto **34** (17,6 g, 31 mmol), acetona (880 ml), y resina de intercambio iónico Amberlyst® 15 (7,1 g, Aldrich 21.638-0) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. En este momento el análisis por HPLC mostró 3,5% de compuesto **34** sin convertirse. Después de filtrar y lavar con acetona (3 x 25 ml), se añadió piridina (2 ml) al filtrado. Después de evaporar el disolvente a vacío, se añadió piridina (100 ml). La evaporación a vacío se continuó hasta obtener otros 75 ml de destilado. Se añadió piridina (500 ml) al residuo y esta disolución se usó son más purificación. La disolución del compuesto **35** se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Se añadió complejo de trióxido de azufre-piridina (10,0 g, 62,8 mmol) en una porción, y la mezcla se calentó a 80 °C durante 45

55

min, después de lo cual el análisis por TLC mostró que la reacción se había completado. El disolvente se separó a vacío y se añadió tolueno (100 ml) al residuo. De nuevo, el disolvente se separó a vacío. Se añadió acetato de etilo (200 ml) al residuo a 50 °C y la suspensión se enfrió a aproximadamente 25 °C y se filtró. El matraz y la torta de filtración se lavaron con acetato de etilo (50 ml). Se añadió una mezcla de cloruro sódico al 25 % (25 ml) y agua (25 ml) al filtrado ligeramente turbio a 20 °C. Después de unos minutos, se obtuvo una suspensión espesa. Se añadió éter de *t*-butilo y metilo (500 ml) y la suspensión se enfrió a 0 °C, se filtró, y se lavó con agua (50 ml) y *t*-BuOMe (50 ml). El sólido se secó (50 °C, 2 mm) para dar el compuesto **36** como la sal de sodio (17,3 g, 89 % a partir del compuesto **34**).

10 31. Método alternativo para la síntesis del compuesto **37**

Se añadió una disolución de metóxido sódico 0,5 M (10 ml, 5 mmol) al compuesto **36** (600 mg, 0,88 mmol) en atmosfera de nitrógeno y la reacción se calentó a reflujo durante 3 h. Después de dejar esta mezcla durante la noche a temperatura ambiente, la reacción se calentó de nuevo a reflujo durante 5 h. Después de evaporación, el residuo se suspendió en agua (25 ml), se neutralizó (pH 7) con ácido trifluoroacético al 1,5%, se trató con salmuera y se extrajo con éter de *t*-butilo y metilo. La capa acosa se acidificó a pH 2, se saturó con cloruro sódico y se extrajo con tetrahidrofurano (6 x 100 ml, probablemente no es necesario todo este volumen). Las capas orgánicas se secaron con sulfato sódico, se filtraron y se evaporaron para producir un aceite, que se trituró con éter de *t*-butilo y metilo y se recogió por filtración para dar el compuesto **37** (330 mg, 75%, P.f. 150-151 °C): RMN ¹H (400 MHz, THF-D₈): δ 4,11 (q ancho, 1H), 3,71 (s ancho, 1H), 2,4 - 1,0 (m, 27H), 1,02 (s, 3H), 0,94 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,92 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,89 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,70 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, THF-D₈): δ 209,4, 84,3, 57,3, 51,5, 46,3, 45,1, 43,4, 41,0, 40,9, 40,2, 39,5, 38,8, 38,5, 37,1, 36,7, 32,2, 31,6, 29,2, 27,9, 26,0, 24,6, 22,3, 19,4, 18,6, 18,5, 12,5, 10,7; MS (-FAB): 497,1 (M-1).

25 31b. Condiciones para la síntesis del compuesto **37**

Una mezcla del compuesto **36** (17,2 g, 27,5 mmol) en disolución de hidróxido potásico 1 M (150 ml, 150 mmol) en metanol en atmósfera de nitrógeno, se calentó a reflujo. Después de evaporación del disolvente a vacío, se añadieron agua (125 ml) y diclorometano (125 ml) y la suspensión se enfrió a 0 °C. Después de filtración, el sólido se lavó con agua (3 x 30 ml) y diclorometano (2 x 25 ml) y se secó durante la noche (50 °C, 2 mm) para dar el compuesto **37** bruto en forma de la sal de potasio (12,5 g, 85 %). El compuesto **37** bruto (12,5 g, 23,3 mmol) se disolvió en una mezcla caliente de metanol (200 ml) y trietilamina (10 ml) y se filtró para separar los productos insolubles. El filtrado se concentró en un rotavapor hasta aproximadamente 75 ml, y se añadió *t*-BuOMe (100 ml). Después de enfriar a 0 °C, la suspensión se filtró, se lavó con *t*-BuOMe (30 ml), y se secó para dar la sal de potasio del compuesto **37** (10,4 g, 70 %, P.f. 165-174 °C) en forma de un sólido blanco: RMN ¹H (400 MHz, DMSO-D₆): δ 4,16 (m, 1H), 3,78 (q ancho, J = 5 Hz, 1H), 3,61 (m, 1H), 2,5 - 1,0 (m, 27H), 0,94 (s, 3H), 0,86 (d, J = 6 Hz, 3H), 0,81 (d, J = 7 Hz, 3H), 0,79 (d, J = 7 Hz, 3H), 0,63 (s, 3H); Análisis calculado para C₂₇H₄₅O₆S-0,77K-0,1Na-0,2H₂O: C, 60,76; H, 8,57; H₂O, 0,68; K, 5,64; Na, 0,43. Encontrado: C, 60,12; H, 8,21; H₂O, 0,66; K, 5,61; Na, 0,44; IR (KBr, cm⁻¹): 3436, 2928, 1708, 1470, 1390, 1208, 1051, 1038, 950, 812.

40

32. Preparación del compuesto **38** (que corresponde al compuesto 1436)

Se añadieron tamices moleculares de 3 Å (1 gramo) a la disolución incolora transparente del compuesto **37** (16 mg, 0,032 mmol) y espermina (20 mg, 0,1 mmol, disponible en el comercio en Aldrich) en metanol anhidro (3 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante 12 h, se enfrió a -78 °C y se trató gota a gota con borohidruro sódico (1 pelet, 0,4 g, 10 mmol) en metanol (10 ml). Esta mezcla de reacción se agitó durante 3 h, se trató con una mezcla de agua y metanol (10 ml de cada uno), se calentó a temperatura ambiente y después se trató con disolución de ácido trifluoroacético al 0,78 % (TFA) hasta que su pH alcanzó el intervalo de 4-5. La mezcla resultante se filtró a través de una almohadilla fina de Celite®, y la Celite® se lavó con metanol y agua (100 ml). Celite® es SiO₂ que está disponible en el comercio en Aldrich. Los lavados ácidos combinados se concentraron a vacío a temperatura ambiente y después se liofilizaron durante la noche para dar un sólido blanco. La torta de filtración de Celite® después se lavó con isopropilamina/metanol/agua (140 ml de 1:3:3), y la parte básica se evaporó para reducir su volumen. Este material se liofilizó durante la noche para dar un sólido marrón claro. Ambos lavados contenían el compuesto **38**, de modo que se combinaron y se acidificaron a un pH de 3 con TFA al 0,78 %, se filtraron y se cargaron en una pequeña columna de HPLC (1 cm de diámetro, véase a continuación). El producto de reacción era el compuesto **38** (12,2 mg, 36%): RMN ¹H (400 MHz, D₂O): δ 4,14 (m, 1H), 3,83 (m, 1 H), 3,2 - 3,0 (m, 13H), 2,1-1,0 (m, 35H), 0,92 (m, 9H), 0,82 (s, 3H), 0,67 (s, 3H); RMN ¹³C (400 MHz, D₂O): δ 87,2, 68,0, 57,9, 56,0, 50,5, 47,4, 45,6, 44,9, 42,8, 41,9, 39,7, 37,5, 36,9, 36,7, 36,0, 35,8, 31,5, 31,1, 30,6, 28,3, 27,1, 24,8, 24,1, 23,6, 23,4, 23,1, 21,4, 19,2, 17,7, 12,1, 11,2; MS (-LD): 684 (M-1); Análisis calculado para C₃₇H₇₂N₄O₅S-3TFA-2H₂O:

C, 48,58; H, 7,49; F, 16,08; N, 5,27; S, 3,02. Encontrado: C, 48,49; H, 7,40; F, 16,16; N, 5,31; S, 3,05.

33. Purificación del compuesto **38** por HPLC

5 El material bruto se disolvió en agua (50 ml), se enfrió en un baño de hielo, y se acidificó con TFA al 1,5 % en agua hasta que su pH era 3. Inicialmente, se observó que se obtenía una suspensión al disminuir el pH, y después se obtenía una disolución a pH inferior. Esta disolución se cargó en un sistema de HPLC de fase inversa Rainin (2,14 cm de diámetro, C18, 100 Å, 8 µm) y se eluyó con A (agua con TFA al 0,1 %) y B (acetonitrilo con TFA al 0,1 %). El programa de HPLC era el siguiente: 10 min (0 - 10 % de B), 60 min (10-45 % de B), 10 min (45-80 % de B), 10 min (80 % de B). El producto puro eluyó en las fracciones de 33 a 55 min, determinado por TLC (r_f: 0,1-0,2 en CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 6/3/1) (deben evaporarse las placas a vacío antes de eluir y observar con tinción con ninhidrina después de elución), que se liofilizó para producir 1,20 gramos del compuesto 1436 en forma de un polvo blanco (70 %); C₃₇H₇₂N₄O₅S-3TFA-2,5H₂O, PF 1072,18).

15 34. Oxidación alílica del estigmasterol (figura 16B)

Se añadieron estigmasterol (compuesto **50**, 150 g, 363 mmol) (se puede obtener de Aldrich) y N-hidroxiftalamida (60 g, 368 mmol) a un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 3000 ml. Se añadió al matraz una mezcla de acetato de etilo/acetona 50/50 (aproximadamente 2500 ml). El matraz se equipó con una entrada de aire de vidrio sinterizado y refrigerante de reflujo y se calentó a aproximadamente 55 °C con agitación magnética. Al calentarse la disolución del estigmasterol y la N-hidroxiftalamida se disolvieron. Después se añadió peróxido de dibenzoilo (aproximadamente 250 mg) a la reacción. Se burbujeó aire enérgicamente en la reacción con agitación magnética enérgica y la temperatura de la reacción se mantuvo a 50-55 °C a lo largo del transcurso de la reacción. Se añadió disolvente de acetato de etilo/acetona 50/50 adicional a la reacción según fuera necesario para rellenar el perdido debido al flujo de aire a través del sistema. La reacción se siguió por TLC en gel de sílice (acetato de etilo en hexano al 40 %) y se consideró que se había completado después de 48 h. La reacción se trató por adición de la disolución de ciclohexano (1000 ml) y dejando enfriar. La N-hidroxiftalamida se separó por filtración, y el resto se separó por lavados repetidos con carbonato sódico, hasta que no se observó coloración naranja. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se separó a vacío y el esteroide se disolvió en piridina (500 ml). La disolución de piridina se enfrió a 0-4 °C. El disolvente se separó a vacío y el esteroide se disolvió en piridina (500 ml). La disolución de piridina se enfrió a 0-4 °C, y se añadió CuCl₂ (1 g). La disolución se agitó durante la noche, dejando que la disolución se calentara a temperatura ambiente al fundirse el hielo. Después, la disolución de piridina se vertió sobre una suspensión de hielo/agua (4000 ml) y el esteroide precipitó. El sólido se filtró, se lavó con disolución de HCl 0,1 N y se destiló el agua, y después se recristalizó en metanol (2X) para dar el compuesto **60** (127 g, 298 mmol, 82 %): P.f. 144 °C; RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 5,71 (s, 1H), 5,26 - 4,95 (m, 2H), 3,69 (m, 1H), 1,20 (s, 3H), 1,02 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,86 - 0,78 (m, 9H), 0,70 (s, 3H); RMN ¹³C (200 MHz, CDCl₃): δ 202,5, 165,8, 137,9, 129,3, 125,6, 70,0, 54,4, 51,0, 49,8, 49,7, 45,2, 42,8, 41,6, 40,1, 38,4, 38,1, 36,2, 31,7, 30,8, 28,8, 26,2, 25,2, 21,2, 20,9, 18,8, 17,1, 12,1, 12,0; MS (FD): 426 (M⁺); Análisis calculado para C₂₉H₄₆O₂: C, 80,63; H, 10,87. Encontrado: C, 81,77; H, 11,04. (NOTA: se usó como referencia 76,91 ppm).

40 35. Reducción con litio - NH₃ del 7-oxo-estigmasterol

Se añadió tetrahidrofurano (500 ml) a un matraz de 3 bocas de 2000 ml equipado con un refrigerante de hielo seco, un embudo de adición de 250 ml y barra agitadora magnética. El refrigerante de reflujo y el baño que rodeaba el matraz se cargaron con hielo seco-acetona, y se recogió amoníaco hasta un volumen total de 1200 ml. Se añadió alambre de litio (2 g, 288 mmol) a la disolución con agitación enérgica. Una vez completamente disuelto el litio, se añadió una disolución de compuesto **60** (25 g, 58,6 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) al matraz en una corriente constante. Después de 1 h, la mezcla de reacción se inactivó por la adición de NH₄Cl y se dejó evaporar durante la noche. El sólido resultante se disolvió en 500 ml de tolueno/1000 ml de disolución de HCl 1 N con agitación enérgica. Después de eliminar la capa acuosa, la capa orgánica se lavó con agua destilada y salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. El residuo se recristalizó en 2-propanol para dar el compuesto **61** (19,4 g, 45,7 mmol, 78%): P.f. 149 °C; RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 5,23 - 4,92 (m, 2H), 3,70 - 3,52 (m, 1H), 1,10 (s, 3H), 1,02 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,86 - 0,78 (m, 9H), 0,70 (s, 3H); RMN ¹³C (200 MHz, CDCl₃): δ 212,0, 138,0, 129,3, 70,5, 55,1, 54,8, 51,1, 49,8, 48,8, 46,7, 46,0, 42,3, 40,1, 38,5, 37,7, 36,0, 35,9, 31,7, 30,9, 28,8, 25,2, 24,9, 21,7, 21,2, 20,9, 18,8, 12,1, 11,7; MS (FD): 428 (M⁺); Análisis calculado para C₂₉H₄₈O₂: C, 81,25; H, 11,29. Encontrado: C, 80,97; H, 11,20 (NOTA: se usó como referencia 76,91 ppm).

36. Reducción de la 7-cetona con K-Selectride® (tri-sec-butilborohidruro potásico de Aldrich)

El compuesto **61** (10 g, 23,4 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano seco (50 ml) en un matraz de fondo redondo de 250 ml en atmósfera de argón. El matraz se enfrió a -20 °C, y se añadió lentamente mediante jeringa en el matraz disolución de K-Selectride® 1 M (tri-sec-butilborohidruro potásico de Aldrich) en tetrahidrofurano (51,6 ml, 51,6 mmol). La reacción se dejó agitar durante la noche, se calentó a temperatura ambiente al fundirse el hielo. La reacción se enfrió en un baño de hielo y se inactivó con una disolución de H₂O₂ al 30 % hasta desaparecer el color y cesar la evolución de gas. Se añadió tolueno (250 ml) a la disolución, y la capa orgánica se lavó con agua destilada, disolución de HCl 1 N (2 x 250 ml), disolución de bicarbonato sódico y salmuera. La capa orgánica después se secó y el disolvente se separó a vacío. Después, el sólido resultante se cromatografió en gel de sílice (elución con acetato de etilo en hexano al 60 %) para producir el compuesto **62** (9,6 g, 22,4 mmol, 96%) en forma de un sólido blanco: P.f. 174 °C; RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 5,22 - 4,92 (m, 2H), 3,82 (m agudo, 1H), 3,71 - 3,52 (m, 1H), 1,02 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,86 - 0,81 (m, 12H), 0,68 (s, 3H); RMN ¹³C (200 MHz, CDCl₃): δ 138,1, 129,2, 71,0, 67,8, 55,8, 51,1, 50,5, 45,7, 42,4, 40,4, 39,2, 37,6, 36,9, 36,6, 36,2, 35,4, 31,7, 31,2, 28,7, 25,2, 23,6, 20,9, 20,8, 18,8, 12,1, 11,9, 11,1; MS (FD): 430 (M⁺); Análisis calculado para C₂₉H₅₀O₂: C, 80,87; H, 11,70. Encontrado: C, 80,62; H, 11,76 (NOTA: se usó como referencia 76,91 ppm).

15

37. Oxidación de 3B-ol con carbonato de plata sobre Celite® (SiO₂)

Se preparó carbonato de plata sobre Celite® (SiO₂, disponible en Aldrich) disolviendo AgNO₃ (8,3 g, 49 mmol) en agua desionizada (250 ml) y añadiendo Celite® (6,7 g, SiO₂ de Aldrich) a la disolución. La disolución se agitó energicamente a la Celite® (SiO₂ de Aldrich) suspendida. Se añadió lentamente un gran exceso de un tampón de carbonato a pH 11 a la suspensión, y el carbonato de plata precipitó de la solución sobre la Celite® (SiO₂ de Aldrich) en forma de un sólido amarillo-verde. El sólido se filtró, se lavó con agua desionizada y se secó en un desecador con vacío cubierto con una lámina metalizada durante la noche. El 3β-hidroxi-esterol **62** (7 g, 16,3 mmol) se disolvió en tolueno (600 ml) en un matraz de fondo redondo de 1000 ml equipado con una trampa Dean Stark. El carbonato de plata se añadió al matraz, y la disolución se calentó a reflujo durante 8 h. La reacción se enfrió y se filtró a través de una columna corta de Florisil® (elución con acetato de etilo) para asegurar la elución completa del estero. Florisil® es un material de silicato de magnesio que está disponible en el comercio en Aldrich. El disolvente se separó a vacío para dar el compuesto **63** (6,4 g, 15 mmol, 92 %). El estero estaba puro TLC y RMN, pero estaba descolorido debido a la elución en trazas de impureza de plata del Florisil® (silicato de magnesio, disponible en Aldrich): P.f. 174 - 175 °C; RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 5,23 - 4,92 (m, 2H), 3,84 (m agudo, 1H), 1,02 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,93 - 0,82 (m, 9H), 0,69 (s, 3H); RMN ¹³C (200 MHz, CDCl₃): δ 211,6, 138,0, 129,3, 67,4, 55,8, 51,1, 50,4, 45,1, 44,0, 42,4, 40,4, 39,3, 39,2, 38,9, 38,0, 36,4, 35,6, 31,8, 28,8, 25,3, 23,6, 21,0, 18,9, 12,1, 11,9, 10,3; MS (FD): 428 (M⁺); Análisis calculado para C₂₉H₄₈O₂: C, 81,25; H, 11,29. Encontrado: C, 81,17; H, 11,49 (NOTA: se usó como referencia 76,91 ppm).

35

38. Preparación del 7α-benzoato (Compuesto 64)

Una disolución enfriada (0 °C) del compuesto **63** (5 g, 11,7 mmol) en piridina (100 ml) se trató gota a gota con cloruro de benzoilo (6,8 ml, 58,5 mmol). Después de la adición de 4-dimetilaminopiridina (200 mg), la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, se agitó durante aproximadamente 8 h, y después se vertió sobre hielo y se dejó reposar durante la noche. La disolución resultante se filtró, dejando el estero en forma de un sólido céreo espeso. El estero se disolvió en tolueno y se lavó con disolución de HCl 1 N (2X) y disolución de bicarbonato sódico. La capa orgánica resultante se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (elución con gradiente con acetato de etilo en tolueno) para dar el compuesto **64** (5,33 g, 10,1 mmol, 86 %) en forma de un sólido blanco: P.f. 155 °C; RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 8,04 - 7,99 (m, 2H), 7,63 - 7,40 (m, 3H), 5,24 - 4,92 (m, 3H), 1,09 (s, 3H), 1,04 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,85 - 0,70 (m, 12H); RMN ¹³C (200 MHz, CDCl₃): δ 210,8, 165,3, 137,8, 132,7, 130,4, 129,3, 129,2, 128,2, 71,0, 55,5, 50,9, 50,4, 46,8, 43,6, 42,3, 40,3, 40,1, 39,0, 38,3, 38,0, 37,8, 35,4, 33,2, 31,6, 28,5, 25,1, 23,4, 21,0, 20,9, 18,7, 12,0, 11,7, 10,3; MS (FD): 532 (M⁺); Análisis calculado para C₃₆H₅₂O₃: C, 81,15; H, 9,84. Encontrado: C, 80,98; H, 9,89 (NOTA: se usó como referencia 76,91 ppm).

50

39. Preparación del 3-dioxolano (Compuesto 65)

La cetona **64** (4 g, 7,5 mmol) se disolvió en tolueno (250 ml), y se trató con ácido p-toluenosulfónico (250 mg) y etilenglicol (5 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo con eliminación de agua durante 2 h, y después se dejó enfriar. La reacción se trató con carbonato sódico anhidro (2 g) y agua. La capa orgánica se lavó con bicarbonato sódico (2X), agua desionizada y salmuera; se secó sobre Na₂SO₄; y se evaporó para dar el compuesto **65** (4,1 g, 7,1 mmol, 95 %) en forma de un sólido céreo amarillo claro: P.f. 74 °C; RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 8,14 - 8,04 (m, 2H), 7,63 - 7,40 (m, 3H), 5,23 - 4,92 (m, 3H), 3,87 (m, 4H), 1,00 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,81 - 0,70 (m, 12 H);

55

RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3): δ 165,8, 138,0, 132,6, 130,9, 129,5, 129,2, 128,3, 108,9, 71,8, 64,0, 55,6, 51,1, 50,7, 47,1, 42,4, 40,4, 39,3, 38,5, 37,2, 37,1, 35,6, 35,4, 33,1, 31,7, 31,1, 28,6, 25,2, 23,6, 21,0, 18,8, 12,1, 11,8, 10,4; MS (FD): 576 (M^+); Análisis calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{56}\text{O}_4$: C, 79,12; H, 9,78. Encontrado: C, 78,89; H, 9,75 (NOTA: se usó como referencia 76,91 ppm).

5

40. Ozonolisis del compuesto **65**

El esteroide **65** (3,5 g, 6,1 mmol) se disolvió en diclorometano/etanol 2/1 (250 ml). El aparato Welsbach se purgó con oxígeno a 7 psi (1 ml/min), y se abrió el agua. La disolución de esteroide se enfrió en un baño de hielo seco y etanol. El aparato de ozonolisis se ajustó a 90 V y se puso en marcha. Se burbujeó ozono en el matraz enfriado y con agitación magnética hasta que se observó una coloración azul. Se apagó la alimentación eléctrica y se burbujeó oxígeno en el matraz hasta que el color se disipó. Se añadió trimetilfosfito (5 ml, 42 mmol) al recipiente de reacción, y se retiró el baño de hielo para permitir que la mezcla de reacción se calentara a temperatura ambiente. Se separó el disolvente a vacío y se mantuvo con alto vacío durante la noche para separar cualquier resto de trimetilfosfito. El sólido blanco resultante se cromatografió en gel de sílice (elución con gradiente con acetato de etilo en tolueno) para dar el compuesto **29** (2,7 g, 5,5 mmol, 90 %) en forma de un sólido blanco idéntico por RMN al preparado previamente.

41. Preparación del compuesto **41** (figura 17)

20

Lo siguiente es un procedimiento mejorado del publicado (Y. Umeda, M. Moriguchi, H. Kuroda, T. Nakamura, A. Fujii, H. Iinuma, T. Takeuchi, H. Umezawa, *J. of Antibiotics* 1987, 1303-1315). Un matraz que contenía 1,3-diaminopropano (2,5 kg, 33,72 mol) se agitó con un agitador mecánico, se enfrió ($-6\text{ }^\circ\text{C}$), y se trató con 4-bromobutironitrilo (1,00 kg, 6,76 mol) a lo largo de 1,5 h, manteniendo la temperatura interna a menos de $0\text{ }^\circ\text{C}$. La reacción se dejó agitar en el baño frío durante 15 min adicionales. El baño frío se retiró y la reacción se dejó agitar sin control de temperatura auxiliar durante 1 h. Se añadió isopropanol (11 litros) en una porción a la reacción. La mezcla se agitó durante 15 min después de aparecer un precipitado, y después se almacenó a $0 - 10\text{ }^\circ\text{C}$ durante la noche. Los sólidos se recogieron por filtración en un embudo Buchner forrado con una almohadilla de filtro de fieltro de polipropileno. Los sólidos se lavaron con isopropanol (2 x 1,1 litro). Los filtrados combinados se pasaron por una columna de resina de intercambio iónico.

La resina Dowex 1X8-100 (forma OH^-) se preparó combinando Dowex 1X8-100 (forma Cl^- , 2,2 kg) y disolución acuosa de NaOH 5 N (6 litros) durante 1 h. La mezcla se vertió en una columna de cromatografía del tamaño adecuado con una frita de vidrio grueso. La resina se lavó con NaOH 5 N (53 litros). Después de lavar con 44 litros de NaOH 5 N, una pequeña parte alícuota del eluyente, neutralizada a pH 7 con HOAc, apareció turbia cuando se añadió solución acuosa de AgNO_3 0,1 M. El lavado adicional con 9 litros de NaOH 5 N no mejoró claramente la transparencia. La resina se lavó con agua desionizada (6,6 litros), momento en el que el pH del eluyente era 7. El eluyente era transparente después de la adición de disolución acuosa de AgNO_3 0,1 M. La resina se lavó con isopropanol (11 litros) y la columna estaba lista para usar.

40

Después de que todo el filtrado hubiera pasado por la columna, la columna se lavó con isopropanol (14 litros). Una pequeña parte alícuota de los eluentes combinados, cuando se neutralizaron a pH 7 con HOAc, era transparente después de la adición de disolución acuosa de AgNO_3 0,1 M. Los eluentes combinados se concentraron hasta un peso de 1,39 kg usando un aspirador de agua y un baño a $45 - 50\text{ }^\circ\text{C}$. Se añadieron tamices moleculares (100 g, 3 Å) al residuo, el cual se almacenó a $0 - 10\text{ }^\circ\text{C}$ durante la noche. Los tamices se separaron por filtración y el filtrado se destiló a presión reducida en un matraz de 2 litros equipado con agitador superior, un termómetro, y una cabeza de destilación con una columna Vigraux corta. Se recogieron y descartaron las fracciones que destilaban a menos de $114\text{ }^\circ\text{C}$ (0,6 mm) (627 g). Se recogieron dos fracciones con producto que contenían el compuesto **41** puro: fracción 4 (108 g) destilada a $114 - 115\text{ }^\circ\text{C}$ (0,6 mm) y fracción 5 (591 g, total = 699 g, 73 %) destilada a $110 - 112\text{ }^\circ\text{C}$ (0,5 mm): RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 2,71 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,68 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,61 (t, J = 7 Hz, 2H), 2,39 (t, J = 7 Hz, 2H), 1,75 (p, J = 7 Hz, 2H), 1,56 (p, J = 7 Hz, 2H); RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 119,9, 48,1, 47,7, 40,5, 33,8, 25,8, 15,0; MS (^+FAB): 142 (M^+ , 100); IR (solo, cm^{-1}): 3280, 2930, 2244, 1592, 1470, 1128, 830; Análisis calculado para $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{N}_3$: C, 59,54; H, 10,71; N, 29,76. Encontrado: C, 58,60, H, 10,52, N, 28,86.

55 42. Preparación del compuesto **42** (escualamina)

La poliamina **41** (8,00 g, 56,7 mmol) se disolvió en metanol anhidro (650 ml) a temperatura ambiente, y se añadió ortoformiato de trimetilo (50 ml, 457 mmol). Se añadió el esteroide **37** (10,0 g, 18,7 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 18 h. La mezcla de reacción se enfrió a $-74\text{ }^\circ\text{C}$, se trató con borohidruro sódico (1,06 g, 28,0 mmol) a lo

largo de 1 min y se agitó durante 3,5 h a -74 °C. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se concentró a 31 °C bajo el vacío de un espirador de agua. El producto bruto se disolvió en etanol al 100 % (290 ml), se purgó con nitrógeno y se acidificó a pH 1-2 con ácido trifluoroacético solo. Se añadió óxido de platino (1,00 g) y la mezcla se agitó en un aparato Parr (40 psi) durante 18 h. La mezcla de reacción se filtró a través de papel, que se había lavado con metanol (620 ml). El filtrado se evaporó y después se disolvió en etanol al 50 % en agua.

Se preparó una columna de intercambio iónico de ácido propilsulfónico suspendiendo 80 g de resina en isopropanol (IPA) al 10 % en agua para formar una suspensión y por adición de 200 ml de IPA al 10 % a la columna, seguido de la suspensión. Se eluyeron al menos 5 volúmenes de columna de IPA al 10 % a través de la columna con un caudal de 40 ml/min. La columna se lavó con ácido trifluoroacético (TFA) al 0,05 % en etanol al 50 % en agua (150 ml) a 20 ml por min. La muestra anterior se cargó (en 2 lotes) y se recogió el eluyente. La columna se lavó con dos volúmenes de columna de TFA al 0,05 % en etanol al 50 % en agua y dos volúmenes de columna de TFA al 0,05 % en IPA al 10 %. Después la columna se eluyó con KOAc 4,5 M/IPA al 10 % (pH 5) y se recogieron las fracciones (150 ml cada una). Se combinaron las fracciones que contenían la escualamina por TLC (diclorometano:metanol:hidróxido amónico, 6:3:1).

El material bruto del intercambio iónico se purificó en una columna de fase inversa 25 x 5 cm YMC ODS-AQ C18. El eluyente de PSA se diluyó con 4 volúmenes de agua desionizada. La columna se cargó con escualamina y se eluyó con 4 volúmenes de tampón A (TFA al 0,05 % en acetonitrilo al 1 % en agua). Después la columna se eluyó con el siguiente gradiente de tampones A y B (TFA al 0,05 % en agua al 1% en acetonitrilo) (Detector: UV λ = 200 nm):

min	ml/min	% de A	% de B
0	0	100	0
1:00	100	100	0
10:00	100	75	25
60:00	100	60	40
70:00	100	40	60
80:00	100	20	80
90:50	100	20	80
98:00	100	100	0
99:00	0	100	0

Se recogieron fracciones entre los minutos 28 y 60 (30 - 40% de B) (50 ml). Todas las fracciones se examinaron por TLC, y las fracciones tempranas y tardías se analizaron por HPLC analítico con derivatización con orto-ftalaldehído (OPA), una columna de fase inversa y detección por fluorescencia. Las fracciones que eran > 95 % puras se combinaron para dar el compuesto **42** 97% puro (10,3 g, 60 % de rendimiento) como la sal de TFA (PF aproximado 910), que era idéntico a la escualamina natural por análisis por HPLC (método OPA); RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz): δ 4,12 (q ancho, 1H), 3,76 (s ancho, 1H), 3,2 - 2,9 (m, 9H), 2,1 - 1,0 (m, 33H), 0,94 - 0,90 (m, 9H), 0,84 (s, 3H), 0,67 (s, 3H); y RMN ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz): δ 86,7, 68,4, 59,2, 57,7, 51,8, 46,8, 46,0, 43,9, 43,0, 41,2, 40,1, 38,7, 38,0, 37,8, 37,5, 37,0, 32,7, 32,2, 32,1, 29,5, 28-3, 26,1, 25,7, 24,7, 24,6, 24,3, 22,3, 19,6, 18,6, 18,3, 12,6, 11,7.

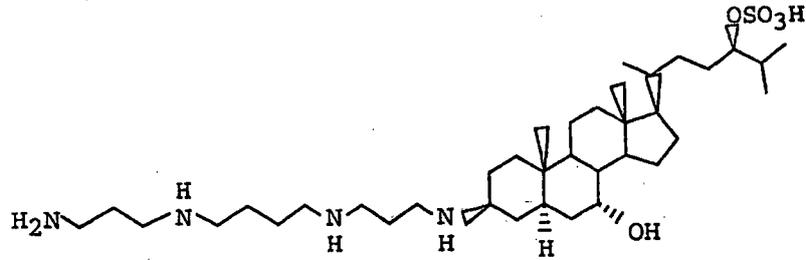
Al describir la invención, los autores de la invención han expuesto ciertas teorías en un esfuerzo de describir cómo y por qué la invención funciona de la forma en la que funciona. Estas teorías se exponen solo con fines informativos. Los autores de la invención no desean estar ligados por ninguna teoría de funcionamiento específica.

35

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para producir un compuesto de aminoesterol seleccionado del grupo que consiste en escualamina, compuesto 1436, en donde el compuesto 1436 es

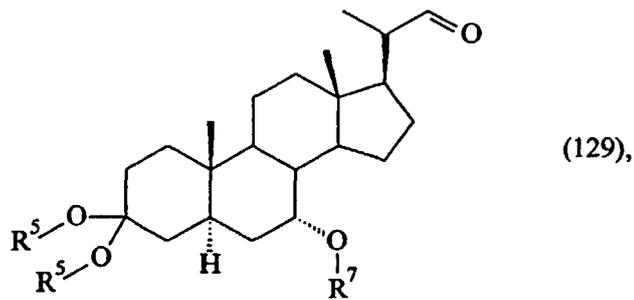
5



y sales de los mismos, comprendiendo el método:

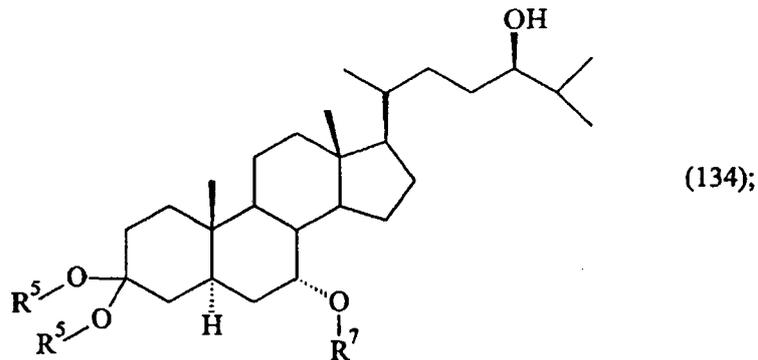
10

convertir, en condiciones suficientes, un compuesto de acuerdo con la fórmula 129:



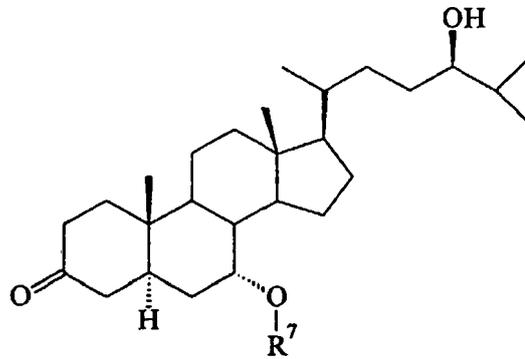
15

en la que los grupos R^5 son grupos protectores adecuados que pueden ser iguales o diferentes, o los grupos R^5 se pueden unir entre sí para formar una estructura de anillo, y R^7 es un grupo protector adecuado, en un compuesto de acuerdo con la fórmula 134:



20

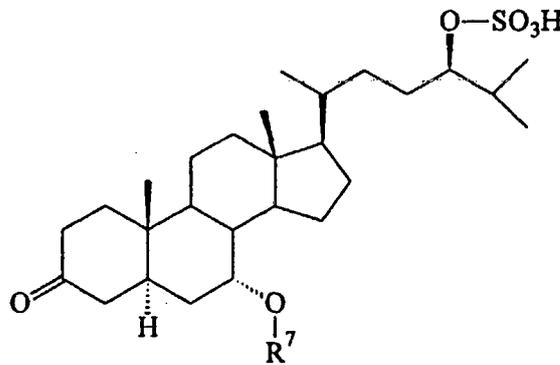
convertir, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 134 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 135:



(135);

convertir, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 135 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 136:

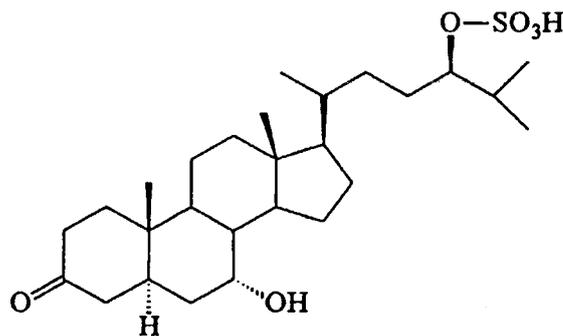
5



(136);

convertir, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 136 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 37:

10



(37);

y
convertir, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 37 en escualamina, compuesto 1436, o una sal del mismo.

15

2. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto de acuerdo con la fórmula 37 se convierte en el compuesto 1436 o una sal del mismo.

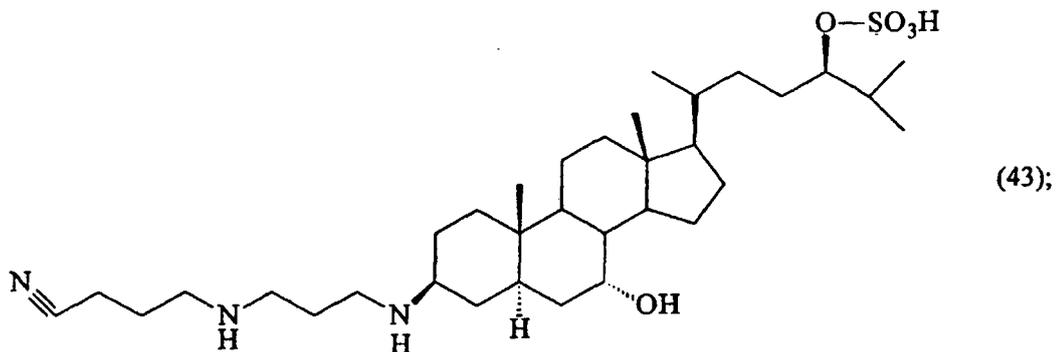
20 3. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto de acuerdo con la fórmula 37 se convierte en escualamina o una sal del mismo.

4. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el compuesto 37 se convierte en escualamina como sigue:

5 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 37 en su correspondiente sal de potasio;

se convierte, en condiciones suficientes, la sal de potasio del compuesto de acuerdo con la fórmula 37 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 43:

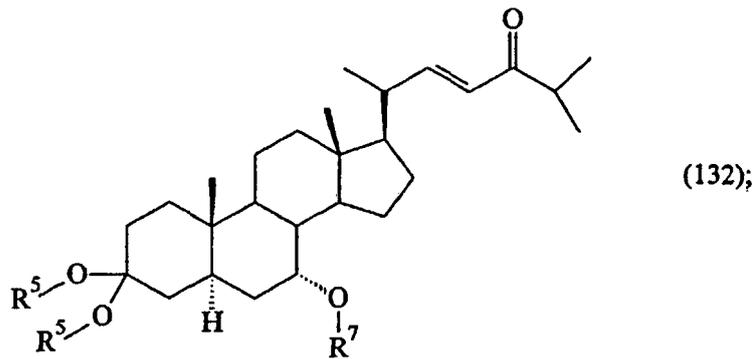
10



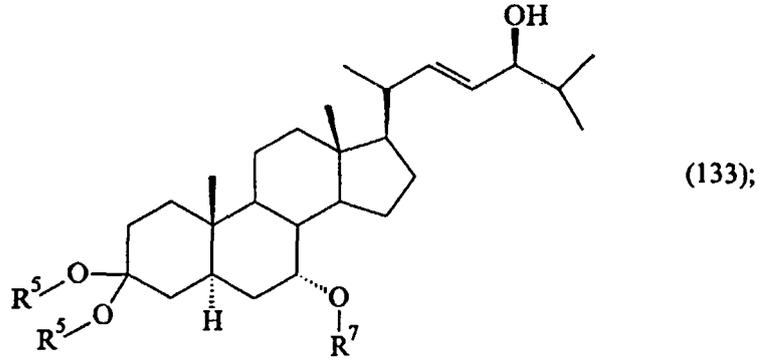
15 y se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 43 en escualamina o una sal del mismo.

5. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto 129 se convierte en el compuesto 134 como sigue:

20 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 129 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 132:



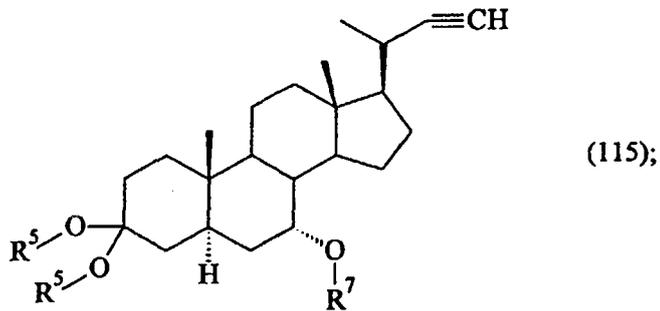
25 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 132 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 133:



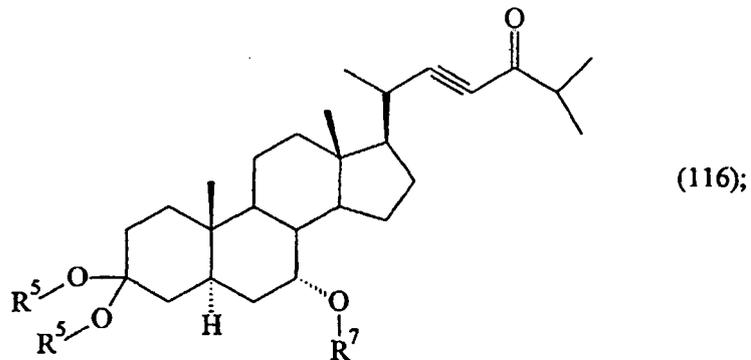
5 y se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 133 en el compuesto de acuerdo con la fórmula 134.

6. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto 129 se convierte en el compuesto 134 como sigue:

10 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 129 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 115:

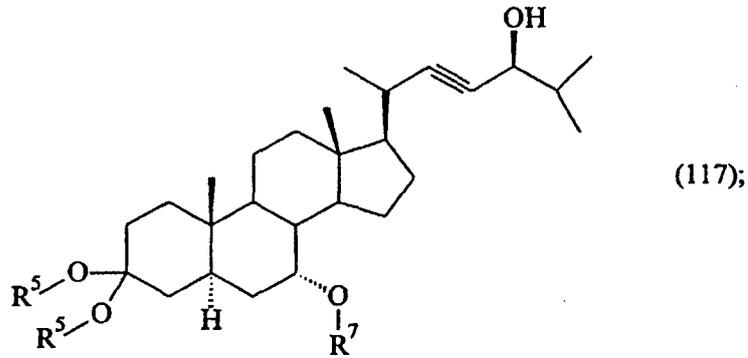


15 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 115 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 116:



20 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 116 en un compuesto

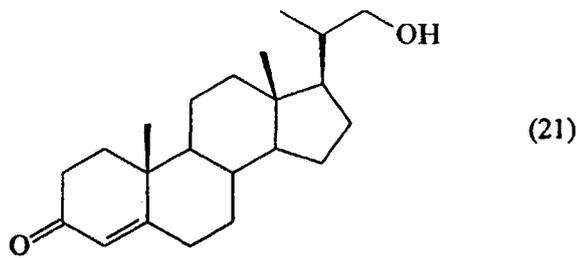
de acuerdo con la fórmula 117:



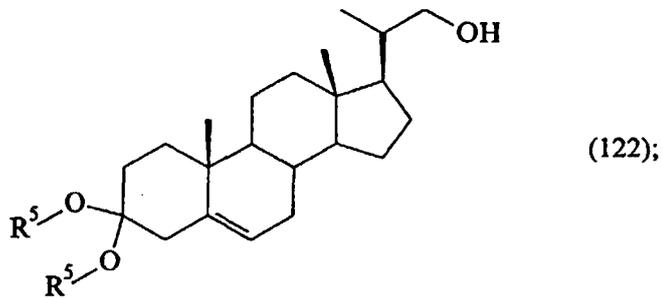
5 y se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 117 en el compuesto de acuerdo con la fórmula 134.

7. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto de acuerdo con la 10 fórmula 129 se produce como sigue:

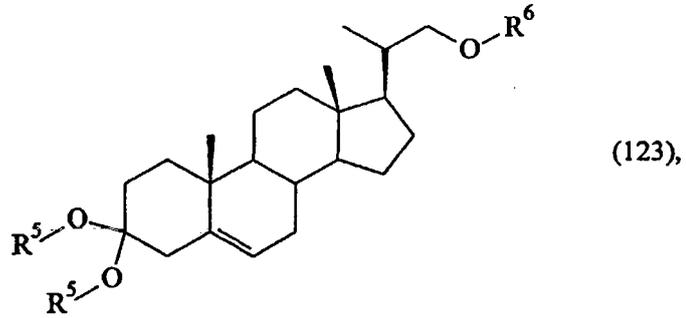
se convierte, en condiciones suficientes, un compuesto de acuerdo con la fórmula 21 como sigue:



15 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 122:

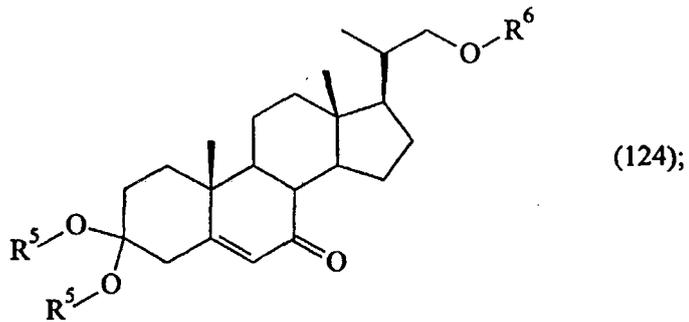


20 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 122 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 123:

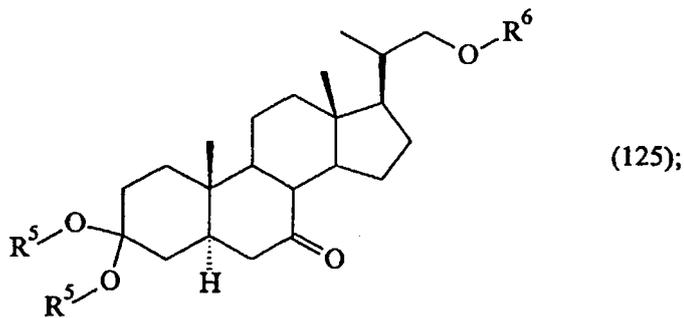


en la que R⁶ es un grupo protector adecuado;

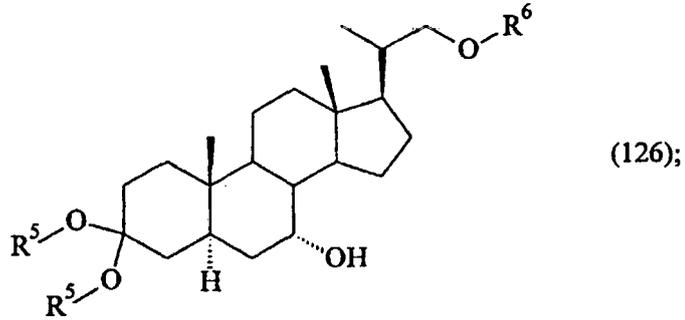
- 5 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 123 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 124:



- 10 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 124 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 125:

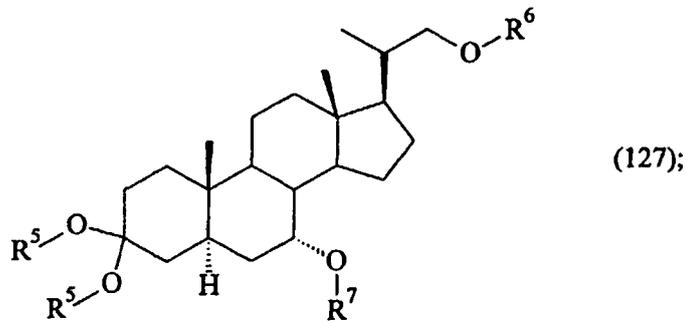


- 15 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 125 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 126:



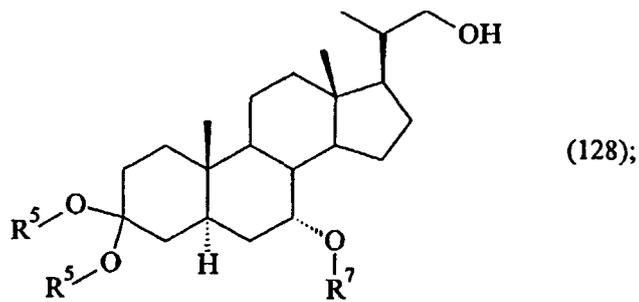
5

se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 126 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 127:



10

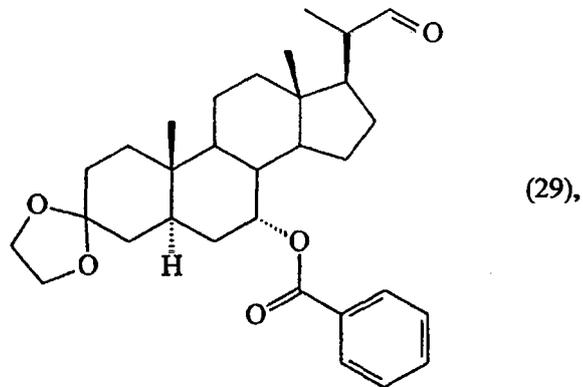
se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 127 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 128:



15

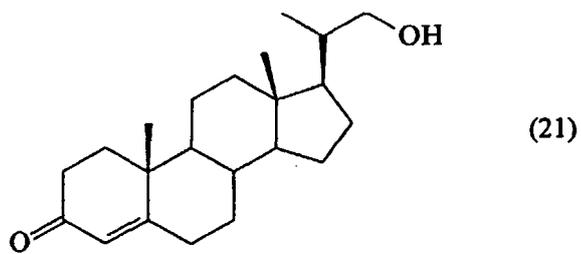
y se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 128 en el compuesto de acuerdo con la fórmula 129.

8. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto de acuerdo con la fórmula 129 es un compuesto de acuerdo con la fórmula 29:

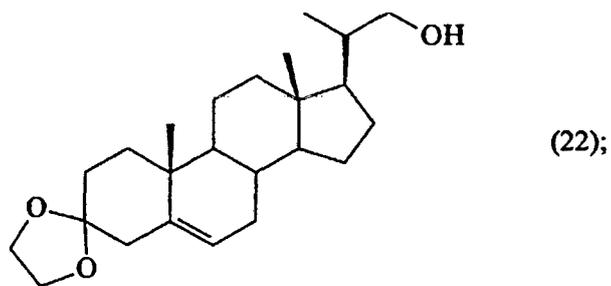


que se produce como sigue:

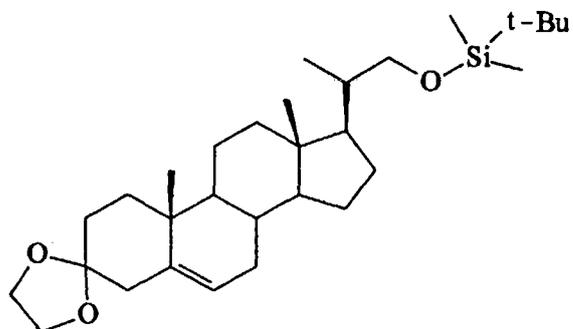
5 se convierte, en condiciones suficientes, un compuesto de acuerdo con la fórmula 21 como sigue:



10 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 22:



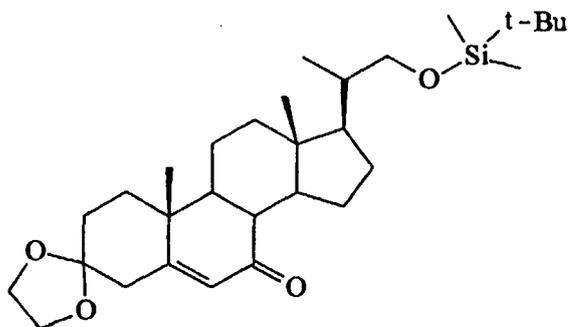
15 se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 22 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 23:



(23);

se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 23 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 24:

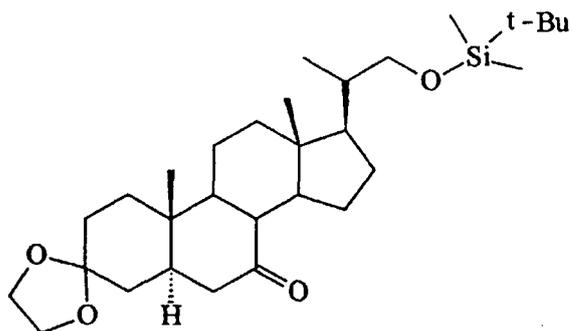
5



(24);

se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 24 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 25:

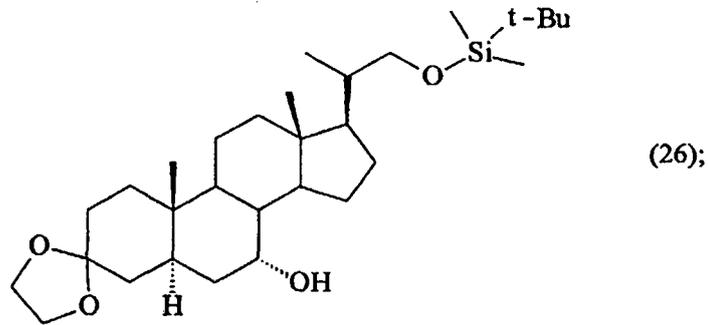
10



(25);

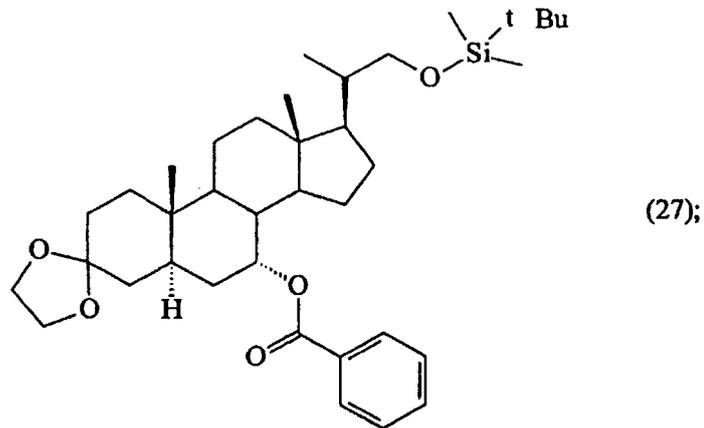
se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 25 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 26:

15



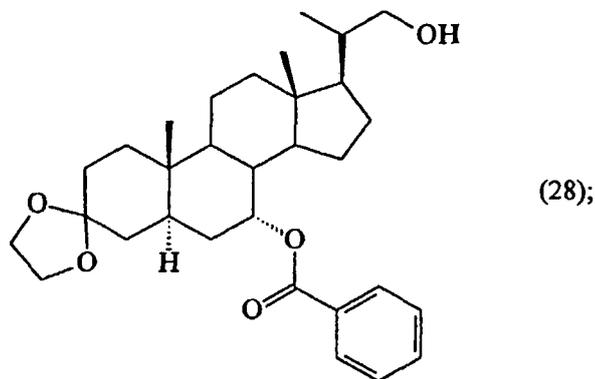
5

se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 26 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 27:



10

se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 27 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 28:



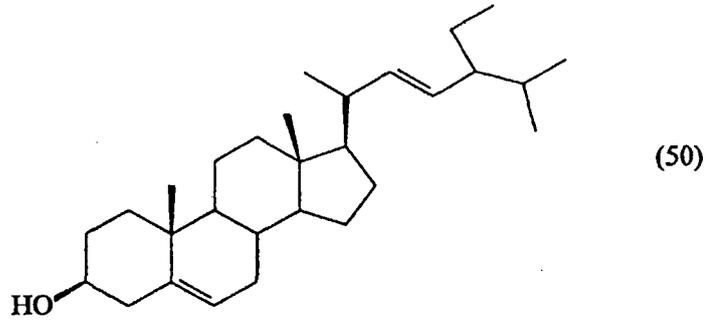
15

y se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 28 en el compuesto de acuerdo con la fórmula 29.

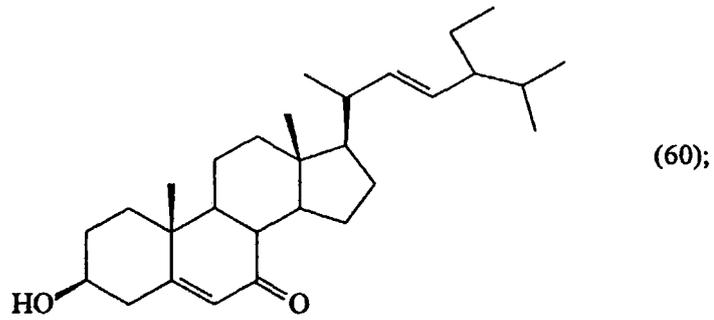
9. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto 129 se produce como

sigue:

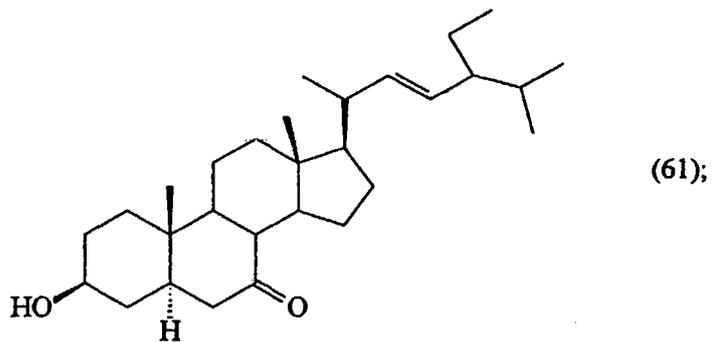
se convierte, en condiciones suficientes, un compuesto de acuerdo con la fórmula 50 como sigue:



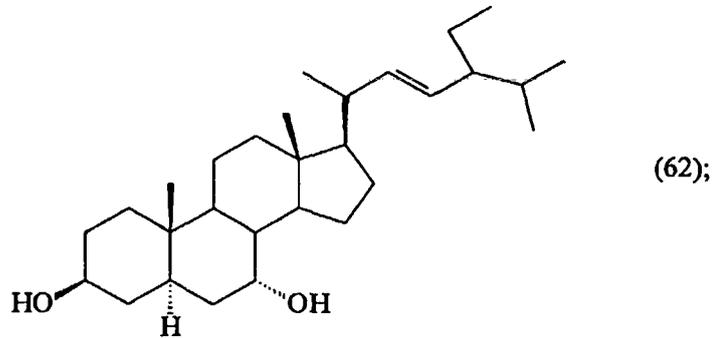
en un compuesto de acuerdo con la fórmula 60:



se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 60 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 61:

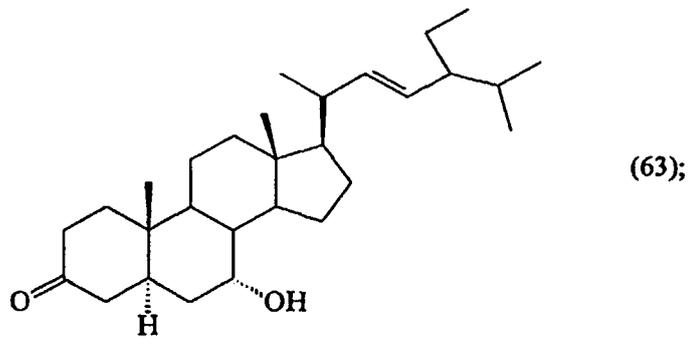


se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 61 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 62:



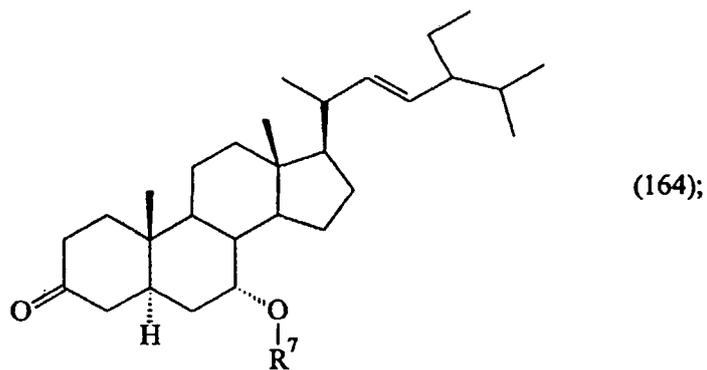
se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 62 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 63:

5



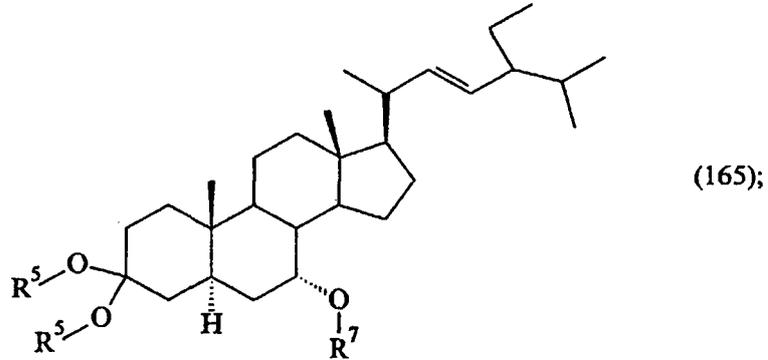
se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 63 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 164:

10



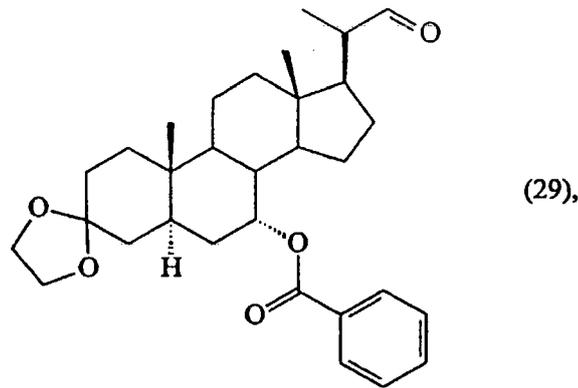
se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 164 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 165:

15



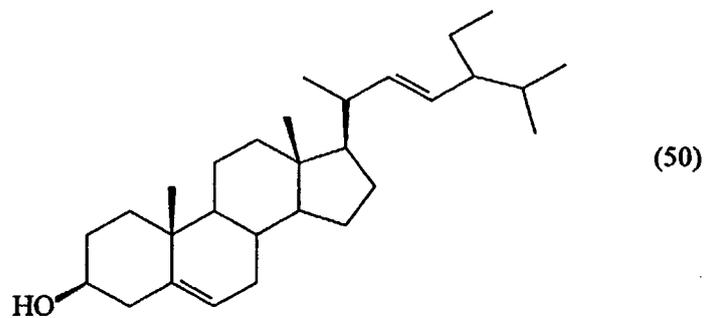
5 y
se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 165 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 129.

10. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto 129 es un compuesto de acuerdo con la fórmula 29:

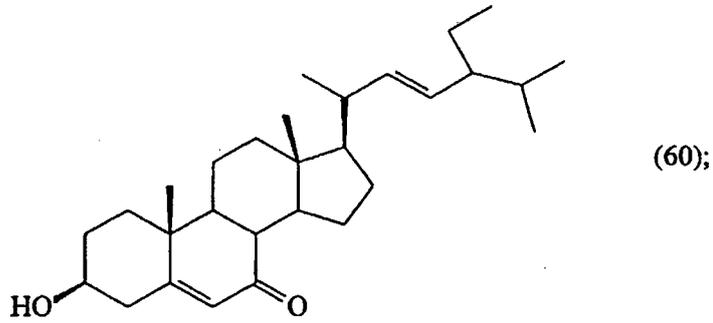


10 que se produce como sigue:

15 se convierte, en condiciones suficientes, un compuesto de acuerdo con la fórmula 50 como sigue:

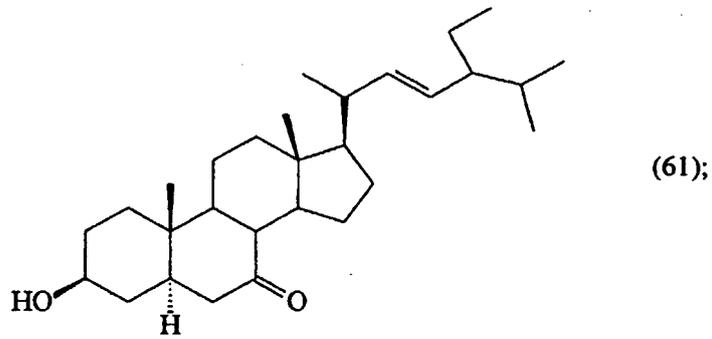


en un compuesto de acuerdo con la fórmula 60:



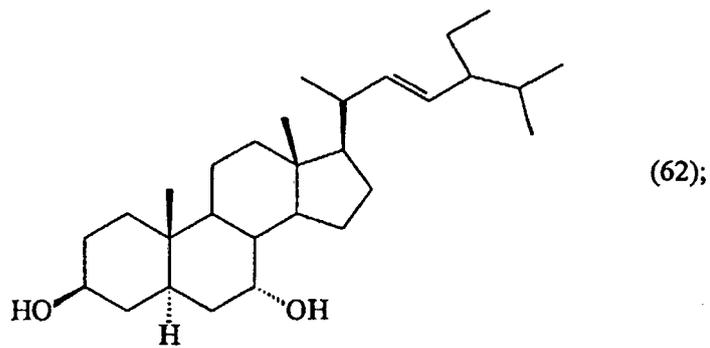
se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 60 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 61:

5



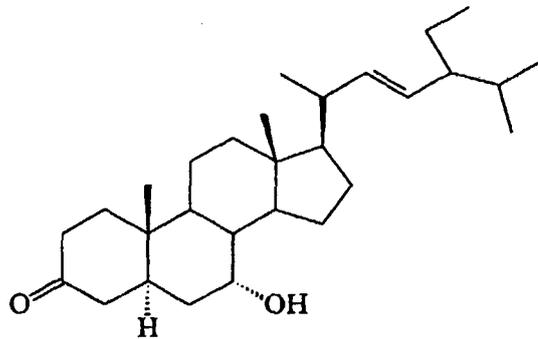
se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 61 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 62:

10



se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 62 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 63:

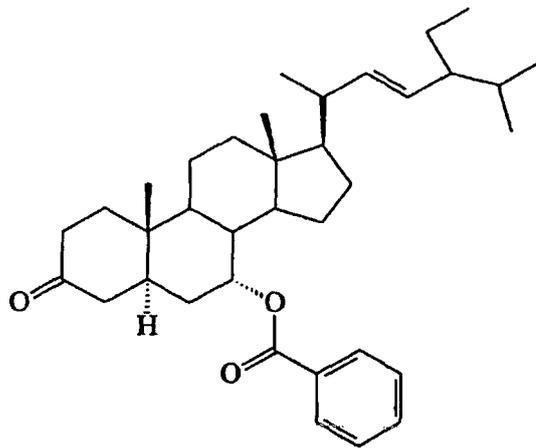
15



(63);

se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 63 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 64:

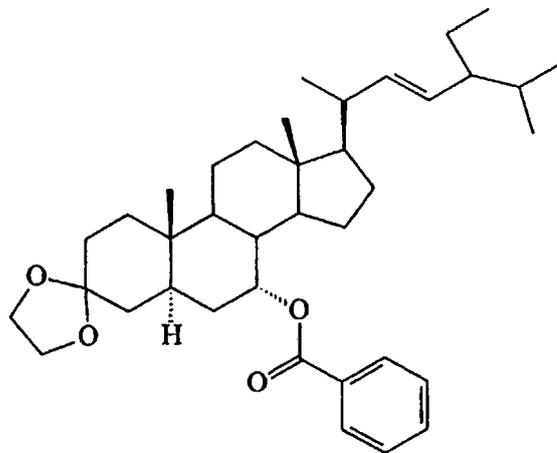
5



(64);

se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 64 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 65:

10

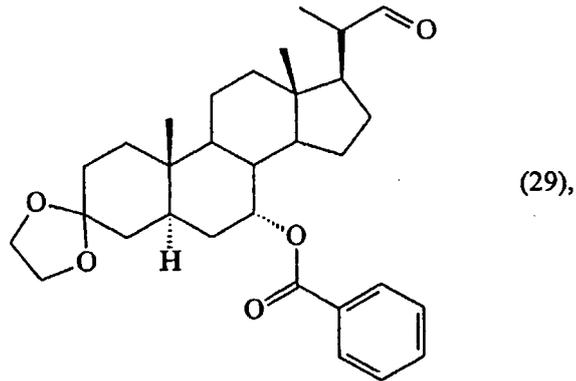


(65);

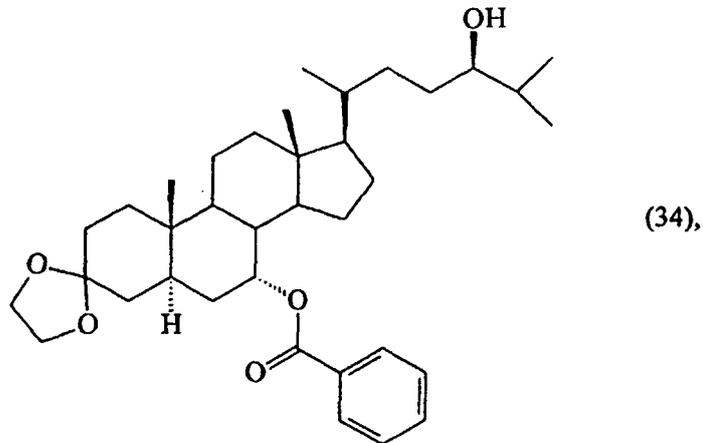
y

se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 65 en el compuesto de acuerdo con la fórmula 29.

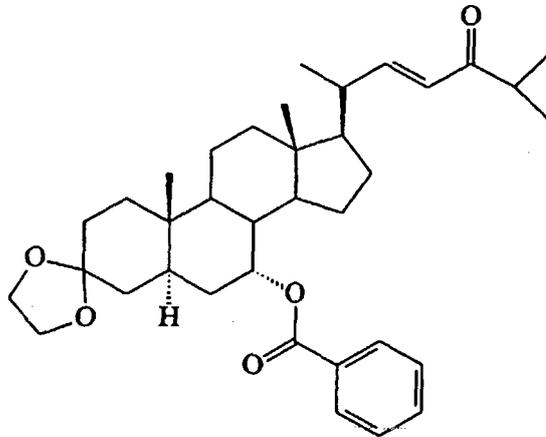
11. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto de acuerdo con la fórmula 129 es un compuesto de acuerdo con la fórmula 29:



10 y el compuesto de acuerdo con la fórmula 134 es un compuesto de acuerdo con la fórmula 34:



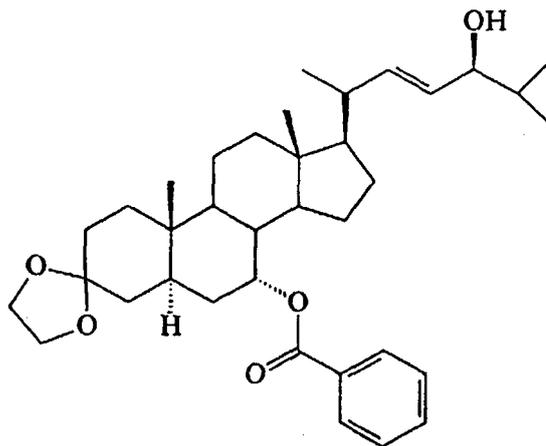
15 en el que el compuesto de acuerdo con la fórmula 34 se produce convirtiendo el compuesto de acuerdo con la fórmula 29, en condiciones suficientes, en un compuesto de acuerdo con la fórmula 32:



(32);

se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 32 en un compuesto de acuerdo con la fórmula 33:

5

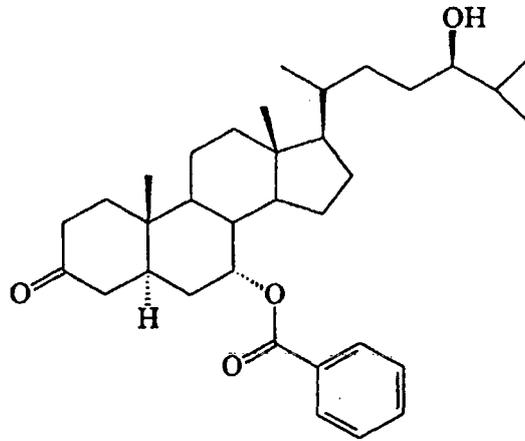


(33);

y se convierte, en condiciones suficientes, el compuesto de acuerdo con la fórmula 33 en el compuesto de acuerdo con la fórmula 34.

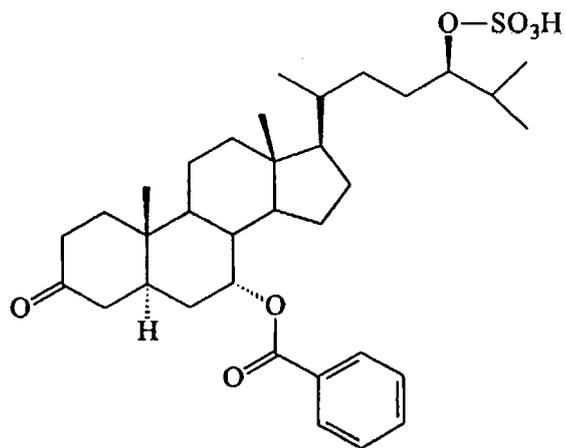
10

12. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el compuesto de acuerdo con la fórmula 135 es como sigue:



13. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el compuesto de acuerdo con la fórmula 136 es como sigue:

5



Escualamina

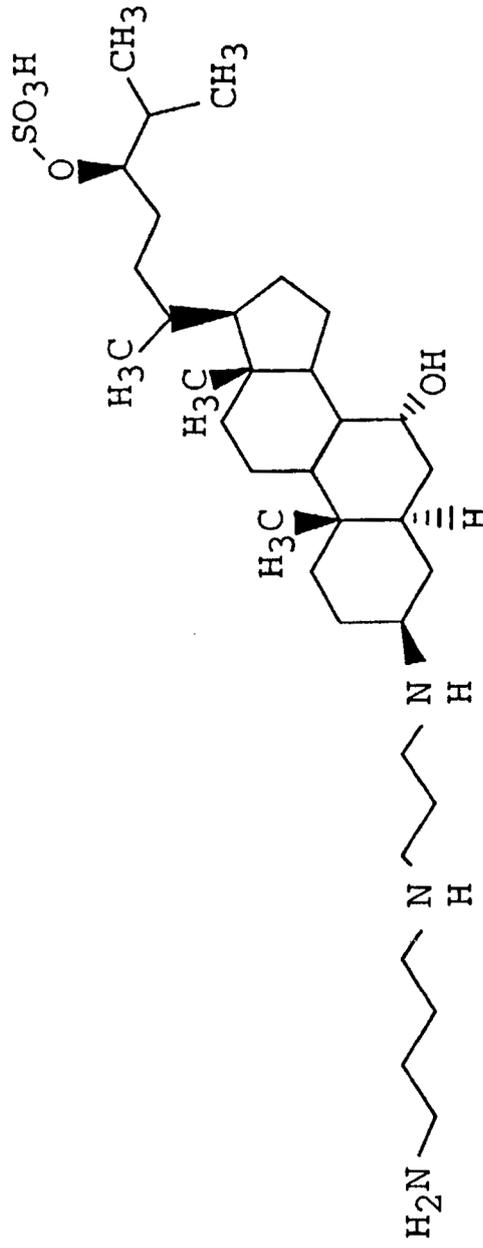


FIG. 1

COMPUESTO-1436

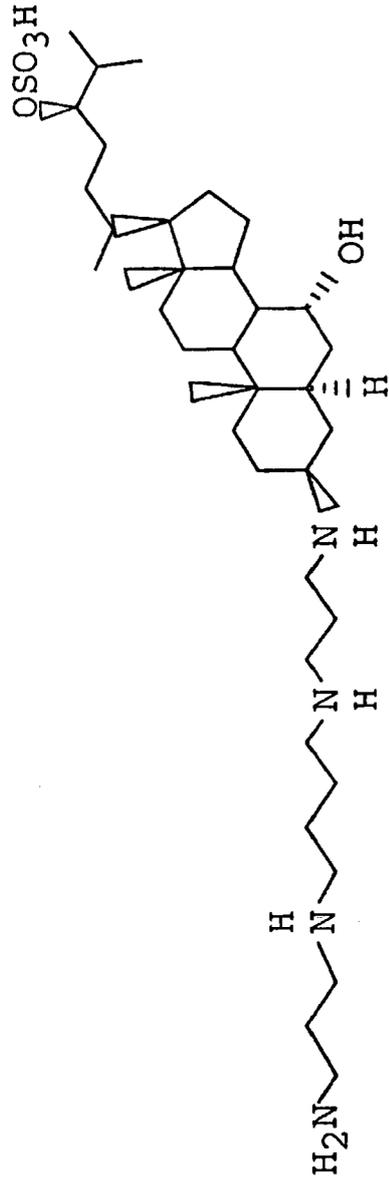
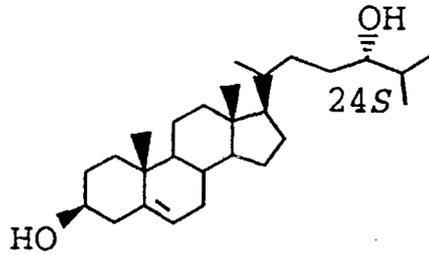


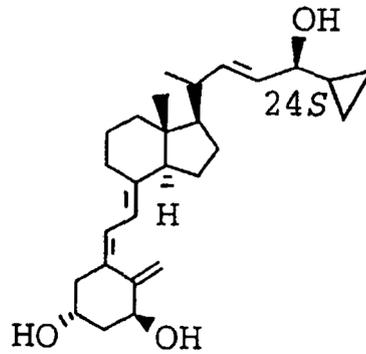
FIG. 2

FIG. 3A



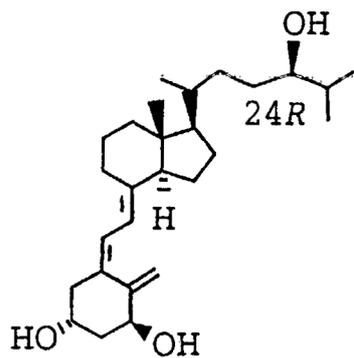
Cerebrosterol

FIG. 3B



MC 903

FIG. 3C



1α,24-(R)-dihydroxivitamina D₃

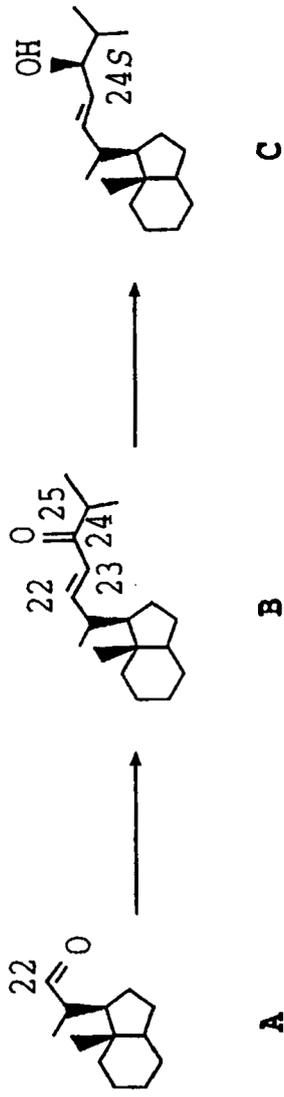


FIG. 4A

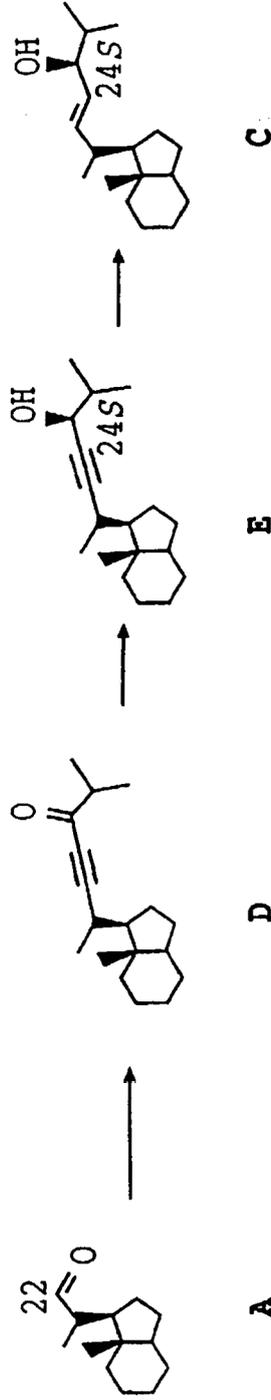


FIG. 4B

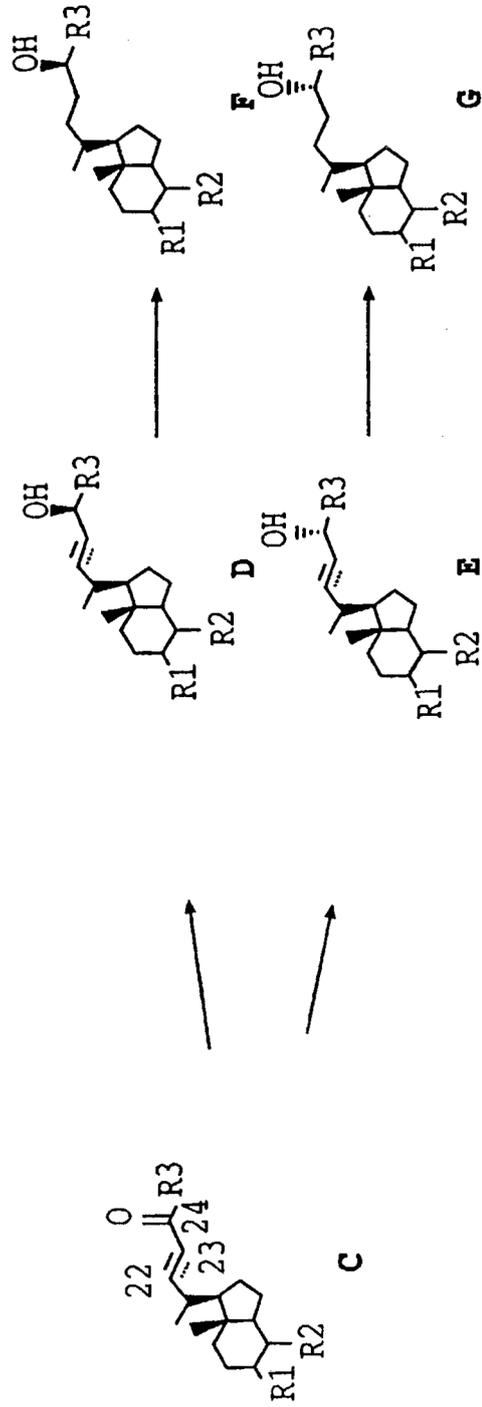


FIG. 5

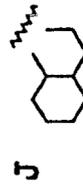


FIG. 6A

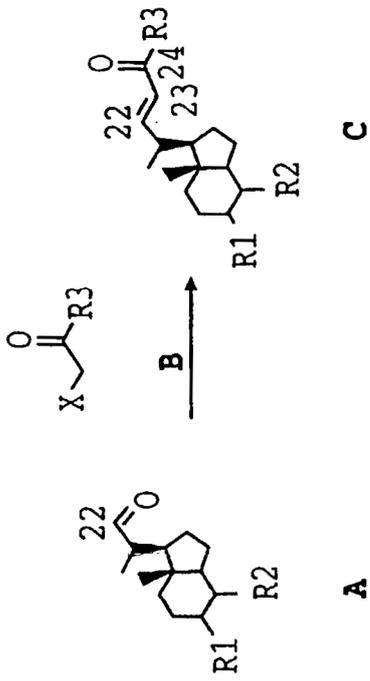


FIG. 7

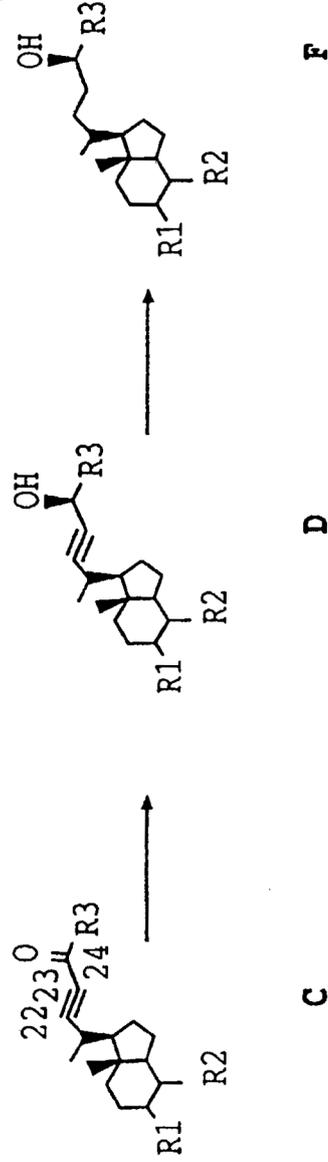


FIG. 8

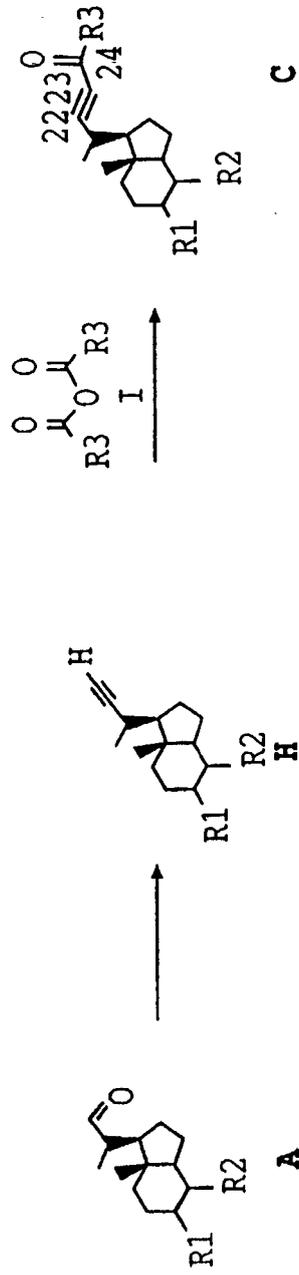


FIG. 9

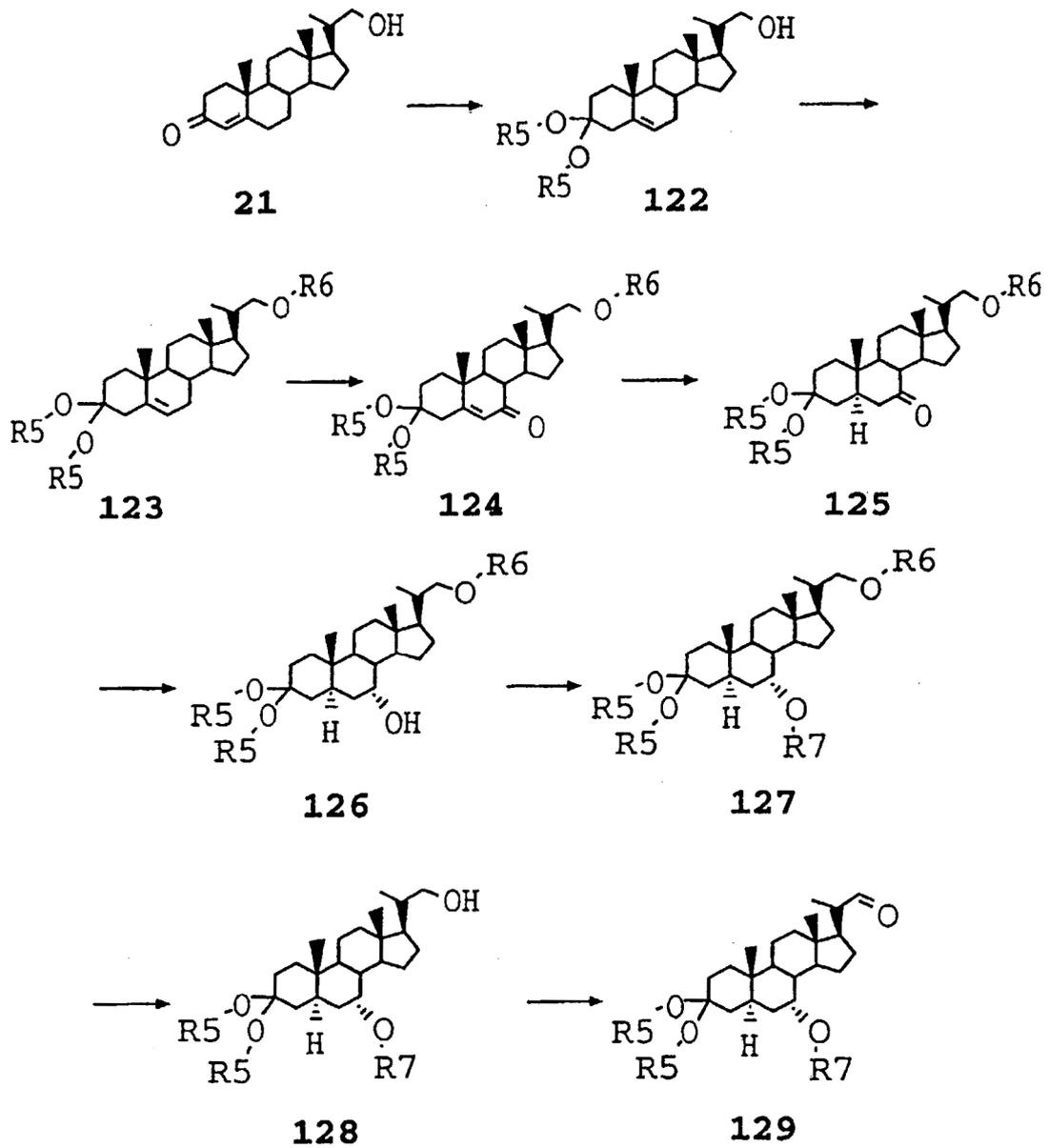


FIG. 10A

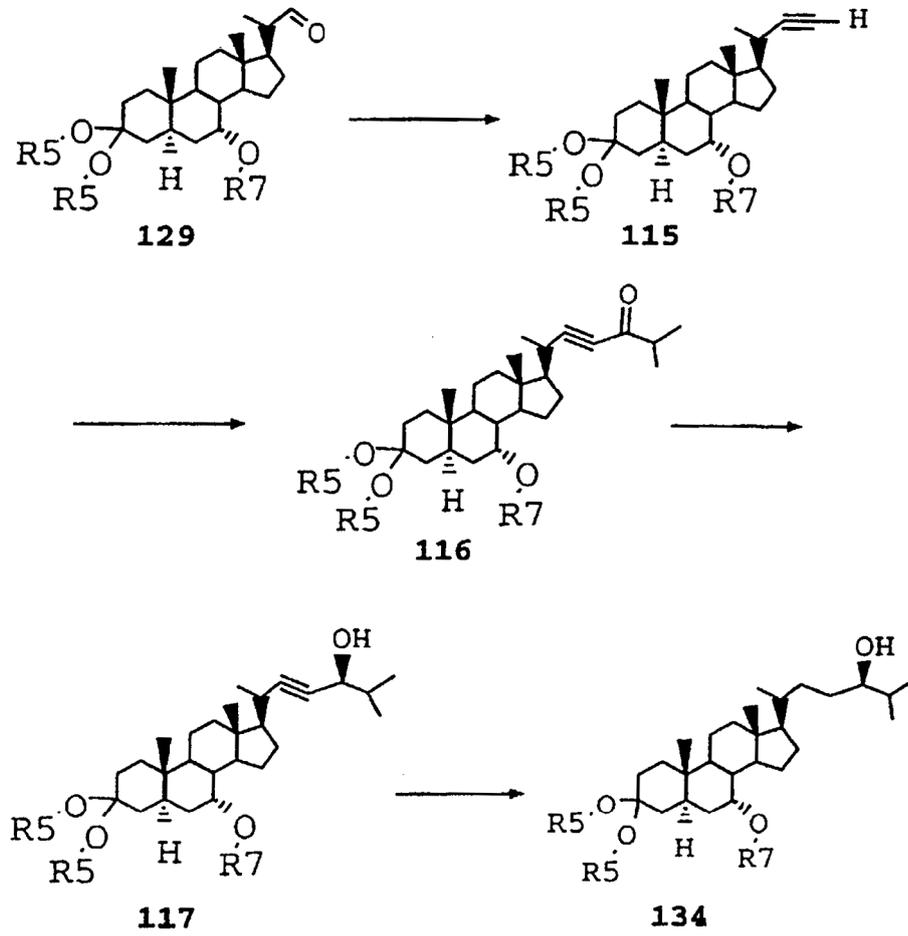
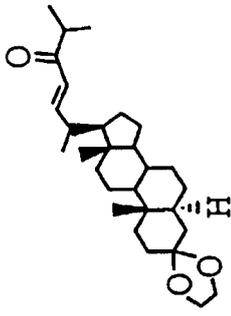
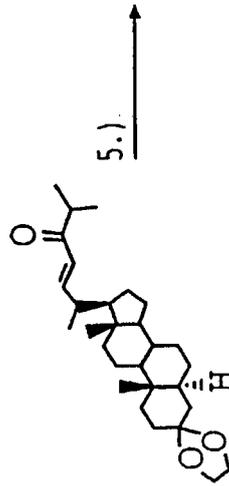


FIG. 10C



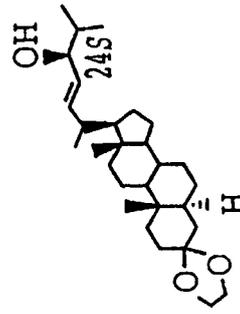
6 (PM 443)

FIG. 11A

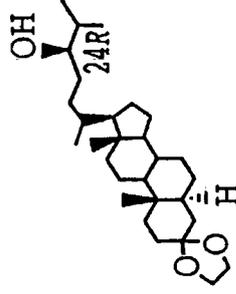


6 (PM 443)

5.)



7 (PM 445)



9 (PM 447)

FIG. 11B

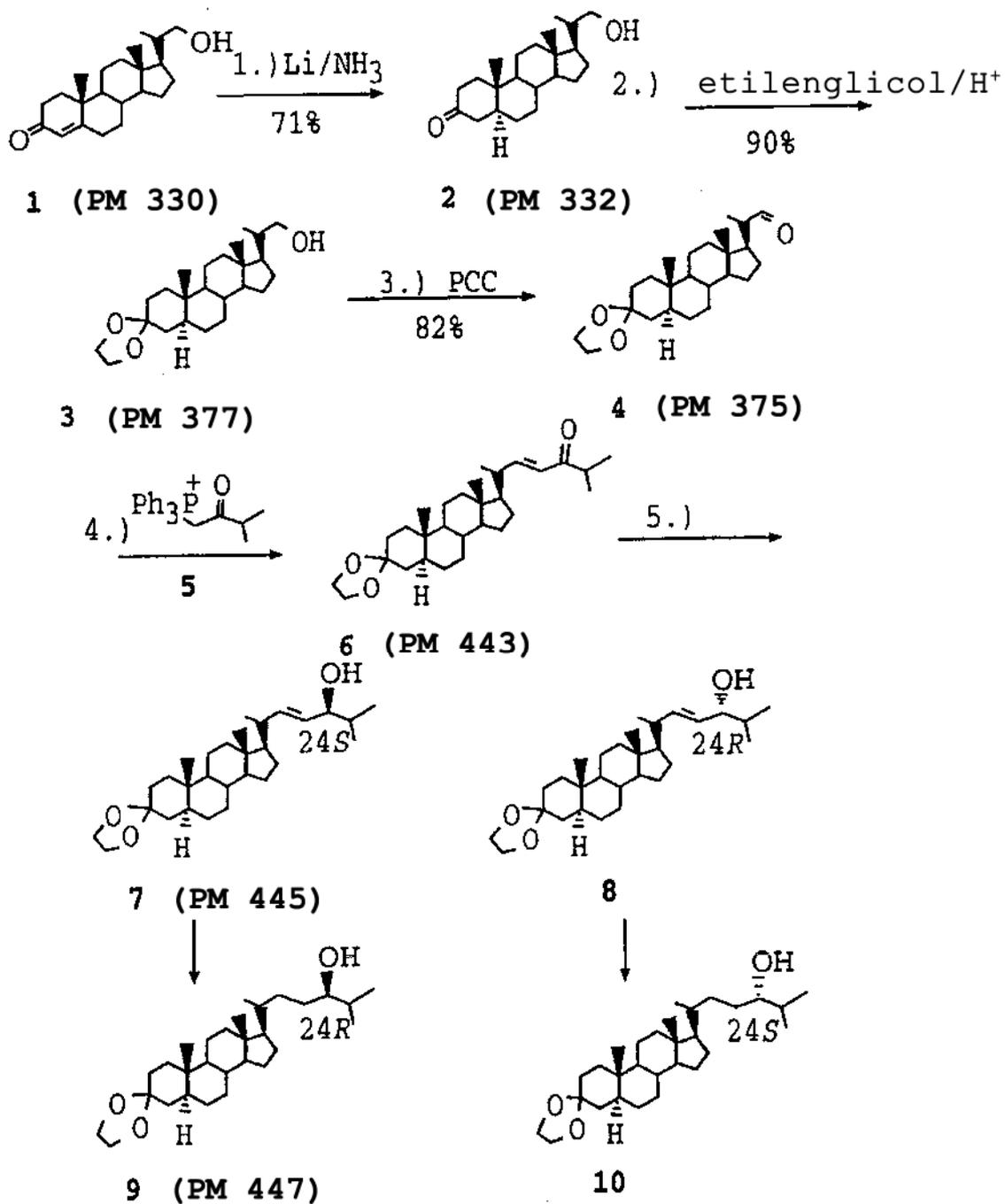
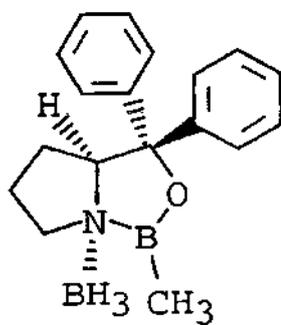
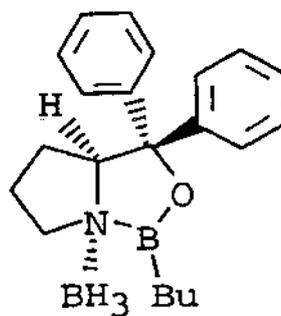


FIG.12



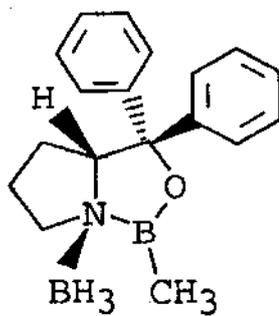
11

FIG. 13A



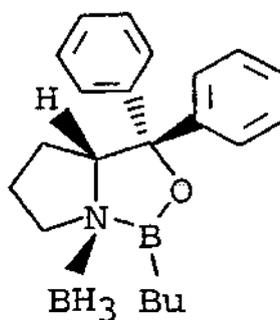
12

FIG. 13B



13

FIG. 13C



14

FIG. 13D

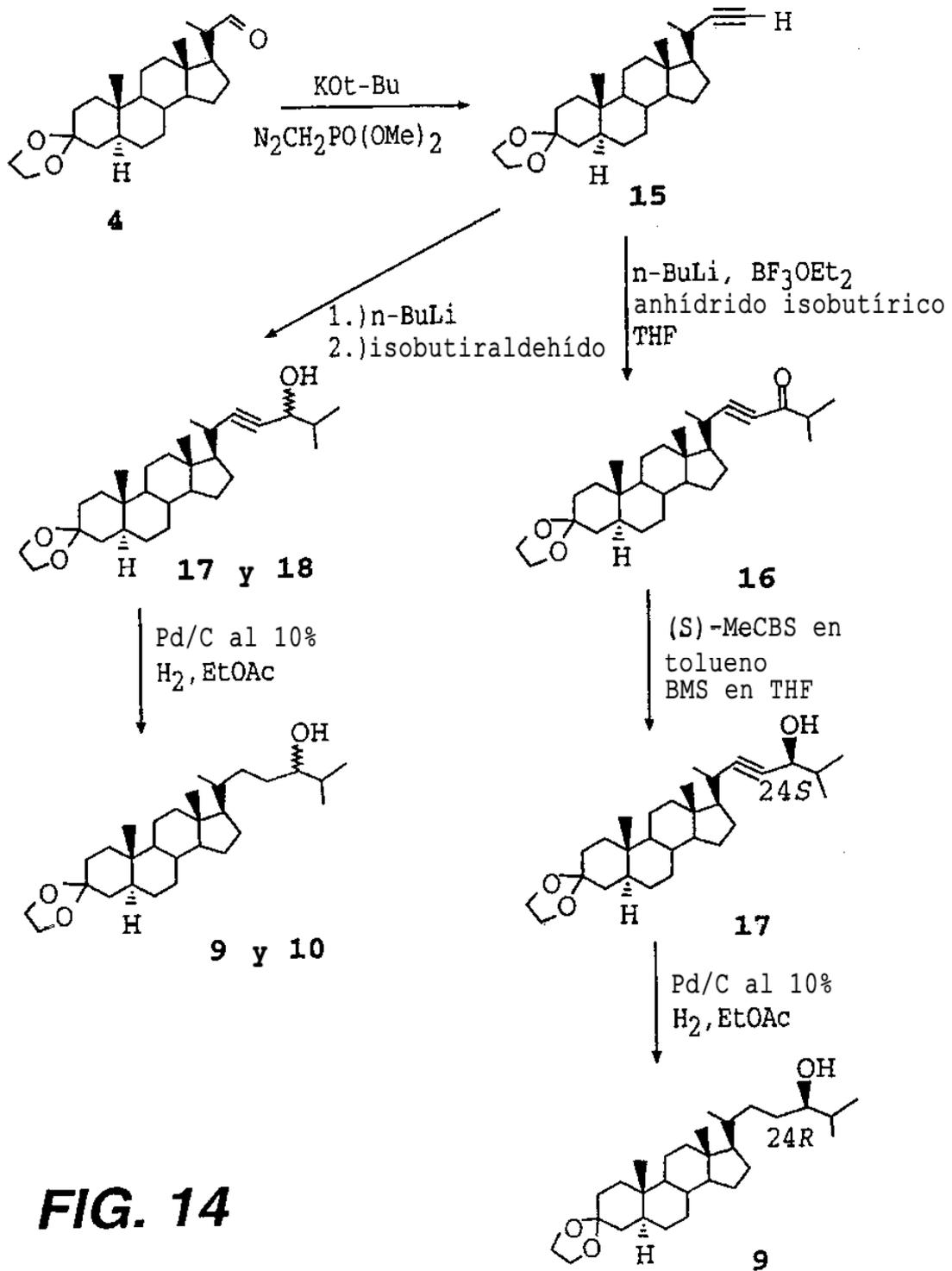
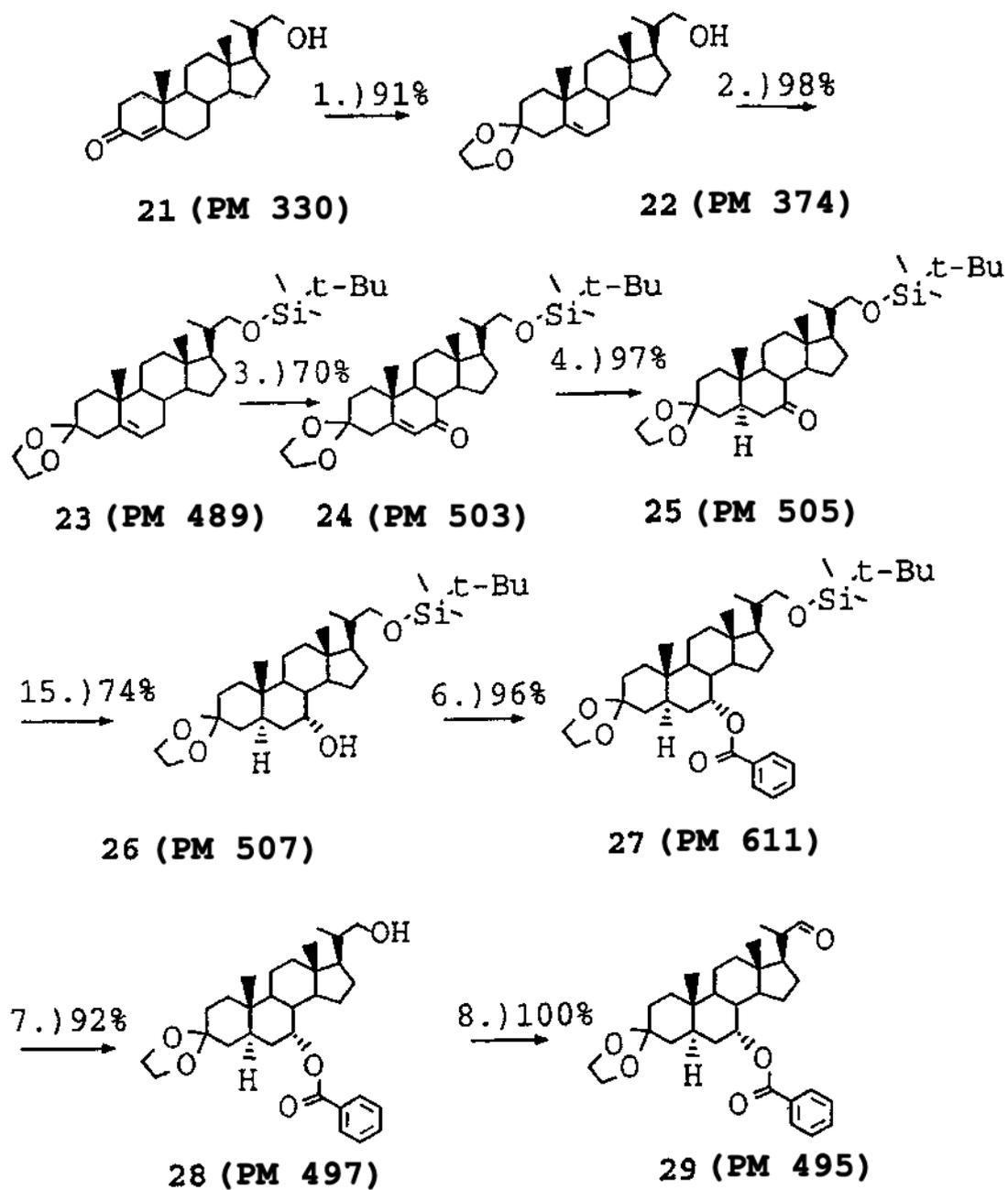


FIG. 14

**FIG. 15A**

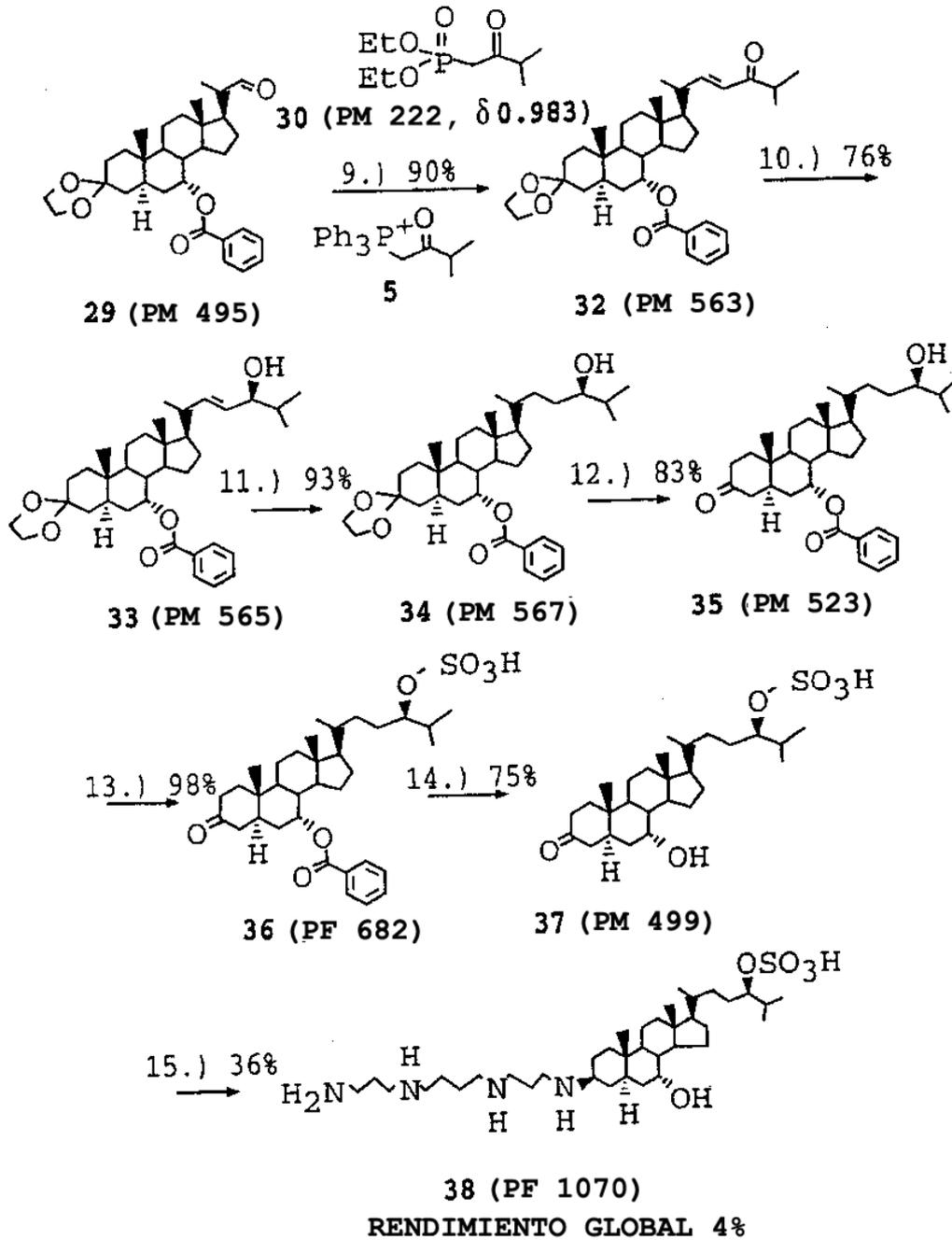


FIG. 15B

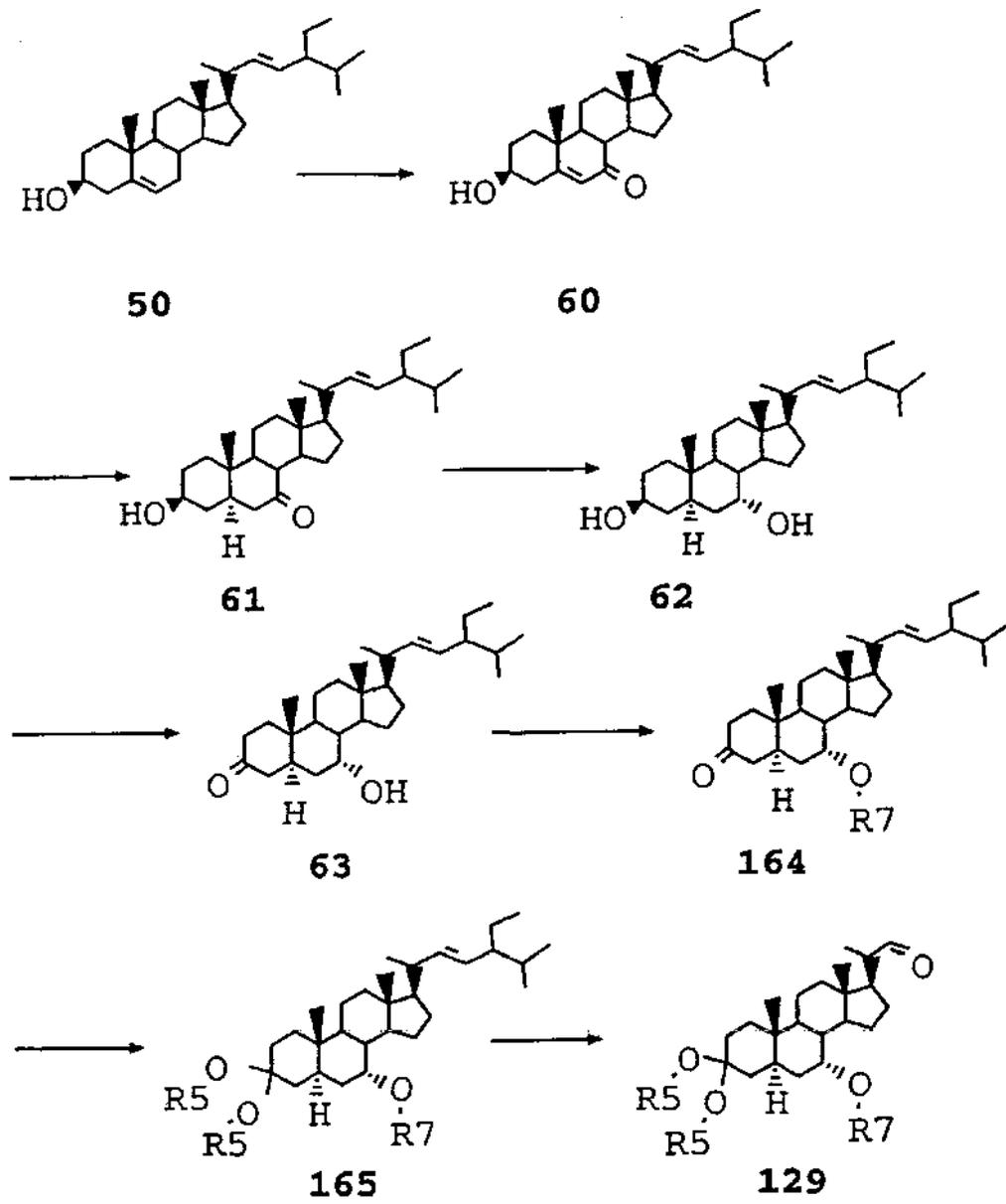
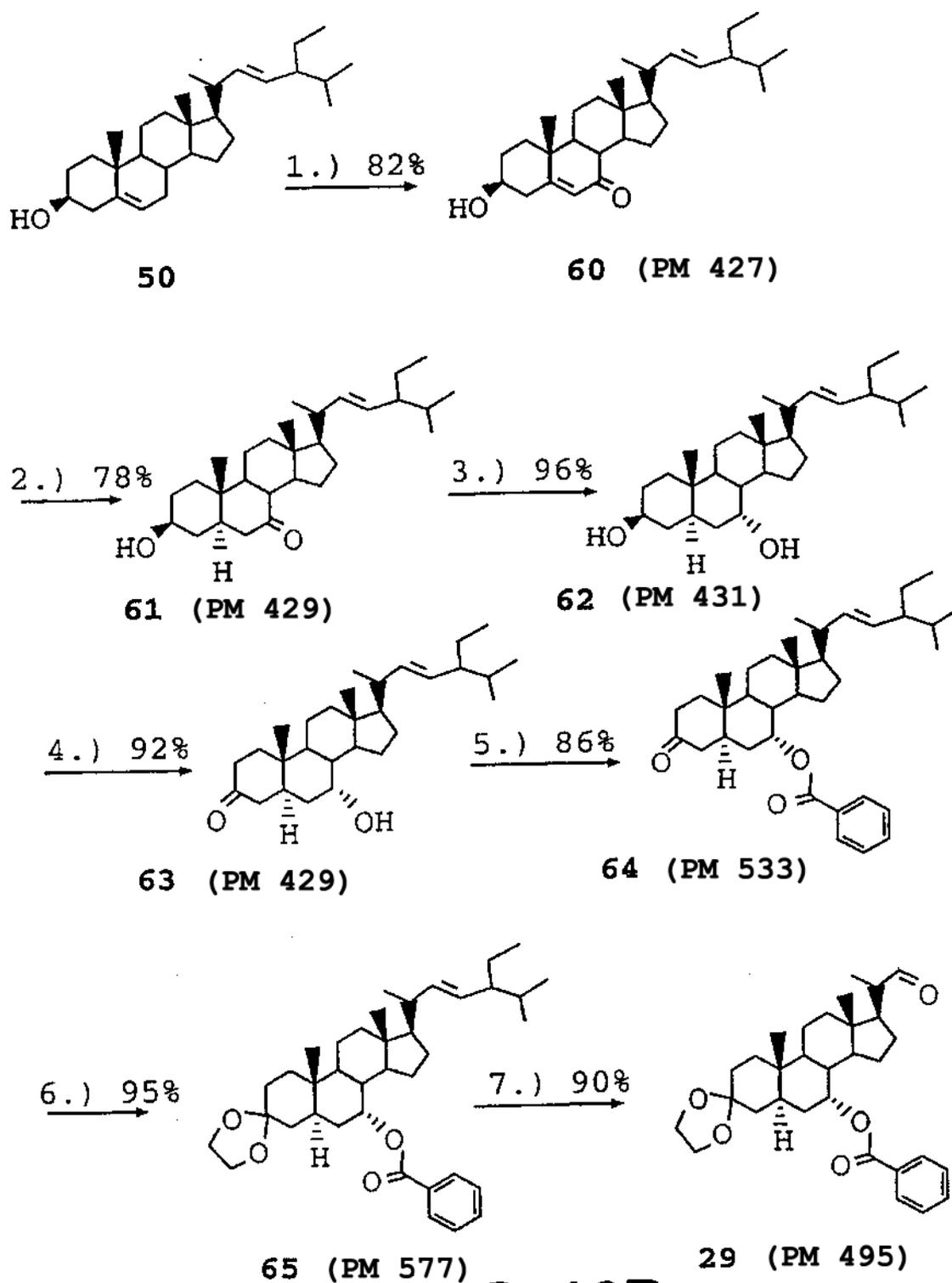
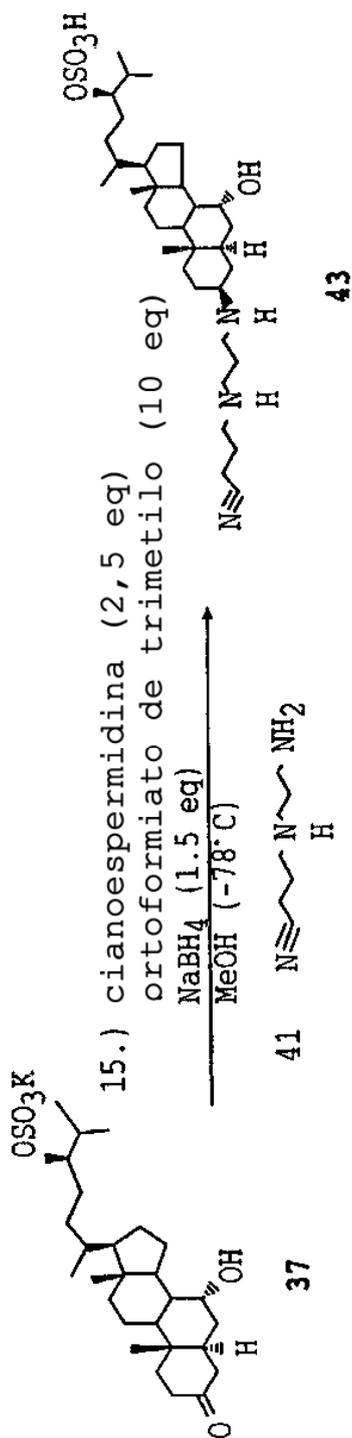


FIG. 16A

**FIG. 16B**



16.) EtOH, PtO₂ (40psi)
 TFA a pH = 1-2

RP HPLC (agua, acetonitrilo, TFA al 0,1%)
 668

Escualamina (MSI-1256B)
 como sal de di-TFA

FIG. 17