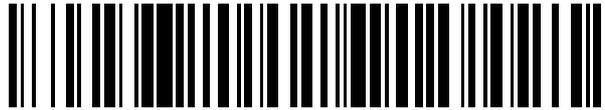


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 291**

51 Int. Cl.:

C07J 41/00 (2006.01)
A61K 31/57 (2006.01)
C07J 31/00 (2006.01)
C07J 7/00 (2006.01)
C07J 5/00 (2006.01)
C07J 9/00 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61P 5/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.03.2001 E 10010646 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2015 EP 2348031**

54 Título: **17- alfa-sustituida, 11-beta-sustituida-4-arilo y 21-sustituida 19-norpregnadienodionas como agentes antiprogesteronales**

30 Prioridad:

17.03.2000 US 526855

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.09.2015

73 Titular/es:

**THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA AS REPRESENTED BY THE SECRETARY OF THE DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (100.0%)
National Institutes of Health Office of Technology Transfer 6011 Executive Boulevard Suite 325
Rockville, MD 20852-3804, US**

72 Inventor/es:

**KIM, HYUN K.;
BLYE, RICHARD P.;
RAO, PEMMARAJU N.;
CESSAS, JAMES W. y
ACOSTA, CARMIE K.**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 546 291 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

17- alfa-sustituida-11- beta- sustituida-4-arilo y 21 - sustituida 19-norpregnadienodiona agentes antiprogestacionales

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere generalmente al campo de los esteroides y, en particular, a nuevos análogos de 17- α -sustituida, 11- β -sustituida-4-arilo y 21-sustituida 19-norpregnadienodiona que poseen una potente actividad antiprogestacional con actividad antiglucocorticoide mínima.

10

Antecedentes de la invención

Se han realizado numerosos intentos en las últimas décadas pasadas para preparar esteroides con actividad antihormonal. Estos han tenido un éxito razonable en lo que se refiere a antiestrógenos y antiandrógenos. Sin embargo, el descubrimiento de esteroides antiprogestacionales y antiglucocorticoides eficaces ha probado ser una tarea formidable para el químico de esteroides. Sin embargo, se ha reconocido generalmente durante algunos años que los esteroides antiprogestacionales podrían encontrar una amplia aplicación en el control de la población, mientras que los antiglucocorticoides podrían ser extremadamente valiosos en el tratamiento, por ejemplo, el síndrome de Cushing y otras afecciones caracterizadas por una producción endógena excesiva de cortisona. En la última década, principalmente a través de los esfuerzos de Teutsch, *et al.* del grupo Roussel-Uclaf de Francia, se ha sintetizado una nueva serie de derivados de 19-nortestosterona con una fuerte afinidad por los receptores de progesterona y glucocorticoide y con una marcada actividad antiprogestacional y antiglucocorticoide *in vivo*. El documento de Patente WO-A-89/12448 desvela compuestos antiprogestacionales y antiglucocorticoides que son derivados de 11.beta.-fenil 19-norprogn-4,9-dieno-3,20-diona. Este importante descubrimiento reveló la existencia de un bolsillo en los receptores de progesterona para glucocorticoides que son capaces de acomodar los grandes 11 β -sustituyentes en derivados de 19-nortestosterona seleccionados. Mediante la selección adecuada de tal sustituyente, se obtuvieron esteroides con propiedades antihormonales.

15

20

25

30

35

40

Los estudios pioneros de Teutsch, *et al.* sobre la síntesis de esteroides antiprogestacionales y antiglucocorticoides se resume en un artículo de revisión reciente (G. Teutsch en Adrenal Steroid Antagonism. Ed. M. K. Agarwal, Walter de Gruyter y Co., Berlín, 1984. pp. 43-75) que describe el trabajo que conduce al descubrimiento de RU-38.486, el primer esteroide de este tipo seleccionado para desarrollo clínico. Se descubrió que RU-38.486 o mifepristona es un agente antiprogestacional/contraceptivo cuando se administra durante las etapas tempranas del embarazo (IPPF Medical Bulletin 20; N° 5, 1986). Además de estas propiedades antiprogestacionales, la mifepristona tiene una actividad antiglucocorticoide muy considerable y se usó con éxito por Nieman, *et al.*, J. Clin. Endocrinology Metab., 61:536, (1985)) en el tratamiento de síndrome de Cushing. Siendo común a la gran mayoría de los análogos de hormonas esteroideas, la mifepristona exhibe además una diversidad de propiedades biológicas. De ese modo, por ejemplo, exhibe propiedades de inhibición del crecimiento frente a las células de cáncer de mama humano T47Dco insensibles a estrógeno (Horwitz, Endocrinology, 116:2236, 1985). La evidencia experimental sugiere que los productos metabólicos derivados de la mifepristona contribuyen a sus propiedades antiprogestacionales y antiglucocorticoides (Heikinheimo, *et al.*, J. Steroid Biochem., 26:279 (1987)).

45

De forma ideal, con fines de contracepción, sería ventajoso disponer de compuestos que posean actividad antiprogestacional sin actividad (o con actividad mínima) antiglucocorticoide. Aunque se han realizado una diversidad de intentos para modificar la estructura de la mifepristona con el fin de obtener la separación de la actividad antiprogestacional de la actividad antiglucocorticoide, este objetivo aún no se ha conseguido completamente. Como tal, existe la necesidad en la técnica del desarrollo de nuevos esteroides que posean actividad antiprogestacional con mínima actividad antiglucocorticoide.

50

Descripción de la invención

La presente invención proporciona nuevos esteroides que poseen una potente actividad antiprogestacional con mínima actividad antiglucocorticoide.

55

Más particularmente, la presente invención proporciona los compuestos 65, 104b, 105b, 105c, 106b, 106c, 113d, 122b y 123b como se desvelan en los ejemplos y las figuras 4 y 7-9 y como se especifican en las reivindicaciones. También se desvelan en el presente documento otros compuestos, incluyendo los compuestos 73 y 112d.

60

Como se ha explicado anteriormente, los compuestos de la presente invención poseen una potente actividad antiprogestacional con mínima actividad antiglucocorticoide y, de ese modo, son adecuados para el uso a largo plazo en el tratamiento de afecciones endocrinas humanas u otras afecciones en tejidos sensibles a esteroides. Algunas afecciones específicas para tratamiento incluyen, pero no se limitan a, endometriosis (Kettel, L.M., *et al.*, Fertil Steril, 56:402-407; Murphy, A.A., *et al.*, Fertil Steril, 6:3761-766; Grow, D.R., *et al.*, J. Clin. Endocrinol. Metab., 81:1933-1939;), leiomioma uterino (Murphy, A.A., *et al.*, *Ibid.*; Murphy, A.A., *et al.*, J. Clin. Endocrinol. Metab., 76:513-517), fibroide uterino (Brogden, R.N., *et al.*, Drugs, 45:384:409), meningioma (Brogden, RN., *et al.*, *Ibid.*;

65

Poisson, M., *et al.*, J. Neurooncol., 1:179-189; Carroll, R.S., *et al.*, Cancer Res., 53:1312-1316; Mahajan, D.K. y London, S.N., Fertil Steril, 68:967-976 (1997)), y cáncer de mama metastásico (Brogden, R.N., *et al.*, *Id.*; Rochefort, H., Trends in Pharmacol. Sci., 8:126-128; Horwitz, K.B., Endocr. Rev., 13:146-163 (1992) Mahajan, D.K. y London, S.N., *Id.*). Otros usos incluyen, pero no se limitan a, contracepción (Wood, A.J.J., N. Engl. J. Med., 329:404-412 (1993); Ulmann, A., *et al.*, Sci. Amer., 262:42-48 (1990)), anticonceptivo postcoital de emergencia (Reel, J.R., *et al.*, Contraception, 58:129-136 (1998)) e inducción de maduración cervical.

Como tal, además de proporcionar los compuestos mencionados anteriormente, la presente invención proporciona estos compuestos para su uso en métodos en los que los compuestos se usan ventajosamente, entre otros, para antagonizar progesterona endógena; para inducir la menstruación; para tratar endometriosis; para tratar dismenorrea; para tratar tumores dependientes de hormonas endocrinas (por ejemplo, cáncer de mama, leiomiomas uterinos, etc.); para tratar meningiomas; para tratar fibroides uterinos; para inhibir la proliferación endometrial uterina; para inducir la maduración cervical; para inducir el parto; y para contracepción.

Otras características, objetivos y ventajas de la invención y sus realizaciones preferentes serán evidentes a partir de la descripción detallada que sigue a continuación.

Breve descripción de las figuras

Las Figuras 1 a 11 ilustran los esquemas sintéticos usados para preparar los compuestos de la invención y compuestos relacionados que no forman parte de la presente invención.

Descripción detallada de la invención y realizaciones preferentes

Los compuestos de la presente invención se pueden sintetizar fácilmente mediante una diversidad de formas usando técnicas modernas de química orgánica sintética. Por lo general, los compuestos de la presente invención se preparan usando los esquemas sintéticos que se exponen en las Figuras 4 y 7-9. En general, hay cinco etapas estratégicas que son útiles en la síntesis de los agentes antiprogesteronales de la presente invención. Estas son: (1) C21-sustitución; (2) construcción de la cadena principal de 17 α -hidroxi-20-cetona pregnano con la configuración natural a través de la reacción SNAP; (3) modificación del resto 17 α -hidroxi; (4) síntesis regioespecífica del epóxido y adición de Grignard 1,4-conjugada de una diversidad de compuestos de arilo 4-sustituidos; y (5) descetalización en C3 y 20 y deshidratación concomitante en C5. Cada una de estas cinco etapas estratégicas se describe con mayor detalle posteriormente en el presente documento. Además, se expone una descripción más detallada de los protocolos sintéticos usados para preparar los compuestos de la presente invención en la Sección de Ejemplos. Será claramente evidente para los expertos en la materia que las etapas particulares, o las combinaciones de etapas, usadas variarán dependiendo del compuesto que se sintetiza. Algunas partes de la siguiente descripción de las técnicas sintéticas, algunos de los ejemplos y las figuras 1-3, 5, 6, 10 y 11 se refieren a la síntesis de compuestos relacionados distintos de los de la presente invención, pero que no obstante ilustran las técnicas sintéticas pertinentes a la síntesis de los compuestos de la presente invención.

La síntesis de los 17 α ,21-dimetoxi derivados (113d) se consiguió mediante la oxidación en C-21 para proporcionar el 21-hidroxi derivado (107) del 17 α -metoxi compuesto (94) siguiendo una modificación del procedimiento informado por Moriarty, R.M. *et al.*, J. Chem. Soc. Chem. Commun., 641-642 (1981), y Velerio, *et al.*, Steroids, 60:268-271 (1995). La posterior O-metilación proporcionó el 17 α ,21-dimetoxi compuesto intermedio clave (108) (véase, Figura 8). La reducción de la 20-cetona (108) al 20 ξ -ol (109), seguido de epoxidación en C5 y C10, adición de conjugado de Grignard catalizada por cobre(I) al 5 α ,10 α -epóxido (110), oxidación selectiva del alcohol secundario, 20 ξ -ol (111) usando IBX a la 20-cetona (112), hidrólisis y acetilación, condujo al 17 α ,21-dimetoxi derivado (113d) objetivo.

2. Proceso de anelación nucleofílica con silicio (SNAP)

Como se describe en el presente documento, la sililación del β -cianohidrinacetal con cloruro de halometildimetilsililo proporcionó el cloro o bromometil dimetilsilil éter. La reacción SNAP reductora proporcionó la cadena principal de 17 α -hidroxi-20-cetopregnano con la configuración natural en C17 (Livingston, D.A., *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 112:6449-6450 (1990); Livingston, D.A., Adv. Med. Chem., 1:137-174 (1992); documento de Patente de Estados Unidos N° 4.092.693, que se expidió por Livingston, D.A., *et al.* (1 de mayo de 1990); documento de Patente de Estados Unidos N° 4.977.255, que se expidió por Livingston, D.A., *et al.* (11 de diciembre de 1990). Alternativamente, la formación del halometildimetilsilil éter, seguido de tratamiento con diisopropilamida de litio, proporcionó los 21-sustituido-17 α -hidroxi-20-cetopregnanos.

3. 17 α -sustitución

Todos los 17 α -ésteres ilustrados en las Figuras 4-11 se prepararon a partir de sus 17 α -hidroxi precursores. Con la excepción del 17 α -formiato (69A) y el 17 α ,21-diformiato (139), todos los 17 α -ésteres también se obtuvieron a partir de un procedimiento de anhídrido mixto (Carruthers, N.I. *et al.*, J. Org. Chem., 57:961-965 (1992)).

El 17 α -metoxi esteroide (93) se hizo disponible en grandes cantidades a partir de la 17 α -hidroxidienodiona (92) que

conduce a una nueva serie de agentes antiprogestacionales, tales como los compuestos 97 y 113d. La metilación del grupo 17 α -hidroxi se llevó a cabo de la forma más eficaz usando yoduro de metilo y óxido de plata con acetonitrilo como cosolvente como se describe en el procedimiento general de Finch, *et al.* (J. Org. Chem., 40:206-215 (1975)). Se han informado otras síntesis de 17 α -metoxi esteroides en la bibliografía (véase, por ejemplo, 5 Numazawa, M. y Nagaoka, M., J. Chem. Soc. Commun., 127-128 (1983); Numazawa, M. y Nagaoka, M., J. Org. Chem., 50:81-84 (1985); Glazier, E.R., J. Org. Chem., 27:4397-4393 (1962).

4. 11 β -Ariol-4-sustitución

10 La introducción de una diversidad de grupos fenilo 4-sustituídos en el C11 β de la 19-norprogesterona requiere el 5 α ,10 α -epóxido. Se conoce que la epoxidación de 2, 23, 34, 42, 50, 88, 94, 99, 109 y 119 es problemática (véase, Wiechert, R. y Neef, G., J. Steroid Biochem., 27:851-858 (1987)). El procedimiento desarrollado por Teutsch, G., *et al.* (Adrenal Steroid Antagonism (Agarwal, M.K., ed.), 43-75, Walter de Gruyter & Co., Berlín, N.Y. (1984)), es decir, H₂O₂ y hexacloro o fluoroacetona, probó ser regioselectivo, pero no altamente estereoselectivo. Se formó una 15 mezcla del 5 α ,10 α -epóxido y el correspondiente 5 β ,10 β -isómero en una proporción de aproximadamente 3:1. Sin embargo, la reducción de la C20-cetona (108) al C20-ol (109) antes de la epoxidación, dio como resultado una proporción 9:1 del 5 α ,10 α -epóxido deseado.

20 El tratamiento de los 5 α ,10 α -epóxidos con 3-5 equivalentes de reactivo se Grignard preparado a partir de diversos bromuros de arilo 4-sustituídos (véase, Yux'ev, Y.K., *et al.*, Izvest. Akad. Nauk. S.S.S.R., Otdel Khim Nauk, 166-171 (CA 45: 10236f, (1951)); Wolfe, J.P. y Buchwald, S.L., J. Org. Chem., 62:6066-6068 (1997); Veradro, G., *et al.*, Synthesis, 447-450 (1991); Jones, D.H., J. Chem. Soc. (C), 132-137 (1971); Detty *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 105:875-882 (1983), y Rao, P.N. *et al.*, Steroids, 63:523-550 (1998)) en presencia de cloruro de cobre(I) como catalizador 25 proporcionó los 11 β -fenil-4-sustituído esteroides deseados. Se ha de observar que el 4-bromotioanisol se adquirió en Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin). La evidencia de la orientación 11 β del sustituyente fenilo 4-sustituído se mostró mediante el desplazamiento campo arriba del grupo metilo C18 (δ = 0,273 0,484 ppm en CDCl₃), que está de acuerdo con las observaciones de Teutsch (véase, Teutsch, G. y Belanger, A., Tetrahedron Lett., 2051-2054 (1979)).

30 La presencia de una 20-cetona desprotegida dio como resultado bajos rendimientos o mezclas indeseables de productos del Grignard. Esto se solventó por reducción de la 20-cetona (el análisis de este material por RMN indicó un isómero individual; no se realizó ningún trabajo adicional para la identificación de este isómero individual) antes de la epoxidación y posterior oxidación del 20-alcohol mediante el uso de ácido yodoxibenzoico (IBX) (Dess, D.B. y 35 Martin, J.C., J. Org. Chem., 48:4155-4156 (1983); Frigerio, M. y Santagostino, M., Tetrahedron Letters, 35:8019-8022 (1994); y Frigerio, M., *et al.*, J. Org. Chem., 60:7272-7276) después de la adición del Grignard (véase, **Figura 8**).

5. Descetalización

40 La descetalización con deshidratación concomitante en C-5 en medios ácidos transcurrió sin dificultad para proporcionar la 4,9-diona-3,20-diona.

De forma bastante sorprendente, los compuestos de la invención poseen una potente actividad antiprogestacional con mínima actividad antigluco corticoide. Como resultado de su actividad antiprogestacional, los compuestos de la 45 invención se pueden usar ventajosamente, entre otros, para antagonizar progesterona endógena; para inducir la menstruación; para tratar endometriosis; para tratar dismenorrea; para tratar tumores dependientes de hormonas endocrinas; para tratar meningioma; para tratar leiomiomas uterinos, para tratar fibroides uterinos; para inhibir la proliferación endometrial uterina; para inducir el parto; para inducir la maduración cervical, para terapia hormonal; y para contracepción.

50 Más particularmente, los compuestos que tienen actividad antiprogestacional se caracterizan por antagonizar los efectos de la progesterona. Como tal, los compuestos de la presente invención son de valor particular en el control de irregularidades hormonales del ciclo menstrual, para controlar endometriosis y dismenorrea, y para inducir la menstruación. Además, los compuestos de la presente invención se pueden usar como método para proporcionar 55 terapia hormonal solos o en combinación con sustancias estrogénicas en la mujer postmenopáusica, o en las mujeres cuya producción de hormonas en el ovario se ve comprometida de otro modo.

Además, los compuestos de la presente invención se pueden usar para el control de la fertilidad durante la totalidad del ciclo reproductor. Para la contracepción a largo plazo, los compuestos de la presente invención se pueden 60 administrar continua o periódicamente dependiendo de la dosis. Además, los compuestos de la presente invención son de valor particular como contraceptivos postcoitales, para volver al útero hostil a la implantación, y como agentes contraceptivos "una vez al mes".

Otra utilidad importante de los compuestos de la presente invención es su capacidad para ralentizar el crecimiento 65 de los tumores dependientes de hormonas y/o los tumores presentes en tejidos sensibles a hormonas. Tales tumores incluyen, pero no se limitan a, tumores de riñón, mama, endometrio, ovario, y próstata, por ejemplo,

cánceres, que se caracterizan por poseer receptores de progesterona y que se puede esperar que respondan a los compuestos de la presente invención. Además, tales tumores incluyen meningiomas. Otras utilidades de los compuestos de la presente invención incluyen el tratamiento de enfermedad fibroquística de la mama y uterina.

5 Los compuestos adecuados para su uso en el método anterior de la presente invención se pueden identificar fácilmente usando ensayos de análisis sistemático *in vitro* e *in vivo* conocidos y usados por los expertos en la materia. Por ejemplo, un compuesto dado se puede analizar sistemáticamente de forma sencilla para sus propiedades antiprogestacionales usando, por ejemplo, el ensayo anti-McGinty y/o el ensayo anti-Clauberg descritos en los ejemplos. Además, un compuesto dado se puede analizar sistemáticamente de forma sencilla para su capacidad de unión a los receptores de progesterona y/o glucocorticoide o de inhibir la ovulación usando los ensayos que se describen en los ejemplos. Además, un compuesto dado se puede analizar sistemáticamente de forma sencilla para su capacidad de inhibir el crecimiento de células tumorales (por ejemplo, crecimiento tumoral maligno, es decir, cáncer) o de eliminar la tumorigenicidad de células malignas *in vitro* o *in vivo*. Por ejemplo, se pueden exponer líneas celulares tumorales a concentraciones variables de un compuesto interés, y se puede medir la viabilidad de las células en puntos temporales establecidos usando, por ejemplo, el ensayo alamarBlue® (disponible en el mercado en BioSource, International of Camarillo, California). Se pueden emplear otros ensayos conocidos y usados por los expertos en la materia para identificar compuestos útiles en los métodos de la presente invención.

20 Los compuestos de acuerdo con la presente invención se pueden administrar a cualquier mamífero de sangre caliente tal como seres humanos, mascotas domésticas, y animales de granja. Las mascotas domésticas incluyen perros, gatos, etc. Los animales de granja incluyen vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, etc.

25 La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material de vehículo para producir una forma de dosificación individual varía dependiendo de la enfermedad tratada, la especie de mamífero, y el modo particular de administración. Por ejemplo, una dosis unitaria del esteroide puede contener preferentemente entre 0,1 miligramos y 1 gramo de ingrediente activo. Una dosis unitaria más preferente está entre 0,01 y 0,5 gramos. Sin embargo, se ha de entender que el nivel de dosis específica para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado; la edad, peso corporal, estado general de salud, sexo y dieta del individuo que se está tratando; el tiempo y la ruta de administración; la tasa de excreción; otros fármacos que se hayan administrado previamente; y la gravedad de la enfermedad particular que experimenta terapia, como conocen bien los expertos en la materia.

35 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar mediante una diversidad de métodos. De ese modo, los productos de la invención que son activos por vía oral se pueden administrar en soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, incluyendo comprimidos sublinguales e intrabucales, cápsulas de gelatina blanda, incluyendo soluciones usadas en cápsulas de gelatina blanda, suspensiones acuosas o aceitosas, emulsiones, píldoras, grageas, trociscos, comprimidos, jarabes o elixires y similares. Los productos de la invención activos por administración parenteral se pueden administrar mediante inyección de liberación prolongada, implantes incluyendo Silastic TM e implantes biodegradables, e inyecciones intramusculares e intravenosas.

45 Las composiciones se pueden preparar de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados entre el grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes. Son aceptables los comprimidos que contienen el ingrediente activo en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato sódico, lactosa, fosfato de calcio o fosfato sódico, agentes de granulación y disgregantes, tales como almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina o goma arábiga; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico y talco. Los comprimidos pueden estar sin revestir o, alternativamente, pueden estar revestidos mediante métodos conocidos de disgregación y absorción retrasada en el tracto gastrointestinal y proporcionar de ese modo una acción sostenida durante un período de tiempo más prolongado. Por ejemplo, se puede emplear un agente de retraso temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

55 Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar en forma de cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o en forma de cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio aceitoso, tal como aceite de cacahuate, parafina líquida o aceite de oliva.

60 Las suspensiones acuosas de la invención contienen materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes incluyen un agente de suspensión, tal como carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga, y agentes de dispersión o humectación tales como una fosfatida de origen natural (por ejemplo, lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquilenos con un ácido graso (por ejemplo, estearato de polioxietileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por

ejemplo, heptadecaetilenoxietanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol (por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitol), o un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitán). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservantes tales como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa, aspartamo o sacarina. Se ajustará la osmolaridad de las formulaciones oftálmicas, como se conoce en la técnica.

Se pueden formular suspensiones aceitosas por suspensión del ingrediente activo en un aceite vegetal, tal como aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones aceitosas pueden contener un agente espesante, tal como cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden añadir agentes edulcorantes para proporcionar una preparación oral sabrosa. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

Se pueden formular polvos y gránulos dispersables de la invención adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua a partir de los ingredientes activos en mezcla con un agente de dispersión, suspensión y/o humectación, y uno o más conservantes. Algunos agentes de dispersión o humectación y agentes de suspensión adecuados a modo de ejemplo son los desvelados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase aceitosa puede ser un aceite vegetal, tal como aceite de oliva o aceite de cacahuete, un aceite mineral, tal como parafina líquida, o una mezcla de los mismos. Algunos agentes emulgentes adecuados incluyen gomas de origen natural, tales como goma arábica y goma de tragacanto, fosfatidas de origen natural, tales como lecitina de haba de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como monooleato de sorbitán, y productos de condensación de estos ésteres parciales con óxido de etileno, tales como monooleato de polioxietileno sorbitán. La emulsión también puede contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

Se pueden formular jarabes y elixires con agentes edulcorantes, tales como glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante, un aromatizante o un agente colorante.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en forma de una preparación inyectable estéril, tal como una suspensión inyectable estéril acuosa u oleaginosa. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con la técnica conocida usando los agentes de dispersión o humectación y los agentes de suspensión adecuados que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, tal como una solución de 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear se encuentran agua y solución de Ringer, y cloruro sódico isotónico. Además, se pueden emplear convencionalmente aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, se puede emplear cualquier aceite no volátil insípido incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, se pueden usar del mismo modo ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables.

Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Estas composiciones se pueden preparar por mezcla del fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a temperatura rectal y por lo tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales son manteca de cacao y polietilenglicoles.

También se pueden administrar por vía intranasal, intraocular, intravaginal, e intrarrectal incluyendo supositorios, insuflación, polvos y formulaciones de aerosol.

Los productos de la invención que se administran preferentemente por vía tópica se pueden administrar en forma de barras aplicadoras, soluciones, suspensiones, emulsiones, geles, cremas, pomadas, pastas, gelatinas, pinturas, polvos, y aerosoles.

La invención se describirá con mayor detalle a modo de ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos, y no se pretende que limiten ni definan la invención de ninguna manera.

Ejemplos

60 Ejemplo 1

Este ejemplo ilustra la preparación y las propiedades de 17 α -acetoxi-11 β -(4-acetilfenil)-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (73) (Figura 4).

65 Etapa 1. 3,20-bis-Etilendioxi-17 α -hidroxi-19-norpregna-5(10),9(11)-dieno (50):

Una mezcla de 17 α -hidroxi-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (**92**, 10 g, 31,8 mmol), etilenglicol (11,10 g, 178,7 mmol), ortoformiato de trietilo destilado recientemente (14 g, 94,1 mmol) y monohidrato de ácido toluenosulfónico (0,3 g, 1,58 mmol) en CH₂Cl₂ (150 ml) se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El análisis por TLC (5 % de acetona en CH₂Cl₂) en ese momento indicó una reacción completa.

5 Se añadió NaHCO₃ sólido (~1 g) y la mezcla se diluyó con CH₂Cl₂ (~100 ml) y se vertió en H₂O. La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x). Las fracciones orgánicas se lavaron con H₂O (3 x), se filtraron a través de sulfato sódico, se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 12 g del producto en bruto **50** en forma de una espuma de color amarillo. La cristalización de este material en bruto a partir de CH₂Cl₂/MeOH que contenía trazas de piridina proporcionó 9,8 g del dicetal **50** puro en forma de un sólido de color amarillo claro con un rendimiento de un 77 %;

10 p.f. 169 - 171 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa) ν_{\max} 3484 y 2912 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,792 (s, 3 H, C18-CH₃), 1,378 (s, 3 H, C21-CH₃), 3,816 y 4,047 (m, 4H, C20-cetal), 3,983 (s, 4H, C3-cetal) y 5,555 (m, 1 H, C11-CH=). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 402 (M⁺, 100,0), 366 (2,5), 340 (20,8) 270 (59,9) y 99 (50,1).

*Etapa 2. 3,20-bis-Etilendioxi-17 α -hidroxi-5 α ,10 α -epoxi-19-norpregna-9(11)-eno (**51**):*

15 Se añadió peróxido de hidrógeno (30 %, 3,3 ml, 32,31 mmol) a una solución de trihidrato de hexafluoroacetona (3,34 g, 16,17 mmol) en CH₂Cl₂ (53 ml) enfriada a 0 °C. Se añadió Na₂HPO₄ sólido (1,48 g, 10,43 mmol) y la mezcla se agitó a 0 °C durante ½ h. Se añadió una solución del 3,20-dicetal (**50**, 6,0 g, 14,9 mmol) en CH₂Cl₂ (45 ml), enfriada previamente a 0 °C, durante un periodo de 10 min y la mezcla de reacción se agitó durante una noche a 5 °C. El análisis por TLC (5 % de acetona en CH₂Cl₂) en ese punto indicó la ausencia del material de partida. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (~100 ml) y se lavó con solución al 10 % de Na₂SO₃ (2 x) y solución saturada de NaHCO₃ (2 x). Las fracciones orgánicas se filtraron a través de Na₂SO₄, se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 7 g de **51** de una espuma de color blanco. La trituración de la mezcla de epóxidos (α y β) con éter proporcionó 3,05 g del 5 α ,10 α -epóxido puro **51** en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de un 48,9 %; p.f. = 172-173 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa) ν_{\max} 3439, 2950, 1705, 1642 y 1593

20 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 0,789 (s, 3 H, C18-CH₃), 1,365 (s, 3 H, C21-CH₃), 3,810 - 4,094 (m, 8 H, C3- y C20-cetales) y 6,013 (m, 1 H, C11-CH=). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 418 (M⁺, 0,5), 400 (1,4), 293 (0,9), 131 (2,5), 99 (4,3) y 87 (100,0).

30 *Etapa 3. 3,20-bis-Etilendioxi-5 α ,17 α -dihidroxi-11 β -[4-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)fenil]-19-norpregn-9-eno (**56**):*

Se pesaron virutas de magnesio (435 mg, 17,9 mmol) en un matraz de dos bocas de fondo redondo de 100 ml equipado con un condensador de reflujo, un agitador magnético y un septo de corcho. Se añadió un pequeño cristal de yodo y el sistema se lavó abundantemente con nitrógeno seco y se secó a la llama. Después de que el sistema se hubiera enfriado a temperatura ambiente, se introdujo THF destilado recientemente (20 ml) mediante una jeringa seguido de una pequeña cantidad de dibromoetano seco (~0,1 ml). Después de que se observaban evidencias de la reacción (desaparición del color del I₂, formación de burbujas en el metal), se añadió mediante una jeringa una solución del cetal de 4-bromoacetofenona (véase, Detty, M.R., *et al.*, J. Am. Chem. Soc, 105:875-882 (1983); y Rao, P.N., *et al.*, Steroids, 63:523-530 (1998)) (4,35 g, 17,9 mmol) en THF seco (10 ml). A continuación, la mezcla se agitó en un baño de agua caliente durante 2 h. (Después de 35 min, se añadió una cantidad adicional de 10 ml de THF ya que se formó un precipitado de color blanco y la mezcla de reacción se espesó). La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió cloruro de cobre(I) (177 mg, 1,79 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante ½ h (el precipitado se redisolvió con la adición de cloruro de cobre). Se añadió mediante una jeringa el 5 α ,10 α -epóxido (**51**, 1,5 g, 3,58 mmol) en THF seco (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 45 min. En este momento, TLC (10 % de acetona en CH₂Cl₂) no mostró material de partida. Se añadió solución saturada de NH₄Cl (~20 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante ½ h mientras se arrastró aire a través de la mezcla de reacción para oxidar el cobre. Los contenidos del matraz se diluyeron con H₂O (~100 ml) y se extrajeron con CH₂Cl₂ (3 x). Las fracciones orgánicas se lavaron con solución saturada de NH₄Cl (1 x), H₂O (1 x), y solución salina saturada (1 x), y a continuación se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para producir un aceite. El aceite se purificó en una columna ultrarrápida (10 % de acetona en CH₂Cl₂) para producir 1,3 g de una espuma estable de color blanco. El material se cristalizó en éter para producir 880 mg de **56** en forma de un sólido cristalino de color blanco con un rendimiento de un 42,3 %; p.f. = 185-188 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa) ν_{\max} 3501, 2940, 1609, 1443, 1371, 1181 y 1042 cm⁻¹. RMN (CDCl₃) δ 0,45 (s, 3 H, C18-CH₃), 1,4 (s, 3 H, CH₃ del cetal de etileno de acetofenona en C11 β), 1,6 (s, 3 H, C21-CH₃), 3,6 - 4,2 (m a, 12 H, C3- y C20-cetales y cetal de acetofenona en C11 β -), 4,3 (d a, 1H, C11 α -CH), y 7,05 - 7,47 (dd, 4 H, CH aromáticos). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 582 (M⁺). Anál. Calc. para C₃₄H₄₆O₈: C, 70,08; H, 7,96. Encontrado: C, 70,00; H, 8,05.

60 *Etapa 4. 17 α -Hidroxi-11 β -(4-acetilfenil)-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (**65**):*

65 Se burbujeó nitrógeno a través de una mezcla de EtOH (25 ml) y H₂SO₄ al 8,5 % (2:5 ml) durante ½ h para retirar el oxígeno. Se añadió el aducto de Grignard (**57**, 750 mg, 1,28 mmol) en forma de un sólido con agitación. La mezcla se puso en un baño de aceite calentado previamente a 95 °C durante 1 h. La mezcla se enfrió en un baño de hielo y se inactivó con K₂CO₃ saturado para ajustar el pH a ~10. La mezcla se diluyó con H₂O (125 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x). Las fracciones orgánicas se lavaron con NaHCO₃ saturado (1 x), H₂O (1 x), solución salina saturada (1 x), se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro. Este material se concentró al vacío para proporcionar 600 mg

de 65 en forma de un aceite. El material se purificó en una columna ultrarrápida (10 % de acetona en CH₂Cl₂) para producir 560 mg de 65. Este material se cristalizó en CH₂Cl₂ y éter para proporcionar 475 mg de 65 en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de un 85,9 %; p.f. = espumas/panales a 112-115 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa) ν_{\max} 3390, 2976, 1709, 1679, 1655, 1601, 1360 y 1275 cm⁻¹. RMN (CDCl₃) δ 0,4 (s, 3 H, C18-CH₃), 2,25 (s, 3 H, C21-CH₃), 2,6 (s, 3 H, CH₃ de 11 β -4-fenilacetilo), 3,25 (s, 1H, C17 α -OH), 4,5 (d a, 1 H, C11 α -CH), 5,8 (s, 1 H, C4-CH=) y 7,2 - 8,0 (dd, 4 H, CH aromáticos), MS (EI) m/z (intensidad relativa): 432(M⁺, 88,7), 414 (11,3), 389 (25,4), 371 (21,1), 346(100:0), 331 (46,5), 319 (22,5), 280 (15,5), 235 (16,9), 200 (14,1), 147(18,3), 133 (18,3), 115 (12,7), 105 (15,5) y 91 (21,1).

10 *Etapa 5. Preparación del compuesto objetivo 73:*

Se disolvió la tricetona (65, 375 mg, 0,87 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) y se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. En un matraz de fondo redondo distinto, se añadieron anhídrido trifluoroacético (3,65 g, 17,3 mmol) y ácido acético (1,14 g, 17,3 mmol) a CH₂Cl₂ (10 ml), se lavaron abundantemente con nitrógeno líquido y se agitaron a temperatura ambiente durante 1/2 h. El anhídrido mixto se puso a continuación en un baño de hielo y se enfrió a 0 °C. A continuación, se añadió la solución de anhídrido mixto fría a la solución de tricetona (65) y se trató con ácido p-toluenosulfónico (152 mg, 0,79 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 45 min a 0 °C. La reacción se interrumpió con K₂CO₃ saturado (pH = 10), se diluyó con H₂O y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con H₂O (2 x), solución salina saturada (1 x), se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron para producir 425 mg de 73 en bruto. El producto 73 en bruto se purificó en una columna ultrarrápida (10 % de acetona en CH₂Cl₂) para producir 340 mg de compuesto 73. La cristalización en CH₂Cl₂, y éter proporcionó 305 mg de 73 en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de un 73,96 %; p.f. = 243-246 °C.

25 El análisis por HPLC en fase inversa en una columna C₁₈ Waters Nova Pak eluyendo con MeOH:H₂O en una proporción de 70:30 con un caudal de 1 ml/min y a λ = 260 nm indicó una pureza de un 99,6 %. FTIR (KBr, reflectancia difusa) ν_{\max} 2791, 1729, 1712, 1681, 1595, 1362, y 1257 cm⁻¹, RMN (CDCl₃) δ 0,3 (s, 3 H, C18-Me), 2,10 (s, 3 H, C17 α -OAc), 2,15 (s, 3 H, C21-CH₃), 2,55 (s, 3 H, CH₃ de 11 β -4-fenilacetilo), 4,5 (d a, 1 H, C11 α -CH), 5,8 (s, 1 H, C4-CH=) y 7,2 - 8,0 (dd, 4 H, CH aromáticos). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 474(M⁺, 2,8), 414 (36,6), 399 (14,0), 389 (8,5) y 371 (100). Anál. calc. para C₃₀H₃₄O₅ ½Et₂O: C, 74,85; H, 7,44, Encontrado: C, 74,94; H, 7,19.

Ejemplo 2

35 Este ejemplo ilustra la preparación y las propiedades de 17 α ,21-diacetoxi-11 β -(4-acetilfenil)-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (106b) (Figura 7);

Etapa 1. 3,3-Etilendioxi-17 β -ciano-17 α -trimetilsililoxiestra-5-(10),9(11)-dieno (99):

40 En atmósfera de nitrógeno, se trató una solución en piridina (136,9 g, 1740 mmol) del cianohidrinacetal (98, 25 g, 73,22 mmol) con clorotrimetilsilano (44 g, 394 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se vertió en una mezcla 50:50 de hielo/solución saturada de NaHCO₃ (~1,2 l), se agitó hasta que el hielo se hubo fundido, y se extrajo con hexano (3 x). Los extractos orgánicos se lavaron con H₂O (3 x), solución salina saturada (1 x), se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, y se concentraron al vacío. La piridina remanente se retiró azeotrópicamente al vacío con heptano. La cristalización del residuo en pentano proporcionó 26,1 g del silil éter (99) puro en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de un 86,2 %; p.f. = 99 - 101 °C, FTIR (KBr, reflectancia difusa) ν_{\max} 2944, 2908, 2231 y 1253 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 0,229 (s, 9 H, C17 α -OSi(CH₃)₃), 0,894 (s, 3 H, C18-CH₃), 3,987 (s, 4 H, 3-OCH₂CH₂O) y 5,615 (t, 1 H, J = 2,55 Hz, C11-CH=). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 413 (M⁺, 100,0), 398 (5,5), 385 (24,0), 371 (6,4), 237 (33,9) y 69,3 (86,0).

50 *Etapa 2. 3,3-Etilendioxi-5 α -10 α -epoxi-17 β -ciano-17 α -trimetilsililoxiestr-9(11)-eno (100):*

55 Se añadió peróxido de hidrógeno (30 %, 12 ml), 117,12 mmol) a una mezcla agitada vigorosamente de trihidrato de hexafluoroacetona (20,20 g, 112,5 mmol) en CH₂Cl₂ (185 ml) enfriada a 0 °C en un baño de hielo. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante ½ h, y se añadió Na₂HPO₄ sólido (11 g, 77,5 mmol) seguido de una solución enfriada en hielo del silil éter (99,25 g, 60,44 mmol) en CH₂Cl₂ (185 ml). A continuación, la mezcla se agitó a 0 °C durante 5 h, y a continuación a 5 °C durante una noche. El análisis por TLC (5 % de acetona en CH₂Cl₂) en ese momento indicó una reacción completa. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (~200 ml) y se lavó con solución al 10 % de Na₂SO₃ (1 x), H₂O (1 x) y solución salina saturada (1 x). Las fracciones orgánicas se filtraron a través de sulfato sódico anhidro, se combinaron y se concentraron al vacío. La trituración del residuo con éter proporcionó 16,66 g del 5 α ,10 α -epóxido (100) puro en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de un 64,16 %; p.f. 156 - 160 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa) ν_{\max} 2955, y 2228 cm⁻¹, RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 0,219 (s, 9 H, OSi(CH₃)₃), 0,894 (s, 3 H, C18-CH₃), 3,85 - 3,97 (s, 4 H, C3-OCH₂CH₂O) y 6,082 (t, 1 H, J = 2,6 Hz, C11-CH=). MS(EI) m/z (intensidad relativa): 429 (M⁺, 18,5), 401 (2,8), 343 (11,1), 238 (9,5), 99 (100,0) y 86 (36,2).

65 *Etapa 3. 3,3-Etilendioxi-5 α -hidroxi-11 β -[4-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)fenil]-17 β -ciano-17 α -trimetilsililoxiestr-9-eno (101b):*

En atmósfera de nitrógeno y en material de vidrio secado a la llama, se añadió THF seco (240 ml) a virutas de magnesio (2,3 g, 94,6 mmol). Se añadió cetal de bromoacetofenona sólido (véase, EJEMPLO 1 Etapa 3) (20,79 g, 85,5 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo. Después de ½ h de reflujo, se observaron evidencias de formación de Grignard tales como turbidez y cambio de color. El calentamiento se discontinuó y la mezcla se agitó durante 1 h, período después del cual había reaccionado la mayoría del magnesio y se observó una cantidad considerable del reactivo de Grignard precipitado. Se añadió CuCl sólido (4 g, 40,4 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min, período después del cual el reactivo sólido se redisolvió en solución. Se añadió una solución del 5 α ,10 α -epóxido (100, 17,5 g, 40,73 mmol) en THF (150 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de ese período, TLC (5 % de acetona en CH₂Cl₂) de una pequeña alícuota inactivada con solución saturada de NH₄Cl indicó una reacción completa. La reacción se interrumpió mediante la adición de solución saturada de NH₄Cl (~50 ml). Con el fin de oxidar Cu(I) a Cu(II), se arrastró aire a través de la mezcla de reacción durante ½ h. La mezcla de color azul resultante se diluyó con éter (500 ml) y se lavó con H₂O (2 x), solución salina saturada (1 x), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar 41 g del residuo en forma de un aceite. La cristalización de este material en bruto y el éter proporcionó 101b (23,0 g) puro en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de un 95 %; p.f. = 192 - 193 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3515, 2951, 2884, 2230, 1619, 1505 y 1102 cm⁻¹. RMN (CDCl₃): δ 0,25 (s, 9 H, Si(CH₃)₃), 0,5 (s, 3 H, C18-CH₃), 1,67 (s, 3 H, C11 β -(cetal de acetofenona CH₃)), 3,67 - 4,17 (m, 8 H, C3-OCH₂CH₂O-), 4,37 (m, 2 H, C11 α -CH mas OH), 7,17 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 2', 6') y 7,37 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 3', 5'). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 593 (M⁺, 3,6), 578 (6,0), 575 (9,1), 560 (2,5), 366 (5,2) 99 (27,3) y 87 (100,0). Anál. calc. para C₃₁H₄₇NO₆Si: C, 68,77; H, 7,98; N, 2,36. Encontrado: C, 68,69; H, 7,87; N, 2,43.

Etapa 4. 17 β -ciano-17 α -hidroxi-11 β -(4-acetilfenil)-estra-4,9-dien-3-ona (102b):

Una solución del aducto de Grignard (101b, 23 g, 38,7 mmol) se disolvió en THF (100 ml) y el sistema se lavó abundantemente con nitrógeno. Se añadieron ácido acético glacial (314,7 g, 524 mmol) y H₂O (100 ml) y la mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. En ese momento, TLC (10 % de acetona/CH₂Cl₂) indicó una reacción incompleta. La mezcla de reacción se calentó a continuación a reflujo durante 1 h, período después del cual TLC indicó una reacción completa.

Los componentes volátiles se retiraron al vacío a 50 °C y el residuo se diluyó con H₂O (~250 ml) y solución saturada de NaHCO₃ (~125 ml). El precipitado posterior se extrajo con EtOAc (5 x) con ciertas dificultades ya que el producto en bruto era relativamente insoluble en la mayoría de los disolventes usados. Las fracciones orgánicas se lavaron con H₂O (2 x), solución salina saturada (1 x), se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La trituración del residuo con éter proporcionó la cianohidrina (102b, 16,3 g) en forma de un sólido de color amarillo claro con un rendimiento de un 100 %; p.f. = 141 - 143 °C (desc.). FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3362, 2966, 2946, 2232, 1619, 1730, 1658 y 1600 cm⁻¹. RMN (CDCl₃ + DMSO d₆): δ 0,57 (s, 3 H, C18-CH₃), 2,60 (s, 3 H, C11 β -(4-fenil-C(O)CH₃)), 4,57 (s a, 1 H, C11 α -CH), 5,80 (s, 1 H, C4-CH=), 7,40 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 2', 6') y 7,97 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 3', 5'), MS(EI) m/z (intensidad relativa): 415 (M⁺, 0,5), 404 (0,4), 388 (100,0), 292 (65) y 97 (51,0). Anál. calc. para C₂₇H₂₉NO₃·1/3H₂O: C, 76,93; H, 7,09; N, 3,32. Encontrado: C, 77,04; H, 6,99; N, 3,45.

Etapa 5. 11 β -(4-Acetilfenil)-17 β -ciano-17 α -brometildimetilsiloxiestra-4,9-dien-3-ona (103b):

En atmósfera de nitrógeno, una solución de la cianohidrina (102b, 15 g, 36,12 mmol), Et₃N (6,53 g, 64 mmol) y DMAP (2,6 g, 21,3 mmol) en THF seco (180 ml) se trató con cloruro de bromometildimetilsililo (9,70 g, 54 mmol). La mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente, se diluyó con éter (500 ml), se filtró a través de Celite y se concentró al vacío. La solubilidad relativa de este material (103b) excluye la posibilidad de la purificación cromatográfica usando éter como eluyente. El material en bruto (103b) se usó directamente en la siguiente reacción sin purificación o caracterización adicional.

Etapa 6. 17 α -Hidroxi-11 β -(4-acetilfenil)-21-bromo-19-norpregna-4,9-dien-3-ona (104b):

En condiciones anhidras y usando un agitador mecánico, una solución del silil éter (103b) (supuestos 20,34 g, 36,12 mmol) en THF seco (500 ml) se enfrió a -78 °C y se trató gota a gota con una solución 1,5 M de diisopropilamida de litio (LDA) en ciclohexano (100 ml, 150 mmol). Después de 1 h, la mezcla de reacción se volvió muy viscosa, casi un gel. La reacción se interrumpió a -78 °C mediante la adición de HBr 4,45 M (500 ml, 890 mmol) y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, el exceso de ácido se neutralizó mediante la adición lenta disolución concentrada de NH₄OH (~60 ml). La mezcla se diluyó además con H₂O (~200 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x). Las fracciones orgánicas se lavaron con H₂O (3 x), se combinaron, se filtraron a través de Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para proporcionar 20 g de un residuo en forma de una espuma. Este material se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con (10 % de acetona en CH₂Cl₂) para proporcionar 2,6 g del 21-bromo producto (104b) en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de un 14,1 %. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3340, 2946, 1723, 1693, 1679, 1645 y 1601 cm⁻¹. RMN (CDCl₃): δ 0,33 (s, 3 H, C18-CH₃), 2,19 (s, 3 H, 11 β -(4-fenil-C(O)CH₃)), 4,30 - 4,70 (m, 3 H, C11 α -CH y C21-CH₂Br), 5,83 (s, 1 H, C4-CH=), 7,33 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 2', 6') y 7,93 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 3', 5'). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 512 (M⁺, 24,1), 466 (100), 432 (48,5), 431 (48,5), 430 (86,4), 371 (71,9) y 91

(76,0).

Etapas 7. 17 α -Hidroxi-11 β -(4-acetilfenil)-21-acetoxi-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (105b):

- 5 Una mezcla del 21-bromo derivado (104b, 2,5 g, 4,89 mmol), KOAc anhidro (20 g, 203,8 mmol) en CH₃CN seco (100 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h, TLC (10 % de acetona en CH₂Cl₂) indicó una reacción completa. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar 2,6 g en forma de una espuma. Este material se purificó por cromatografía ultrarrápida (12 % de acetona en CH₂Cl₂), seguido de cristalización en EtOAc para proporcionar 1,5 g del 17 α -ol-21-acetato (105b) puro en
- 10 forma de un sólido de color amarillo claro con un rendimiento de un 62,6 %; p.f. = se ablanda a 110 °C, FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3467, 2948, 1749, 1727, 1727, 1681, 1380, 1664 y 1603 cm⁻¹. RMN (CDCl₃): δ 0,31 (s, 3 H, C18-CH₃), 2,15 (s, 3 H, C17 α -OC(O)CH₃), 2,57 (s, 3 H, 11 β -4-fenil-C(O)CH₃), 4,5 (d a, 1 H, C11 α -CH), 5,01 (dd, 2 H, J₁ = 18,7 Hz, J₂ = 18 Hz, C21-CH₂OAc), 5,81 (s, 1 H, C4-CH=), 7,34 (d, 1 H, J = 8,2 Hz, CH aromáticos 2', 6'), 7,35 (d, 1 H, J = 6,8 Hz, CH aromáticos 2', 6') y 7,93 (d, 2 H, J = 8,2 Hz, CH aromáticos 3', 5'), MS (EI) m/z (intensidad relativa): 490 (M⁺, 88,0), 430 (100,0), 344 (80,0), 236 (44,0), y 91 (55,0). Anál. Calc. para C₃₀H₃₄O₆·1/5CH₂Cl₂·C, 70,99; H, 6,79, Encontrado: C, 70,83; H, 6,65.

Etapas 8. Preparación del compuesto objetivo 106b:

- 20 En atmósfera de nitrógeno, se combinaron anhídrido trifluoroacético (11,15 g, 53,2 mmol), y ácido acético glacial (3025 g, 54,2 mmol) en CH₂Cl₂ seco (35 ml) se agitaron a temperatura ambiente durante ½ h. Se añadió monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (0,5 g, 2,63 mmol) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. Una solución del 17 α -ol-21-acetato (105b, 1,28 g, 2,61 mmol) en CH₂Cl₂ seco (10 ml) se enfrió previamente a 0 °C y a continuación se añadió. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C. Después de 45 min, TLC (10 % de acetona en CH₂Cl₂) indicó una reacción completa. La mezcla se inactivó a 0 °C con solución concentrada de NH₄OH (~10 ml, ~148 mmol), se dejó calentar a temperatura ambiente, y se diluyó con H₂O (~50 ml). El pH de la fracción acuosa se ajustó a 5 con solución concentrada de NH₄OH y la mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x). Las fracciones orgánicas se lavaron con H₂O (3 x), se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar 1,8 del producto en bruto en forma de una espuma. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (5 % de acetona en CH₂Cl₂) para proporcionar 1,1 g del diacetato (106b) purificado en forma de una
- 25 espuma. La cristalización de esta espuma en EtOAc / heptano proporcionó 0,78 g del sólido puro (106b) en forma de un sólido cristalino de color blanco con un rendimiento de un 56,1 %; p.f. = 197 - 199 °C; el análisis por HPLC en fase inversa en columna ODS-2 Phenomenex Prodigy 5 eluyendo con H₂O/CH₃CN, 1:1 con un caudal de 1 ml/min y a λ = 302 nm indicó que este material tenía > 99 % de pureza con un tiempo de retención (t_R) de 5,6 min. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 2951, 1757, 1678, 1664 y 1604 cm⁻¹. RMN (CDCl₃): δ 0,33 (s, 3 H, C18-CH₃), 2,07 (s, 3 H, C17 α -OC(O)CH₃), 2,10 (s, 3 H, C21-OAc), 2,50 (s, 3 H, C11 β -4-fenil-C(O)CH₃), 4,43 (m, 1 H, C11 α -CH), 4,77 (dd, 2 H, J₁ = 32,9 Hz, J₂ = 14,9 Hz, C21-CH₂OAc), 5,77 (s, 1 H, C4-CH=), 7,23 (d, 2 H, J = 8 Hz, CH aromáticos 2', 6'), y 7,83 (d, 2H, J = 8 Hz, CH aromáticos 3', 5'). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 532 (M⁺, 6,2), 472 (17,3), 412 (11,3), 371 (100,0) y 91 (14,3). Anál. calc. para C₃₂H₃₆O₇·1/7H₂O: C, 71,81; H, 6,83. Encontrado: C, 71,89; H, 6,87.

40

Ejemplo 3

Este ejemplo ilustra la preparación y las propiedades de 17 α -acetoxi-11 β -(4-acetilfenil)-21-tioacetoxi-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (106c) (Figura 7):

45

Etapas 1. 17 α -Hidroxi-11 β -(4-acetilfenil)-21-tioacetoxi-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (105c):

- Una mezcla del 21-bromo derivado (104b, 5,746 g, 11,23 mmol), yoduro sódico (16,84 g, 112,3 mmol), tioacetato potásico (12,83 g, 112,3 mmol) en acetona seca (600 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno. Después de 4 h, TLC (50 % de EtOAc en hexanos) indicó una reacción completa. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró, se concentró al vacío, se diluyó con H₂O (~200 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x). Las fracciones orgánicas se lavaron con H₂O (1 x) y solución salina saturada (1 x), se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico anhidro, y se concentraron al vacío para proporcionar el producto en bruto en forma de una espuma de color amarillo. Este material se purificó por cromatografía ultrarrápida (50 % de EtOAc en hexanos), seguido de cristalización en EtOAc/hexanos para proporcionar el 17 α -ol-21-tioacetato (105c, 3,25 g, 57,1 %) puro en forma de un sólido cristalino de color blanco; p.f. = 159 - 160 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3325, 2950, 1723, 1688, 1637 y 1590 cm⁻¹. RMN (CDCl₃): δ 0,33 (s, 3 H, C18-CH₃), 2,4 (s, 3 H, C21-SC(O)CH₃), 2,57 (s, 3 H, C11 β -4-fenil-C(O)CH₃), 4,0 (dd, 2 H, J₁ = 48,6 Hz, J₂ = 18 Hz, C21-CH₂SAC), 4,57 (d a, 1 H, C11 α -CH), 5,8 (s, 1 H, C4-CH=), 7,37 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 2', 6'), y 7,93 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 3', 5'). MS(EI) m/z (intensidad relativa): 506 (M⁺, 29,1), 488 (14,4), 474 (16,6), 431 (100,0) y 346 (78,1). Anál. calc. para C₃₀H₃₄O₅S·H₂O: C, 68,68; H, 6,92; S, 6,11. Encontrado: C, 68,99; H, 6,73; S, 6,06.

60

Etapas 2. Preparación del compuesto objetivo 106c:

- 65 En atmósfera de nitrógeno, se combinaron anhídrido trifluoroacético (17,43 g, 82,89 mmol), ácido acético glacial (7,17 g) 118,45 mmol, monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (1,0 g, 5,3 mmol) y CH₂Cl₂ seco (100 ml) y se

agitaron a temperatura ambiente durante ½ h. La mezcla se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se añadió una solución del 17 α -ol-21-tioacetato (105e, 3,0 g, 5,92 mmol) en CH₂Cl₂ seco (54 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 6 h, período después del cual TLC (4 % de acetona/CH₂Cl₂) indicó una reacción completa. La mezcla se neutralizó con NaHCO₃ saturado frío y se extrajo con CH₂Cl₂, (3 x). Las fracciones orgánicas se lavaron con solución salina saturada (2 x), se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron al vacío para proporcionar el producto en bruto en forma de una espuma. La purificación de este material mediante cromatografía ultrarrápida eluyendo con un 4 % de acetona/CH₂Cl₂ seguido de cristalización en EtOAc/hexanos proporcionó 2,34 g del compuesto 106c puro en forma de un sólido cristalino de color amarillo; p.f. = 204 - 205 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 2948, 1734, 1702, 1676, 1663 y 1602 cm⁻¹. RMN (CDCl₃): δ 0,30 (s, 3 H, C18-CH₃), 2,15 (s, 3 H, C17 α -OC(O)CH₃), 2,33 (s, 3 H, C21-SC(O)CH₃), 2,57 (s 3 H, C11 β -4-fenil-C(O)CH₃), 3,94 (dd, 2H, J₁ = 20,7 Hz, J₂ = 14,4 Hz, C21-CH₂SAC), 4,53 (d a, 1H, C11 α -CH), 5,83 (s, 1 H, C4-CH=), 7,37 (d; 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 2', 6'), y 7,93 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 3', 5'), MS (EI) m/z (intensidad relativa): 548 (M⁺, 6,9), 488 (18,4), 413 (27,4), 371 (100,0) y 280 (24,0). Anál. calc. para C₃₂H₃₆O₆S·1/10H₂O: C, 69,82; H, 6,63; S, 5,82. Encontrado: C, 68,83; H, 6,67, S, 5,59.

Ejemplo 4

Este ejemplo ilustra la preparación y las propiedades de 17 α ,21-dimetoxi-11 β -(4-acetilfenil)-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (113d) (**Figura 8**):

Etapa 1. 3,3-Etilendioxi-17 α -metoxi-21-hidroxi-19-norpregna-5(10),9(11)-dien-20-ona (107):

A una solución del 17 α -metoxi-3-cetal (94, 10,0 g, 27,1 mmol) en THF seco (150 ml) se añadió diacetato de yodobenceno (Moriarty, *et al.*, J. Chem. Soc. Chem. Commun., 641-642 (1981); Velerio, *et al.*, Steroids, 60:268-271 (1995)) (34,59 g, 4 x) en forma de un sólido. La suspensión se agitó en atmósfera de nitrógeno y se enfrió a 0 °C. Se añadió H₂O (7,73 ml, 429,6 mmol, 16 x), seguido de solución 0,5 M de KO-tBu (1400 ml, 700 mmol, 26 x) a través de una aguja de transferencia. (Se preparó una mezcla 50:50 (v/v) de metanol abierto recientemente (700 ml) y t-butoxido potásico 1,0 M en THF (700 ml; Aldrich) y se enfrió a 0 °C para proporcionar una solución 0,5 M de base). Después de que se completara la adición la mezcla de reacción se retiró del baño de hielo y se dejó que la solución se calentara a temperatura ambiente. La reacción se monitorizó cada hora mediante TLC (5 % de acetona en CH₂Cl₂) y después de 4 h, casi la totalidad del material de partida se había convertido en aproximadamente una mezcla 80:20 de dos componentes más polares. La mezcla de reacción se diluyó con H₂O (500 ml) y solución salina saturada (500 ml) y se extrajo con éter (3 x). Las fracciones orgánicas se lavaron de nuevo con H₂O y solución salina saturada. Los extractos orgánicos combinados se secaron por filtración a través de Na₂SO₄, se evaporaron al vacío, y además se secaron en alto vacío para recuperar 13,84 g de un aceite de color naranja. La purificación por cromatografía ultrarrápida (5 % de acetona en CH₂Cl₂) proporcionó 6,0 g de una espuma de color amarillo pálido-blanco (107) con un rendimiento de un 57,5 %. La trituración con pentano produjo 107 que se secó al vacío para recuperar 5,36 g de un polvo de color blanco con un rendimiento de un 51,0 %; p.f. = 147 - 152 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3478, 2900, 2825, 1712, 1437, 1384 y 1372 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,550 (s, 3 H, C18-CH₃), 3,159 (s, 3 H, C17 α -OCH₃), 3,981 (s, 4 H, C3-OCH₂CH₂O), 4,251 y 4,471 (AB, 2 H, J_{AB} = 19,81 Hz, C21-CH₂) y 5,544 (s a, 1 H, C11-CH=). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 388 (M⁺, 54,8), 356 (13,8), 297 (100,0), 211 (65,0), 169 (51,1) y 99 (56,3). Anál. calc. para C₂₃H₃₂O₅·1/4H₂O: C, 70,29; H, 8,34. Encontrado: C, 70,21; H, 8,12.

Etapa 2. 3,3-Etilendioxi-17 α ,21-dimetoxi-19-norpregna-5(10),9(11)-dien-20-ona (108):

A una solución del 3-cetal-21-hidroxi compuesto (107, 5,0 g, 12,87 mmol) en 500 ml de 1,2-dimetoxietano (DME) se añadió Proton-Sponge[®] [1,8-bis(dimetilamino)naftaleno] (13,79 g, 64,35 mmol, 5 x) en forma de un sólido. La solución se enfrió a 0 °C en un baño de agua enfriada con hielo y se añadió tetrafluoroborato de trimetiloxonio (9,52 g, 64,35 mmol, 5 x) en forma de un sólido. La suspensión se mantuvo a 0 °C en atmósfera de nitrógeno, durante 3 h. En ese momento, TLC (5 % de acetona en CH₂Cl₂) indicó que la totalidad del material de partida se había convertido limpiamente en el 3-cetal-17 α ,21-dimetoxi compuesto (108) ligeramente menos polar. Se añadieron H₂O y EtOAc, la mezcla se transfirió a un embudo de decantación, y se permitió que se separaran las fases. La fracción orgánica se lavó con HCl 1 N enfriado en hielo (2 x), H₂O (1 x), NaHCO₃ saturado (1 x), H₂O (1 x), y solución salina saturada (1 x). Los extractos de EtOAc combinados (3 x) se secaron por filtración a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El aceite incoloro resultante se secó durante una noche en una atmósfera en alto vacío para recuperar una espuma de color blanco (108, 5,28 g) con rendimiento cuantitativo. El análisis por TLC y RMN indicó que el material en bruto era lo suficientemente puro para usarlo directamente en la siguiente reacción. Se trituró una pequeña cantidad con pentano y se secó durante una noche en una atmósfera en alto vacío para proporcionar 120 mg de 108 en forma de un sólido de color blanco; p.f. = 104-110 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 2926; 2884, 2828, 1722, 1447, 1380, 1322 y 1252 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,585 (s, 3 H, C18-CH₃), 3,175 (s, 3 H, C17 α -OCH₃), 3,442 (s, 3 H, C21-OCH₃), 3,983 (s, 4 H, C3-OCH₂CH₂O), 4,182 y 4,367 (AB, 2 H, J_{AB} = 18,01 Hz, C21-CH₂) y 5,555 (s a, 1 H, C11-CH=). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 402 (M⁺, 27,7), 370 (7,2), 297 (100,0), 211 (62,1), 169 (41,6) y 99 (62,7). Anál. calc. para C₂₄H₃₄O₅·3/5H₂O: C, 69,74; H, 8,58. Encontrado: C, 69,82; H, 8,43.

Etapa 3. 3,3-Etilendioxi-17 α ,21-dimetoxi-19-norpregna-5(10),9(11)-dien-20-ol (109):

- Se disolvió la 3-cetal 17 α ,21-dimetoxi-20-ona (108, 5,0 g, 12,42 mmol) en THF seco (100 ml) y se añadieron 2 equivalentes de LiAlH₄ (25 ml, 25 mmol, 1,0 M en éter) mediante una jeringa. La solución se agitó magnéticamente a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Después de 15 minutos, el examen mediante TLC (5 % de acetona en CH₂Cl₂) indicó que el material de partida se había convertido limpiamente en un producto individual más polar (109). La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo, y se añadió gota a gota Na₂SO₄ saturado (~2 - 3 ml) a través de una pipeta. Cuando la reacción se interrumpió, se añadieron varias cucharadas de Na₂SO₄ y se dejó que la mezcla se agitara durante 1 h. La filtración a través de un embudo de vidrio sinterizado, seguido de evaporación al vacío produjo un jarabe concentrado. El jarabe se recogió en H₂O y CH₂Cl₂, se transfirió a un embudo de decantación, y se dejó que se separaran las fases. La fracción orgánica se lavó de nuevo con solución salina saturada. Los extractos de CH₂Cl₂ combinados (3 x) se secaron por filtración a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. La espuma de color blanco resultante se secó además en alto vacío para recuperar 4,69 g de 109 en bruto. La purificación de este producto en bruto por cromatografía ultrarrápida (5 % de isopropanol en CH₂Cl₂) proporcionó 4,24 g de 109 en forma de una espuma de color blanco con un rendimiento de un 84,4 %.
- Las dos fracciones más puras se combinaron y se recogieron en una cantidad mínima de acetona/hexano. Después de reposar durante seis días a temperatura ambiente, se formaron cristales grandes incoloros. Los cristales se recogieron por centrifugación, se lavaron con varias porciones de hexano, y se secaron en alto vacío para recuperar 177 mg. El análisis por TLC (10 % de acetona en CH₂Cl₂) indicó que los cristales eran los de más alta pureza. El análisis de este material por RMN indicó un isómero individual. No se realizó ningún procesamiento adicional para la identificación de este isómero individual. Se obtuvo una segunda cosecha de 78 mg con solo impurezas traza a partir de los licores madre; p.f. =111 - 115 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3576, 3456, 2930, 2891, 2827, 1460 y 1372 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,824 (s, 3 H, C18-CH₃), 3,298 (s, 3 H, C17 α -OCH₃), 3,392 (s, 3 H, C21-OCH₃), 3,416 (dd, 1 H, J₁ = 9,30 Hz, J₂ = 8,10 Hz, C21-CH₂), 3,490 (dd, 1 H, J₁ = 9,30 Hz, J₂ = 3,30 Hz, C21-CH₂), 3,923 (dd, 1 H, J₁ = 8,10 Hz, J₂ = 3,30 Hz, C20-CH), 3,980 (s, 4 H, C3-OCH₂CH₂O) y 5,595 (s a, 1 H, C11-CH=). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 404 (M⁺, 2,1), 372 (5,7), 329 (1,7), 297 (100,0) y 211 (35,7). Anál. calc. para C₂₄H₃₆O₅: 1/5C₆H₁₄: C, 71,76; H, 9,27. Encontrado: C, 71,83; H, 9,04.

Etapa 4. 3,3-Etilendioxi-5 α ,10 α -epoxi-17 α ,21-dimetoxi-19-norpregn-9(11)-en-20-ol (110):

- A una solución de hexafluoroacetona (2,01 ml, 14,39 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml), se añadió Na₂HPO₄ sólido (1,36 g, 9,59 mmol) y H₂O₂ al 30 % (2,16 ml, 21,1 mmol). La mezcla se transfirió a una cámara fría y se agitó vigorosamente durante % h a 4 °C. Se añadió una solución fría del 20-alcohol (109, 3,88 g, 9,59 mmol) en CH₂Cl₂ (25 ml) a través de una pipeta y se aclaró con una cantidad adicional de CH₂Cl₂ (25 ml). Después de agitar durante una noche a 4 °C, TLC (7,5 % de acetona en CH₂Cl₂) indicó que casi la totalidad del material de partida se había convertido en un producto principal más polar con solo trazas de productos secundarios. La mezcla de reacción se transfirió a un embudo de decantación y se lavó con Na₂SO₃ al 10 % (1 x), H₂O (1 x), y solución salina saturada (1 x). Los extractos de CH₂Cl₂ combinados (3 x) se secaron por filtración a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío para recuperar una espuma. El análisis por RMN del material en bruto indicó que estaban presentes los epóxidos α y β en aproximadamente una proporción de 9:1. La trituración con éter produjo 2,27 g del 5 α ,10 α -epóxido (110) puro en forma de un polvo de color blanco con un rendimiento de un 56,3 %; p.f. =146 - 153 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3558, 2939, 1638,1446, 1373 y 1247 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,824 (s, 3 H, C18-CH₃), 3,273 (s, 3 H, C17 α -OCH₃), 3,389 (s, 3 H, C21-OCH₃), 3,402 (dd, 1 H, J₁ = 9,61 Hz, J₂ = 8,10 Hz, C21 -CH₂), 3,476 (dd, 1 H, J₁ = 9,1 Hz, J₂ = 3,30 Hz, C21-CH₂), 3,908 (m, 5 H, C3-OCH₂CH₂O y C20-CH) y 6,053 (s a, 1 H, C11-CH=). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 420 (M⁺, 1,7), 402 (6,0), 370 (6,2), 345 (20,0), 313 (77,8), 295 (100,0) y 99 (95,4). Anál. calc. para C₂₄H₃₆O₅·1/10H₂O: C, 68,25; H, 8,64. Encontrado: C, 68,31; H, 8,71.

Etapa 5: 3,3-Etilendioxi-5 α -hidroxi-11 β -[4-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)fenil]-17 α ,21-dimetoxi-19-norpregn-9-en-20-ol (111d):

- Se pesaron virutas de magnesio (289 mg, 11,89 mmol) en un matraz de dos bocas de fondo redondo de 100 ml equipado con un condensador de reflujo, un agitador magnético, y un septo de caucho. Se añadió un pequeño cristal de yodo y el sistema se lavó abundantemente con nitrógeno y se secó a la llama. Después de enfriar a temperatura ambiente, se introdujo THF destilado recientemente (10 ml) mediante una jeringa seguido de una pequeña cantidad de dibromoetano seco (~0,1 ml). Después de que se observaran evidencias de la reacción (desaparición del color de I₂, y formación de burbujas en el metal), se añadió mediante una jeringa una solución del cetal de 4-bromoacetofenona (véase, Ejemplo 20, Etapa 1) (2,89 g, 11,89 mmol) en THF seco (10 ml). A continuación, la mezcla se agitó en un baño de agua caliente durante 2 h hasta que se consumió la mayor parte del magnesio. Después de que la mezcla de reacción se enfriara a temperatura ambiente, se añadió cloruro de cobre(I) sólido (11,8 mg, 1,19 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante ½ h. Se añadió mediante una jeringa el epóxido (110, 1,0 g, 2,38 mmol) en THF seco (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y a continuación se inactivó mediante la adición de solución saturada de NH₄Cl (~20 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante ½ h mientras se arrastró aire a través de la mezcla de reacción para oxidar el Cu(I) a Cu(II). Los contenidos del matraz se diluyeron con agua (~100 ml) y se extrajeron con CH₂Cl₂ (3 x). Los extractos orgánicos se lavaron con solución saturada de NH₄Cl (1 x), agua (1 x) y solución salina saturada (1 x), a continuación se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para producir 4,3 g de aceite. Este se purificó en una columna ultrarrápida (10 % de acetona en CH₂Cl₂) para producir 850 mg de 111d en

forma de una espuma de color blanco que se trituró con éter para producir un sólido cristalino de color blanco con un rendimiento de un 61,2 %; p.f. = 145 - 150 °C (el material cambió a un gel de color ámbar) y el gel funde a 173 - 177 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3461, 2946, 2877, 2812, 1663, 1602, 1540, 1505, 1457 y 1372 cm^{-1} . RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,443 (s, 3H, C18- CH_3), 1,636 (s, 3 H, CH_3 de cetal de acetofenona), 3,289 (s, 3 H, C17 α -OCH₃), 3,358 (s, 3 H, C21-OCH₃), 3,741-4,015 (m, 8 H, cetales de C3- y C11 β -4-acetilo), 4,244 (s a, 1 H, C11 α -CH), 7,165-7,327 (dd, 4 H, CH aromáticos). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 584 (M^+). Anál. calc. para $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_8$: C, 69,86; H, 8,22. Encontrado: C, 69,63; H, 8,28.

Etapa 6: 3,3-Etilendioxi-5 α -hidroxi-11 β -[4-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)fenil]-17 α ,21-dimetoxi-19-norpregn-9-en-20-ona (112d):

En atmósfera de nitrógeno, se disolvió IBX (1,149 g, 4,104 mmol) en DMSO (8 ml) durante un periodo de 10 min. Se añadió a través de una pipeta una solución del producto de Grignard (111d, 800 mg, 1,368 mmol) en DMSO (8 ml) a la solución anterior y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante ½ h. En ese momento, TLC (10 % de acetona en CH_2Cl_2 ; la alícuota se diluyó en agua y se extrajo con EtOAc) mostró que el material de partida se había convertido en un producto individual menos polar. La reacción se diluyó con H_2O (~150 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x). Las fases orgánicas se lavaron con H_2O (1 x) y solución salina saturada (1 x), se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar 820 mg de 112d en forma de una espuma de color blanquecino. Esta se purificó en una columna ultrarrápida (10 % de acetona en CH_2Cl_2). El producto se obtuvo originalmente en forma de una espuma y se trituró con pentano y se secó al vacío para producir 540 mg de 112d en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de un 73 %; p.f. = 102 -106 °C (contracción a un gel de color ámbar); 111 - 113 °C (burbujas de gel); 123 - 133 °C (fusión del gel). FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3526, 2939, 2884, 2825, 1722, 1665 y 1604 cm^{-1} . RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,190 (s, 3 H, C18- CH_3), 1,625 (s, 3 H, CH_3 de cetal de acetofenona), 3,146 (s, 3 H, C17 α -OCH₃), 3,445 (s, 3 H, C21-OCH₃), 3,742 y 4,015 (m, cetales de C3 y C11 β -4-acetilfenilo), 4,310 (d, 1 H, C11 α -CH), 7,119 - 7,332 (dd, 4 H, CH aromáticos) MS (EI) m/z (intensidad relativa): 582 (M^+), Anál. calc. para $\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{O}_8$: C, 70,08; H, 7,96. Encontrado: C, 70,11; H, 8,01. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3526, 2939, 2884, 2825, 1722, 1665 y 1604 cm^{-1} . RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,190 (s, 3H, C18- CH_3), 1,625 (s, 3 H, CH_3 de cetal de acetofenona), 3,416 (s, 3 H, C17 α -4CH₃), 3,445 (s, 3 H, C21-OCH₃), 3,742 y 4,015 (m, cetales de C3 y C11 β -4-acetilfenilo), 4,310 (d, 1 H, C11 α -CH), 7,119-7,332 (dd, 4 H, CH aromáticos). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 582 (M^+). Anál. calc. para $\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{O}_8$: C, 70,08; H, 7,96. Encontrado: C, 70,11; H, 8,01.

Etapa 7. Preparación del compuesto objetivo 113d:

Se burbujeó nitrógeno a través de una mezcla de EtOH (925 ml) y ácido sulfúrico al 8,5 % durante ½ h para retirar el oxígeno. Se añadió la 20-cetona (112d, 520 mg, 0,892 mmol) en forma de un sólido con agitación a la solución anterior. La mezcla se puso en un baño de aceite calentado previamente a 95 °C y se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo y se inactivó con solución saturada de K_2CO_3 (pH \approx 10), se diluyó con agua (~125 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x). Las fracciones orgánicas se lavaron con agua y solución salina saturada, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar 460 mg del producto en bruto. La cromatografía ultrarrápida (10 % de acetona en CH_2Cl_2) proporcionó 377 mg de un sólido de color blanquecino amarillo pálido. Este se cristalizó en una mezcla de éter destilado y CH_2Cl_2 para producir 360 mg de 113d con un rendimiento de un 81 % en forma de un sólido cristalino de color blanco en dos lotes. El producto 113d retuvo CH_2Cl_2 y requirió un secado exhaustivo: p.f. = 133-136 °C (espumas) y 172-178 °C (fusión de la espuma). FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 2942, 1719, 1681, 1665, 1600, 1409, 1359 y 1272 cm^{-1} . RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,264 (s, 3 H, C18- CH_3), 2,571 (s, 3 H, CH_3 de cetal de acetofenona), 3,185 (s, 3 H, C17 α -OCH₃), 3,449 (s, 3 H, C21-OCH₃), 4,183 y 4,385 (dd, 2 H, C21- CH_2 -), 4,456 y 4,481 (d, 1 H, C11 α -CH), 5,90 (s, 1 H, C4-CH=), 7,247 - 7,7883 (dd, 4H, CH aromáticos). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 476 (M^+ , 35), 403 (93), 371 (100), 331 (67) y 91 (26). Anál. calc. para $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_5$: C, 75,63; H, 7,56. Encontrado: C, 74,78; H, 7,58.

50 Ejemplo 5

Este ejemplo ilustra la preparación y las propiedades de 17 α -acetoxi-11 β -(4-acetilfenil)-21-metoxi-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (123b):

Etapa 1. 17 α -Hidroxi-21-cloro-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (115):

Se agitó magnéticamente la 3-cetal cianohidrina (98, 50 g, 73,22 mmol) con THF destilado recientemente (550 ml) en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Se añadió 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (4,47 g, 36,59 mmol) en forma de un sólido. Se añadió mediante una jeringa Et_3N destilada recientemente (27,60 ml, 197,68 mmol), seguido de cloro-(clorometilo)dimetilsilano destilado recientemente (25,1 ml, 190,36 mmol). La reacción se mantuvo en agitación durante una noche a temperatura ambiente. El día siguiente, el análisis de TLC sobre sílice (2 % de acetona en CH_2Cl_2) mostró que todo el material de partida se había convertido en el silil éter. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C en un baño de hielo seco con isopropanol, y a continuación se diluyó con THF (800 ml). Se añadió gota a gota diisopropilamida de litio (LDA) (2,0 M, 300 ml, 600 mmol) a la reacción a través de un embudo de adición durante un periodo de 45 min. Una vez se completó la adición, la reacción se agitó durante 1,1 h a -78 °C, se añadió HCl (4 N, 1250 ml, 5 mol) a través del embudo de adición. Se retiró el baño de hielo seco, y la reacción se mantuvo

en agitación durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió a continuación a 0 °C y se neutralizó mediante la adición de NH₄OH concentrado (305 ml). La mezcla se transfirió a un embudo de decantación y se extrajo con EtOAc (3 x), se lavó con H₂O (2 x) y solución salina saturada (1 x). Las fracciones orgánicas se combinaron, se filtraron a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El sólido resultante se trituró con éter (1000 ml), se recogió en un embudo Buchner, y se lavó con una cantidad adicional de éter. Después de secar durante una noche al vacío, se recuperaron 38,90 g de **115** en forma de un sólido de color amarillo oscuro con un rendimiento de un 76,61 %. El análisis por TLC sobre sílice (5 % de acetona en CH₂Cl₂) mostró que el material era adecuado para usarlo directamente en la siguiente reacción; p.f. = 204 - 207 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3465, 2946, 1729, 1664, 1599 y 1573 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,833 (s, 3 H, C18-CH₃), 4,352 y 4,655 (AB, 2 H, J_{AB} = 16,8 Hz, C21-CH₂) y 5,687 (s, 1 H, C4-CH=). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 350 (M⁺, 33,1), 348 (100,0), 253 (63,7), 213 (71,5) y 91 (62,6).

Etapa 2. 17 α -Hidroxi- 21-acetoxi-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (116**):**

Se agitaron mecánicamente el 21-cloro compuesto (**115**, 37,90 g, 108,64 mmol), KOAc (111,83 g, 1139,63 mmol) y acetonitrilo (927 ml). La suspensión se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno. Después de 2,5 h, TLC sobre sílice (5 % de acetona en cloruro de metileno) indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se retiró el KCl precipitado por filtración a través de un embudo de vidrio sinterizado. El acetonitrilo se evaporó al vacío, y el residuo resultante se recogió en CH₂Cl₂ y H₂O. La mezcla se transfirió a un embudo de decantación, se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x), y se lavó con H₂O (2 x) y solución salina saturada (1 x). Las fracciones orgánicas se combinaron, se filtraron a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío para proporcionar 36,26 g de **116** en bruto con un rendimiento de 89,61 %. El material sólido se recogió en acetona caliente (150 ml) y CH₂Cl₂ (150 ml). La solución se raspó, se sembró y se almacenó en el congelador durante 4 h. A continuación se filtraron los cristales a través de un embudo Buchner y se secaron al vacío para recuperar 10,71 g del 17 α -ol-21-acetato (**116**) con un rendimiento de un 52,14 %. Las aguas madre se evaporaron al vacío y se purificaron por cromatografía en columna ultrarrápida eluyendo con un 10 % de acetona en CH₂Cl₂. Las fracciones que contenían el 17 α -ol-21-acetato (**116**) se combinaron y se evaporaron al vacío para recuperar 2,58 g de un sólido de color amarillo dorado en un 12,61 %. El rendimiento total del 17 α -ol-21-acetato (**116**) purificado fue 13,29 g de un sólido de color amarillo dorado con un rendimiento de un 64,7 %; p.f. = 213 - 218 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3475, 2947, 2951, 1744, 1720, 1646, 1606, 1578, 1367 y 1235 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,841 (s, 3 H, C18-CH₃), 2,182 (s, 3 H, C21-OAc), 4,868 y 5,081 (AB, 2 H, J_{AB} = 17,4 Hz, C21-CH₂) y 5,683 (s, 1H, C4-CH=). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 372 (M⁴⁺, 78,3), 354 (9,7), 312 (75,6), 253 (100,0) y 91 (69,3).

Etapa 3. 17 α ,21-Dihidroxi-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (117**):**

Se suspendió el 17 α -ol-21-acetato (**116**) (35,15 g, 94,37 mmol) en MeOH abierto recientemente (2870 ml) y se desoxigenó mediante burbujeo de nitrógeno a través de la mezcla durante 45 min. Se añadió KHCO₃ (desoxigenado, 0,5 M, 283 ml, 141,74 mmol), y la suspensión se agitó mecánicamente y se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno. Después de 10 minutos a reflujo, TLC sobre sílice (5 % de isopropanol en CH₂Cl₂) mostró que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se neutralizó mediante la adición de HOAc (8,15 ml), y el MeOH se evaporó al vacío. La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x), y se lavó con H₂O (2 x) y solución salina saturada (1 x). Las fracciones orgánicas combinadas se filtraron a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío para recuperar 29,83 g del sólido con un rendimiento de un 95,7 %. El sólido se recogió en acetona con una pequeña cantidad de CH₂Cl₂. La solución se raspó, se sembró y se almacenó en el congelador durante 1 h. Los cristales resultantes se recogieron en un embudo Buchner, se aclararon con acetona y se secaron al vacío para recuperar la primera cosecha. Las aguas madre se concentraron y se almacenaron en el congelador durante una noche para proporcionar una segunda cosecha de cristales. El sólido combinado recuperado fue 16,15 g con un rendimiento de un 51,8 % en bruto. Las aguas madre se evaporaron al vacío y se purificaron por cromatografía en columna ultrarrápida eluyendo con un 5 % de isopropanol en CH₂Cl₂. Las fracciones que contenían el diol (**117**) se combinaron y se evaporaron al vacío para recuperar 4,86 g. El rendimiento total de **117** fue 19,75 g de un sólido de color amarillo claro con un 76,7 %; p.f. = 197 - 204 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3917, 2954, 2869, 1715, 1635, y 1590 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,827 (s, 3 H, C18-CH₃), 4,323 y 4,690 (AB, 2 H, J_{AB} = 19,81 Hz, C21-CH₂) y 5,686 (s, 1 H, C4-CH=). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 330 (M⁺, 100,0), 312 (10,1), 253 (61,7), 213 (64,5), 174 (26,1) y 91. (38,5).

Etapa 4. 3,20-bis-Etilendioxi-17 α ,21-dihidroxi-19-norpregna-5(10),9(11)-dieno (118**):**

Se agitaron magnéticamente el diol (**117**, 9,88 g, 29,89 mmol) y etilenglicol abierto recientemente (750 ml). Se añadió monohidrato de ácido *p*-toluenosulfónico (0,49 g, 2,60 mmol) a la suspensión en forma de un sólido. El etilenglicol se destinó al vacío a 81 °C a 2 mm de Hg. Después de destilar durante 3 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en NaHCO₃ saturado (250 ml) y H₂O (250 ml). La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x), se lavó con H₂O (2 x) y solución salina saturada (1 x). Las fracciones orgánicas se combinaron, se filtraron a través de sulfato sódico y se evaporaron al vacío para recuperar un sólido. El análisis por TLC sobre sílice (5 % de isopropanol en CH₂Cl₂) mostró que la totalidad del material de partida se había convertido en una mezcla 85:15 del 3,20-dicetal con respecto al 3-cetal con una pequeña cantidad de producto secundario. El sólido resultante se trituró con éter, se recogió en un embudo Buchner, se lavó con una cantidad adicional de éter y se secó al vacío para

recuperar 6,46 g de **118** con un rendimiento de un 51,64 %. Las aguas madre se evaporaron al vacío y se purificaron a través de cromatografía ultrarrápida eluyendo con un 4 % de isopropanol en CH₂Cl₂. Esto recuperó 0,6 g del dicetal sólido de color pardo claro con un rendimiento de un 4,8 %. El rendimiento total del dicetal sólido (**118**) fue 7,06 g de un sólido de color pardo claro con un rendimiento de un 56,44 %; p.f. =173 - 176 °C. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{\max} 3452, 2892,1652, 1436, 1370, 1223 y 1055 cm⁻¹. RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,795 (s, 3 H, C18-CH₃), 3,686 y 3,894 (AB, 2 H, J_{AB} = 12,61 Hz, C21-CH₂), 3,987 (s, 4 H, C3-OCH₂CH₂O-), 4,130 (m, 4 H, C20-OCH₂CH₂O-) y 5,555 (s a, 1 H, C11-CH=). MS(EI) m/z (intensidad relativa): 418 (M⁺, 5,6), 400 (0,7), 387 (3,9), 314 (3,5), 211 (4,6) y 103 (100,0).

10 **Etapa 5. 3,20-bis-Etilendioxi-17 α -hidroxi-21-metoxi-19-norpregna-5(10),9(11)-dieno (**119**):**

A una solución del dicetal (**118**, 0,5 g, 1,19 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se añadió 1,8-bis-(dimetilamino)naftaleno ("Proton Sponge", 1,28 g, 5,97 mmol), seguido de tetrafluoroborato de trimetiloxonio (0,88 g, 5,97 mmol). La mezcla se agitó mecánicamente en un baño de hielo en atmósfera de nitrógeno. Se dejó que se fundiera el baño de hielo para llevar a la reacción a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h, momento en el que TLC (5 % de isopropanol en CH₂Cl₂) indicó que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en un embudo de decantación y se lavó con H₂O (2 x). Los extractos de CH₂Cl₂ (3 x) se combinaron, se filtraron a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El residuo resultante se recogió en EtOAc, se lavó con HCl 1 N enfriado en hielo (2 x), H₂O (1 x), NaHCO₃ saturado (1 x), H₂O (1 x), y solución salina saturada (1 x). Las fracciones de EtOAc combinadas (3 x) se filtraron a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío para proporcionar 0,5 g de **119** en forma de una espuma de color amarillo con un rendimiento de un 97,14 %. El material tenía la pureza adecuada para usarse en la epoxidación posterior. La reacción se repitió para producir un total de 13,57 g del 21-metoxi compuesto (**119**). RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,798 (s, 3 H, C18-CH₃), 3,415 (s, 3 H, C21-OCH₃), 3,546 y 3,715 (AB, 2 H, J_{AB} = 10,51 Hz, C21-CH₂), 3,985 (s, 4 H, C3-OCH₂CH₂O-), 4,05 (m, 4 H, C20-OCH₂CH₂O-) y 5,54 (s a, 1 H, C11-CH=). La descomposición de la muestra analítica excluyó la posibilidad de un análisis adicional.

Etapa 6. 3,20-bis-Etilendioxi-5 α ,10 α -epoxi-17 α -hidroxi-21-metoxi-19-norpregn-9(11)-eno (120**):**

Se agitaron mecánicamente trihidrato de hexafluoroacetona (6,49 ml, 46,64 mmol) y CH₂Cl₂ (100 ml) vigorosamente a 4 °C. Se añadieron Na₂HPO₄ sólido (3,67 g, 25,91 mmol) y H₂O₂ al 30 % (7,01 ml, 68,39 mmol) y se agitaron durante 15 minutos a 4 °C. Se añadió una solución fría del 21-metoxi compuesto (**119**, 13,45 g, 31,09 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml) a la mezcla a través de un embudo adicional durante un periodo de 1 h. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante una noche a 4 °C. El examen mediante TLC (25 % de EtOAc en CH₂Cl₂) mostró que la totalidad del material de partida se había convertido en una mezcla de los epóxidos α y β en aproximadamente una proporción de 2:1. La mezcla se transfirió a un embudo de decantación y se lavó con Na₂SO₃ al 10 % (1 x), NaHCO₃ saturado (1 x) y H₂O (1 x). Los extractos de CH₂Cl₂ combinados (3 x) se filtraron a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío para recuperar 14,06 g del epóxido (**120**) en forma de una espuma de color blanco con rendimiento cuantitativo. La mezcla 2:1 de α - y β -epóxidos se usó directamente para la siguiente reacción de Grignard. RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,700 (s, 3 H, C18-CH₃), 3,407 (s, 3 H, C21-OCH₃), 3,539 y 3,692 (AB, 2 H, J_{AB} = 10,51 Hz, C21-CH₂), 4,051 (m, 8 H, C3- y C20-OCH₂CH₂O-), 5,819 (s a, 0,3 H, C11-CH= de β -epóxido), y 5,997 (s a, 0,6 H, C11-CH= de α -epóxido). La descomposición de la muestra analítica excluyó la posibilidad de un análisis adicional.

45 **Etapa 7. 3,20-bis-Etilendioxi-5 α ,17 α -dihidroxi-11 β -[4-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)fenil]-21-metoxi-19-norpregn-9-eno (**121b**):**

Se equipó un matraz de 3 bocas de 1 l con un agitador mecánico, un embudo de adición, y un condensador de reflujo y se secó a la llama bajo una corriente de nitrógeno. Se añadió magnesio (3,90 g, 146 mmol), seguido de un cristal de yodo, 150 ml de THF seco, y 1-2 gotas de 1,2-dibromoetano. La mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno y se calentó en un baño de agua caliente, pero no se produjo reacción. Se añadió cetal de etileno de 4-bromoacetofenona (véase, EJEMPLO 1, Etapa 3) (35,5 g, 146 mmol) en forma de una solución en THF (100 ml) a través del embudo de adición y a continuación se aclaró con una cantidad adicional de THF (40 ml). Después de que se completara la adición, la mezcla se calentó a reflujo para iniciar la formación del reactivo de Grignard. El calentamiento se discontinuó y la mezcla se mantuvo en agitación durante 1,5 h a medida que el baño de agua se enfriaba gradualmente a temperatura ambiente. Se añadió cloruro de cobre(I) (1,59 g, 16,06 mmol) en forma de un sólido y la agitación se continuó durante un período adicional de ½ h. Se añadió la mezcla de epóxidos (**120**, 13,11 g, 29,2 mmol, ~66 % de α -epóxido) en forma de una solución en THF (50 ml) a través del embudo de adición y se aclaró con una cantidad adicional de THF (20 ml). Después de agitar durante 1,5 h a temperatura ambiente, TLC (20 % de acetona en CH₂Cl₂; inactivado con NH₄Cl saturado y extraído en EtOAc) indicó que la reacción se había completado en > 95 %. La reacción se interrumpió mediante la adición de 200 ml de NH₄Cl saturado y se arrastró aire a través de la mezcla durante ½ h con agitación vigorosa. Se añadió éter, la mezcla se transfirió a un embudo de decantación, y se dejó que se separaran las fases. La fase orgánica se lavó con NH₄Cl al 10 %, H₂O y solución salina saturada. Los extractos de éter combinados (3 x) se filtraron a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío para proporcionar 35,23 g del producto en bruto (**121b**). La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (20 % de acetona en CH₂Cl₂) proporcionó 7,24 g de una espuma pálida. La trituración de esta espuma con éter y pentano produjo 5,93 g del producto (**121b**) en forma de un polvo de color beige con un rendimiento de un 50,2 %

(basado en un 66 % de la mezcla como α -epóxido). RMN (CDCl_3): δ 0,4 (s, 3 H, C18- CH_3), 1,63 (s, 3 H, CH_3 de C11 β -4-C₆H₄C(O)CH₃), 3,45 (s, 3 H, C21-OCH₃), 3,57 - 4,40 (m, 15 H, C3-OCH₂CH₂O-, C11 β -OCH₂CH₂O- y C20-OCH₂CH₂O-, C11 α -CH y C21-CH₂-), 7,2 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 2', 6') y 7,83 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 3', 5'). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 612 (M⁺, 0,1), 594 (3,3), 549 (15,0), 459 (2,7), 117 (100,0) y 87 (74,7). La descomposición de la muestra analítica excluyó la posibilidad de un análisis adicional.

Etapa 8.- 17 α -Hidroxi-11 β -(4-acetilfenil)-21-metoxi-19-norpregna-4,9-dieno-3,20-diona (122b):

Se disolvió el aducto de Grignard (121b, 5,81 g, 9,48 mmol) en THF (60 ml) y se agitó magnéticamente, en atmósfera de nitrógeno, a temperatura ambiente. Se añadió ácido trifluoroacético (180 ml) seguido de H₂O (60 ml). Después de 1,5 h, el examen mediante TLC (20 % de acetona en CH₂Cl₂; neutralizado con NH₄OH antes del revelado) indicó que la totalidad del material de partida se había convertido en un producto ligeramente menos polar. La mezcla de reacción se neutralizó mediante la adición cuidadosa de NH₄OH (165 ml) mediante un embudo de adición. Se añadió una cantidad adicional de NH₄OH suficiente para llevar el pH a 7,0 mediante un papel de pH. Se añadió H₂O, la mezcla se transfirió a un embudo de decantación, y se extrajo con EtOAc. La fracción orgánica se lavó de nuevo con H₂O y solución salina saturada. Las fracciones de EtOAc combinadas (3 x) se filtraron a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío para proporcionar 6,60 g de una espuma. La purificación del producto en bruto por cromatografía en columna ultrarrápida (20 % de acetona en CH₂Cl₂) proporcionó un sólido de color amarillo (122b). La cristalización en una cantidad mínima de EtOAc caliente proporcionó cristales grandes de color amarillo intenso. Los cristales se recogieron en un embudo Buchner y se secaron durante una noche en una atmósfera en alto vacío a 70 °C para recuperar 2,84 g de 122b. El examen por TLC de las aguas madre indicó que eran suficientemente puras para usarse en la reacción posterior. Las aguas madre se evaporaron al vacío y se secaron en alto vacío durante el fin de semana para recuperar 0,46 g. El rendimiento total del 17 α -OH (122b) fue 3,3 g en forma de cristales de color amarillo intenso con un rendimiento de un 75,25 %. Una pequeña cantidad del producto cristalino se secó al vacío a 110 °C durante el fin de semana con fines de caracterización. Los cristales se fundieron y se pulverizaron con una espátula; p.f. = 105 - 109 °C (ablanda). El análisis por HPLC en una columna ODS-2 Fenomenex Prodigy 5 (150 x 4,6 mm) eluyendo con un 50 % de CH₃CN en H₂O con un caudal de 1 ml por min y λ = 302 nm indicó una pureza de > 99 % con un tiempo de retención (t_R) de 5,02 min. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{max} 3444, 2944, 1722, 1662, 1602, 1407 1359 y 1,271 cm⁻¹. RMN (CDCl_3): δ 0,33 (s, 3 H, C18- CH_3), 2,57 (s, 3 H, C11 β -4-C₆H₄-C(O)CH₃), 3,47 (s, 3 H, C21-OCH₃), 4,23 - 4,47 (AB, 2 H, J_{AB} = 18 Hz, C21-CH₂-), 4,52 (d a, 1 H, C11 α -CH), 5,48 (s, 1 H, C4-CH=), 7,3 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 2', 6') y 7,92 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 3', 5'). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 462 (M⁺, 100,0), 430 (11,2), 389 (27,0), 346 (97,9) y 91 (22,3). Anál. calc. para C₂₉H₃₄O₅·9/20C₄H₈O₂: C, 73,66; H, 7,55. Encontrado: C, 73,66; H, 7,29.

Etapa 9. Preparación del compuesto objetivo 123b:

Una mezcla de anhídrido trifluoroacético (32,78 g, 156 mmol) y ácido acético (9,38 g, 156 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml) se mantuvo en agitación ½ h a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió a 0 °C en un baño de H₂O con hielo y se añadió monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (1,30 g, 6,86 mmol) en forma de un sólido. Se añadió el 17 α -OH (122b, 2,89 g, 6,24 mmol) en forma de una solución en 25 ml de CH₂Cl₂ y se aclaró en con una cantidad adicional de CH₂Cl₂ (25 ml). Después de 45 min, TLC (10 % de acetona en CH₂Cl₂) indicó que la reacción se había completado. La reacción se neutralizó mediante la adición cuidadosa de NH₄OH (31,6 ml, 416 mmol). Se añadió una cantidad adicional de NH₄OH para llevar el pH a 7 mediante papel de pH. Se añadió agua y la mezcla se transfirió a un embudo de separación. Las fracciones orgánicas se lavaron con H₂O y solución salina saturada. Los extractos de CH₂Cl₂ combinados (3 x) se filtraron a través de Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío para recuperar 3,13 g de material en bruto. La purificación por cromatografía ultrarrápida (10 % de acetona en CH₂Cl₂) proporcionó 1,56 g de un aceite cristalizante. Las fracciones adicionales que contenían una pequeña cantidad de una impureza menos polar también se combinaron y se evaporaron para proporcionar 1,04 g de un aceite. Las fracciones puras se cristalizaron en una cantidad mínima de EtOAc en ebullición, se trituraron con pentano y se secaron durante 3 noches en una pistola de secado a 110 °C para proporcionar 0,99 g de 123b en forma de cristales de color amarillo. Los cristales se fundieron a esta temperatura, pero se pulverizaron fácilmente para su análisis. Las aguas madre se combinaron con las fracciones impuras y se cristalizaron en EtOAc para proporcionar una cantidad adicional de 0,9 g. El rendimiento total de 123b fue 1,89 g en forma de un sólido de color amarillo pálido con un rendimiento de un 60,1 %; p.f. = 113 °C (ablanda).

El análisis mediante HPLC en una columna ODS-2 Fenomenex Prodigy 5 (150 x 4,6 mm) eluyendo con un 50 % de CH₃CN en H₂O con un caudal de 1 ml por min y λ = 302 nm indicó una pureza de un 99,7 % con un tiempo de retención (t_R) de 7,69 min. FTIR (KBr, reflectancia difusa): ν_{max} 2942, 1730, 1680, 1602, 1432, 1408, 1368 y 1266 cm⁻¹, RMN (CDCl_3): δ 0,33 (s, 3 H, C18- CH_3), 2,10 (s, 3 H, C17 α -OAc), 2,57 (s, 3 H, C11 β -C(O)CH₃), 3,42 (s, 3 H, C21-OCH₃), 4,07 y 4,37 (AB, 2 H, J_{AB} = 18 Hz, C21-CH₂-), 4,50 (d a, 1 H, C11 α -CH), 5,83 (s, 1 H, C4-CH=), 7,28 (d, 2H, J = 9 Hz, CH aromáticos 2', 6') y 7,92 (d, 2 H, J = 9 Hz, CH aromáticos 3', 5'). MS (EI) m/z (intensidad relativa): 504 (M⁺, 3,3), 447 (17,9), 389 (28,4), 371 (100,0) y 91 (13,8). Anál. calc. para C₃₁H₃₆O₆·1/6CH₂Cl₂·1/2H₂O: C, 70,92; H, 7,13. Encontrado: C, 71,06; H, 6,91.

65 Propiedades biológicas de los compuestos de la invención

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis estadístico

- 5 El análisis estadístico se llevó a cabo usando métodos convencionales y un sistema de gestión de datos PROPHET que opera en OS 4.4.1 de SUN Microsystems, (Bliss, Cl., *The Statistics of Bioassay*, Nueva York, Academic Press (1952); Hollister, C, *Nucleic Acids Research*, 16:1873-1875 (1988)). Están disponibles los datos en bruto, y el análisis estadístico y de regresión.

10 *Ensayo antiMcGinty (McGinty, et al., Endocrinology, 24:829-832 (1939))*

- Se mantuvieron conejos hembra inmaduros de la raza Nueva Zelanda Blanca (aprox. 1 kg de peso corporal) en condiciones de laboratorio convencionales y recibieron una inyección subcutánea de 5 µg de estradiol en etanol al 10 %/aceite de sésamo diariamente durante 6 días consecutivos. Treinta y cuatro horas después de la última inyección de estradiol (día 7) los animales se sometieron a cirugía de esterilización abdominal para ligar un segmento de 3-4 cm de ambos cuernos uterinos. Se inyectó el compuesto experimental en un disolvente apropiado (habitualmente etanol al 10 %/aceite de sésamo) por vía intraluminal en el segmento ligado de un cuerno uterino y solo el vehículo en el segmento ligado del cuerno contralateral. El volumen de inyección se limitó a 0,1 ml, y se tuvo cuidado de evitar pérdidas. Se administró una dosis de estimulación de progesterona (0,8 mg/día) por vía subcutánea a cada conejo diariamente durante los siguientes tres días (días 7, 8 y 9) con el fin de inducir la proliferación endometrial. Todos los animales se sacrificaron en el día 10 cuando se retiró el segmento central de las ligaduras y se fijó en formalina tamponada neutra al 10 % y se sometió a procesamiento histológico. Se evaluaron al microscopio secciones de cinco micrómetros teñidas con hematoxilina y eosina (H y E) para el grado de proliferación glandular endometrial de acuerdo con el método de McPhail (McPhail, *J. Physiol.*, 83:145 (1934)). Se calculó el porcentaje de inhibición de proliferación endometrial para cada conejo y se registró el promedio del grupo de cinco animales.

Ensayo antiClauberg (Clauberg, C., Zentr. Gynakol., 54:2757-2770 (1930))

- 30 Se mantuvieron conejos hembra inmaduros de la raza Nueva Zelanda Blanca (aprox. 1 kg de peso corporal) en condiciones de laboratorio convencionales y recibieron una inyección subcutánea de 5 µg de estradiol en etanol al 10 %/aceite de sésamo diariamente durante 6 días consecutivos. Treinta y cuatro horas después de la última dosis de estradiol (día 7) los animales recibieron progesterona mediante inyección subcutánea (0,8 mg/día) y el compuesto experimental en un vehículo apropiado (habitualmente, etanol al 10 %/aceite de sésamo) por vía oral o subcutánea durante cinco días consecutivos. Un grupo de conejos recibió solamente progesterona. Treinta y cuatro horas después de la última dosis todos los animales se sacrificaron para la retirada del útero que se limpió de toda la grasa y el tejido conectivo, se pesó lo más cercano a 0,2 mg, y se colocó en formalina tamponada neutra al 10 % para el procesamiento histológico posterior. Se evaluaron al microscopio secciones de cinco micrómetros teñidas con hematoxilina y eosina (H y E) para el grado de proliferación glandular endometrial de acuerdo con el método de McPhail (McPhail, citado anteriormente). El porcentaje de inhibición de proliferación endometrial para cada nivel de dosis del compuesto experimental derivó por comparación con los animales estimulados solo con progesterona.

Ensayo postcoital

- 45 Se mantuvieron ratas hembra adultas de la raza Sprague-Dawley en condiciones de laboratorio convencionales, 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad cada día y cohabitaron con machos fértiles demostrados cuando se encontraban en proestro. Los animales con esperma positivo se asignaron aleatoriamente a los grupos de control y experimentales. El esperma vaginal diario se encontró en lavados vaginales constituyó el día 0 de gestación. Las ratas recibieron compuestos experimentales o vehículo (control) diariamente por vía oral en los días 0-3 o 4-6 y se sacrificaron entre los días 10 y 17 para registrar el número y las condiciones de las concepciones.

Ensayo antiovulatorio

- 55 Se mantuvieron ratas hembra adultas de la raza Sprague-Dawley que pesaron de 200 a 250 g en condiciones de laboratorio convencionales, 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad cada día. Se obtuvieron lavados vaginales diariamente y se evaluaron al microscopio para establecer el ciclo estral de cada animal. Los animales que exhibieron dos ciclos de cuatro días consecutivos se usaron en el ensayo. Cada grupo de dosis consistió en ocho ratas y un grupo sirvió como control de vehículo. Los animales se dosificaron a mediodía en el día de proestro y se sacrificaron 24 horas después cuando se pudieron visualizar los óvulos en la ampolla distendida del oviducto usando un microscopio de disección. Se extirparon los oviductos, se practicó una incisión en la ampolla distendida y los óvulos se separaron en una gota de agua sobre un portaobjetos de microscopio de modo que se pudiera contar el número derramado. Históricamente, los animales de control derraman entre 12 y 14 óvulos durante cada ciclo estral. Los agentes que inhiben la ovulación exhiben habitualmente un efecto de "todo o nada"; es raro que la ovulación se inhiba "parcialmente". Los grupos de tratamiento se compararon con el grupo de control usando una tabla de contingencia de un 95 % y se estableció el valor de DE₁₀₀ con niveles de dosis adicionales.

Afinidades de unión relativas para los receptores de progesterona y de glucocorticoide

Se obtuvieron las glándulas útero y timo de ratones hembra inmaduros cebados con estradiol de la raza Nueva Zelanda Blanca para la preparación de citosoles para los ensayos de receptores de progesterona y glucocorticoide, respectivamente. Los tejidos se extirparon y se colocaron inmediatamente en tampón TEGDM enfriado en hielo (Tris 10 mM, pH 7,4; EDTA 1,5 mM; glicerol al 10 % vol/vol; ditioneitol 1 mM [DTT]; y molibdato sódico 20 mM). Los tejidos se diseccionaron exentos de tejido conectivo y grasa, se pesaron y se picaron finamente. Los tejidos picados se homogeneizaron en 3 volúmenes de TEGDM/g con cuatro estallidos de 10 segundos de un VirTis Cyclone ajustado a velocidad semimáxima con un período de refrigeración de 30 segundos (en hielo) entre estallidos. Los homogeneatos se centrifugaron a 109.663 g a 4 °C durante 1 hora para producir la fracción de citosol soluble. Las alícuotas de citosol se congelaron instantáneamente y se almacenaron a -75 °C.

Todos los ensayos de unión se llevaron a cabo a 2-6 °C durante 16-18 horas. Se usaron los siguientes ligandos radioactivos: [1,2-³H(N)]-progesterona (50,0 Ci/mmol) para el receptor de progesterona (PR). [6,7-³H(N)]-dexametasona (39,2 Ci/mmol) para el receptor de glucocorticoide (GR) y [2,4,6,7-³H(N)]-estradiol para el receptor de estrógeno. Para los ensayos RBA del receptor de progesterona, se añadieron a tubos duplicados 0,02 ml de citosol uterino o tampón TEGDM, 0,05 ml de diversas concentraciones de los compuestos de ensayo o progesterona, 0,13 ml de tampón TEGDM y 0,05 ml de [³H]-progesterona. Para los ensayos RBA del receptor de glucocorticoide, se añadieron a tubos duplicados 0,1 ml citosol de timo o tampón TEGDM, 0,05 ml de diversas concentraciones de los compuestos de ensayo o dexametasona, 0,05 ml de tampón TEGDM y 0,05 ml de [³H]-dexametasona. Para los ensayos RBA del receptor de estrógeno, se añadieron a tubos duplicados 0,05 ml de citosol uterino, 0,1 ml de tampón TEGDM, 0,05 ml de diversas concentraciones de los compuestos de ensayo o estradiol y 0,05 ml de [³H]-estradiol. Las concentraciones de los compuestos de ensayo, progesterona, dexametasona y estradiol variaron de 0,05 a 100 nM y las concentraciones de los competidores variaron de 0,5 a 500 nM. Se midió la unión total en concentraciones de radioligando de 3,5 nM y la unión no específica se midió en presencia de un exceso de 200 veces de progesterona (PR), dexametasona (GR) o dietilestilbestrol (BR) sin marcar, respectivamente.

En todas las incubaciones, se separaron los ligandos unido y libre usando carbón vegetal extrarrevestido (DCC). Se añadió a cada tubo una alícuota de 0,1 ml de DCC (carbón vegetal al 0,5 %/Dextrano T-70 al 0,05 %). Los tubos se agitaron vorticialmente y se incubaron en hielo durante 10 minutos. A continuación se añadieron cinco décimos de ml de tampón TEG (sin DTT o molibdato) a todos los tubos para mejorar la recuperación de sobrenadante seguido de centrifugación. El carbón vegetal sedimentó por centrifugación a 2.100 g durante 15 minutos a 4 °C. Los sobrenadantes que contenían los complejos de receptor [³H]-esteroide se decantaron en viales que contenían 4 ml de Optifluor (Packard Instrument Co.), se agitaron vorticialmente, se equilibraron en un contador de centelleo líquido durante 30 minutos y a continuación se realizó la cuenta durante 2 minutos. Esto proporcionó la cantidad de [³H]-esteroide unido a receptor en cada concentración de competidor.

Se determinaron las curvas patrón y los valores de CE₅₀ (Concentración Eficaz) para cada curva patrón y la curva para cada compuesto de ensayo introduciendo los datos de recuento ([³H]-progesterona, [³H]-dexametasona o [³H]-estradiol unido a receptor) en un programa de ordenador sigmoideo de cuatro parámetros (Programa de Reducción de Datos de Inmunoensayo RiaSmart[®], Packard Instrument Co., Meriden, Connecticut). La RBA para cada compuesto de ensayo se calculó usando la siguiente ecuación:

$$RBA = \frac{CE_{50} \text{ del patrón}}{CE_{50} \text{ del compuesto de ensayo}} \times 100$$

donde CE₅₀ del patrón = concentración molar de progesterona, dexametasona o estradiol sin marcar requerida para disminuir la [³H]-progesterona (PR), [³H]-dexametasona (GR) o [³H]-estradiol unidos en un 50 % del control de tampón respectivo (100 % de radioligando unido) y CE₅₀ del compuesto de ensayo = concentración molar de compuesto de ensayo requerida para disminuir la [³H]-progesterona (PR), [³H]-dexametasona (GR) o [³H]-estradiol unidos en un 50 % del control de tampón respectivo (100 % de radioligando unido).

RESULTADOS**Ejemplo 1**

Dado que la mifepristona (CDB-2477) se usa frecuentemente como patrón de referencia, la siguiente Tabla 2 contiene los datos que comparan la actividad antiprogestacional y la afinidad de unión relativa para los receptores de progesterona y glucocorticoide de CDB-2914 con este patrón. Estudios recientes han mostrado una buena correlación entre la afinidad de unión relativa para el receptor de glucocorticoide y un ensayo biológico basado en el antagonismo de involución de timo inducida por dexametasona en ratas macho adrenalectomizadas.

Tabla 2

CDB Nº	COMPUESTO Nº	AFINIDAD DE UNIÓN ¹		ACTIVIDAD BIOLÓGICA		
		Progester	Glucocortic	antiClauberg ²	Postcoital ³	Antiovulator ⁴
2914	69B	122 (234)	114	100	2	1
3875	69A	164	30	97		
3247	69C	91	49	~10	2*	
3248	69D	40	89	débil (subcu)	inactivo @2*	
4243	91	171	59	inactivo		
4418	70	79	/2	~25		
4363	71	123 (203)	20	253	0,5	> 16
4399	72	109	110	35		
4176	74	131	32	< 10		
4324	97a	120	52	110		
4398	97b	47	38	99		
4455	106a					
4241	106b	136 (172)	14	34		
4400	113A	117 (237)	62	229		
4454	113B	59	34			
4417	113c	63	45	70		
4239	123a	174 (140)	11	45-83		
4416	123b	64	45	77		
4393	139	30	79	inactivo		
4247	126a	95	43	170		
4362	126b	76	15	125		
4374	126c	68	67	224		
4361	129	155	20	303		
4306	133	82	13	95		
4352	138	63	14	57		

¹ Receptor de progesterona (útero de conejo cebado con estrógeno); progesterona = 100 % Figura en 0 es con respecto a la afinidad de unión de la isoforma A del receptor de progesterona humano. Receptor de glucocorticoide (timo de conejo cebado con estrógeno) dexametasona = 100 %.

² antiClauberg - oral excepto donde se indique; CDB-2914 = 100 (asignado).

³ Postcoital - oral, MED₁₀₀ en rata (mg/día) días 0-3 o *días 4-6 subcu; esperma del día en lavados vaginales = día 0.

⁴ Antiovulatorio - oral, MED₁₀₀ en rata (mg) dosis individual al mediodía en el día de proestro.

Ejemplo 2

AntiClauberg

5

Los datos de los ensayos antiClauberg después de administración oral se muestran en las Tablas 1 y 2. Los compuestos 15, 38, 40, 41, 46, 71, 97a, 113a, 126a, 126b, 126c y 129 exhibieron una actividad mayor que el patrón, 69B. Estudios previos han mostrado que 69B es considerablemente más potente que la mifepristona (3,27 X; 95 % de C.I. = 1,41-7,58) en este ensayo. Los compuestos 15, 38, 71 y 129 representan cuatro de los compuestos antiprogesteronales más potentes conocidos, y su baja afinidad de unión por el receptor de glucocorticoide podría predecir una actividad antiglucocorticoide mínima.

10

Postcoital

El compuesto 71 exhibió aproximadamente cuatro veces la actividad contraceptiva postcoital del patrón, el compuesto 69B, siguiendo administración oral en los días 0-3 de gestación.

Antiovulatorio

5 El compuesto 71 no fue completamente activo en un nivel de dosis 16 veces el MBD₁₀₀ para el patrón, el compuesto 69B, y el compuesto 113a exhibió solo aproximadamente un 6 % de la actividad antiovulatoria del patrón.

Afinidad de unión relativa para los receptores de progesterona y glucocorticoide

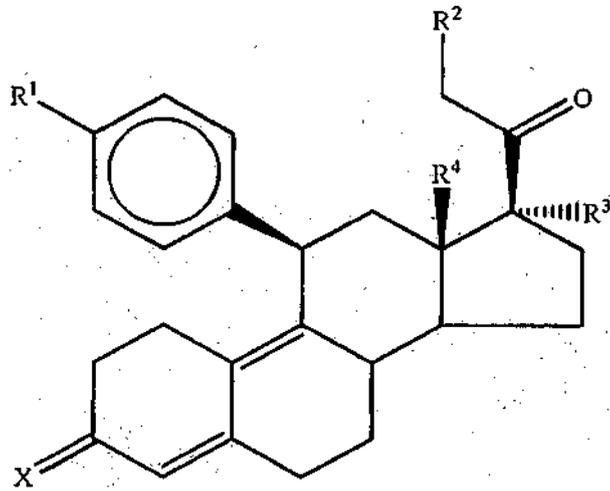
10 Las afinidades de unión relativa por el receptor de progesterona (citosol uterino de conejo cebado de estrógeno) y el receptor de glucocorticoide (citosol de timo de conejo cebado con estrógeno) se muestran en la Tabla 1. También se ensayaron varios compuestos para la afinidad de unión por la isoforma A del receptor de progesterona humano. Los compuestos 12, 13, 14A, 14B, 15, 28, 38, 69A, 91, 71, 71, 73, 97a, 106b, 113a, 113d, 122b y 129 mostraron
15 afinidades de unión mayores que la observada para el patrón, el compuesto 69B. Por otra parte, la mayoría de los compuestos sometidos a ensayo exhibieron una afinidad de unión reducida tanto por el receptor de progesterona como por el receptor de glucocorticoide.

Discusión

20 Numerosos miembros de una serie de derivados de 19-norprogesterona poseen una potente actividad antiprogestacional seguida de administración oral en animales experimentales. Exhiben una alta afinidad de unión por el receptor de progesterona (útero de conejo) y solo una modesta afinidad de unión relativa por el receptor de glucocorticoide (timo de conejo). Esto se refleja en ensayos antiprogestacionales convencionales que muestran una
25 potente inhibición de alteraciones inducidas por progesterona del endometrio del útero de conejos. Se prevé que la afinidad de unión reducida por el receptor de glucocorticoide reflejará una disminución de la actividad biológica antiglucocorticoide.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto que tienen la fórmula general:



5

en la que

- 10 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es acetoxi;
 R³ es acetoxi;
 R⁴ es etilo; y
 X es =O;
- 15 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es -SAc;
 R³ es acetoxi;
 R⁴ es metilo; y
 X es =O;
- 20 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es metoxi;
 R³ es metoxi;
 R⁴ es metilo; y
 X es =O;
- 25 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es metoxi;
 R³ es acetoxi;
 R⁴ es metilo;
 X es =O;
- 30 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es H;
 R³ es OH;
 R⁴ es metilo; y
 X es =O;
- 35 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es Br;
 R³ es OH;
 R⁴ es metilo; y
 X es =O;
- 40 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es acetoxi;
 R³ es OH;
 R⁴ es metilo; y
 X es =O;
- 45 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es -SAc;
 R³ es OH;

5 R⁴ es metilo; y
 X es =O; o
 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es metoxi;
 R³ es OH;
 R⁴ es metilo; y
 X es =O.

2. El compuesto de la reivindicación 1, donde:

10 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es acetoxi;
 R³ es acetoxi;
 R⁴ es metilo; y
 15 X es =O.

3. El compuesto de la reivindicación 1, donde:

20 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es -SAc;
 R³ es acetoxi;
 R⁴ es metilo; y
 X es =O.

25 4. El compuesto de la reivindicación 1, donde:

30 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es metoxi;
 R³ es metoxi;
 R⁴ es metilo; y
 X es =O.

5. El compuesto de la reivindicación 1, donde:

35 R¹ es -C(O)CH₃;
 R² es metoxi;
 R³ es acetoxi;
 R⁴ es metilo; y
 X es =O.
 40

6. Composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

45 7. Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, para su uso en la producción de un efecto antiprogestacional en un paciente.

8. Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, para su uso en

- 50 (a) inducir la menstruación;
 (b) tratar endometriosis;
 (c) tratar dismenorrea;
 (d) tratar un tumor dependiente de hormona endocrina;
 (e) tratar meningiomas;
 55 (f) tratar fibroides uterinos;
 (g) inhibir la proliferación endometrial uterina; o
 (h) inducir el parto en un paciente.

60 9. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6 en la preparación de un contraceptivo.

10. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6 en la preparación de un contraceptivo postcoital.

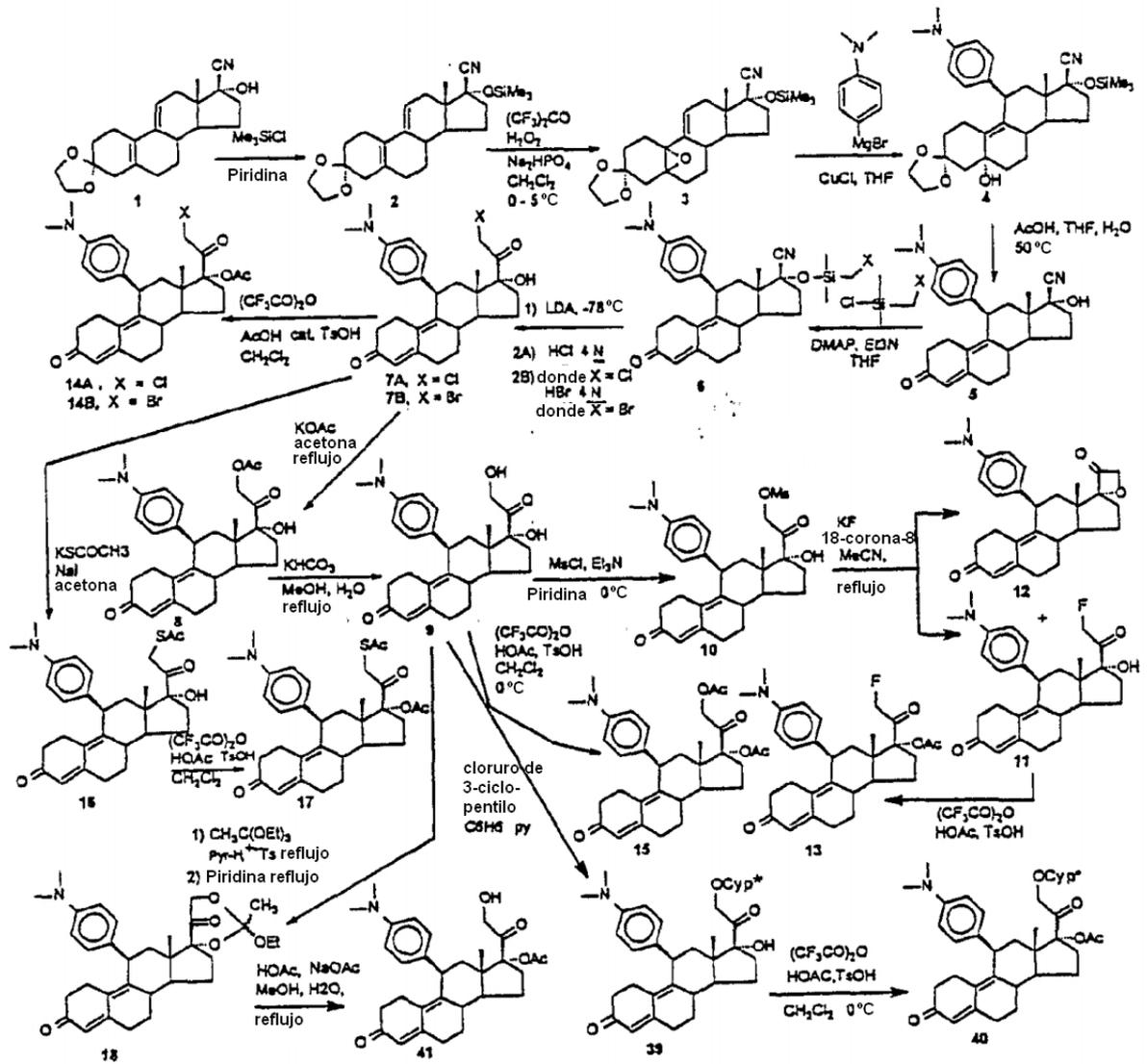


FIGURA 1

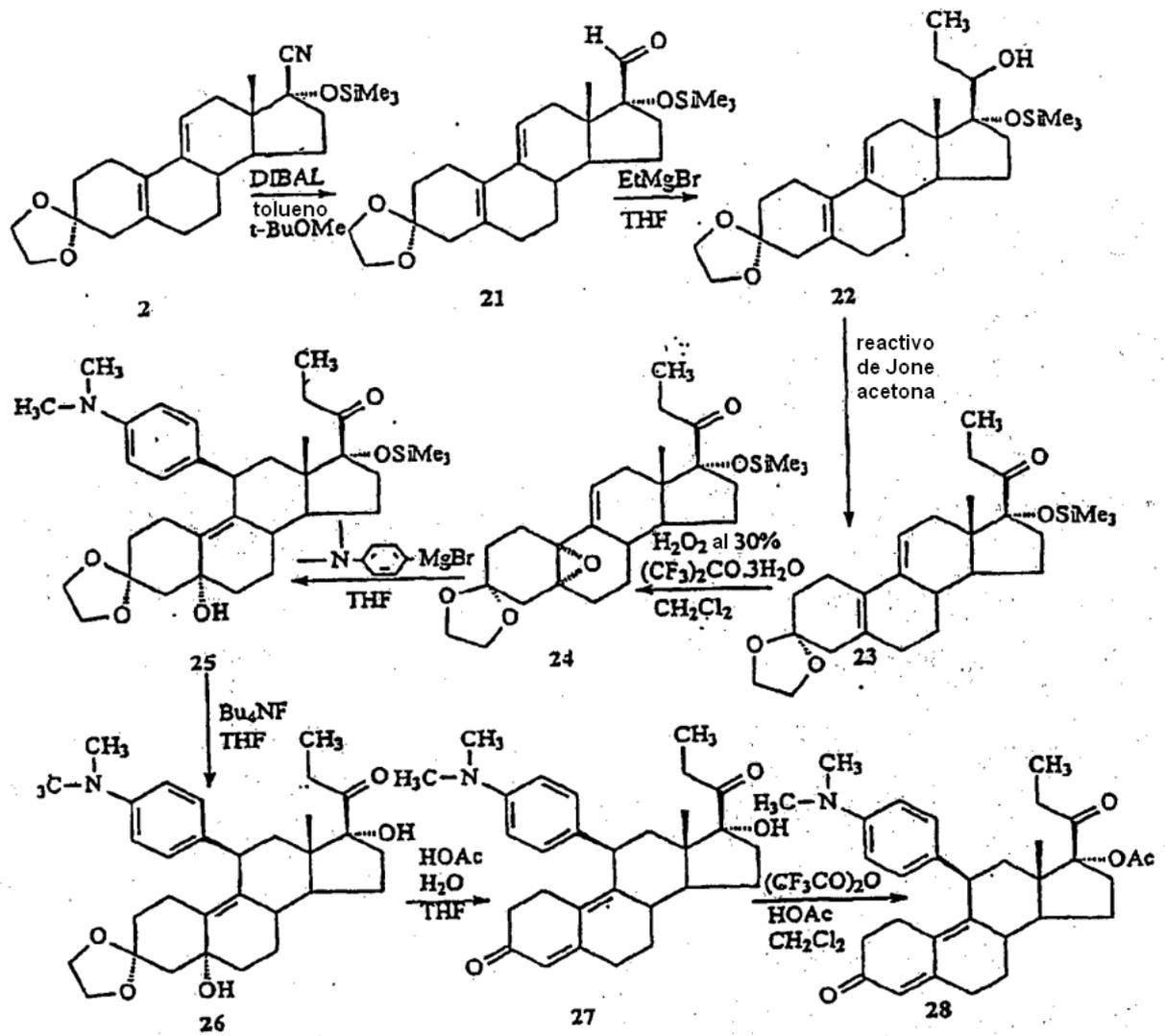


FIGURA 2

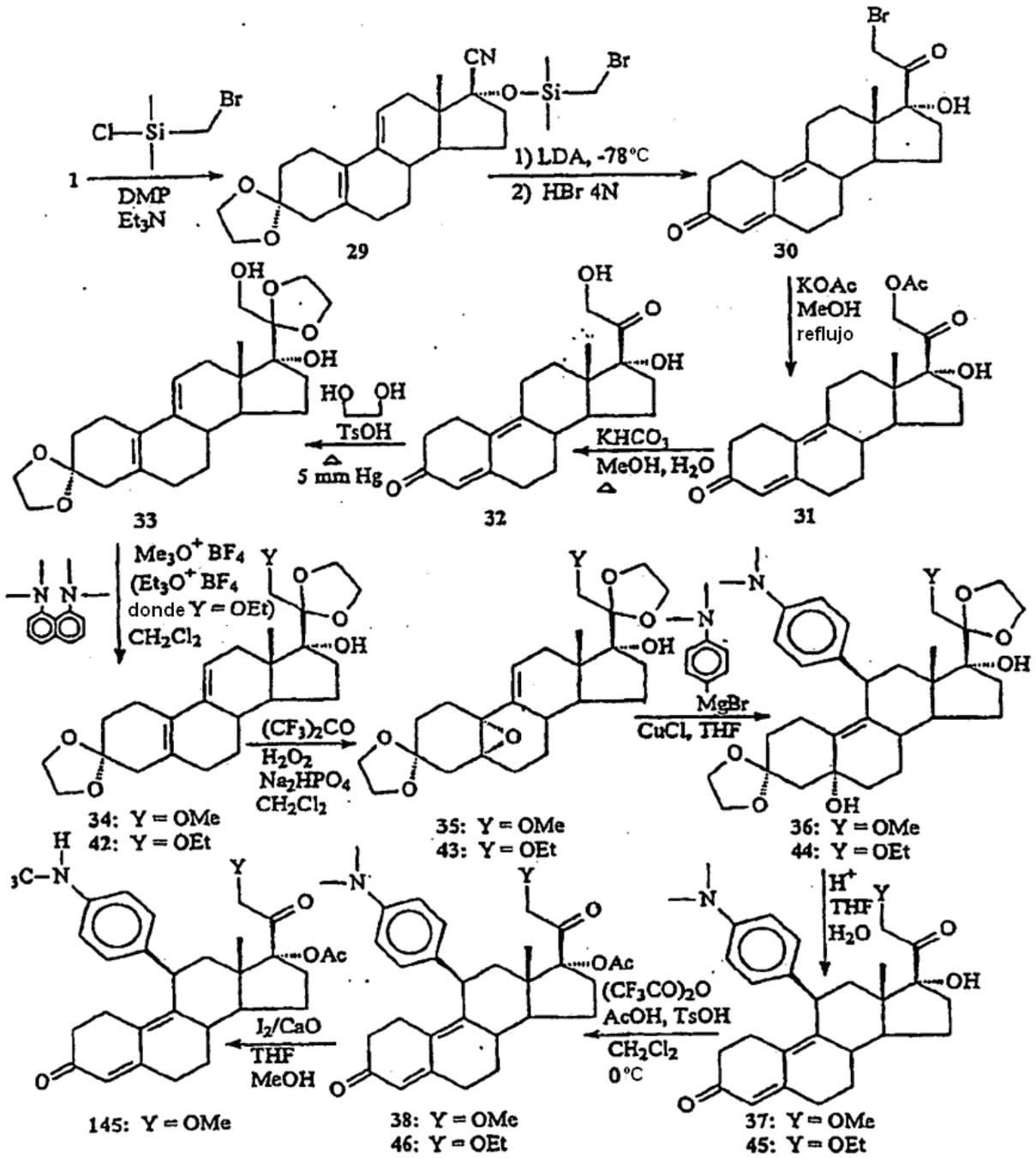


FIGURA 3

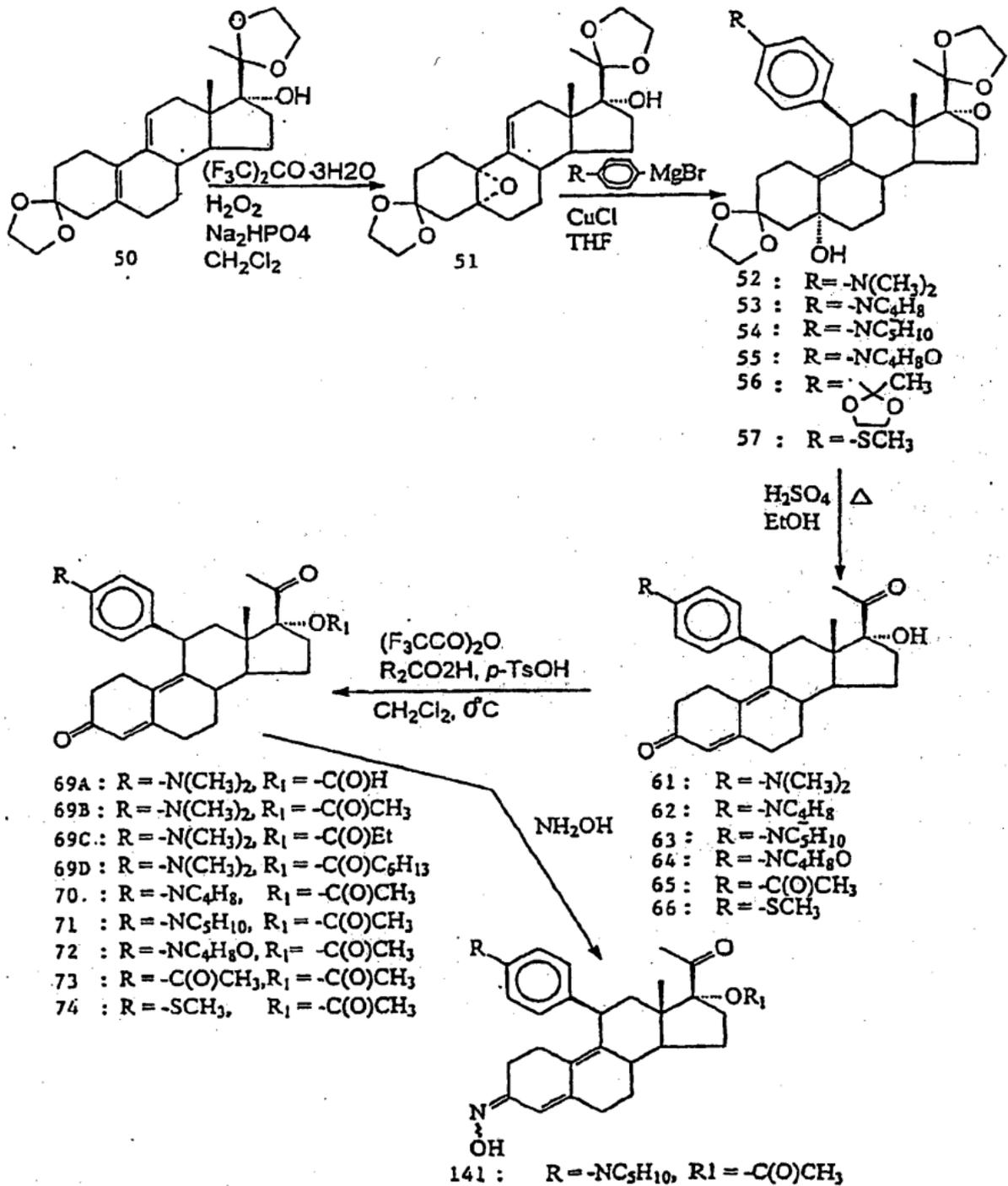
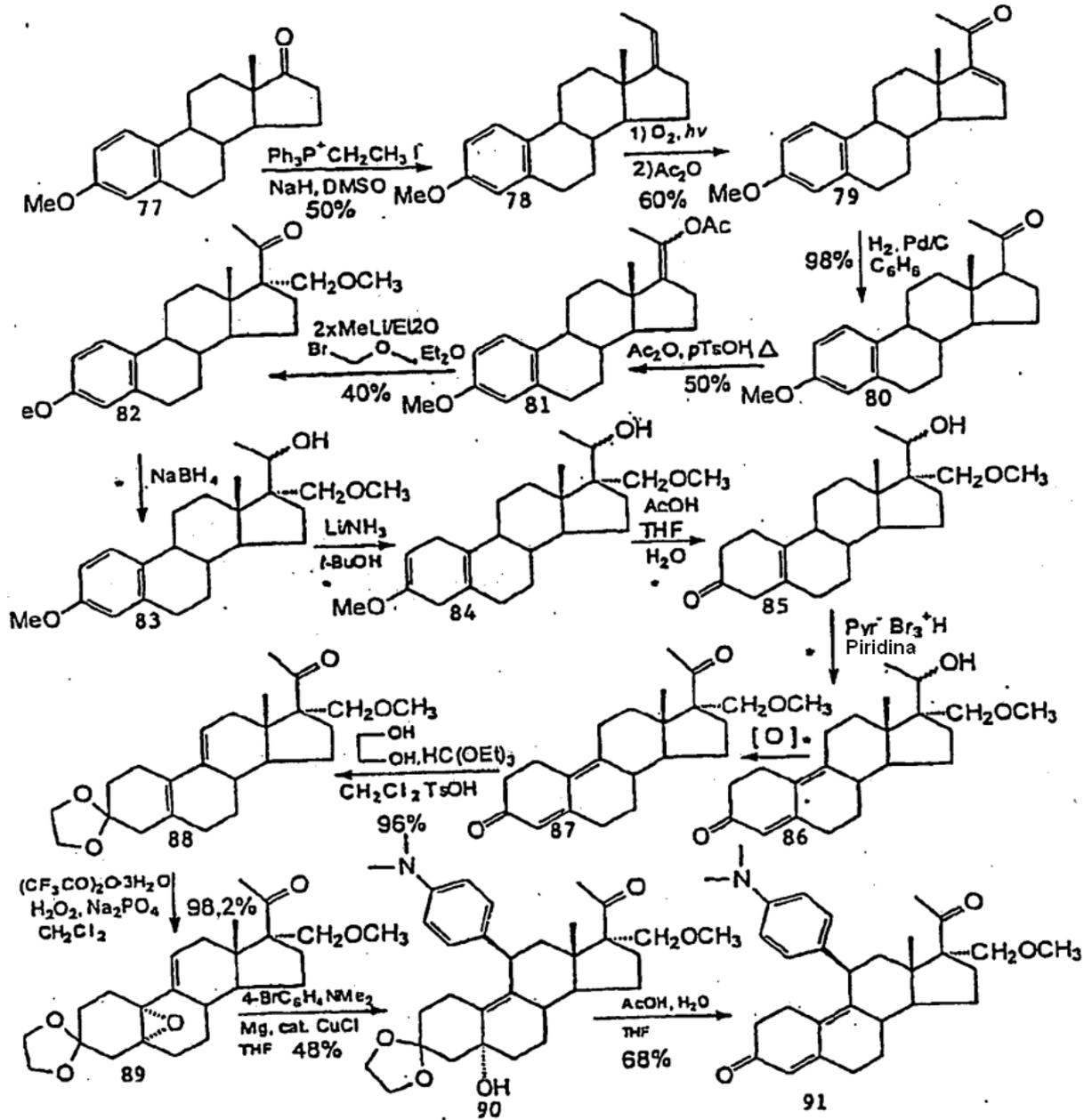


FIGURA 4



* El rendimiento de 83 a 86 es un 37%

FIGURA 5

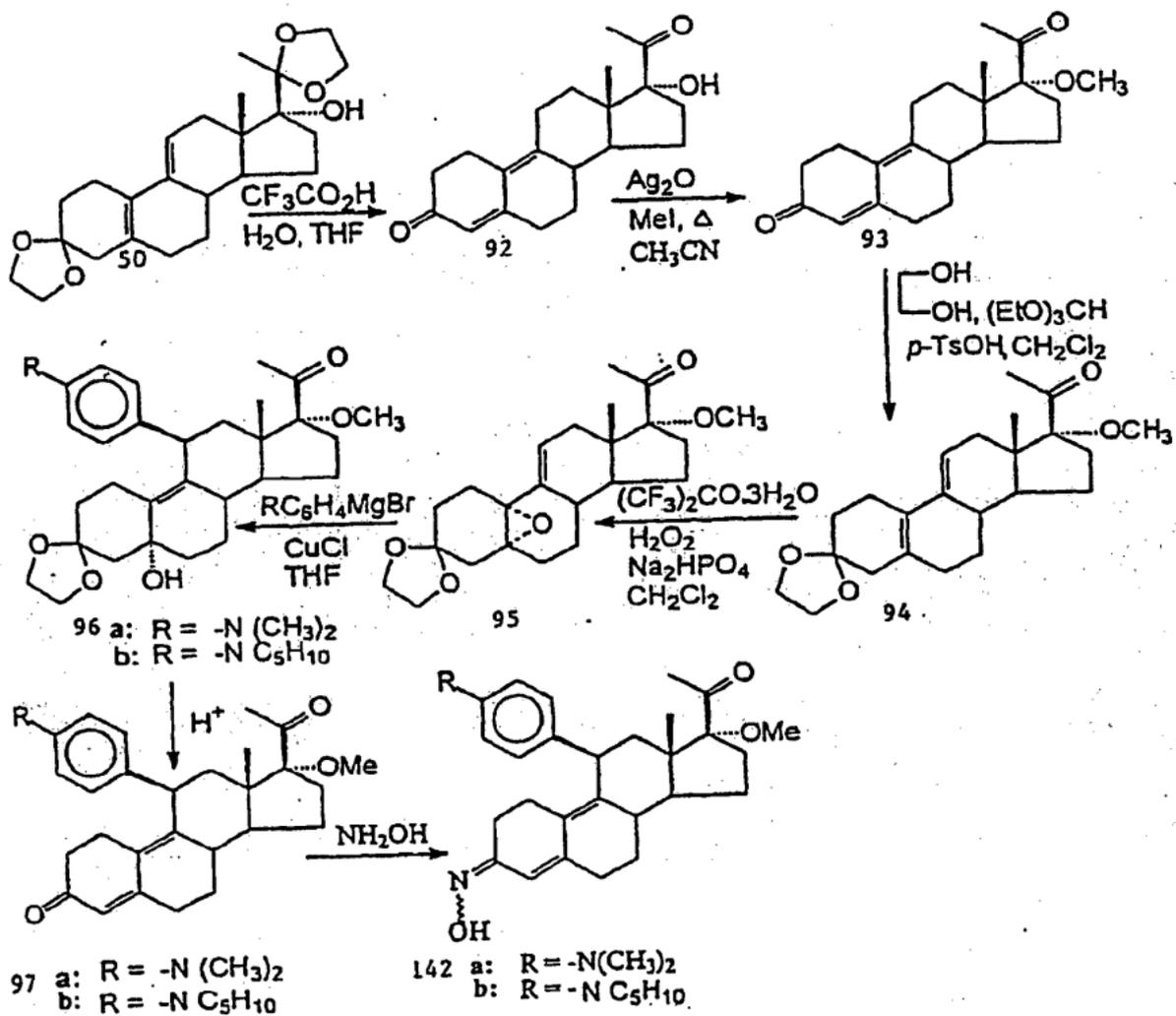


FIGURA 6

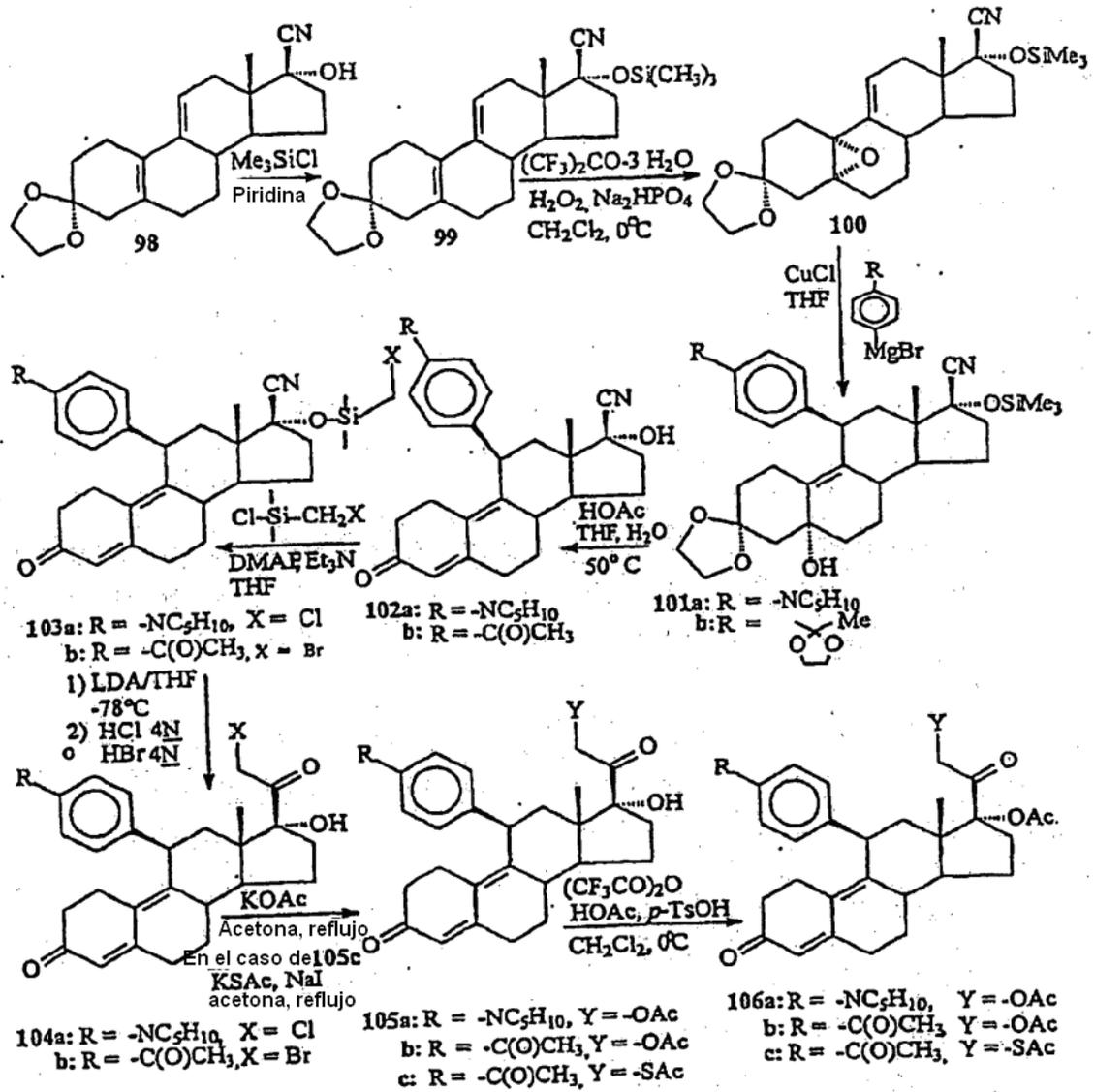


FIGURA 7

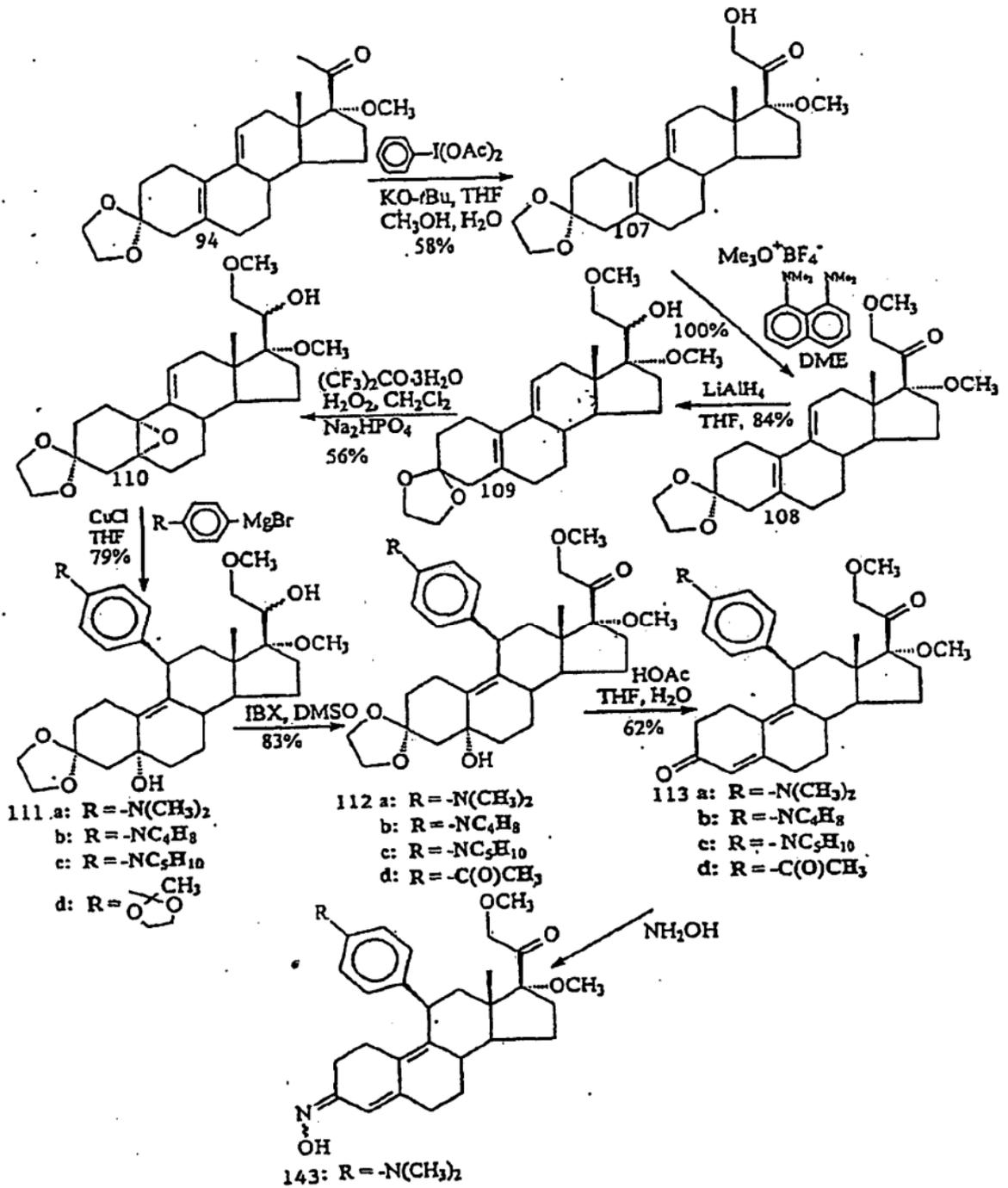


FIGURA 8

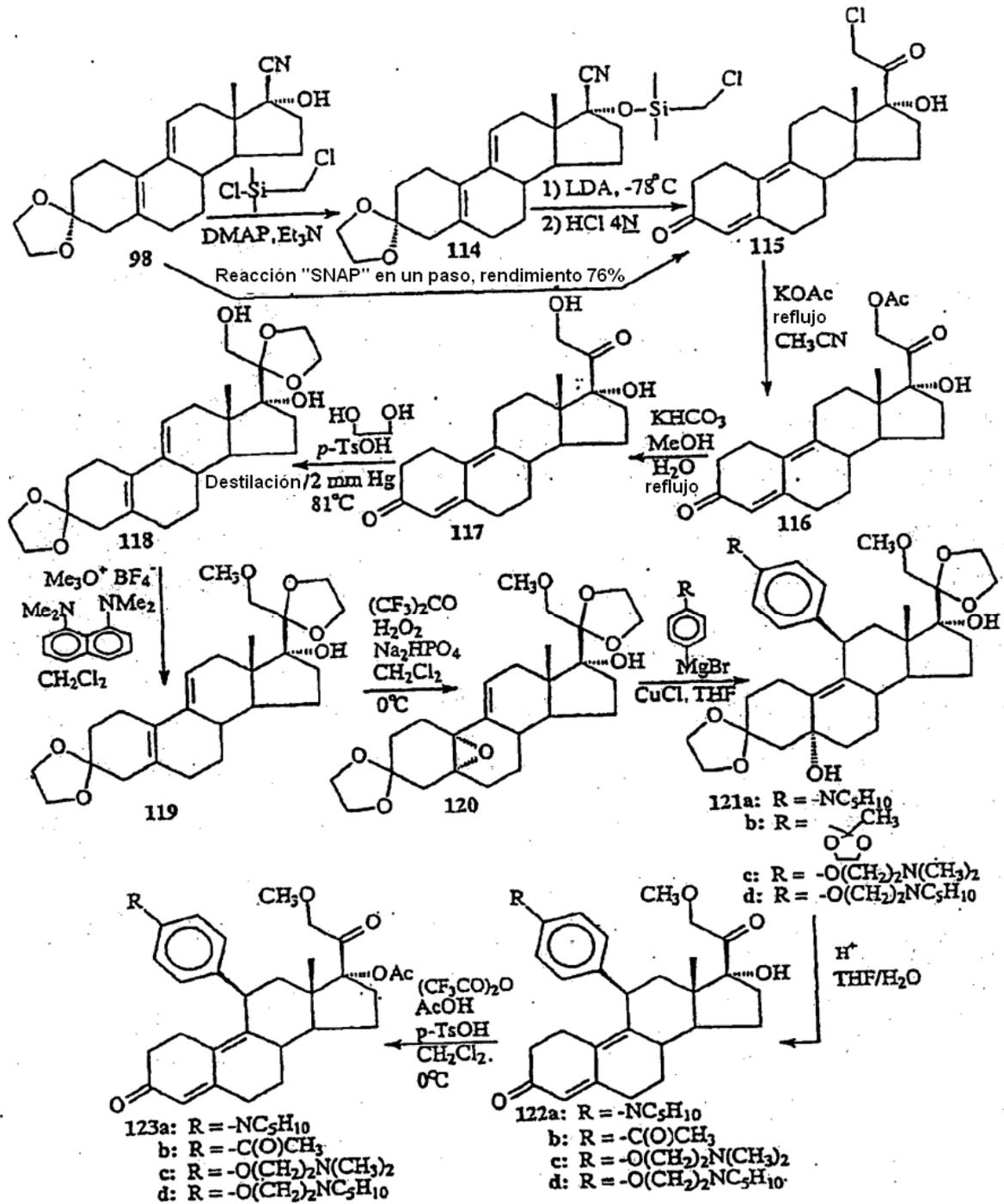


FIGURA 9

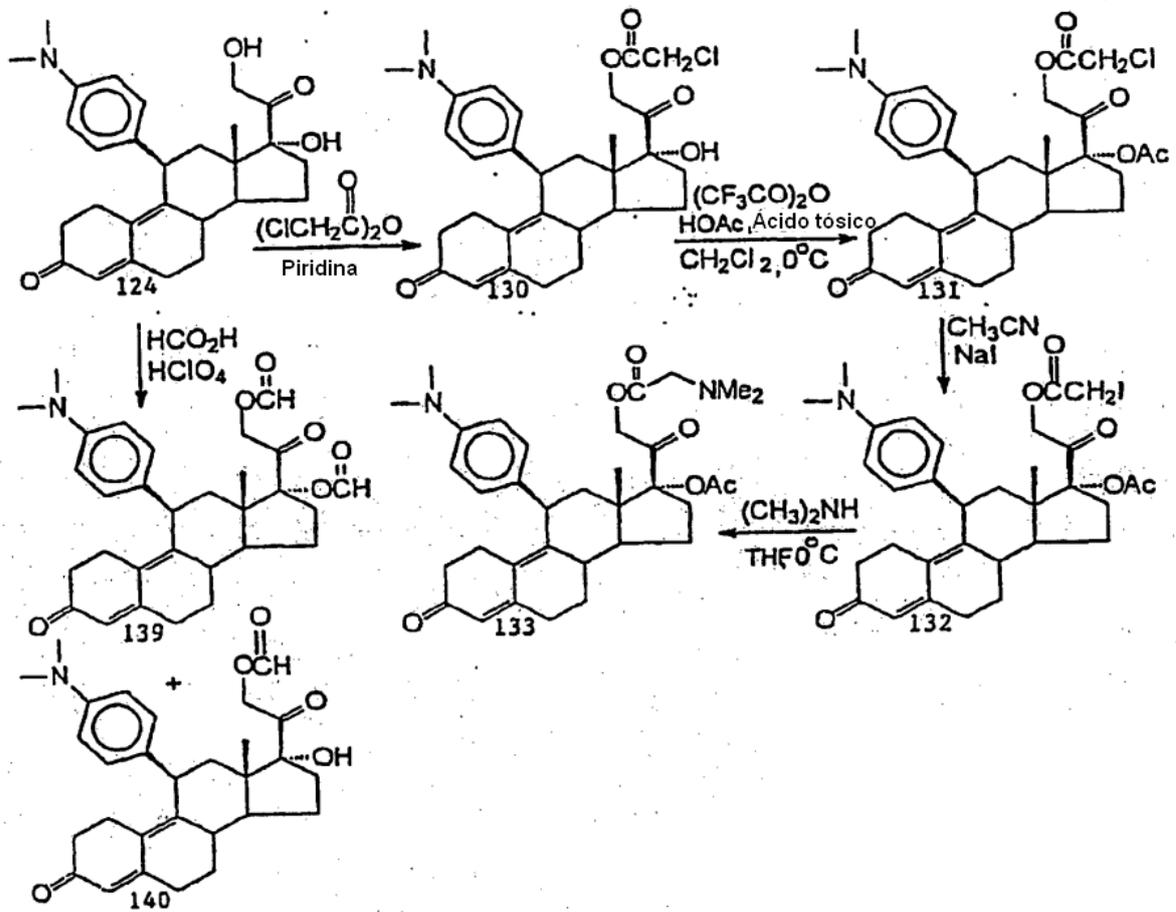


FIGURA 10

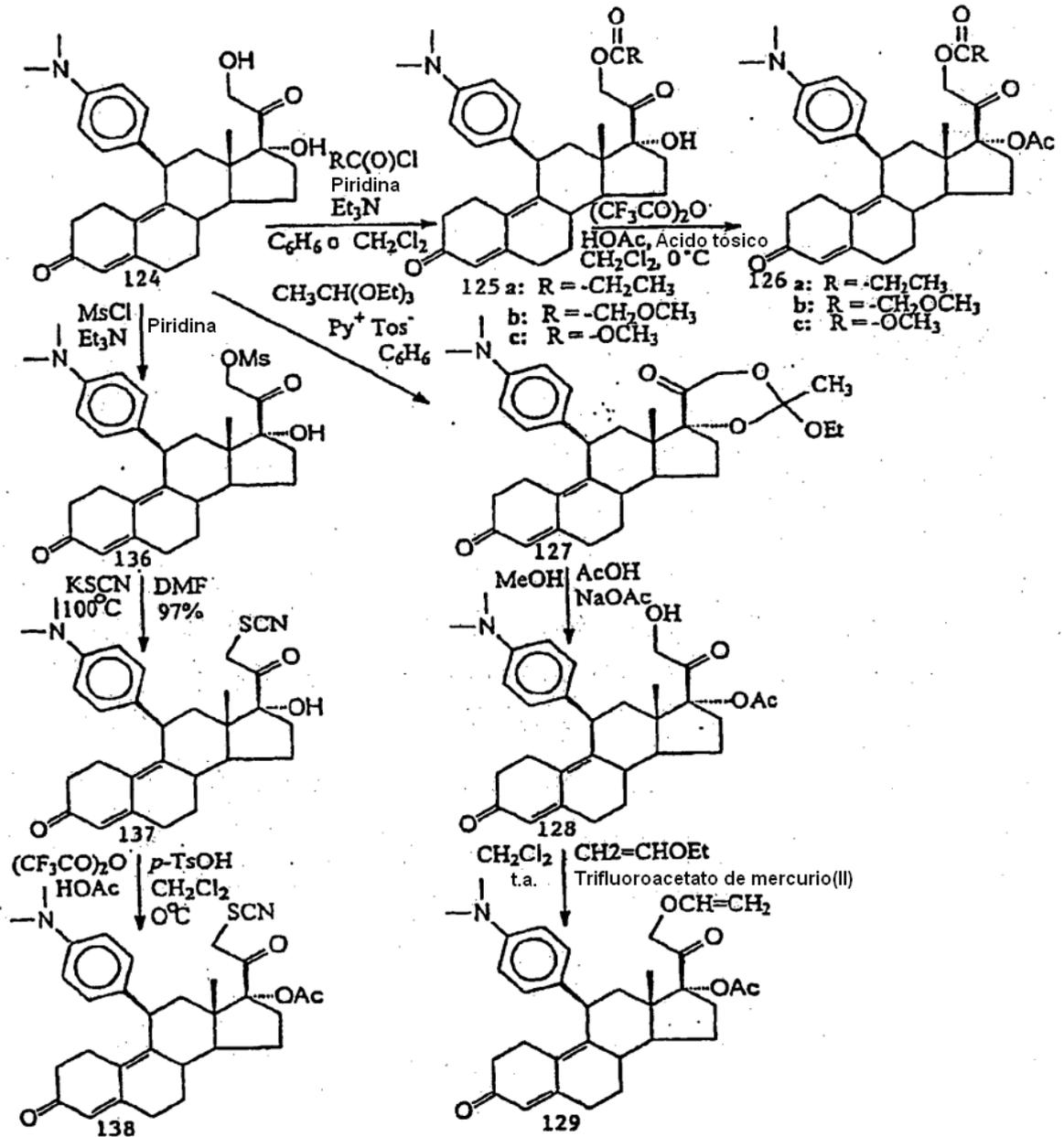


FIGURA 11