

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 504**

51 Int. Cl.:

C07J 1/00 (2006.01)
C07J 9/00 (2006.01)
C07J 13/00 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61Q 19/06 (2006.01)
A61K 8/63 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2008 E 11181831 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.08.2015 EP 2407475**

54 Título: **Preparación de ácido biliar sintético**

30 Prioridad:

19.06.2007 US 945035 P
20.08.2007 US 956875 P
21.02.2008 US 35339
25.04.2008 GB 0807615
16.05.2008 US 153446

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.11.2015

73 Titular/es:

KYTHERA BIOPHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)
30930 Russell Ranch Road, 3rd Floor
Westlake Village, CA 91362, US

72 Inventor/es:

MORIARTY, ROBERT M.;
DAVID, NATHANIEL E.;
MAHMOOD, NADIR AHMEDUDDIN;
PRASAD, ACHAMPETA RATHAN;
SWARINGEN, ROY A., JR.;
REID, JOHN GREGORY y
SAHOO, AKHILA KUMAR

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 550 504 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

Preparación de ácido biliar sintético

Campo de la invención

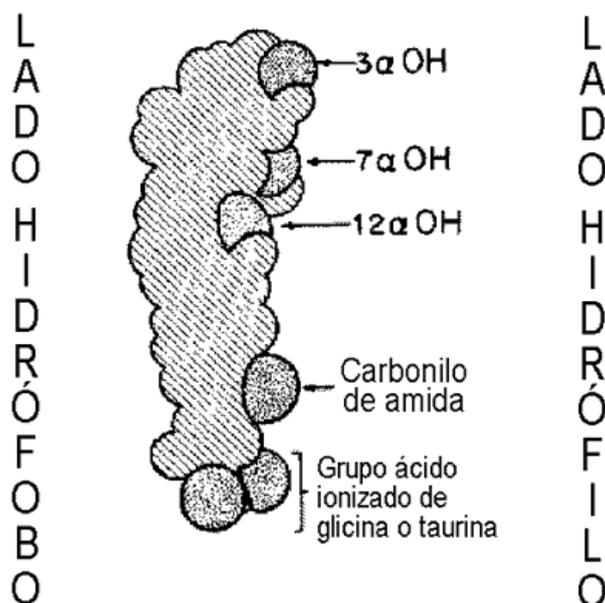
La presente invención se refiere a métodos para la síntesis de ácido desoxicólico y productos intermedios útiles del mismo. Cabe destacar que los ácidos biliares preparados mediante la presente invención no se aíslan a partir de organismos mamíferos y microbianos que producen de forma natural estos ácidos y, por lo tanto, se encuentran libres de cualesquiera toxinas y contaminantes asociados con tales organismos.

Antecedentes de la invención

La colanología, el estudio de los ácidos biliares, y en particular la química del ácido biliar ha resultado de interés durante casi todo un siglo. A pesar de que se sabe mucho, la química del ácido biliar comporta una amplia diversidad de entidades químicas, muchas con unas propiedades sorprendentes. Para una revisión, véase, por ejemplo, Mukhopadhyay, S. y U. Maitra., *Current Science* 87: 1666 - 1683 (2004) ("*Chemistry and biology of bile acids*").

Los ácidos biliares se caracterizan por dos unidades de conexión, un núcleo de esteroide rígido y una cadena lateral alifática corta (véase la figura 1 de la presente solicitud). Véase, Hofmann, A. F., y col. Para una nomenclatura propuesta para los ácidos biliares, véase *J. Lipid Res.* 33: 599 - 604 (1992). Tanto el núcleo como la cadena lateral tienen un gran número de posibles disposiciones estéricas. El núcleo puede alterarse mediante la expansión o la contracción de anillos individuales, y la cadena lateral puede acortarse o alargarse. Además, ambas partes de la molécula de ácido biliar tienen un gran número de posibles sustituyentes polares. Pueden encontrarse presentes grupos ionizantes en el núcleo o la cadena lateral. Por último, pueden encontrarse presentes grupos de conjugación en el núcleo (por ejemplo, sulfato, glucuronato, fosfato) o en la cadena lateral (glicina o taurina u otros aminoácidos, o incluso azúcares). La estructura de la cadena lateral determina la clase del compuesto (ácidos biliares o sales biliares).

Los ácidos biliares son anfifílicos, teniendo tanto una "cara" anfifílica como una anfipática:



Hofman, A. F., *News Physiol. Sci.* 14: 24 - 29 (1999) ("*Bile Acids: The good, the Bad, and the Ugly*", en p. 25, figura 1).

Por convención, la superficie hidrófoba se denomina la "cara β" y la superficie hidrófila se denomina la "cara α". La cara β es liposoluble y la cara α es relativamente polar, en general. Hay ácidos biliares, tales como los que tienen grupos polares (grupos hidroxilo, en ácidos biliares de origen natural) sobre la cara hidrófoba así como sobre la cara hidrófila, por ejemplo, ácido ursodesoxicólico. La naturaleza anfipática de la molécula es responsable de la formación por parte de esta de micelas mixtas con lípidos anfipáticos pero insolubles en agua, tales como la

fosfatidilcolina. Los ácidos biliares no solubilizarán lípidos dietéticos en forma de micelas mixtas a menos que los ácidos biliares se encuentren por encima de una concentración crítica, que se denomina la concentración crítica de micelación.

5 Los ácidos biliares que se hallan en la mayor proporción en los seres humanos son el ácido quenodesoxicólico y el ácido desoxicólico. El ácido desoxicólico también se conoce como desoxicolato, ácido colanoico y 3 α ,12 α -dihidroxi-5 β -colanato. En el cuerpo humano, el ácido desoxicólico se usa en la emulsificación de grasas para la absorción en el intestino. En la investigación, el ácido desoxicólico se usa como un detergente suave para el aislamiento de proteínas asociadas a membrana. Cuando es sustancialmente puro, el ácido desoxicólico es una forma de polvo
10 cristalino de color blanco a blanco apagado. El ácido desoxicólico es uno de los cuatro ácidos principales producidos por el hígado. Este es soluble en alcohol y ácido acético. El número CAS para el ácido desoxicólico es [83-44-3].

La eliminación rápida de la grasa corporal es un antiguo ideal, y se ha afirmado que muchas sustancias logran tales resultados, a pesar de que pocas han mostrado resultados. La "mesoterapia", o el uso de inyectables para la
15 eliminación de grasa, no está aceptada de forma generalizada entre los facultativos médicos debido a las preocupaciones de seguridad y de eficacia, a pesar de que se han realizado afirmaciones homeopáticas y cosméticas desde la década de 1950. La mesoterapia se concibió originalmente en Europa como un método de utilización de inyecciones cutáneas que contienen una mezcla de compuestos para el tratamiento de estados médicos y cosméticos locales. A pesar de que la mesoterapia se empleó tradicionalmente para el alivio del dolor, sus aplicaciones cosméticas, en particular la eliminación de grasas y la celulitis, han recibido recientemente atención
20 en los Estados Unidos. Un tratamiento notificado de este tipo para una reducción de la grasa localizada, que se popularizó en Brasil y usa inyecciones de fosfatidilcolina, se ha considerado de forma errónea sinónimo de la mesoterapia. A pesar de su atractivo como una presunta inyección de "disolución de grasa", la seguridad y la eficacia de estos tratamientos cosméticos sigue siendo ambigua para la mayor parte de los pacientes y médicos. Véase, Rotunda, A. M. y M. Kolodney, *Dermatologic Surgery* 32: 465 - 480 (2006) ("*Mesotherapy and Phosphatidylcholine Injections: Historical Clarification and Review*").

El documento WO 2006/133160 describe métodos de lipoescultura, por ejemplo, la reducción de un depósito de
30 grasa, mediante la administración de un antagonista del receptor del neuropéptido Y al sitio del depósito de grasa. Kolonin M. G. y col., *Nat. Med.* junio 10 (6): 625 - 32 (2004), describe péptidos pro-apoptóticos selectivos de grasa que tienen unos potentes efectos de destrucción de adipocitos. Los péptidos pro-apoptóticos que se describen requieren acceso a la vasculatura para destruir.

Literatura de publicación reciente informa de que el ácido desoxicólico presenta propiedades de eliminación de grasa
35 cuando se inyecta en depósitos grasos *in vivo*. Véanse los documentos WO 2005/117900 y WO 2005/112942, así como US2005/0261258; US2005/0267080; US2006/127468; y US20060154906. El desoxicolato que se inyecta en tejido graso tiene dos efectos: 1) este destruye adipocitos por medio de un mecanismo citolítico; y 2) este da lugar a un estiramiento de la piel. Ambos de estos efectos son requeridos para mediar en las correcciones estéticas deseadas (es decir, el modelado del cuerpo). Debido a que el desoxicolato que se inyecta en grasa se inactiva
40 rápidamente mediante la exposición a una proteína y a continuación vuelve rápidamente a los contenidos intestinales, sus efectos están espacialmente restringidos. Como resultado de este efecto de atenuación que confiere seguridad clínica, por lo general las terapias de eliminación de la grasa requieren 4 - 6 sesiones. Esta eliminación de la grasa localizada sin la necesidad de cirugía es beneficiosa no solo para el tratamiento terapéutico en relación con los depósitos de grasa localizada patológica (por ejemplo, dislipidemias que sobrevienen como resultado de la intervención médica en el tratamiento del VIH), sino también para una eliminación cosmética de la
45 grasa sin el consiguiente riesgo inherente en cirugía (por ejemplo, liposucción). Véase, Rotunda y col., *Dermatol. Surgery* 30: 1001 - 1008 (2004) ("*Detergent effects of sodium deoxycholate are a major feature of an injectable phosphatidylcholine formulation used for localized fat dissolution*") y Rotunda y col., *J. Am. Acad. Dermatol.* 2005: 973 - 978 ("*Lipomas treated with subcutaneous deoxycholate injections*").

50 Las preparaciones de ácido biliar de calidad farmacéutica se encuentran comercialmente disponibles con un coste relativamente bajo. Este bajo coste se debe al hecho de que los ácidos biliares se obtienen a partir de carcasas de animales, en particular animales grandes tales como ganado vacuno y ovino. Cabe destacar que, al igual que con todos los medicamentos a partir de fuentes animales, existe la preocupación de que los productos de ácido biliar
55 derivados de animales puedan contener patógenos animales y otros agentes nocivos tales como toxinas y metabolitos animales o microbianos, incluyendo toxinas bacterianas tales como pirógenos.

Tales patógenos animales pueden incluir priones, que se cree que son un tipo de proteína patogénica infecciosa que
60 puede dar lugar a enfermedades priónicas. Las enfermedades priónicas son trastornos degenerativos del sistema nervioso. Una enfermedad de este tipo, la enfermedad de las "vacas locas" (que se cree que es una variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ)), se cree que está causada por un prión presente en carne de ternera comestible procedente de ganado vacuno enfermo. La mayor parte de los casos son esporádicos con un modo desconocido de transmisión; algunos casos son heredados; y un pequeño número se ha transmitido por procedimientos médicos. La difusión de las enfermedades priónicas humanas a través del consumo de material infectado se ha implicado históricamente en el kuru y recientemente en la ECJ variante. Otras enfermedades
65 priónicas animales (tembladera de ganado ovino, encefalopatía de visón transmisible, enfermedad consuntiva

crónica de cérvidos, y encefalopatía espongiiforme bovina) parecen ser, todas ellas, de transmisión lateral mediante el contacto con animales infectados o mediante el consumo de pienso infectado. La evaluación de riesgos y las predicciones de eventos futuros en relación con las enfermedades priónicas son difíciles de establecer debido a los diferentes modos de transmisión, las impredecibles barreras entre especies, la distribución variable de la infecciosidad en los tejidos y las variaciones de cepas que se hallan en algunas enfermedades.

En general, los productos animales pueden exponerse a organismos microbianos que producen pirógenos (sustancias que causan fiebre). Los contaminantes bacterianos de productos alimentarios y/o farmacéuticos también son un grave problema, tal como se pone de manifiesto por la contaminación de alimentos por *E. coli* enterohemorrágica. En tal contaminación se han implicado productos tales como carnes derivadas de ganado vacuno así como productos tales como manzanas, espinacas y similares. En tales casos, es la toxina producida por la bacteria (en lugar de la propia bacteria) la que produce efectos adversos en los seres humanos. Tales efectos adversos incluyen diarrea severa, insuficiencia renal, y en las situaciones extremas, la muerte. Las endotoxinas bacterianas, un tipo de pirógeno, han de excluirse sustancialmente de todas las composiciones farmacéuticas.

Los productos animales se purifican en general mediante un proceso de eliminación, es decir, en lugar de seleccionar el producto final de entre una mezcla, el producto final es el material que queda después de la exclusión de impurezas. Y, además de los restos animales potenciales tales como patógenos, otro artefacto de purificación con respecto a las fuentes animales es que el producto final sea una mezcla de uno o más ácidos biliares. Por ejemplo, las preparaciones comerciales del ácido desoxicólico contienen algo de ácido quenodesoxicólico, así como ácido cólico, que es un precursor tanto del ácido desoxicólico como del ácido quenodesoxicólico en la síntesis de ácido biliar de mamíferos. Debido a que la proporción exacta de desoxi/queno/cólico no se selecciona previamente, esto puede dar como resultado una variación de lote a lote cuando se contempla la fabricación de grandes cantidades de ácidos biliares. Tal variación de lote a lote puede ser problemática y puede ocasionar etapas adicionales en la obtención de aprobaciones reglamentarias o control de calidad, en particular en los esfuerzos para producir una composición farmacéutica. Obviamente, los productores desearían una capacidad de predicción de lote a lote en la fabricación de composiciones farmacéuticas de ácido biliar.

En la actualidad, las preocupaciones con respecto a los productos derivados de animales que contienen patógenos animales y otros agentes nocivos se han abordado al tomar como fuente animales aislados e inspeccionados. Por ejemplo, el ácido desoxicólico a partir de animales en Nueva Zelanda es una fuente de ácidos biliares para uso humano bajo los regímenes reglamentarios de EE. UU., siempre que los animales sigan permaneciendo aislados y libres por lo demás de patógenos observables.

De forma implícita, acompaña a la necesidad de tal régimen reglamentario controlado por el gobierno el reconocimiento de un riesgo intrínseco de transmisión de patógenos animales cuando se inyectan medicamentos derivados de animales. En donde no se encuentren disponibles alternativas de medicamentos no animales, el régimen reglamentario del gobierno ya no es necesario. Un ejemplo de tal alternativa (un medicamento no animal sustituyendo a un medicamento derivado de animales) y de ventajas asociadas es la insulina para uso humano. La fabricación de insulina de vacuno en los Estados Unidos se abandonó en 1998, y la insulina de cerdo para uso humano se abandonó en enero de 2006. A pesar de que puede obtenerse insulina animal a partir de rebaños que no se sepa que hayan estado sometidos a exposición a agentes que causen BSE u otros agentes patogénicos, las instalaciones o procesos de fabricación pueden exponer los ingredientes animales a animales que hayan tenido exposición a los patógenos. El riesgo de transmisión de agentes patogénicos a los seres humanos puede eliminarse con el uso de insulina que se fabrique de forma recombinante o sintética. Para los consumidores, la situación de la insulina es instructiva: cuando se encuentre libremente disponible un material sintético, el riesgo de transmisión de patógenos animales ha sido, en teoría, eliminado. Para los productores, la capacidad de producir una entidad química pura que sustancialmente se encuentre libre de material de patógenos animales es ventajosa para fines de seguridad, de calidad y reglamentarios. Además, por lo general un proceso sintético prevé un producto más reproducible que el derivado de fuentes biológicas.

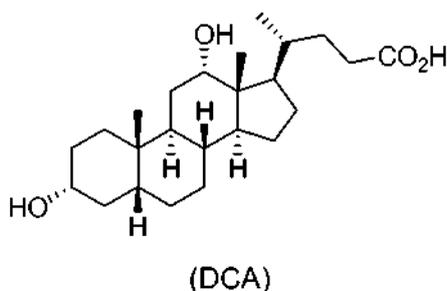
En la actualidad, debido a la abundancia relativa de ácidos biliares derivados de carcasas de animales, la industria no ha tomado medida alguna ni para sintetizar ácidos biliares por medios completamente químicos ni para preparar ácidos biliares usando fitosterol o materiales de partida microbianos. Y a pesar de que se han sintetizado derivados de ácido biliar, este trabajo implicó de nuevo ácidos biliares derivados de animales como materiales de partida para la química de los esteroides, debido al bajo coste y a la inmediata disponibilidad de materiales animales. A pesar de esfuerzos históricamente activos en la investigación del fitosterol, no hay composición alguna con disponibilidad comercial inmediata de calidad farmacéutica de ácido biliar derivado de fitosterol. Véase, por ejemplo, Mukhopadhyay, S. y U. Maitra., *Current Science* 87: 1666 - 1683, 1670 (2004) (Observando que la síntesis total de cualquier ácido biliar no se haya realizado sujeta a una referencia de 1981, Kametani y col. *J. Am. Chem. Soc.* 103: 2890 (1981) ("*First Total Synthesis of (+)-Chenodeoxycholic Acid*"). Los ácidos biliares microbianos, tales como los producidos por bacterias, se han usado *in situ* como productos bacterianos, por ejemplo, para la limpieza de derrames de petróleo en el mar. Véase, Maneerat y col., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76: 679 - 683 (2004) ("*Bile acids are new products of a marine bacterium, Myroides sp. Strain SM1*").

Con el fin de alcanzar el pleno potencial del ácido desoxicólico para la eliminación de grasa, es imperativo que las preocupaciones en torno al uso de productos derivados de animales se aborden adicionalmente. Obviamente, existe una necesidad de cantidades adecuadas de ácidos biliares y composiciones relacionadas eficaces, tales como los ácidos desoxicólicos, que se sabe desde el comienzo que están libres de restos de origen animal (o restos patogénicos capaces de actuar en un animal, en particular un mamífero, y para uso humano, que tengan un efecto perjudicial sobre un ser humano), y otros agentes nocivos tales como toxinas y metabolitos animales o microbianos, incluyendo toxinas bacterianas, tales como pirógenos, para su uso como medicamentos en los seres humanos. La presente invención aborda esta preocupación mediante la provisión de métodos de preparación de composiciones de ácido biliar sintéticas libres del riesgo potencial de patógenos animales y otros agentes nocivos. Las composiciones de ácido biliar que se divulgan pueden usarse en terapia adipolítica y servirán para promover adicionalmente los esfuerzos de investigación y de desarrollo en el área de la eliminación de la grasa localizada.

Reichstein y col. (2004), Helvetica Chimica Acta 25 (5), 797 - 805 describe un proceso para producir ácido desoxicólico (DCA) que comprende hidrolizar un diacetato de metiléster de ácido desoxicólico y recristalizar DCA a partir de acetona.

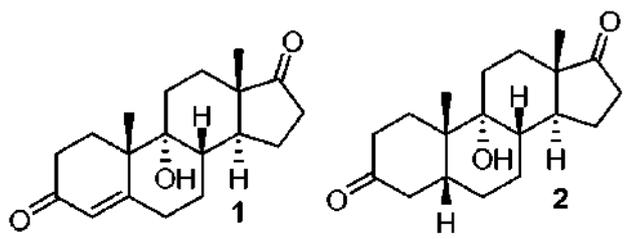
Sumario de la invención

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona un método para preparar ácido desoxicólico (DCA) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

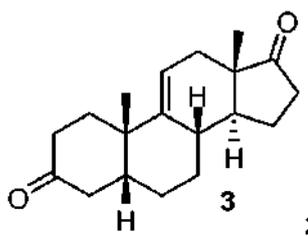


comprendiendo dicho método

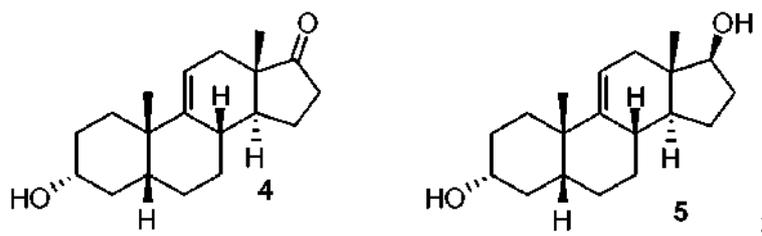
(a) hacer reaccionar 9 α -hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 1 con H₂ bajo unas condiciones de hidrogenación para formar el compuesto 2



(b) hacer reaccionar el compuesto 2 con ácido para formar el compuesto 3

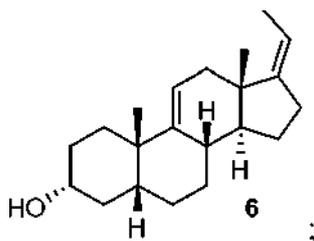


(c) hacer reaccionar el compuesto 3 con un agente reductor para formar el compuesto 4 como una mezcla de 4 y 5



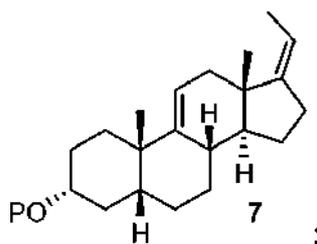
(d) hacer reaccionar el compuesto 4 con un reactivo de olefinación de dos carbonos bajo unas condiciones de formación de olefina para formar el compuesto 6

5



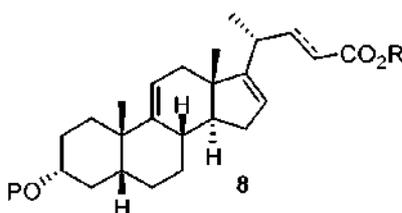
(e) convertir el compuesto 6 en un compuesto de la fórmula 7

10



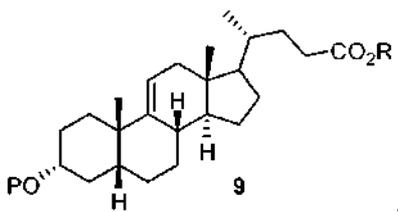
(f) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 7 con un propiolato de alquilo de la fórmula $\text{CH}\equiv\text{CC}(\text{O})\text{OR}$ o un acrilato de alquilo de la fórmula $\text{CH}_2=\text{CHC}(\text{O})\text{OR}$ en el que R es alquilo en presencia de un ácido de Lewis para formar un compuesto de la fórmula 8 en el que P es un grupo protector, R es alquilo y la línea de trazos ----- es un enlace simple o doble;

15



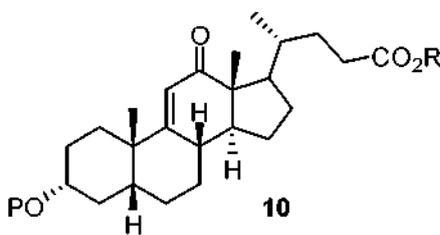
(g) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 8 con H_2 bajo unas condiciones de hidrogenación para formar un compuesto de la fórmula 9 en el que P es un grupo protector y R es alquilo;

20



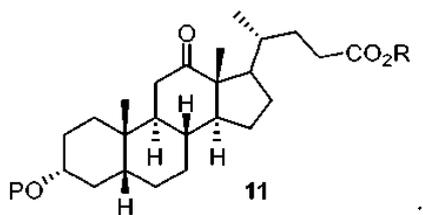
(h) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 9 con un agente oxidante para formar un compuesto de la fórmula 10 en el que P es un grupo protector tal como acetilo y R es alquilo;

25



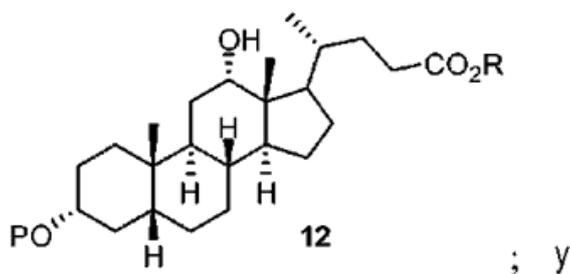
(i) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 10 con H₂ bajo unas condiciones de hidrogenación para formar un compuesto de la fórmula 11 en el que P es un grupo protector y R es alquilo;

5



(j) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 11 con un agente reductor para formar un compuesto de la fórmula 12 en el que P es un grupo protector y R es alquilo;

10



(k) exponer el compuesto de la fórmula 12 a unas condiciones de desprotección para formar un éster del mismo y a unas condiciones de hidrólisis adecuadas para formar ácido desoxicólico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un dibujo que representa la estructura de ácidos biliares, incluyendo el sistema de numeración para los carbonos del esqueleto de ácido biliar.

20

La figura 2 muestra la similitud en la disminución dependiente de la dosis en la supervivencia celular de los adipocitos humanos primarios tras el tratamiento con ácido desoxicólico de sodio de síntesis de la presente invención en comparación con desoxicolato de sodio derivado de bovino (Sigma).

25

Descripción detallada de la invención

Definiciones

30

Por la totalidad de la presente divulgación, se hace referencia a diversas publicaciones, patentes y memorias descriptivas de patente publicadas mediante una cita identificativa.

35

Tal como se usan en el presente documento, determinadas expresiones tienen los siguientes significados definidos. Tal como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, las formas singulares "un", "una" y "el / la" incluyen referencias singulares y plurales a menos que el contexto dicte con claridad lo contrario.

40

A menos que se indique lo contrario, todos los números que expresen cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, y así sucesivamente, que se usan en la memoria descriptiva y las reivindicaciones han de entenderse como si estuvieran modificadas en todos los casos por la expresión "aproximadamente". Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos que se exponen en la siguiente memoria descriptiva y en las

ES 2 550 504 T3

reivindicaciones adjuntas son aproximaciones. Cada parámetro numérico debería interpretarse por lo menos a la luz del número de dígitos significativos notificados y mediante la aplicación de técnicas de redondeo ordinarias.

5 La expresión “reactivo de acetilación” se refiere a un reactivo que puede añadir un grupo acetilo $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})-$ a una molécula.

La expresión “ácido” se refiere a un donador de protones e incluye ácidos tanto orgánicos como inorgánicos.

10 La expresión “alquilo” se refiere a grupos hidrocarbilo alifáticos saturados monovalentes que tienen de 1 a 10 átomos de carbono y preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono. Esta expresión incluye, a modo de ejemplo, grupos hidrocarbilo lineales y ramificados tales como metilo (CH_3-), etilo (CH_3CH_2-), *n*-propilo ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$), isopropilo ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$), *n*-butilo ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), isobutilo ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-$), *sec*-butilo ($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}-$), *t*-butilo ($(\text{CH}_3)_3\text{C}-$), *n*-pentilo ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$) y neopentilo ($(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2-$).

15 La expresión “arilo” se refiere a un grupo carbocíclico aromático monovalente de 6 a 12 átomos de carbono que tiene un único anillo (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos condensados (por ejemplo, naftilo).

20 La expresión “origen animal” se refiere a que se origina a partir de cualquiera de un reino (Animalia) de seres vivos incluyendo organismos multicelulares y organismos unicelulares.

La expresión “reactivo de deshidratación” se refiere a un reactivo que puede reaccionar con agua. En un aspecto, un reactivo de deshidratación puede reaccionar con agua que se retira de una molécula.

25 La expresión “reactivo de desulfuración” se refiere a un reactivo que puede reaccionar con un sulfuro. En un aspecto, un reactivo de desulfuración puede reaccionar con una molécula que contiene sulfuro para retirar el grupo sulfuro de la molécula.

30 La expresión “precursor de etano ditiol o de ditiano” se refiere a un reactivo que, con la reacción con un grupo carbonilo, formará un grupo etano ditiol o ditiano.

La expresión “grupo acetilo electrofílico” se refiere a un grupo acetilo como un electrófilo, un grupo que es atraído a electrones y tiende a aceptar electrones.

35 La expresión “reactivo de hidrogenación” se refiere a un reactivo que puede donar hidrógeno a una molécula.

La expresión “ácido de Lewis” se refiere a un aceptor de pares de electrones. Los ácidos de Lewis incluyen reactivos organometálicos tales como haluros de alquil aluminio (por ejemplo Et_2AlCl y MeAlCl_2).

40 La expresión “origen mamífero” se refiere a que se origina a partir de cualquier organismo mamífero. La expresión “organismo mamífero” se refiere a una clase (*Mammalia*) de vertebrados superiores de sangre caliente (como placentarios, marsupiales o monotremas) que alimentan a sus crías con leche secretada por glándulas mamarias, tienen la piel por lo general más o menos cubierta de pelo, e incluyen los seres humanos.

45 La expresión “origen microbiano” se refiere a que se origina a partir de cualquier organismo microbiano. La expresión “organismo microbiano” se refiere a un dominio (Bacteria) de microorganismos unicelulares redondos, en espiral o con forma de varilla procariotas que pueden carecer de paredes celulares o son gram-positivos o gram-negativos si estos tienen paredes celulares, que con frecuencia se agregan formando colonias o que tienen motilidad por medio de flagelos, que por lo general viven en el suelo, agua, materia orgánica, o los cuerpos de plantas y animales, que son por lo general de nutrición autótrofa, saprofitica o parasitaria, y que destacan por sus efectos bioquímicos y su patogenicidad.

50 La expresión “reactivo de olefinación” se refiere a reactivos que reaccionan con cetonas para formar las olefinas correspondientes. La expresión “condiciones de formación de olefina” se refiere a condiciones adecuadas para llevar a cabo tales transformaciones. Los ejemplos de tales reactivos incluyen reactivos de Wittig y condiciones de olefinación de Wittig.

55 La expresión “agente oxidante” se refiere a un reactivo que puede aceptar electrones en una reacción de oxidación - reducción. De esta forma, puede añadirse halógeno u oxígeno a una molécula o puede retirarse hidrógeno de una molécula.

60 La expresión “patógeno” se refiere a un agente causante específico de una enfermedad.

65 “Sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a sales farmacéuticamente aceptables derivadas de una diversidad de contraiones orgánicos e inorgánicos que se conocen bien en la técnica e incluyen, solo a modo de ejemplo, sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, amonio y tetraalquilamonio. Las sales adecuadas incluyen las que se describen en P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (Eds.), *Handbook of Pharmaceutical Salts Properties, Selection, and Use*; 2002.

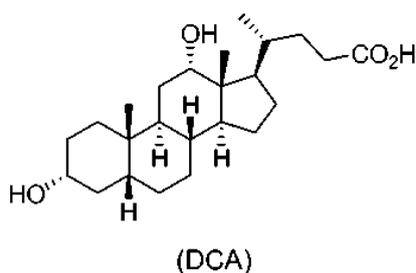
Estas sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse al hacer reaccionar DCA con una base adecuada. Para fines ilustrativos, los ejemplos de tales bases incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o hidróxido de litio. Como alternativa, las sales pueden prepararse mediante la hidrólisis de ésteres de DCA con base y omitiendo cualquier tratamiento ácido que condujera a DCA.

5 La expresión "agente reductor" se refiere a un reactivo que puede donar electrones en una reacción de oxidación - reducción. De esta forma, pueden retirarse halógeno u oxígeno de una molécula o puede añadirse hidrógeno a una molécula.

10 Método de síntesis

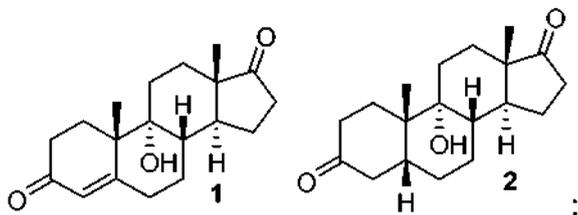
La numeración de la estructura principal esteroidea tal como se usa en el presente documento sigue la convención general tal como se muestra en la figura 1.

15 De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona un método para preparar ácido desoxicólico (DCA) o un éster del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



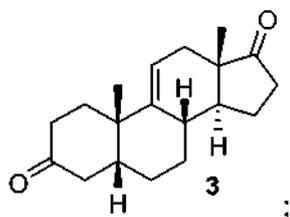
20 comprendiendo el método

(a) hacer reaccionar 9 α -hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 1 con H₂ bajo unas condiciones de hidrogenación para formar el compuesto 2



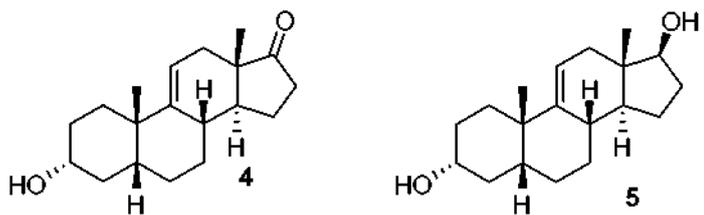
25

(b) hacer reaccionar el compuesto 2 con ácido para formar el compuesto 3

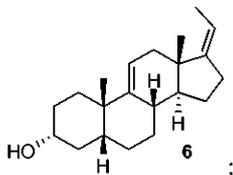


30

(c) hacer reaccionar el compuesto 3 con un agente reductor para formar el compuesto 4 como una mezcla de 4 y 5

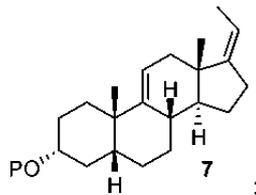


(d) hacer reaccionar el compuesto 4 con un reactivo de olefinación de dos carbonos bajo unas condiciones de formación de olefina para formar el compuesto 6

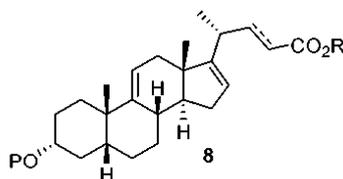


5

(e) convertir el compuesto 6 en un compuesto de la fórmula 7 en el que P es un grupo protector

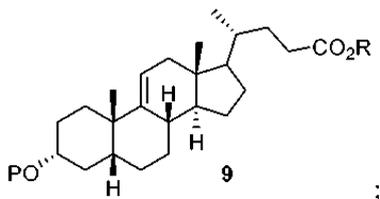


10 (f) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula 7 con un propiolato de alquilo $\text{CH}\equiv\text{C}-\text{C}(\text{O})\text{OR}$ o un acrilato de alquilo $\text{CH}_2=\text{CHC}(\text{O})\text{OR}$ en el que R es alquilo en presencia de un ácido de Lewis para formar un compuesto de la fórmula 8 en el que P es un grupo protector, R es alquilo y la línea de trazos ----- es un enlace simple o doble;



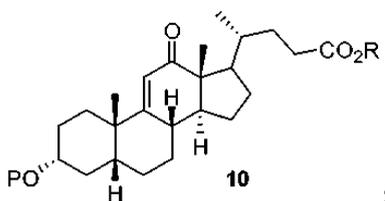
15

(g) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula 8 con H_2 bajo unas condiciones de hidrogenación para formar un compuesto de la fórmula 9 en el que P es un grupo protector y R es alquilo



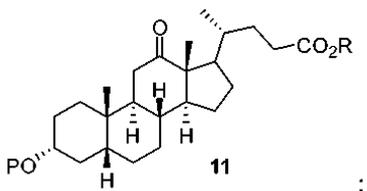
20

(h) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 9 con un agente oxidante para formar un compuesto de la fórmula 10 en el que P es un grupo protector y R es alquilo

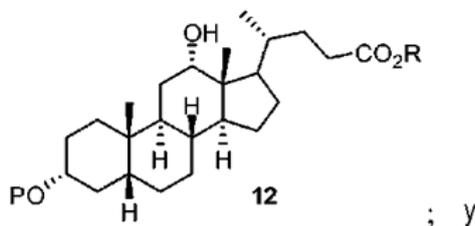


25

(i) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula 10 con H_2 bajo unas condiciones de hidrogenación para formar el compuesto de la fórmula 11 en el que P es un grupo protector y R es alquilo



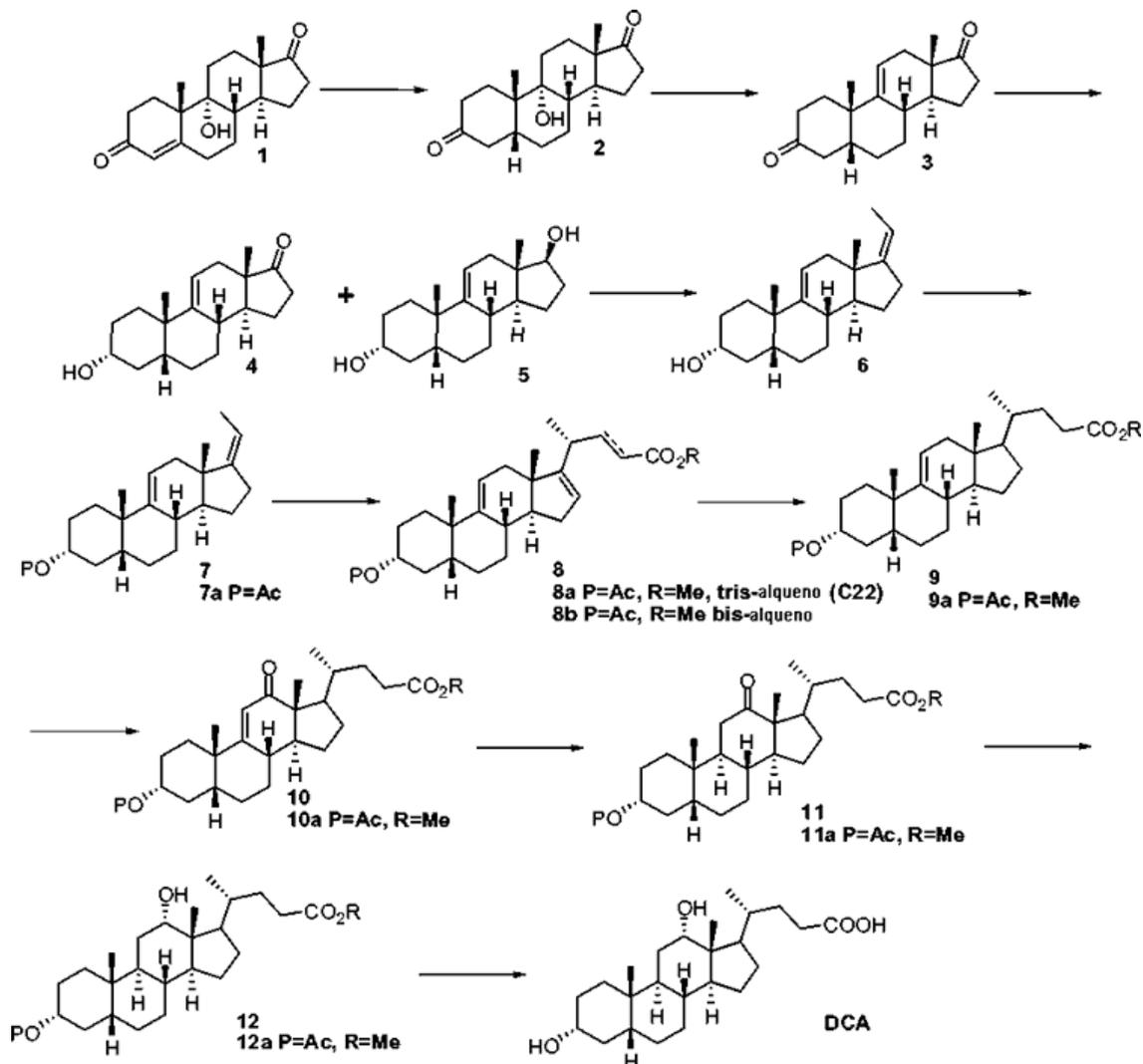
(j) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 11 con un agente reductor para formar un compuesto de la fórmula 12 en el que P es un grupo protector y R es alquilo



(k) exponer el compuesto de la fórmula 12 a unas condiciones de desprotección para formar un éster del mismo y opcionalmente a unas condiciones de hidrólisis adecuadas para formar ácido desoxicólico o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 La presente invención también proporciona los siguientes productos intermedios que se muestran en el esquema 1 en lo sucesivo en el que P y R son tal como se ha definido en lo que antecede.

15 Esquema 1. Síntesis de ácido desoxicólico (DCA)



En una realización, las condiciones de hidrogenación de la parte (a) comprenden un catalizador de Pd / C.

20 En una realización, el ácido de la parte (b) es un ácido mineral. En algunos aspectos, el ácido mineral es H₂SO₄.

En una realización, el agente reductor de la parte (c) es $\text{LiAl}(\text{OtBu})_3\text{H}$.

En una realización, el reactivo de olefinación de dos carbonos de la parte (d) es un agente de Wittig tal como $\text{Ph}_3\text{PCH}_2\text{CH}_3^+\text{Br}^-$.

5 En una realización, el grupo protector P del compuesto 7 - 12 es $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$. En algunos aspectos, el compuesto 6 se expone a unas condiciones de acilación para formar 7a, tal como mediante el tratamiento de 6 con anhídrido acético y una base orgánica tal como Et_3N , piridina y / o dimetilaminopiridina.

10 En una realización, el ácido de Lewis de la parte (f) es EtAlCl_2 .

En una realización, el propiolato de alquilo de la parte (f) es propiolato de metilo.

En una realización, el acrilato de alquilo de la parte (f) es acrilato de metilo.

15 En una realización, las condiciones de hidrogenación de la parte (g) comprenden un catalizador de PtO_2 o de Pd / C .

En una realización, el agente oxidante de la parte (h) es CrO_3 .

20 En una realización, las condiciones de hidrogenación de la parte (i) comprenden un catalizador de Pd / C .

En una realización, el agente reductor de la parte (j) es $\text{LiAl}(\text{OtBu})_3\text{H}$.

25 En una realización, las condiciones de desprotección y de hidrólisis de la parte (k) cuando P es $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ comprenden hacer reaccionar el compuesto 12 con un hidróxido de tierra alcalina, un alcóxido de tierra alcalina, o una mezcla de ambos. En algunos aspectos, las condiciones de hidrólisis incluyen un tratamiento ácido para dar ácido desoxicólico. En otros aspectos, el tratamiento ácido se omite para dar la sal correspondiente.

En una realización, el hidróxido de metal alcalino es LiOH .

30 En una realización, pueden prepararse sales de ácido desoxicólico mediante la reacción con un alcóxido o hidróxido de metal alcalinotérreo. Las sales de ácido desoxicólico incluyen las sales de sodio (Na^+), de potasio (K^+) y de litio (Li^+).

35 En una realización, se proporciona un compuesto intermedio que se selecciona del grupo que consiste en

- 9 α -Hidroxi-5 β -androstan-3,17-diona (2);
- 5 β -Androst-9(11)-en-3,17-diona (3);
- (Z)-3 α -Hidroxi-5 β -pregna-9(11),17(20)-dieno (6);
- 40 (Z)-3 α -Acetoxi-5 β -pregna-9(11),17(20)-dieno (7a);
- 3 α -Acetoxi-5 β -col-9(11), 16, 22-trien-24-oato de (E)-metilo (8a);
- 3 α -Acetoxi-5 β -col-9(11), 16-dien-24-oato de metilo (8b);
- 3 α -Acetoxi-5 β -col-9(11)-en-12-ona-24-oato de metilo (10a); y
- 45 3 α -Acetoxi-5 β -colan-12-ona-24-oato de metilo (11a).

Esquemas de síntesis

Otros ejemplos de métodos para la síntesis química completa de composiciones farmacéuticas de ácido biliar, y productos intermedios útiles, se proporcionan en lo sucesivo.

50 Estas descripciones y ejemplos siguientes proporcionan una alternativa a la extracción de DCA a partir de organismos mamíferos o microbianos que producen de forma natural este compuesto. Las rutas de síntesis 1 - 6 se contemplan para su uso en la presente invención para sintetizar ácido desoxicólico (DCA). La ruta de síntesis 1B y los ejemplos 1 - 11 muestran la síntesis de DCA a partir de hidrocortisona.

55 1. Ruta de síntesis N° 1A a partir de Adrenosterona, por medio de 9(11)-eno u 11,12-eno

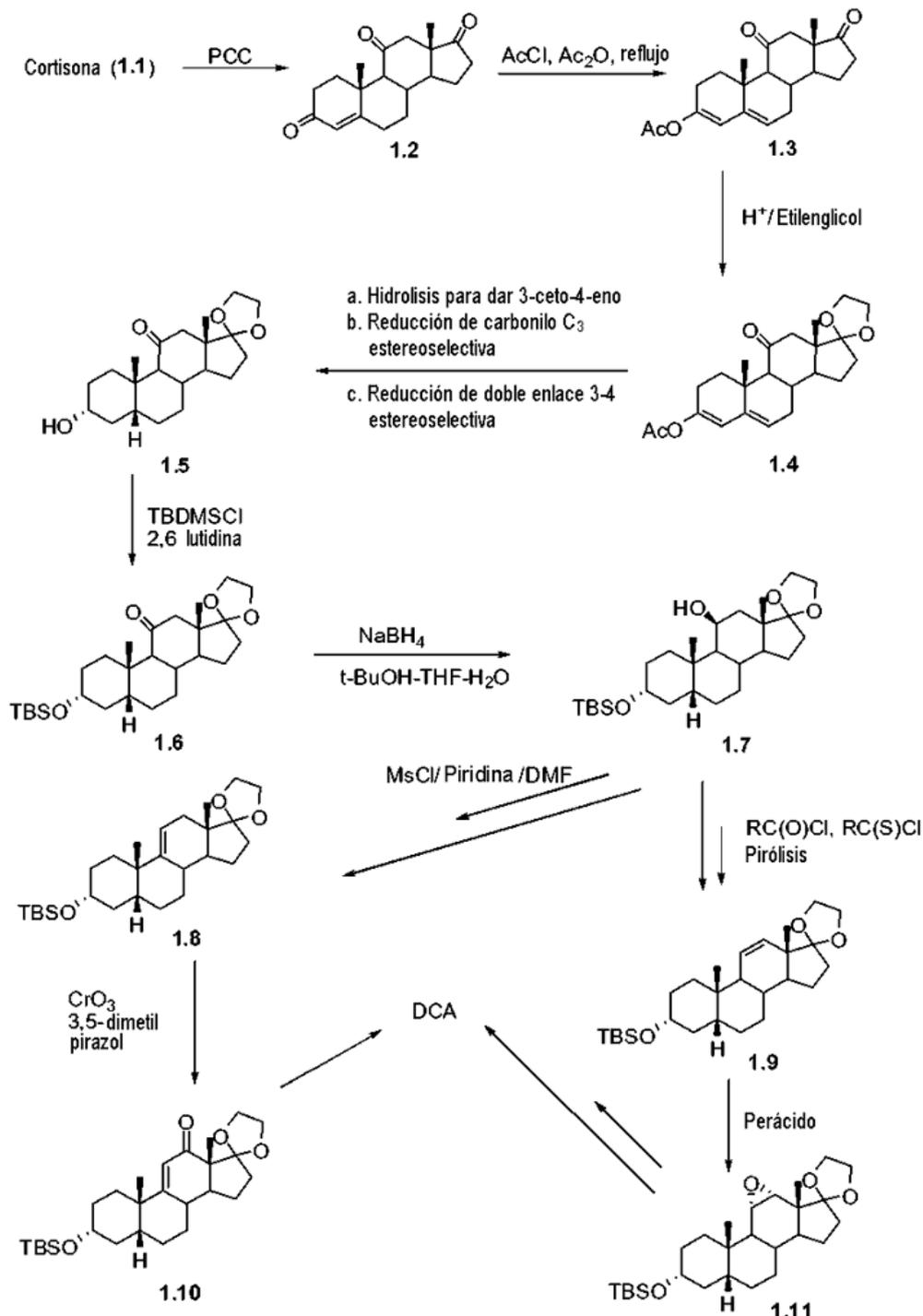
La cortisona (el compuesto 1.1) del esquema 1A (en lo sucesivo) se encuentra disponible de forma generalizada como un material completamente sintético. Esta puede escindirse de forma eficiente para formar el compuesto de cetona C_{17} usando clorocromato de piridinio (PCC). Esta escisión en adrenosterona (el compuesto 1.2) también puede lograrse usando HIO_4 o bismutato de sodio (NaBiO_3). La reacción que convierte el compuesto 1.2 en el compuesto 1.3 es un proceso químico conocido. La conversión del compuesto 1.3 en el compuesto 1.4 comporta monocetalización. Son etapas posteriores la regeneración del 3-ceto-4-eno, la reducción selectiva del 4,5-eno ($\text{H}_2 / \text{Pt} / \text{DMF}$) para dar la configuración β C_5 y la reducción selectiva del grupo carbonilo C_3 a la configuración 3 α deseada para dar el compuesto 1.5. La adición de un grupo protector en la conversión del compuesto 1.5 en el compuesto 1.6 y la reducción posterior del producto da el β -ol C_{11} (configuración axial), es decir, el compuesto 1.7,

que es adecuado para una eliminación regioselectiva para dar el 9(11)-eno clave (es decir, la conversión del compuesto 1.7 en el compuesto 1.8).

5 El esquema de síntesis se bifurca en este punto, ya que el compuesto 1.7 puede usarse como el material de partida para la conversión o bien en el compuesto 1.8 o bien en el compuesto 1.9. La reacción de eliminación que se usa para convertir el compuesto 1.7 en el compuesto 1.8 es regioselectiva debido a la relación diaxial trans entre el grupo hidroxilo C₁₁ y el átomo de hidrógeno de C₉. De forma similar, el modo alternativo de eliminación para dar la olefina C₁₁-C₁₂ isomérica del compuesto 1.9 es regioselectivo comportando una eliminación térmica *cis* (es decir, la conversión del compuesto 1.7 en el compuesto 1.9).

10

Esquema 1A. Síntesis de los dos precusores de anillo de C del grupo hidroxilo C₁₂ de DCA

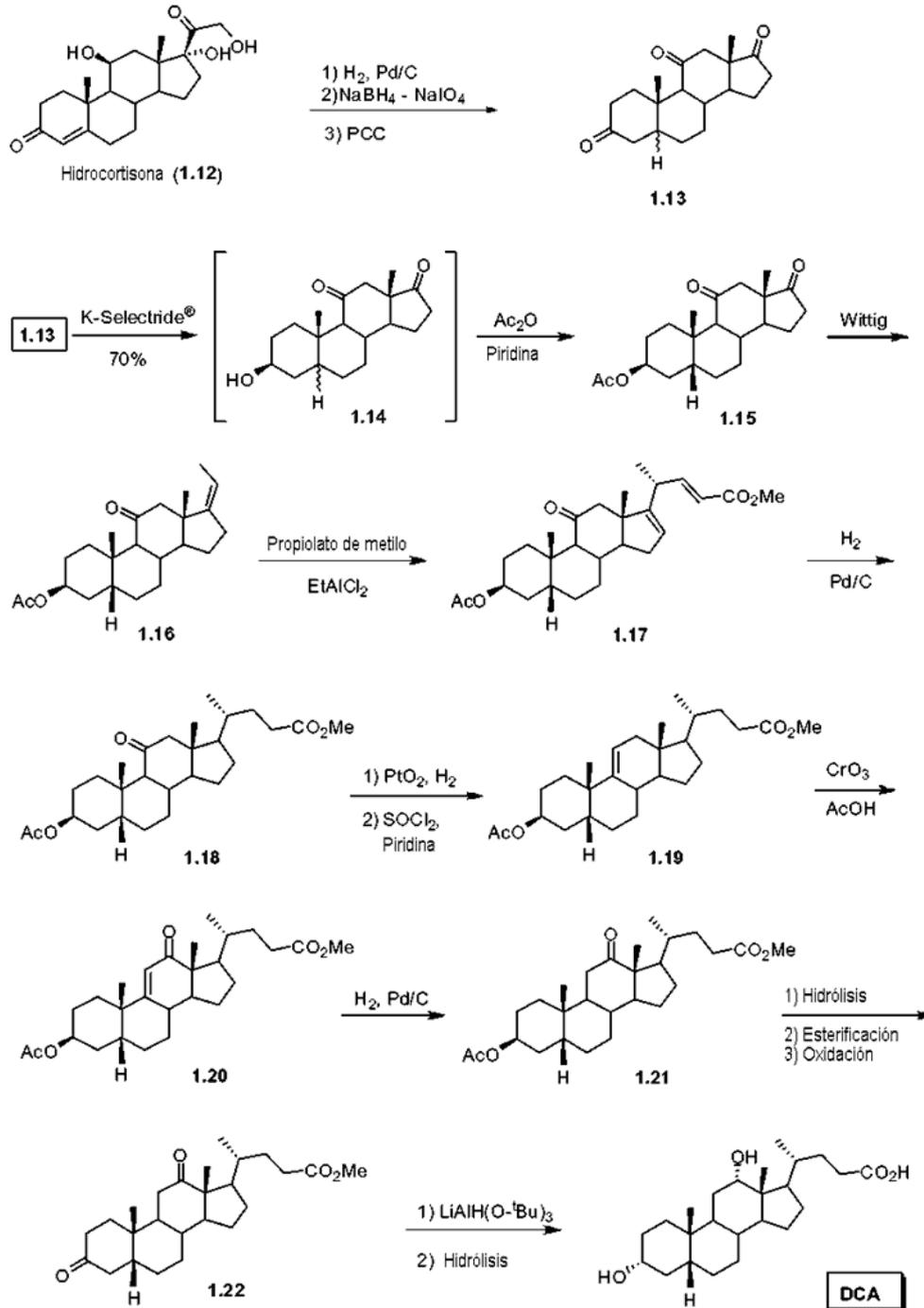


La oxidación alílica del compuesto 1.8 (por medio del tratamiento con CrO_3 y 3,5 dimetil pirazol) da el compuesto 1.10 que contiene enona. La oxidación con perácido del compuesto 1.9 avanza de forma estereoselectiva a partir de la cara alfa del esteroide para dar el compuesto 1.11 de epóxido C_{11-12} (véase el esquema 1A en lo que antecede). Estas transformaciones químicas dan los dos precursores clave de la funcionalidad de grupo hidroxilo C_{12} , en concreto, el compuesto 1.10 y el compuesto 2.1 (los esquemas 1A y 2).

Un experto en la materia apreciará que la ruta de cortisona anterior puede modificarse para comenzar en su lugar con hidrocortisona, la cual tiene el mismo esqueleto de carbono y la misma colocación relativa de átomos de oxígeno, diferenciándose la hidrocortisona de la cortisona solo en el estado de oxidación del átomo de carbono que porta oxígeno C-11. La hidrocortisona se encuentra comercialmente disponible y se conocen diversas formas de síntesis de este compuesto (Szczebara y col. *Nature Biotechnology* 21: 143 - 149 (Feb. de 2003)) incluyendo una síntesis química total (Woodward R. B. y col. *J. Am. Chem. Soc.* 74: 4223 (1952)). La cetona 1.13 se sintetiza comenzando a partir de hidrocortisona 1.12 (el esquema 1B) por medio de hidrogenólisis del enlace doble α,β -insaturado, seguido por la reducción de cetona global usando borohidruro de sodio para permitir la escisión de 1,2-diol usando NaIO_4 , formando de este modo la cetona C_{17} sobre el anillo D del sistema de anillo esteroideo. La oxidación posterior con clorocromato de piridinio (PCC) da 1.13. Tratamiento de 1.13 con K-selectride® seguido por acetilación con anhídrido acético / piridina da el alcohol protegido 1.15. La olefinación posterior de 1.15 con un reactivo de Wittig proporciona el alqueno 1.16 que a continuación se trata con propiolato de metilo y dicloruro de etil aluminio para formar el dieno 1.17. Siguiendo la hidrogenación de ambos enlaces dobles, la cetona 1.18 se reduce y el producto intermedio de alcohol resultante se elimina tras el tratamiento con SOCl_2 en piridina para dar el alqueno 1.19. La oxidación alílica del alqueno 1.19 con CrO_3 y la reducción del enlace doble bajo unas condiciones de hidrogenación da la cetona 1.21. La eliminación del grupo protector de acetato y la oxidación del alcohol resultante da la dicetona 1.22. La reducción de 1.22 con $\text{LiAlH}(\text{O}^t\text{Bu})_3$ y la hidrólisis del éster metílico da DCA.

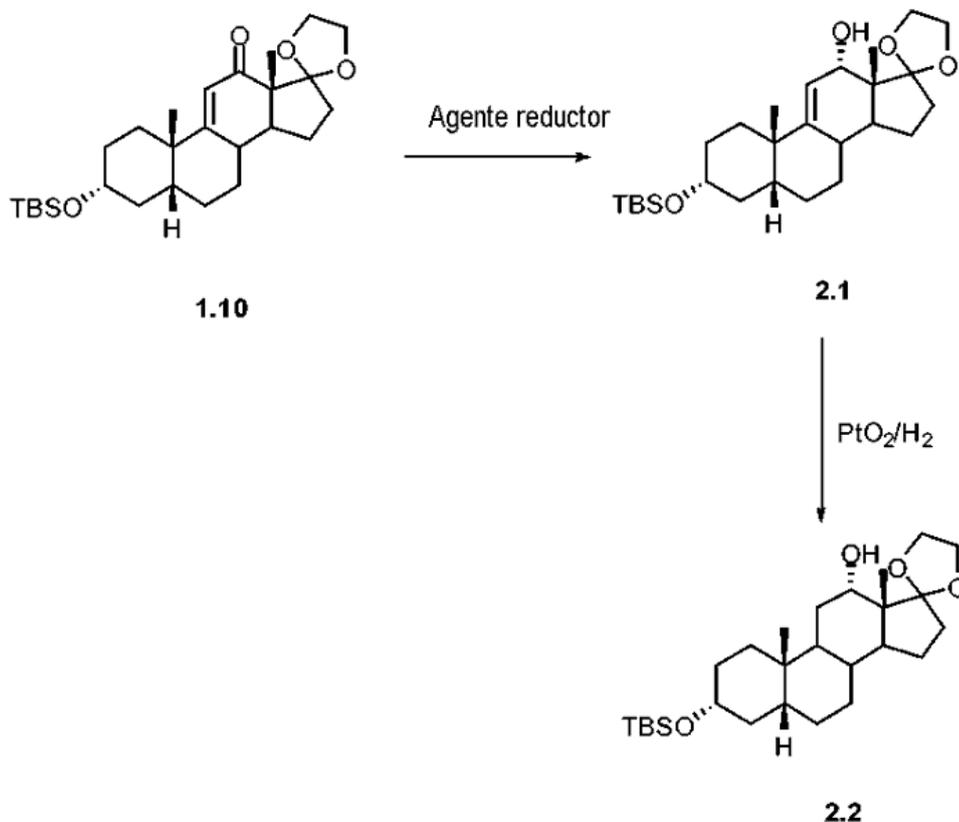
25

Esquema 1B. Síntesis de DCA a partir de hidrocortisona



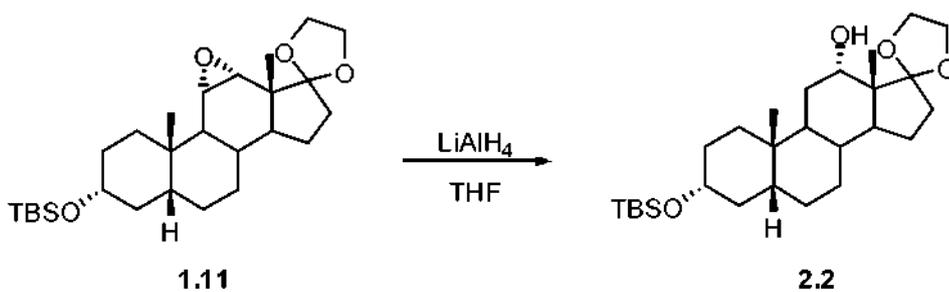
- 5 En el esquema 2 se muestran transformaciones adicionales de los compuestos 1.10 y 2.1. En primer lugar, el compuesto 1.10 se modifica para contener un sistema de anillo C apropiadamente funcionalizado idéntico al de DCA (el esquema 2). La reducción estereoselectiva del grupo carbonilo C₁₂ da el compuesto 2.1 y la hidrogenación catalítica del enlace doble de 9(11) presente en el compuesto 2.1 da el compuesto 2.2.

Esquema 2. Introducción de un grupo hidroxilo C₁₂ usando la ruta de oxidación alílica



5 El esquema 3 presenta la transformación del compuesto 1.11 que contiene epóxido en el compuesto 2.2 de α -hidroxi esteroide de C₁₂ análogo del esquema 2.

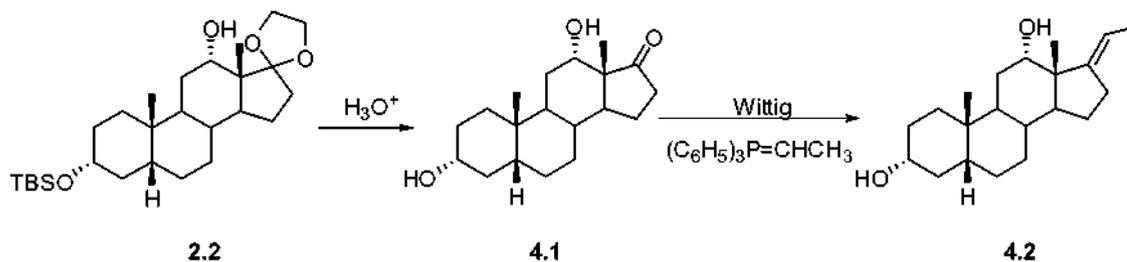
Esquema 3. Reducción estereoselectiva de epóxido C₁₁-C₁₂



10 Tal como se ha mencionado en lo que antecede en ambas de estas rutas se forma el compuesto intermedio común 2.2.

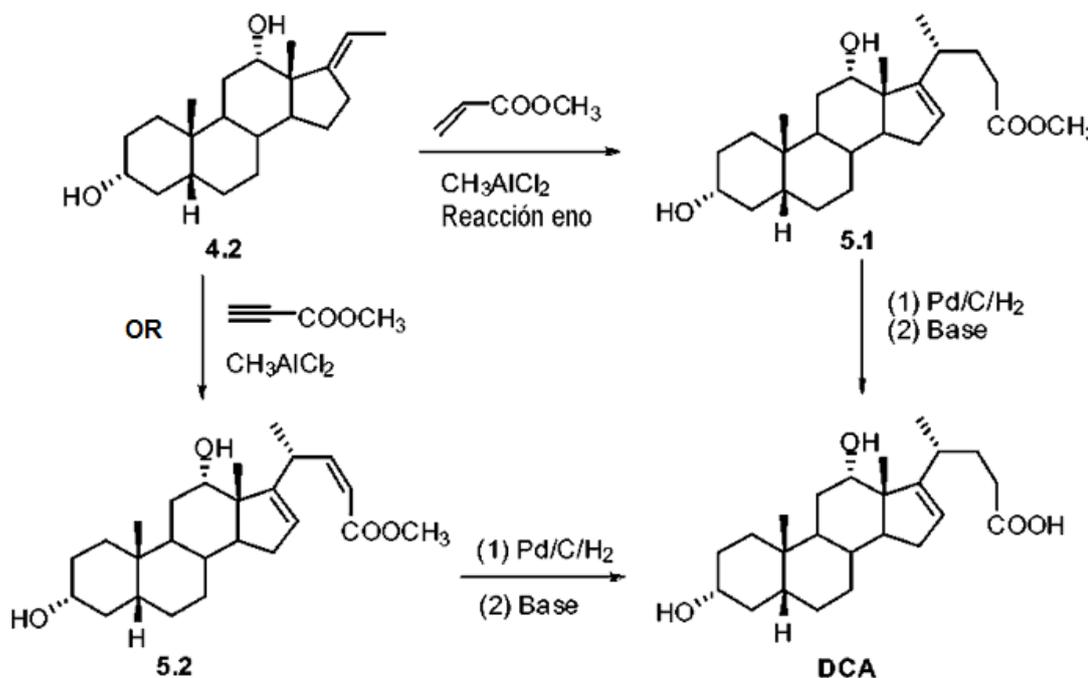
15 La siguiente etapa en la síntesis de DCA es la modificación del anillo D presente en el compuesto 2.2 de tal modo que este contiene el anillo D sustituido con cadena lateral carboxílica de DCA (el esquema 4 y el esquema 5).

Esquema 4. Desprotección y reacción de Wittig



5 En primer lugar, se hidrolizan el cetal C₁₇ y los grupos de silil éter C₃ del compuesto 2.2. A continuación se realiza la reacción de Wittig para dar el compuesto 4.2. La conversión del compuesto 4.2 en el compuesto 5.1 se lleva a cabo por medio de una reacción *eno*. La reducción catalítica posterior del compuesto 5.1 y la hidrólisis del éster da DCA (el esquema 5).

10 Esquema 5. Reacción *eno* y reducción catalítica para la instalación de cadena lateral de DCA

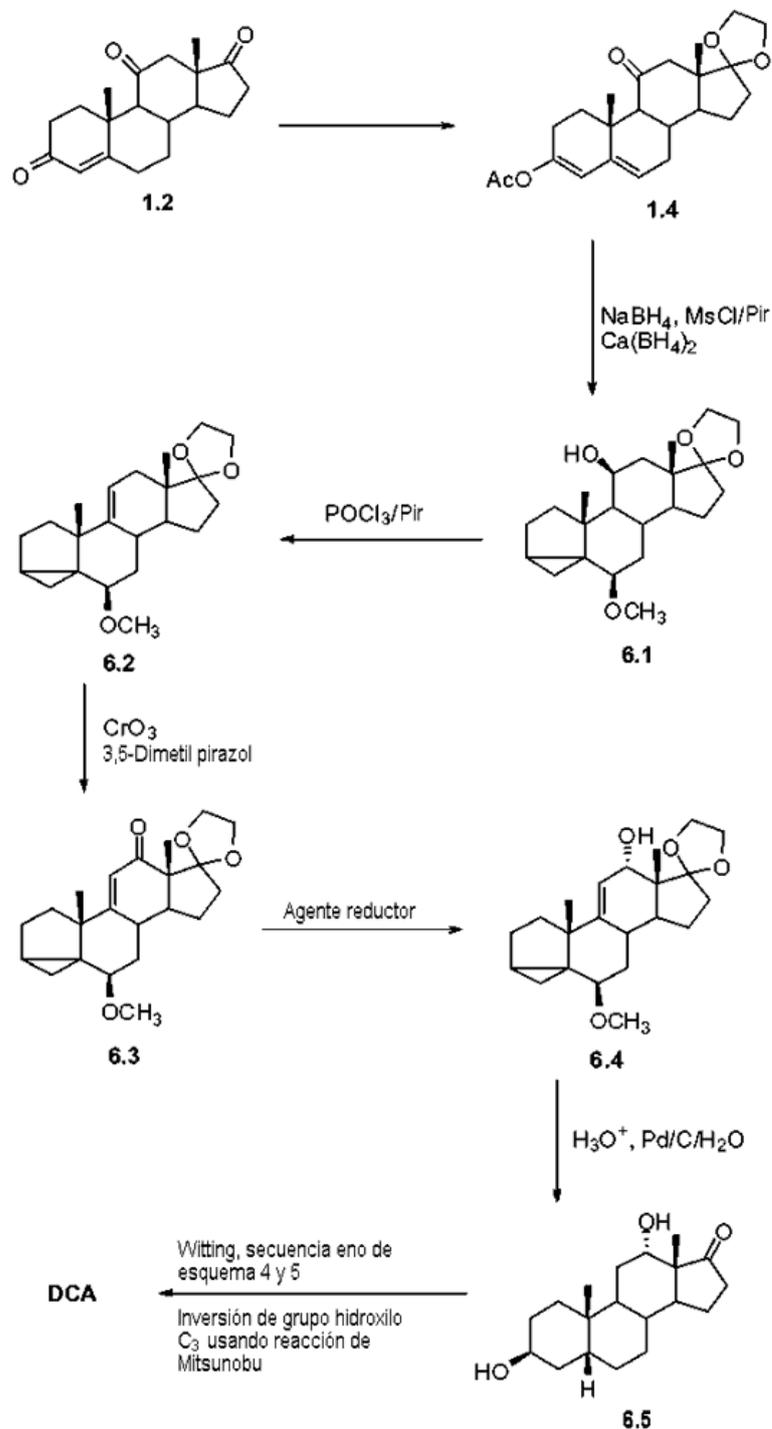


2. Ruta de síntesis N° 2 a partir de cortisona por medio de Adrenosterona (el i-esteroide, ruta de 3,5-ciclosterol)

15 La cetilización selectiva de adrenosterona (el compuesto 1.2, esquema 6) en C₁₇, la reducción de borohidruro, la mesilación y la hidrólisis tamponada da el compuesto 6.1 que contiene i-esteroide (3,5-ciclosterol). El compuesto 6.1 experimenta la formación de 9(11)-*eno* (la conversión del compuesto 6.1 en el compuesto 6.2, esquema 6) y la oxidación alílica (la conversión del compuesto 6.2 en el compuesto 6.3, esquema 6) seguido por la reducción del grupo carbonilo para dar el compuesto 6.4. La hidrólisis del i-esterol y la hidrogenación da el compuesto 6.5, que puede convertirse en DCA mediante métodos de síntesis que se han presentado en lo que antecede en la ruta de síntesis N° 1.

20

Esquema 6. Protección de sistema de anillo A-B mediante formación de i-esteroide (es decir, 3,5-ciclosterol)



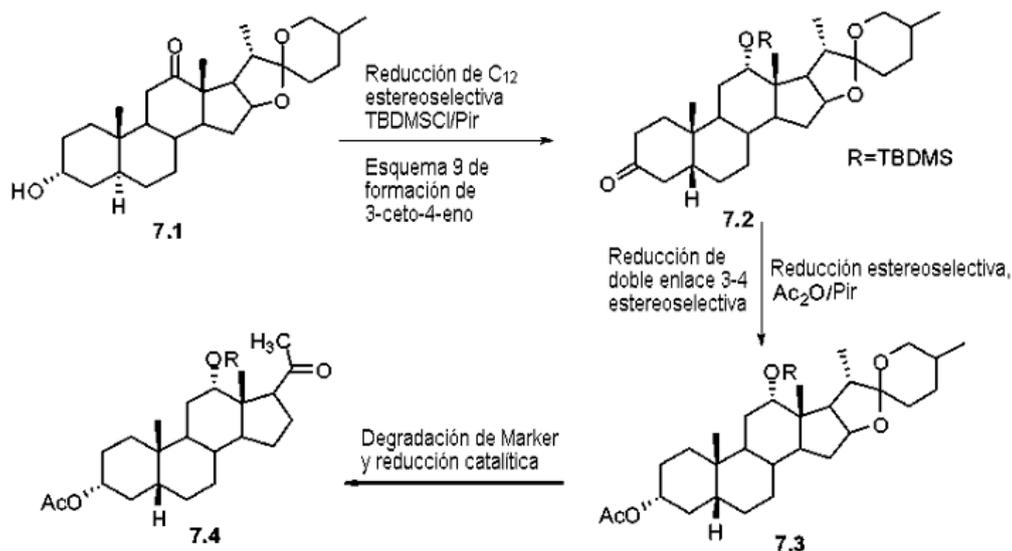
5 3. Ruta de síntesis N° 3 a partir de la hecogenina

La hecogenina (el compuesto 7.1, esquema 7) es un esteroide vegetal que se halla abundantemente en los ñames mexicanos y otras plantas de las especies de Agave. La ventaja principal de la hecogenina como un material de partida para la síntesis de DCA es que esta posee una funcionalidad de oxígeno de C₁₂ tal como se encuentra presente en el DCA.

La primera etapa en la ruta de síntesis comenzando a partir de la hecogenina es la reducción estereoselectiva del grupo carbonilo C₁₂ en la hecogenina (el compuesto 7.1) a la configuración C₁₂-α necesaria (la conversión del compuesto 7.1 en el compuesto 7.2). A continuación el sistema de anillo 3-β-ol, 5α-AB se convierte en el sistema de anillo 3 α-ol, 5β-AB (la conversión del compuesto 7.1, en el compuesto 7.2, y en el compuesto 7.3) (el esquema 7).

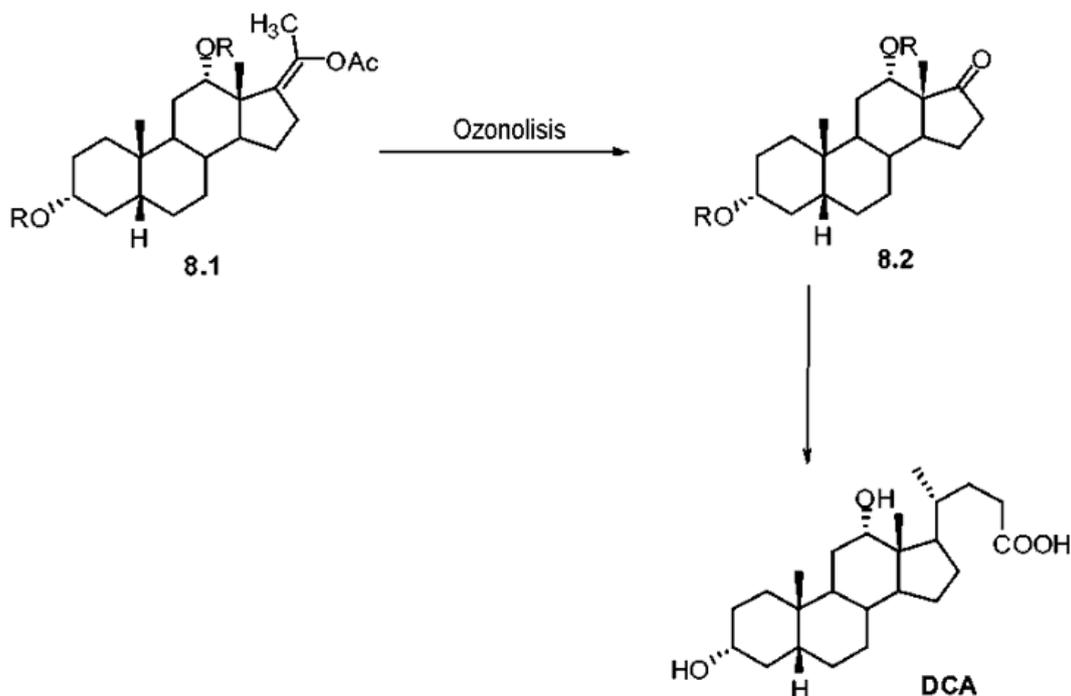
La bien conocida degradación de Marker (Marker, R. E., Rohrmann, E., *Sterols. LXIX. Oxidation Products of Sarsasapogenin. Sarsasapogenoic Acid and Related Substances, J. Am. Chem. Soc.*, 61 (8): p. 2072 - 2077 (1939)) sigue la conversión del compuesto 7.2 en el compuesto 7.3 para dar el compuesto 7.4. La instalación de la cadena lateral de anillo D (el esquema 8) en el compuesto 8.2 se logra por medio de métodos que se muestran en los esquemas 4 y 5. La cetona C₁₇ necesaria en el compuesto 8.2 se forma por ozonólisis del acetato de enol del compuesto 8.1 (el esquema 8). A continuación, el DCA se prepara a partir de 8.2 de una forma similar a la del esquema 5 usando la secuencia de olefinación y de reacción eno. En los esquemas 9 y 10 se muestran rutas alternativas comenzando a partir de la hecogenina.

10 Esquema 7. Introducción de grupo hidroxilo C₁₂, modificación de anillo AB y escisión de cadena lateral

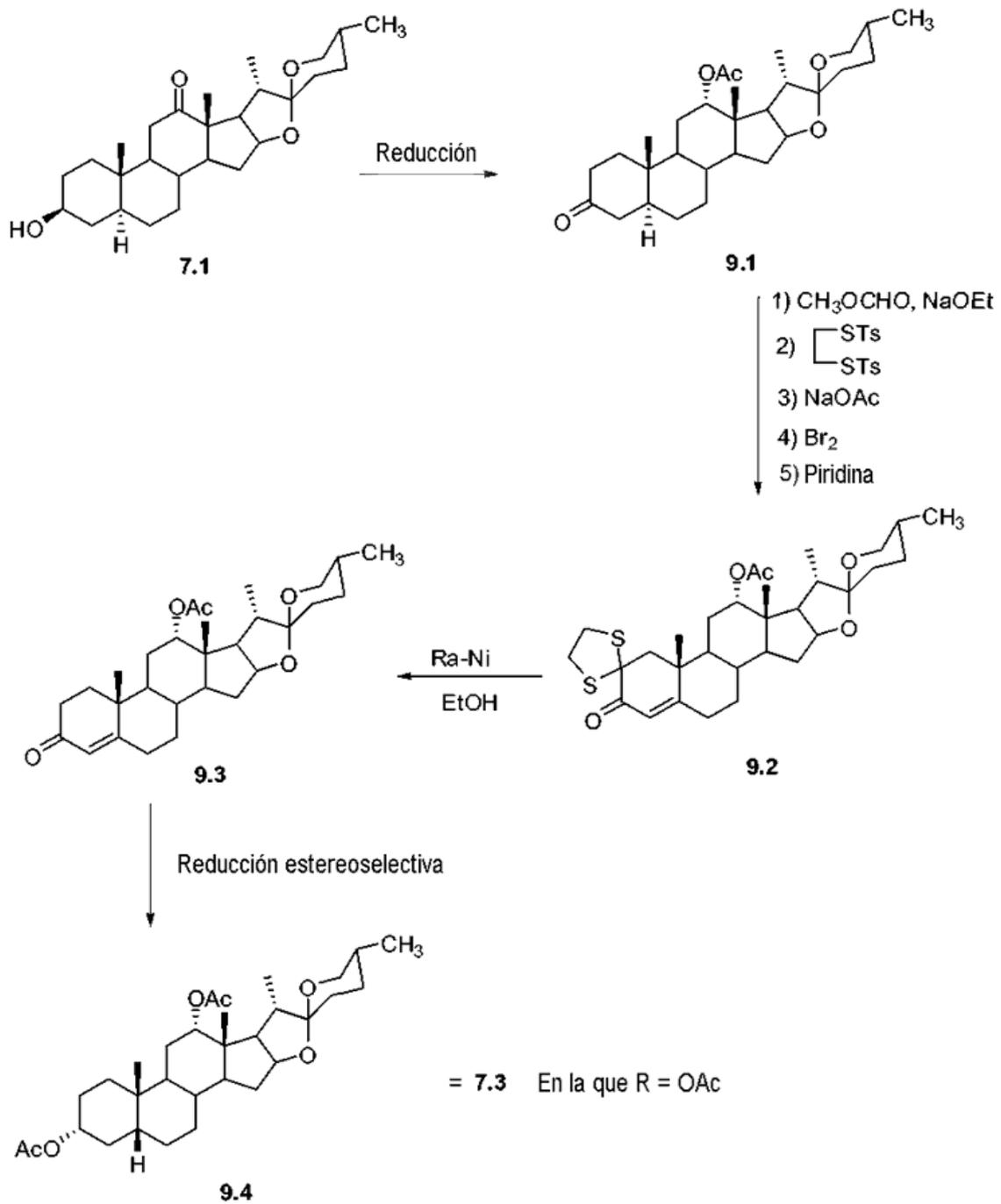


Esquema 8. Introducción de cadena lateral

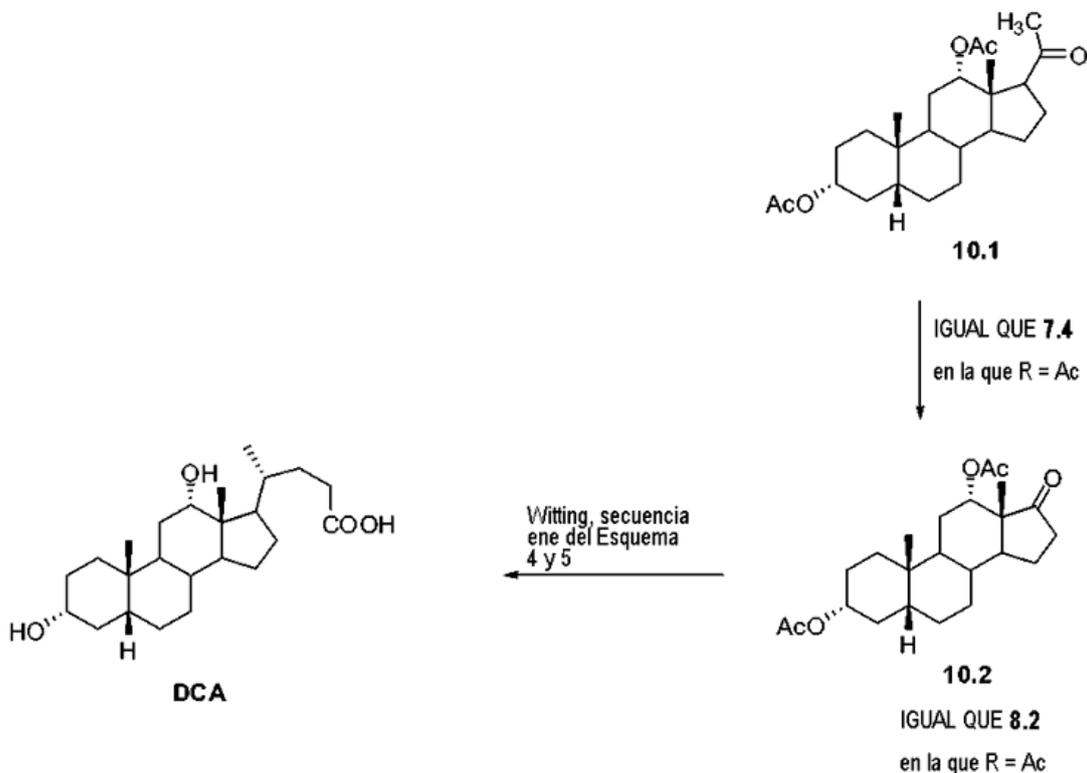
15



Esquema 9. Ruta de ditioetano para 3-ceto-4-eno



Esquema 10A. Formación de DCA por medio del 3-ceto-4-eno

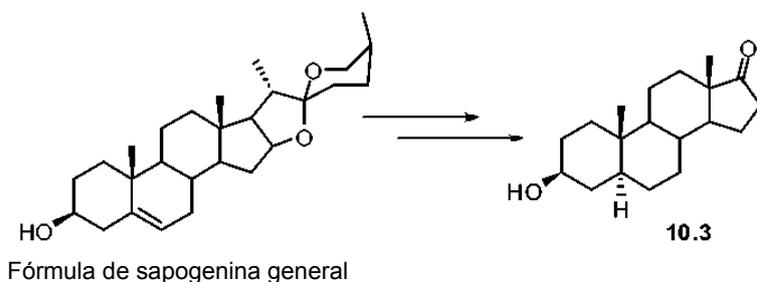


5 4. Ruta de síntesis N° 4 a partir de Saponinas

Las saponinas se derivan de la hidrólisis de los sacáridos y disacáridos unidos al grupo hidroxilo C₃ de las saponinas (es decir, glicósidos de esteroides). Estos son productos vegetales de aparición generalizada. La saponina aparece en la naturaleza como una estructura de espirocetal tal como se muestra en lo sucesivo. Así mismo, el compuesto 10.3 puede formarse a partir de tigogenina, diosgenina, clorogenina, esmilagenina y hecogenina (el compuesto 7.1). Los inventores de la presente invención creen que el DCA podría sintetizarse a partir de cada una de estas, en concreto, tigogenina, diosgenina, clorogenina, esmilagenina y hecogenina (el compuesto 7.1). (Y. Mazur, N. Danieli y Franz Sondheimer, *J. Am. Chem. Soc.*; 82, 5809 (1960)).

15 Debido a que los inventores de la presente invención podrían sintetizar DCA a partir de la hecogenina, estos reconocen que cualquiera de las saponinas anteriores podría servir de forma similar como un material de partida para la síntesis de DCA.

20 Esquema 10B. Ruta de síntesis a partir de saponina



25 5. Ruta de síntesis N° 5 a partir de estigmasterol

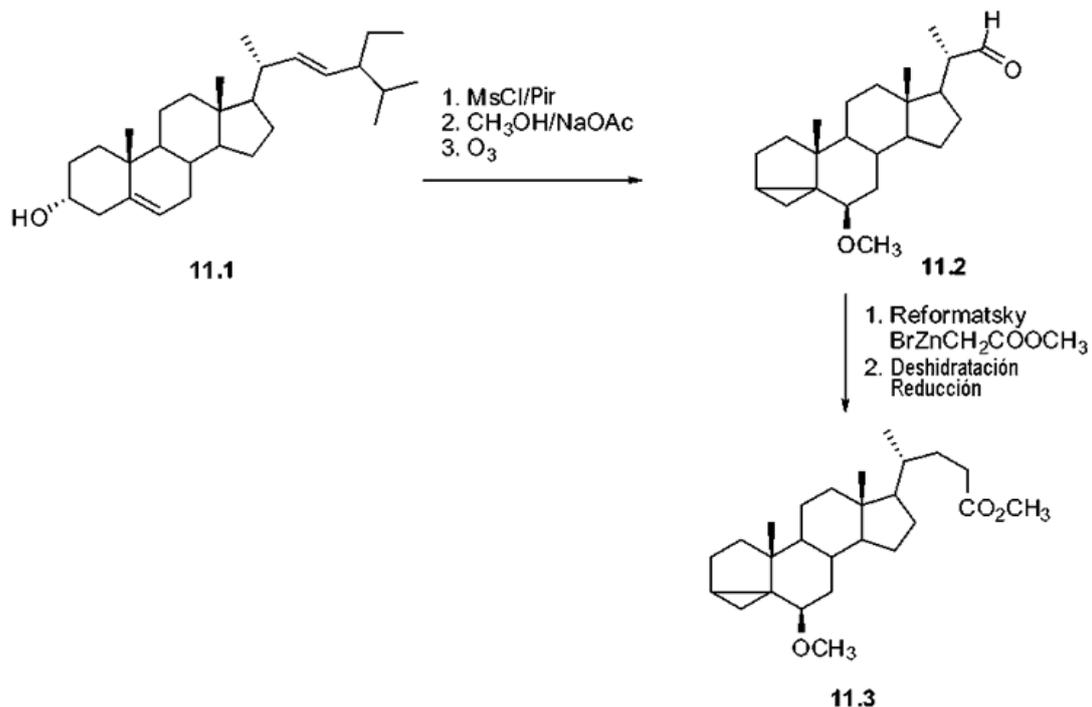
El estigmasterol (el compuesto 11.1) es un esteroide vegetal disponible de forma generalizada. Como un material de partida para la síntesis de DCA, este presenta una ventaja ya que este contiene un sistema de anillo AB funcionalizado y un resto de cadena lateral fácilmente escindible. Este presenta una desventaja ya que carece de la funcionalidad requerida en el anillo C esencial para la síntesis de DCA.

En esta ruta de síntesis, el anillo AB de estigmasterol (el compuesto 11.1) se protege mediante la formación de i-esteroide seguido por ozonolisis para dar una cadena lateral en C₁₇ instalada y reducida al C₂₄-ol como una forma enmascarada del grupo carboxilo (el esquema 11). Las etapas posteriores generan una posición alílica en C₁₂ (el esquema 12). La formación de dieno de anillo B y la oxidación de acetato mercúrico son procesos conocidos y la reducción catalítica del sistema de anillo B da un producto intermedio común con rutas previas que se han descrito en lo que antecede. No obstante, en contraste con otras rutas, la cadena lateral ya se encuentra presente. La oxidación alílica (la conversión del compuesto 12.4 en el compuesto 1.20) y la reducción estereoselectiva (la conversión del compuesto 1.20 en el compuesto 1.21) seguido por etapas que se han analizado previamente, da un producto que se convierte en DCA.

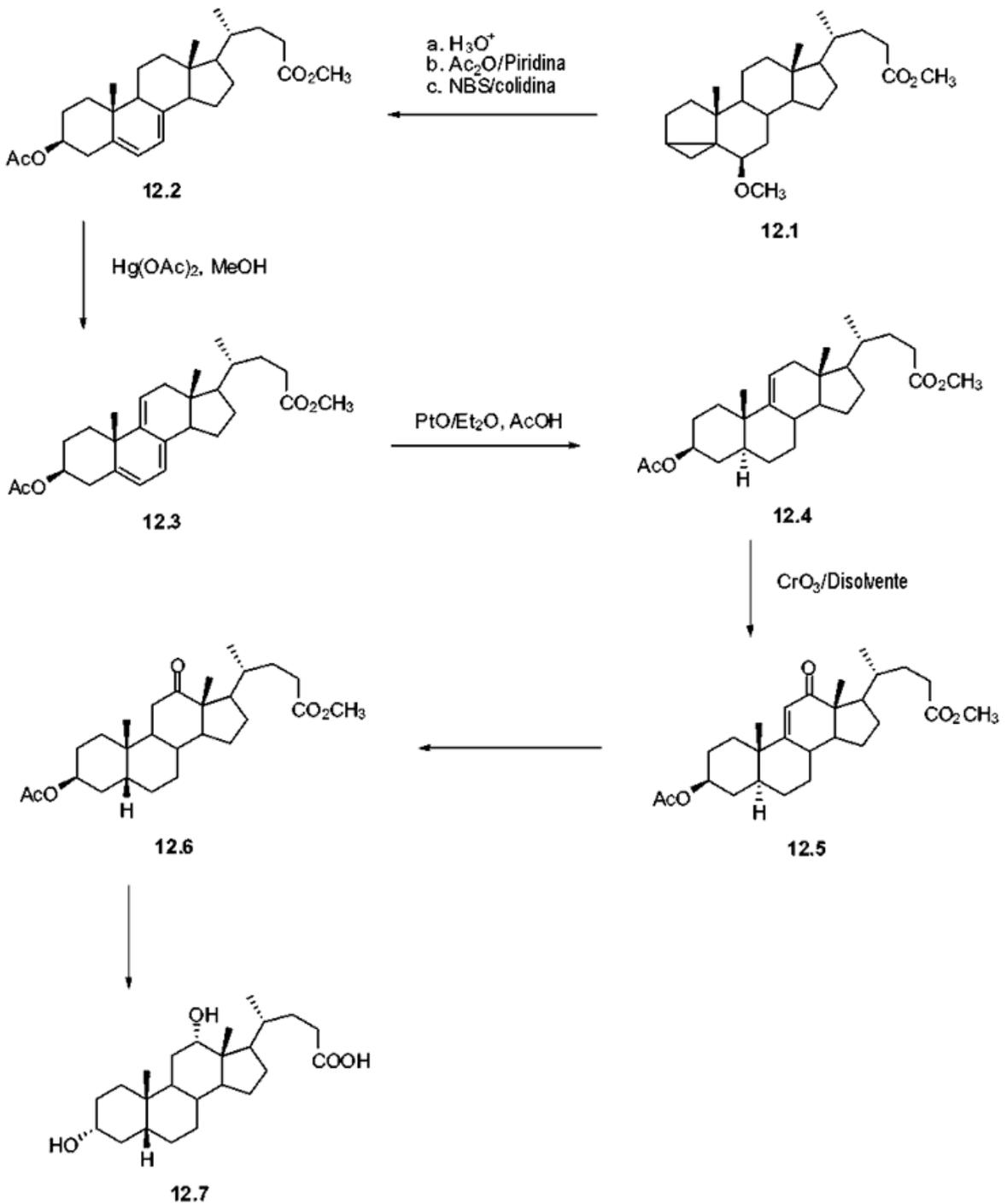
5

10

Esquema 11. Ozonolisis de i-esteroide y reducción de cadena lateral

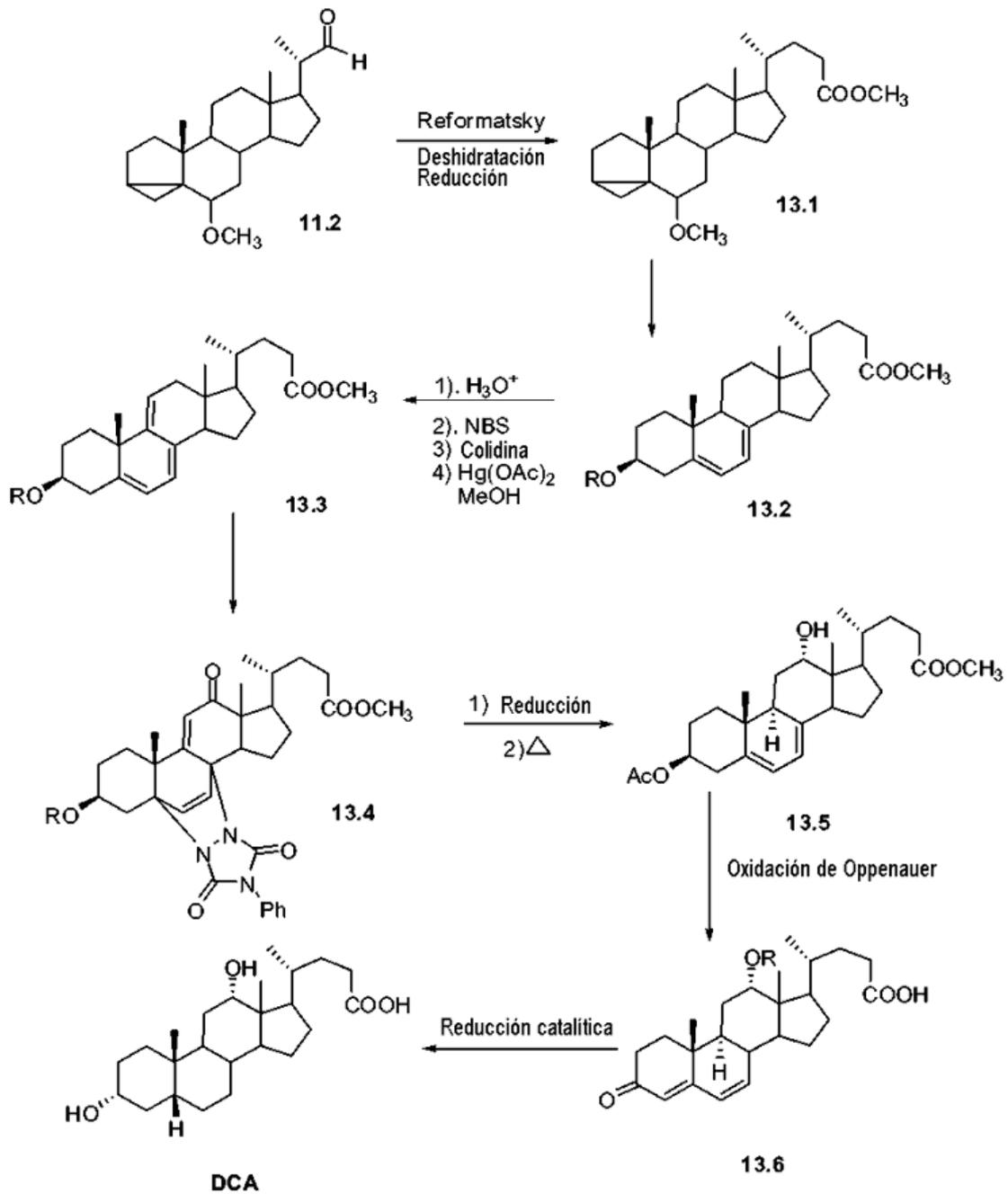


Esquema 12. Formación de trieno y oxidación alílica



- 5 Una variación de la ruta de estigmasterol usa la protección de Diels-Alder del dieno de anillo B. Esto es ventajoso debido a que esta aísla el enlace doble de 9(11) para evitar la posible interferencia durante las etapas de oxidación alílica (el esquema 13).

Esquema 13. Formación de trieno y protección de Diels-Alder del dieno de anillo B

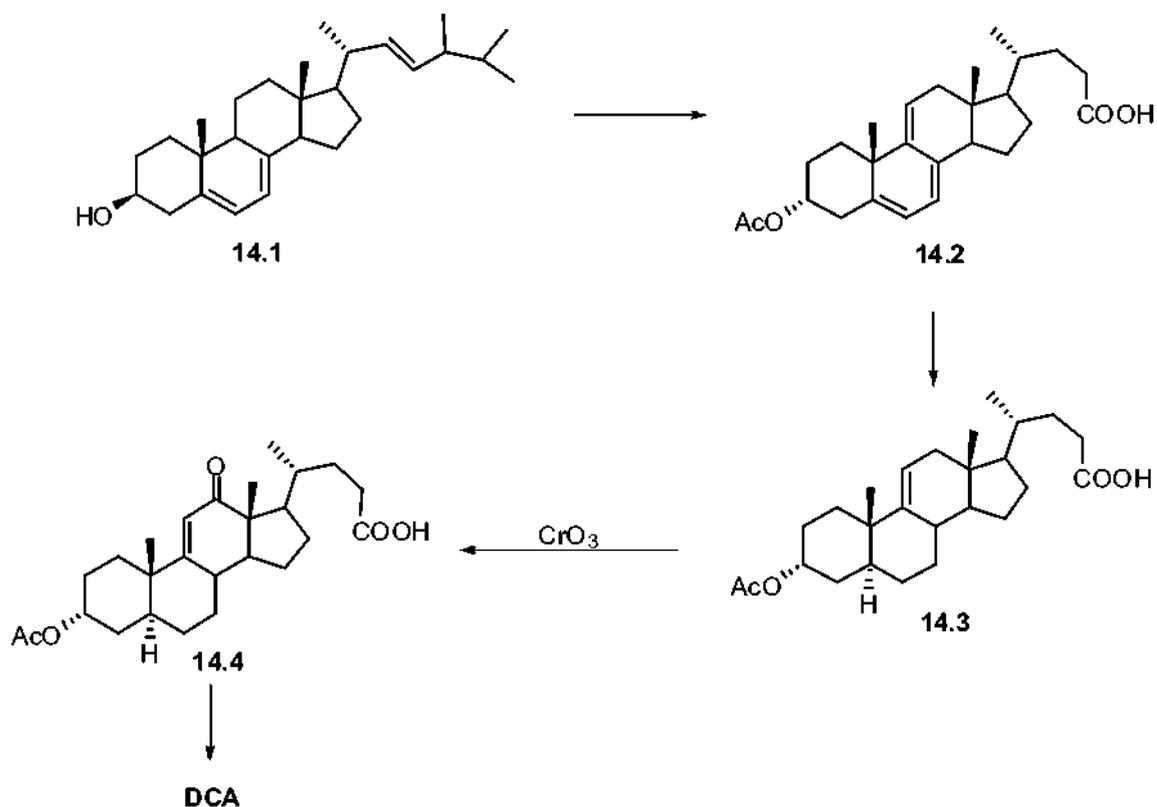


5 6. Ruta de síntesis N° 6 a partir de Ergosterol

El ergosterol (el compuesto 14.1) es un material de partida inmediatamente disponible y puede usarse para preparar DCA mediante la adaptación de los procedimientos que se exponen en la presente solicitud. La oxidación alílica ofrece una ruta simple para la funcionalidad de oxígeno de C₁₂ (el esquema 14). Esta ruta presenta la ventaja de comenzar con el dieno de anillo B. Esta es convergente con la ruta de estigmasterol.

10

Esquema 14. Formación de trieno a partir de Ergosterol



5 Los compuestos de realizaciones preferidas pueden prepararse a partir de materiales de partida inmediatamente disponibles usando los siguientes métodos y procedimientos generales. Se apreciará que, cuando se dan unas condiciones de proceso típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactivos, disolventes, presiones, etc.), también pueden usarse otras condiciones de proceso a menos que se especifique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactivos o disolvente
10 particulares que se usen, pero tales condiciones pueden determinarse por un experto en la materia mediante procedimientos de optimización de rutina.

Adicionalmente, tal como será evidente para los expertos en la materia, pueden ser necesarios grupos protectores convencionales para evitar que determinados grupos funcionales experimenten unas reacciones no deseadas. Se conocen bien en la técnica grupos protectores adecuados para diversos grupos funcionales así como condiciones
15 adecuadas para proteger y desproteger grupos funcionales particulares. Por ejemplo, se describen numerosos grupos protectores en T. W. Greene y G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Tercera Edición, Wiley, Nueva York, 1999, y referencias que se citan en el mismo.

20 Los materiales de partida y los reactivos para las reacciones que se describen en el presente documento son compuestos generalmente conocidos o pueden prepararse mediante procedimientos conocidos o modificaciones obvias de los mismos. Por ejemplo, muchos de los materiales de partida y los reactivos se encuentran disponibles de proveedores comerciales tales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, EE. UU.), Bachem (Torrance,
25 California, EE. UU.), Emka-Chem o Sigma (St. Louis, Misuri, EE. UU.). Otros pueden prepararse mediante procedimientos, o modificaciones obvias de los mismos, que se describen en textos de referencia convencionales tales como *Reagents for Organic Synthesis* de Fieser y Fieser, Volúmenes 1 - 15 (John Wiley and Sons, 1991), *Chemistry of Carbon Compounds* de Rodd, Volúmenes 1 - 5 y Complementarios (Elsevier Science Publishers, 1989), *Organic Reactions*, Volúmenes 1 - 40 (John Wiley and Sons, 1991), *Advanced Organic Chemistry* de March, (John Wiley and Sons, 4ª Edición) y *Comprehensive Organic Transformations* de Larock (VCH Publishers Inc.,
30 1989).

Ejemplos

35 Los diversos materiales de partida, productos intermedios y compuestos de las realizaciones preferidas pueden aislarse y purificarse cuando sea apropiado usando técnicas convencionales tales como precipitación, filtración, cristalización, evaporación, destilación y cromatografía. La caracterización de estos compuestos puede realizarse

usando métodos convencionales tales como mediante análisis de punto de fusión, de espectro de masas, de resonancia magnética nuclear y diversos otros análisis espectroscópicos.

- 5 En lo sucesivo se describen con más detalle unas realizaciones a modo de ejemplo de etapas para realizar la síntesis de productos en la ruta de síntesis N° 1, esquema 1B. La tabla 3 describe abreviaturas que se usan para expresar diversos compuestos / restos / aparatos / procedimiento / propiedad en los esquemas de reacción y las rutas de síntesis a modo de ejemplo que se describen en los siguientes ejemplos y por la totalidad de la memoria descriptiva.

10

Tabla 3

AcOH	Ácido acético
CAN o CH ₃ CN	Acetonitrilo
Ac ₂ O	Anhídrido acético
AcCl	Cloruro de acetilo
NH ₄ Cl	Cloruro de amonio
d. a.	Doblete ancho
CHCl ₃	Cloroformo
CrO ₃	Trióxido de cromo
Conc.	concentrado
DCA	Ácido desoxicólico
DCM (CH ₂ Cl ₂)	Diclorometano
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetil sulfóxido
d	Doblete
dd	Doble doblete
dt	Doble triplete
EtOH	Etanol
EtOAc	Acetato de etilo
EtAlCl ₂	Dicloruro de etil aluminio
g	Gramo
Hz	Hercio
HPLC	Cromatografía líquida de alta presión
HCl	Ácido clorhídrico
LAH	Hidruro de litio y aluminio
LiAl(O ^t Bu) ₃ H	Hidruro de litio y tri- <i>tert</i> -butoxialuminio
LiOH	Hidróxido de litio
MgSO ₄	Sulfato de magnesio
MHz	Megahercio
MeOH	Metanol
μL	microlitro
mmol	milimol
ml	mililitro
mm	milímetro
min	minuto
mol	mol
m	multiplete
Obs	Observado
Pd / C	Paladio sobre carbono
HClO ₄	Ácido perclórico
PtO ₂	Óxido de platino
KBr	Bromuro de potasio

K-O ^t Bu	<i>tert</i> -Butóxido de potasio
PCC	Clorocromato de piridinio
q	cuartete
Notif	Notificado
s	singlete
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
NaBH ₄	Borohidruro de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
NaIO ₄	Peryodato de sodio
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
THF	Tetrahidrofurano
SOCl ₂	Cloruro de tionilo
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético
CCF	Cromatografía de capa fina
p	Peso

5 General: las manipulaciones de los materiales sensibles al oxígeno y a la humedad se realizan con matraces de dos bocas secados con llama bajo una atmósfera inerte de argón. La cromatografía en columna se realiza usando gel de sílice de SE-Make (60 - 120 de malla), gel de sílice de Spectrochem (230 - 400 de malla) u óxido de aluminio 90-neutral. (SD-Fine Chem. Ltd., India). La cromatografía de capa fina (CCF) analítica se realizó sobre placas Merck Kieselgel 60 F₂₅₄ (0,25 mm) (Merck & Co., Whitehouse Station, NJ). La visualización de manchas se detectó o bien mediante lámpara de luz UV (254 nm) o bien mediante carbonización con una solución de ácido sulfúrico (5 %) y *p*-anisaldehído (3 %) en etanol.

10 Aparatos: el análisis de los compuestos y productos de los esquemas de reacción y las rutas de síntesis que se describen en el presente documento pueden realizarse sobre los aparatos y el equipo que se describen en lo sucesivo.

15 *Resonancia magnética nuclear (RMN)*

Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón y de carbono (RMN de ¹H y RMN de ¹³C) se registran en un espectrómetro Varian Mercury-Gemini 200 (RMN de ¹H, 200 MHz; RMN de ¹³C, 50 MHz) o un Varian Mercury-Inova 500 (RMN de ¹H, 500 MHz; RMN de ¹³C, 125 MHz) (Varian, Inc., Palo Alto, CA) con resonancias de disolvente según los patrones internos (RMN de ¹H, CHCl₃ a 7,26 ppm o DMSO a 2,5 ppm y DMSO - H₂O a 3,33 ppm; RMN de ¹³C, CDCl₃ a 77,0 ppm o DMSO a 39,5 ppm). Los datos de RMN de ¹H se notifican tal como sigue: desplazamiento químico (σ, ppm), multiplicidad (s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuartete, a = ancho, m = multiplete), constantes de acoplamiento (Hz) e integración.

25 *Espectroscopía infrarroja*

Los espectros infrarrojos (FT-IR) se realizan en un modelo JASCO-460⁺ (Jasco, Inc., Easton, MD). Los espectros de masas se obtienen con un espectrómetro API-2000 de Perkin Elmer (Perkin Elmer, Inc., Waltham, MA) usando modo de ES⁺.

30 *Punto de fusión*

Los puntos de fusión se determinaron usando un aparato de medición de punto de fusión de LAB-INDIA (Labindia Instruments Pvt. Ltd., India) y no se corrigen.

35 *Cromatografía líquida de alta presión*

Los cromatogramas de HPLC se registraron usando un modelo SHIMADZU-2010 con un detector PDA (Shimadzu Corp., Japón).

40 *Actividad óptica*

Las rotaciones ópticas ([α]_D) específicas se determinan empleando un JASCO-1020 a 589 nm (Jasco, Inc., Easton, MD) y no se corrigen.

Productos químicos: A menos que se haga notar lo contrario, los reactivos comercialmente disponibles se usan sin purificación. Dietil éter y THF se destilan a partir de sodio / cetilo benzofenona. DMF anhidro, DCM, pentano y hexano se obtienen mediante destilación a partir de CaH₂.

5 Ejemplo 1

Preparación de Androstano-3,11,17-triona (1.13)

10 10 % de Pd / C (2,5 g, 5 % en peso) se añade a una solución de hidrocortisona (el compuesto 1.12) (50,0 g, 138,12 mmol) en DMF (250 ml). La pasta resultante se hidrogena en un aparato de Parr (50 psi, 345 kPa) durante 12 h. Tras la completa desaparición del material de partida, tal como se pone de manifiesto por CCF, la mezcla de reacción en bruto se filtra a través de un pequeño tapón de Celite, y el disolvente se retira a vacío. El producto en bruto (48,0 g) se obtiene como un sólido incoloro.

15 NaBH₄ (2,1 g, 55,3 mmol) se añade a una solución del producto en bruto anterior (48,0 g, 131,86 mmol) en EtOH (500 ml) y CH₂Cl₂ (500 ml). Después de 1 h, se añaden acetona (50 ml) y agua (150 ml), seguido por NaIO₄ (70,5 g, 329,6 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche.

20 Se añade agua destilada (500 ml) y la mezcla se extrae con acetato de etilo (3 x 250 ml). La capa de acetato de etilo se lava abundantemente a través de un tapón de gel de sílice y el disolvente se evapora para dar 38 g como un sólido incoloro. El producto en bruto se oxida adicionalmente sin purificación.

25 Se añade PCC (40,4 g, 187,5 mmol) a una solución del producto en bruto anterior en CH₂Cl₂ (400 ml) en 3 porciones iguales a lo largo de 30 minutos. La mezcla de reacción resultante se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 3 - 4 h. Tras la compleción de la reacción, según la supervisión mediante CCF, la mezcla de reacción en bruto se filtra de forma secuencial a través de lechos de Celite y gel de sílice y el material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna [59 (anchura) x 700 (longitud) mm, sílice de 60 - 120 de malla, 150 g], eluyendo con acetato de etilo / hexano (3 : 10) [fracciones de 50 ml, elución de 10 ml / min, con supervisión mediante CCF con carbonización de *p*-anisaldehído; R_f para el compuesto 1.13 = 0,37 y R_f para el compuesto 1.12 = 0,05 en EtOAc / hexano (1 : 1)] para proporcionar el compuesto diastereomérico 1.13 (33,0 g, 79 % de rendimiento) como un sólido incoloro.

35 El material en bruto obtenido se purificó por HPLC preparativa usando una columna Fenomenex Lunov C18 (250 x 30,0 mm, 10 μ) y elución isocrática con CH₃CN : H₂O (12 : 13) con un caudal de 25 ml / min en fracciones de 15 ml. La HPLC preparativa se usa solo para purificación, pero no para análisis. La tabla 4 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 4

RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 2,76 (dt, J = 4,0, 15,0 Hz, 1H), 2,62 - 2,35 (m, 5H), 2,33 - 2,24 (m, 1H), 2,23 - 2,05 (m, 4H), 2,02 - 1,88 (m, 3H), 1,81 (d. a., J = 14,0 Hz, 2H), 1,72 - 1,61 (m, 1H), 1,57 - 1,48 (m, 1H), 1,47 - 1,32 (m, 2H), 1,26 (s, 3H), 0,86 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 216,9, 211,8, 208,4, 52,3, 50,3, 50,2, 50,0, 44,5, 41,9, 37,1, 36,0, 35,9, 35,8, 34,3, 25,6, 25,0, 22,2, 21,3, 14,5
Masa (m / z)	303,2 [M ⁺ + 1], 320,1 [M ⁺ + 18]
IR (KBr)	3443, 2916, 1729, 1705, 1466, 1379, 1044 cm ⁻¹
p. f.	128,9 - 131 °C (a partir de CH ₂ Cl ₂ / hexano) (observado); 128 - 131 °C (Rep. E. Caspi <i>J. Org. Chem.</i> , 24, 669 (1959))
[α] _D	+139 (c = 1 en CHCl ₃).
Pureza de HPLC	98,6 %, tiempo de ret. = 16,61, (Hypersil BDS C18; 250 x 4,6 mm, 5 μ), ACN : TEA 5 mM pH 2,5 con HClO ₄ (Gradiente), absorbancia a 205 nm

40 Ejemplo 2

3β-Hidroxi-androstano-11,17-diona (1.14)

45 K-selectride® (98,39 ml, 98,01 mmol, solución 1 M en THF) se añade a una solución del compuesto 1.13 (33,0 g, 109,27 mmol) en THF (330 ml) a lo largo de 15 minutos bajo una atmósfera inerte a -78 °C y se agita durante aproximadamente 3 - 4 h a -78 °C. La mezcla de reacción se interrumpe con una solución de NaOH acuosa (2 M, 70 ml). La mezcla de reacción en bruto se diluye con acetato de etilo (500 ml) y la capa orgánica se lava con agua (3 x 75 ml), una solución de salmuera saturada (100 ml) y se seca sobre MgSO₄ (75 g). El disolvente se retira a vacío para dar 33 g del material en bruto. El producto en bruto se somete a acetilación sin purificación.

50

Purificación del material en bruto

5 El material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna [29 (anchura) x 600 (longitud) mm, sílice de 230 - 400 de malla, 200 g], eluyendo con acetato de etilo / hexano (1 : 4) [fracciones de 25 ml, elución de 5 ml / min, con supervisión mediante CCF con carbonización de *p*-anisaldehído; R_f para el compuesto 1.14 = 0,3 y R_f para el compuesto 1.13 = 0,37 en EtOAc / hexano (1 : 1)] para dar el compuesto 1.14. La tabla 5 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 5

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)	δ = 4,08 (s, 1H), 2,53 (q, J = 9,0 Hz, 1H), 2,42 (d, J = 13,0 Hz, 1H), 2,34 - 2,21 (m, 3H), 2,11 - 2,04 (m, 1H), 1,98 - 1,91 (m, 3H), 1,88 - 1,59 (m, 6H), 1,57 - 1,26 (m, 6H), 1,21 (s, 3H), 0,82 (s, 3H)
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)	δ = 217,4, 209,1, 66,3, 51,6, 50,6, 50,5, 37,1, 36,2, 35,9, 34,8, 33,5, 28,8, 28,5, 25,7, 25,6, 23,6, 21,5, 14,5
Masa (m / z)	305,0 [$\text{M}^+ + 1$], 322,0 [$\text{M}^+ + 18$]
IR (KBr)	3519, 2928, 1735, 1697, 1454, 1379 cm^{-1}
p. f.	176,6 - 180,5 °C
$[\alpha]_D$	+125 (c = 1 en CHCl_3)

10

Ejemplo 3

Acetato de 3 β -hidroxiandrostano-11,17-diona (1.15)

15 Se añade anhídrido acético (16,6 g, 162,8 mmol) a una solución del compuesto 1.14 (33,0 g, 108,55 mmol) en piridina (150 ml) a 0 °C bajo una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agita durante la noche a temperatura ambiente. Tras la compleción de la reacción, tal como se pone de manifiesto por CCF, se retiran a vacío la piridina y el anhídrido acético restante. El residuo en bruto se diluye con acetato de etilo (500 ml) y se lava con agua (3 x 150 ml), una solución de salmuera saturada (100 ml) y se seca sobre MgSO_4 (75 g). El disolvente se evapora a vacío y el material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna [59 (anchura) x 800 (longitud) mm, sílice de 60 - 120 de malla, 150 g], eluyendo con acetato de etilo / hexano (1 : 10) [fracciones de 25 ml, elución de 10 ml / min, con supervisión mediante CCF con carbonización de *p*-anisaldehído; R_f para el compuesto 1.15 = 0,38 y R_f para el compuesto 1.14 = 0,1 en EtOAc / hexano (3 : 7)] para dar el compuesto 1.15 (19,0 g, 66,4 % de rendimiento) como un sólido incoloro. La tabla 6 describe las propiedades medidas del producto.

25

Tabla 6

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3):	δ = 5,03 (s, 1H), 2,53 (dd, J = 9,5, 19,0 Hz, 1H), 2,42 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 2,36 - 2,31 (m, 3H), 2,25 (dd, J = 9,5, 19,0 Hz, 1H), 2,10 - 2,06 (m, 1H), 2,04 (s, 3H), 1,96 - 1,91 (m, 3H), 1,81 - 1,69 (m, 2H), 1,63 - 1,57 (m, 3H), 1,50 (dd, J = 3,0, 14,5 Hz, 1H), 1,36 (d, J = 9,5 Hz, 3H), 1,27 - 1,22 (m, 1H), 1,20 (s, 3H), 0,82 (s, 3H)
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)	δ = 217,2, 208,9, 170,4, 69,7, 51,5, 50,5, 50,4, 37,9, 36,1, 35,9, 34,5, 30,6, 29,6, 29,5, 25,5, 25,4, 25,3, 23,4, 21,4, 21,3, 14,5
Masa (m / z)	347,1 [$\text{M}^+ + 1$], 364,1 [$\text{M}^{++} + 18$]
IR (KBr)	3455, 2927, 1737,6, 1720,2, 1707,7, 1259, 1244 cm^{-1}
p. f.	156 - 158 °C
$[\alpha]_D$	116 (c = 1 en CHCl_3)

Ejemplo 4

Acetato de (Z)-3 β -hidroxi-5 β -preg-17(20)-eno-11-ona (1.16)

35 Se añade *tert*-butóxido de potasio (159,28 ml, 159,2 mmol, solución 1 M en THF) a una solución de bromuro de etiltrifenilfosfonio (61,16 g, 164,8 mmol) en THF (150 ml) se añade gota a gota a lo largo de 1 h bajo una atmósfera inerte a -5 °C. La mezcla de reacción de color rosa oscuro resultante se calienta hasta 10 - 15 °C y se agita durante 1 h más a la misma temperatura. Una solución del compuesto 55 (19,0 g, 54,9 mmol) en THF (50 ml) se introduce lentamente en la suspensión de iluro de Wittig anterior a -5 °C. La solución se agita durante 10 - 20 minutos más y la mezcla de reacción se deja calentar hasta temperatura ambiente lentamente. La agitación se continúa durante aproximadamente 3 - 4 h. Tras la completa desaparición del material de partida, tal como se pone de manifiesto por CCF, la mezcla de reacción se interrumpe con una solución de NH_4Cl acuosa saturada (75 ml). La capa acuosa se extrae con EtOAc (2 x 150 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavan con una solución de salmuera saturada (100 ml) y se secan sobre MgSO_4 (75 g). El disolvente se retira a vacío y el material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna [49 (anchura) x 600 (longitud) mm, sílice de 60 - 120 de malla, 300 g] eluyendo con acetato de etilo / hexano (1 : 20) [fracciones de 25 ml, elución de 10 ml / min, con supervisión mediante CCF con carbonización de *p*-anisaldehído; R_f para el compuesto 1.16 = 0,54 y R_f para el compuesto 1.15 = 0,06 en

40

ES 2 550 504 T3

EtOAc / hexano (1 : 6)] para dar el compuesto 1.16 (15,5 g, 78,8 % de rendimiento) como un líquido incoloro espeso, que solidificó lentamente después de 1 - 2 días a 0 °C. La tabla 7 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 7

RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 5,20 - 5,15 (m, 1H), 5,03 (s, 1H), 2,86 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 2,60 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 2,46 - 2,28 (m, 5H), 2,01 (s, 3H), 1,94 - 1,62 (m, 5H), 1,60 - 1,52 (m, 6H), 1,48 - 1,45 (m, 1H), 1,41 - 1,36 (m, 4H), 1,20 (s, 3H), 0,82 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 210,9, 170,5, 147,2, 114,7, 70,0, 56,1, 55,6, 51,5, 47,4, 37,9, 35,9, 34,4, 31,6, 30,7, 29,8, 26,4, 25,9, 25,5, 24,0, 23,5, 21,3, 17,9, 12,8
Masa (m / z)	359,2 [M ⁺ + 1], 376,2 [M ⁺ + 18]
IR (CHCl ₃)	3421, 2928, 1734, 1704, 1377, 1243 cm ⁻¹
p. f.	88,5 - 91,2 °C
[α] _D	+30 (c = 1 en CHCl ₃)

5

Ejemplo 5

Acetato de (*E*)-3β-hidroxi-5β-cola-16(17),22(23)-dieno-24-oato de metilo (1.17)

- 10 Se añade propiolato de metilo (9,68 g, 114,95 mmol) a una solución del compuesto 1.16 (16,5 g, 46 mmol) en CH₂Cl₂ (220 ml) 0 °C. La mezcla de reacción se calienta hasta temperatura ambiente y se agita durante 1 h bajo una atmósfera inerte. Se introduce dicloruro de etil aluminio (17,5 g, 137,8 mmol) en la mezcla anterior a 0 °C gota a gota y la masa de reacción resultante se calienta de nuevo hasta temperatura ambiente y se agita durante la noche. Tras la
- 15 la completación de la reacción, tal como se pone de manifiesto por CCF, la mezcla de reacción en bruto se interrumpe con agua helada (100 ml) y la capa acuosa se extrae con EtOAc (3 x 150 ml). La capa orgánica combinada se lava con una solución de salmuera saturada (100 ml) y se seca sobre MgSO₄ (50 g). El disolvente se retira a vacío y el material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna [49 (anchura) x 600 (longitud) mm, sílice de 60 - 120 de malla, 300 g] eluyendo con acetato de etilo / hexano (1 : 7) [fracciones de 15 ml, elución de 10 ml / min, con supervisión mediante CCF y se detecta o bien con lámpara de luz UV (254 nm) o bien con carbonización de *p*-
- 20 anisaldehído; R_f para el compuesto 1.17 = 0,36 y R_f para el compuesto 1.16 = 0,54 en EtOAc / hexano (1 : 6)] para dar el compuesto 1.17 (16 g, 79 % de rendimiento) como un semisólido incoloro. La tabla 8 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 8

RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 6,89 (dd, J = 8,0, 16 Hz, 1H), 5,81 (d, J = 15 Hz, 1H), 5,48 (s, 1H), 5,03 (s, 1H), 3,73 (s, 3H), 2,95 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 2,45 - 2,36 (m, 2H), 2,30 - 2,17 (m, 2H), 2,04 (s, 3H), 2,00 - 1,79 (m, 5H), 1,58 (s, 3H), 1,49 - 1,18 (m, 9H), 1,16 (s, 3H), 0,70 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 209,7, 170,1, 166,6, 154,4, 152,3, 124,5, 119,1, 69,7, 56,3, 53,8, 52,3, 51,1, 49,8, 37,9, 35,7, 35,0, 34,4, 30,5, 30,4, 29,6, 26,2, 25,6, 25,2, 23,3, 21,1, 19,2, 17,3
Masa (m / z)	443,0 [M ⁺ + 1], 460,1 [M ⁺ + 18]
IR (CHCl ₃)	3438, 2930, 1729, 1706, 1653, 1448, 1435, 1243, 1022 cm ⁻¹
[α] _D	+59 (c = 1 en CHCl ₃)
Pureza de HPLC	94,4 %; tiempo de ret. = 28,86, (Zorbax SB, C18; 250 x 4,6 mm, 5 μ), ACN : TEA 5 mM pH 2,5 con HClO ₄ (Gradiente); absorbancia a 205 nm

25

Ejemplo 6

Acetato de 3β-hidroxi-5β-colan-11-ona-24-oato de metilo (1.18)

- 30 Pd / C al 10 % (2,9 g, 20 % en peso) se añade a una solución del compuesto 1.17 (14,5 g, 32,8 mmol) en EtOAc (150 ml). La pasta resultante se hidrogena en un aparato de Parr (50 psi, 345 kPa) durante 12 h. Tras la completa desaparición del material de partida, tal como se pone de manifiesto por CCF [R_f para el compuesto 1.18 = 0,43 y R_f para el compuesto 1.17 = 0,43 en EtOAc / hexano (1 : 3); no obstante solo el compuesto 1.17 es activo a UV del cromóforo de éster conjugado], la mezcla de reacción en bruto se filtra a través de un pequeño tapón de Celite y el disolvente se retira a vacío para dar el compuesto 1.18 (14 g, 95,7 % de rendimiento) como un sólido incoloro. La
- 35 tabla 9 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 9

RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 5,03 (s, 1H), 3,73 (s, 3H), 2,56 (d, J = 10 Hz, 1H), 2,38 - 2,19 (m, 5H), 2,04 (s, 3H), 1,86 - 1,13 (m, 20H), 1,12 (s, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,62 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 211,3, 174,3, 170,5, 70,0, 58,3, 55,7, 55,0, 51,4, 50,8, 46,8, 37,9, 36,7, 35,0, 34,3, 30,9, 30,7, 30,7, 29,7, 28,3, 26,6, 25,9, 25,5, 23,6, 23,5, 21,4, 17,9, 12,7
Masa (m / z)	447,1 [M ⁺ + 1], 464,1 [M ⁺ + 18]

ES 2 550 504 T3

IR (KBr)	3449, 2927, 1734, 1704, 1381, 1262, 1243 cm ⁻¹
p. f.	174,2 - 175,7 °C (a partir de CH ₂ Cl ₂ / hexano) (Observado); 174,8 - 176,2 °C (Notificado)
[α] _D	+39 (c = 1 en CHCl ₃)

Ejemplo 7

Acetato de 3β-hidroxi-5β-col-9(11)-eno-24-oato de metilo (1.19)

5 PtO₂ (5,0 g, 100 % en peso) se añade a una solución de 1.18 (5,0 g, 11,2 mmol) en EtOAc (75 ml) en presencia de una cantidad catalítica de AcOH (2,0 ml). La pasta resultante se hidrogena en un aparato de Parr (70 psi, 483 kPa) durante aproximadamente 14 - 16 h. Tras la compleción de la reacción, la mezcla en bruto se filtra a través de un pequeño tapón de Celite y el disolvente se retira a vacío. El producto en bruto se usa para la reacción de eliminación sin purificación adicional.

10 SOCl₂ (1,98 g, 16,78 mmol) se introduce en una solución del material en bruto anterior en piridina (100 ml) gota a gota a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se calienta hasta temperatura ambiente y se agita durante aproximadamente 1 h. Tras la compleción de la reacción, tal como se pone de manifiesto por CCF, la piridina se retira a vacío. El residuo en bruto se diluye con acetato de etilo (100 ml) y se lava con agua (2 x 50 ml), una solución de salmuera saturada (100 ml) y se seca sobre MgSO₄ (40 g). El disolvente se evapora a vacío y el material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna [49 (anchura) x 600 (longitud) mm, sílice de 60 - 120 de malla, 120 g] eluyendo con acetato de etilo / hexano (1 : 10) [fracciones de 10 ml, elución de 5 ml / min, con supervisión mediante CCF con carbonización de *p*-anisaldehído; R_f para el compuesto 1.19 = 0,51 y R_f para el compuesto 1.18 = 0,22 en EtOAc / hexano (1 : 6)] para dar el compuesto 1.19 (4,1 g, 85,4 % de rendimiento) como un sólido incoloro. La tabla 10 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 10

RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 5,33 (s, 1H), 5,03 (s, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,37 - 2,32 (m, 1H), 2,46 - 2,21 (m, 1H), 2,11 - 2,04 (m, 1H), 2,03 (s, 3H), 1,99 - 1,10 (m, 22H), 1,07 (s, 3H), 0,92 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 0,58 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 174,6, 170,6, 140,1, 118,9, 71,2, 56,1, 53,3, 51,3, 42,0, 40,9, 38,9, 37,3, 36,4, 35,2, 31,9, 31,4, 31,0, 30,9, 30,1, 28,2, 26,9, 26,2, 26,1, 25,3, 21,4, 17,9, 11,6
Masa (m / z)	448,2 [M ⁺ + 18]
IR (KBr)	3447, 2935, 1735, 1379, 1261, 1245 cm ⁻¹
p. f.	188,6 - 191,2 °C (a partir de CH ₂ Cl ₂ / hexano) (Observado); 174 - 175 °C (Notificado)
[α] _D	+ 37 (c = 1 en CHCl ₃)

25 Ejemplo 8

Acetato de 3β-hidroxi-5β-col-9(11)-eno-12-ona-24-oato de metilo (1.20)

30 CrO₃ (8,0 g, 100 % en peso, 80,0 mmol) se añade a una solución del compuesto 1.19 (8,0 g, 18,6 mmol) en AcOH (150 ml). La mezcla de reacción resultante se calienta a 60 °C durante aproximadamente 24 - 36 h. Tras la completa desaparición del precursor, el ácido acético se evapora a vacío, y el material en bruto se disuelve en dietil éter (400 ml). La capa orgánica se lava con agua (2 x 100 ml), una solución de salmuera saturada (100 ml) y se seca sobre MgSO₄ (40 g). El disolvente se retira a vacío y el material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna [49 (anchura) x 600 (longitud) mm, sílice de 60 - 120 de malla, 120 g] eluyendo con acetato de etilo / hexano (1 : 5) [fracciones de 10 ml, elución de 3 ml / min, con supervisión mediante CCF y se detecta con lámpara de luz UV (254 nm); R_f para el compuesto 1.20 = 0,28 y R_f para el compuesto 1.19 = 0,61 en EtOAc / hexano (1 : 4)] para dar el compuesto 1.20 (5 g, 60,5 % de rendimiento) como un sólido incoloro. La tabla 11 describe las propiedades medidas del producto.

40

Tabla 11	
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 5,72 (s, 1H), 5,04 (s, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,41 - 2,27 (m, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,94 - 1,58 (m, 9H), 1,48 - 1,30 (m, 11H), 1,21 (s, 3H), 1,02 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,91 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 205,1, 174,5, 170,4, 164,2, 123,1, 70,3, 53,4, 53,0, 51,3, 47,2, 40,2, 37,7, 37,3, 35,2, 32,1, 31,4, 31,0, 30,6, 30,2, 27,3, 26,5, 25,9, 25,6, 24,1, 21,3, 19,4, 10,6
Masa (m / z)	445,0 [M ⁺ + 1], 462,1 [M ⁺ + 18]
IR	3447, 2927, 2361, 2339, 1736, 1678, 1367, 1250 cm ⁻¹
p. f.	185,8 - 188,1 °C (a partir de CH ₂ Cl ₂ / hexano)
[α] _D	+62 (c = 1 en CHCl ₃)
Pureza de HPLC	94,1 %; tiempo de ret. = 23,89 (Hypersil BDS C18, 250 x 4,6 mm, 5 μ, CH ₃ CN : TEA 5 mM, pH 2,5 con HClO ₄ (Gradiente); absorbancia a 240 nm

Ejemplo 9

Acetato de 3 β -hidroxi-5 β -colano-12-ona-24-oato de metilo (1.21)

- 5 Pd / C al 10 % (30 mg, 10 % en peso) se añade a una solución del compuesto 1.20 (300 mg, 0,675 mmol) en EtOAc (30 ml). La pasta resultante se hidrogena en un aparato de Parr (50 psi, 345 kPa) durante aproximadamente 16 h. Tras la completa desaparición del material de partida mediante CCF [R_f para el compuesto 1.21 = 0,44 y R_f para el compuesto 1.20 = 0,44 en EtOAc / hexano (3 : 7); no obstante solo el compuesto 1.20 es activo a UV de su cromóforo de enona; adicionalmente, la carbonización del compuesto 1.20 es leve pero el compuesto 1.21 es brillante], la mezcla de reacción en bruto se filtró a través de un pequeño tapón de Celite y el disolvente se retira a vacío para dar el compuesto 1.21 (270 mg, 90 % de rendimiento) como un sólido incoloro. La tabla 12 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 12

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)	δ = 5,04 (s, 1H), 3,64 (s, 3H), 2,52 - 2,47 (m, 1H), 2,38 - 2,25 (m, 3H), 2,23 - 2,03 (m, 2H), 2,02 (s, 3H), 1,99 - 1,71 (m, 8H), 1,49 - 1,11 (m, 12H), 1,05 (s, 3H), 1,01 (s, 3H), 0,85 - 0,84 (d, J = 7,0 Hz, 3H)
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)	δ = 214,7, 174,6, 170,5, 70,2, 58,7, 57,5, 51,4, 46,5, 43,7, 38,4, 36,9, 35,7, 35,6, 35,5, 31,3, 30,7, 30,5, 27,5, 26,4, 25,9, 24,8, 24,3, 23,2, 21,4, 18,6, 11,7
Masa (m / z)	447,0 [M^+ + 1], 464,0 [M^+ + 18]
IR (KBr)	3447, 2935, 1735, 1704, 1260, 1241 cm^{-1}
p. f.	179,6 - 182,7 $^\circ\text{C}$ (a partir de CH_2Cl_2 / hexano)
$[\alpha]_D$	+69 (c = 1 en CHCl_3)

15

Ejemplo 10

5 β -Cola-3,12-diona-24-oato de metilo (1.22)

- 20 NaOH (73 mg, 1,8 mmol) se añade a una solución del compuesto 2.1 (270 mg, 0,6 mmol) en MeOH (10 ml). La mezcla de reacción resultante se agita durante aproximadamente 2 h a temperatura ambiente. Tras la completación de la reacción, tal como se pone de manifiesto por CCF, MeOH se retira a vacío y el producto en bruto se diluye con acetato de etilo (20 ml). La capa orgánica se lava con una solución de salmuera saturada (10 ml) y se seca sobre MgSO_4 (5,0 g). El disolvente se retira a vacío y el material en bruto se usa en la reacción de esterificación sin purificación.

25

SOCl₂ (0,1 ml, 1,35 mmol) se añade gota a gota a una solución del material en bruto anterior en MeOH (10 ml) 0 $^\circ\text{C}$. La mezcla de reacción resultante se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 h. Tras la completación de la reacción, MeOH se retira a vacío. La mezcla de reacción en bruto se diluye con EtOAc (30 ml), y la capa orgánica se lava con agua (3 x 10 ml), una solución de salmuera saturada (15 ml) y se seca sobre MgSO_4 (5 g). El disolvente se evapora a vacío y el producto en bruto se usa para la reacción de oxidación sin purificación.

30

PCC (1,0 g, 4,6 mmol) se introduce en 3 porciones iguales en una solución del éster obtenido en CH_2Cl_2 (25 ml) a lo largo de aproximadamente 5 minutos. La mezcla de reacción resultante se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 3 - 4 h. Tras la completación de la reacción, tal como se pone de manifiesto por CCF, la mezcla de reacción en bruto se filtra a través de un lecho de Celite. El disolvente se retira a vacío y el material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna [19 (anchura) x 400 (longitud) mm, sílice de 60 - 120 de malla, 45 g] eluyendo con acetato de etilo / hexano (1 : 6) [fracciones de 10 ml, elución de 5 ml / min, con supervisión mediante CCF con carbonización de *p*-anisaldehído; R_f para el compuesto 1.22 = 0,57 y R_f para el compuesto 1.21 = 0,71 en EtOAc / hexano (2 : 3)] para dar el compuesto 1.22 (170 mg, 70,8 % de rendimiento) como un sólido incoloro. La tabla 13 describe las propiedades medidas del producto.

35

40

Tabla 13

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)	δ = 3,66 (s, 3H), 2,64 - 2,57 (m, 2H), 2,55 - 2,19 (m, 4H), 2,17 - 2,02 (m, 3H), 1,99 - 1,21 (m, 17H), 1,11 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,86 (d, J = 10,0 Hz, 3H)
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)	δ = 213,9, 211,8, 174,5, 58,5, 57,5, 51,4, 46,5, 44,2, 43,7, 42,1, 38,3, 36,9, 36,8, 35,6, 35,4, 31,3, 30,5, 27,4, 26,6, 25,4, 24,3, 22,1, 18,5, 11,7
Masa (m / z)	403,1 [M^+ + 1], 420,2 [M^+ + 18]
IR (KBr)	3457, 2925, 1737, 1708, 1216, 1176 cm^{-1}
p. f.	133,7 - 135,9 $^\circ\text{C}$ (a partir de CH_2Cl_2 / hexano) (Obs); 136,5 - 137,5 $^\circ\text{C}$ (Notif)
$[\alpha]_D$	+79 (c = 1 en CHCl_3)

45

Ejemplo 11

Desoxicolato de metilo (éster de 1.22)

- 5 LiAlH(O^tBu) (332 mg, 1,3 mmol,) se introduce gota a gota en una solución del compuesto 1.22 (150 mg, 0,37 mmol) en THF (10 ml) bajo una atmósfera inerte a temperatura ambiente. Después de agitarse durante aproximadamente 4 - 5 h, la mezcla de reacción se interrumpe con HCl acuoso (2 ml, 1 N) y la mezcla en bruto se diluye con EtOAc (30 ml), se lava con agua (15 ml), una solución de salmuera saturada (10 ml) y se seca sobre MgSO₄ (3 g). El disolvente se retira a vacío, y la masa en bruto se purifica mediante cromatografía en columna [29 (anchura) x 500 (longitud) mm, sílice de 230 - 400 de malla, 50 g] eluyendo con MeOH / CH₂Cl₂ (1 : 20) [fracciones de 5 ml, elución de 3 ml / min, con supervisión mediante CCF con carbonización de *p*-anisaldehído; R_f para el éster del compuesto 1.22 = 0,42 y R_f para el compuesto 1.22 = 0,85 en MeOH / CH₂Cl₂ (1 : 9)] para dar desoxicolato de metilo (el éster del compuesto 1.22) (110 mg, 72,8 % de rendimiento) como un sólido incoloro. La tabla 14 describe las propiedades medidas del producto.

15

Tabla 14

RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 3,97 (s, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,63 - 3,59 (m, 1H), 2,39 - 2,33 (m, 1H), 2,25 - 2,19 (m, 1H), 1,88 - 0,97 (m, 24H), 0,95 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,67 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 174,7, 73,1, 71,7, 51,4, 48,2, 47,3, 46,5, 42,1, 36,4, 36,0, 35,2, 35,1, 34,1, 33,6, 31,1, 30,9, 30,4, 28,6, 27,4, 27,1, 26,1, 23,6, 23,1, 17,3, 12,7
Masa (m / z)	407,1 [M ⁺ + 1], 424,2 [M ⁺ + 18]
IR (KBr)	3419, 2937, 2864, 1740, 1724, 1448, 1377, 1043 cm ⁻¹
p. f.	58,0 - 60,0 °C (bajo recristalización)
[α] _D	+36 (c = 1 en CHCl ₃)

Ejemplo 11

20 Ácido desoxicólico

- Una solución de LiOH (23 mg, 0,55 mmol) en H₂O (2,0 ml) se añade a una solución de éster de 1.22 (110 mg, 0,27 mmol) en THF (4 ml). La mezcla de reacción resultante se agita durante aproximadamente 2 - 3 h a temperatura ambiente. Tras la desaparición del éster mediante CCF [R_f para el compuesto DCA = 0,35 y R_f para el éster del compuesto 1.22 = 0,42 en MeOH / CH₂Cl₂ (1 : 9)], la mezcla de reacción en bruto se diluye con acetato de etilo (10 ml) y se tritura con una solución de salmuera saturada para obtener una clara separación de la capa orgánica. La capa orgánica se lavó con una solución de NH₄Cl saturada (10 ml), y se secó sobre MgSO₄ (3,0 g). El disolvente se retira a vacío y cualquier traza de agua se retira al azeotropar con tolueno (3 x 5 ml) para dar ácido desoxicólico (DCA) (100 mg, 94,3 % de rendimiento) como un sólido incoloro. La tabla 15 describe las propiedades medidas del producto.

30

Tabla 15

RMN de ¹ H (500 MHz, DMSO)	δ = 3,77 (s, 1H), 3,38 - 3,33 (m, 1H), 2,20 - 2,15 (m, 1H), 2,08 - 2,02 (m, 1H), 1,92 - 0,90 (m, 24H), 0,84 - 0,83 (d, J = 5,0 Hz, 3H), 0,77 (s, 3H), 0,53 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, DMSO)	δ = 175,9, 71,0, 69,9, 47,4, 46,2, 45,9, 41,6, 36,3, 35,7, 35,1, 35,0, 33,8, 32,9, 31,2, 31,2, 30,2, 28,6, 27,2, 26,9, 26,1, 23,5, 23,0, 16,9, 12,4
Masa (m / z)	392 [M ⁺ , no detectada], 410,2 [M ⁺ + 18]
IR	3445, 2931, 2867, 1694, 1636, 1043 cm ⁻¹
p. f.	173,2 - 175,5 °C (a partir de THF / CH ₂ Cl ₂) (Observado); 174 - 176 °C (Notificado, Alfa Aesar) y 171 - 174 °C (Notificado, Aldrich)
[α] _D	+50 [c = 1 en MeOH y CHCl ₃ (1 : 1)]; +54° (c = 2 en etanol) [Alfa Aesar]

- 35 El rendimiento de productos para los procesos a modo de ejemplo que se describen en los ejemplos 1 a 11 se describe en la tabla 16.

Tabla 16: Rendimiento global de proceso de DCA sintético

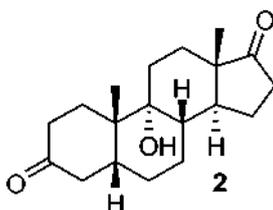
Compuesto	p. f. (°C) (observado)	p. f. (°C) Notificado	% de rendimiento	Notas
Hidrocortisona				
1.13	128,9 - 131,1	128,0 - 131,0	79,00	Hidrogenación, escisión de cadena lateral y oxidación de PCC
1.14	176,6 - 180,5		En bruto	Reducción con K-selectride®
1.15	156,0 - 158,0		66,40	Acetilación
1.16	88,5 - 91,2		78,80	Wittig
1.17			79,00	Eno

Compuesto	p. f. (°C) (observado)	p. f. (°C) Notificado	% de rendimiento	Notas
1.18	174,2 - 175,7		95,80	Hidrogenación (Pd / C)
1.19	188,6 - 191,2	174,0 - 175,0	85,40	Deshidratación de cloruro de tionilo / piridina (rendimiento en dos etapas)
1.20	185,8 - 188,1		60,50	Oxidación alílica de trióxido de cromo
1.21	179,6 - 182,7		90,00	Hidrogenación (Pd / C)
1.22	133,7 - 135,9	136,5 - 137,5	70,80	Hidrólisis, esterificación y oxidación
éster de 1.22	58,0 - 60,0		72,80	Reducción con LiAlH(O ⁻ Bu) ₃
DCA	173,2 - 175,5	174,0 - 176,0	94,33	Hidrólisis de éster
			7,00	Rendimiento global

Ejemplo 12

9 α -Hidroxi-5 β -androstan-3,17-diona (2)

5



10

A una solución de 9 α -hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 1 (30,0 g, 99,3 mol) en DMF (150 ml) se añadió 10 % de Pd / C (2,1 g) y la pasta resultante se hidrogenó en un aparato de Parr (60 psi, 414 kPa) durante 12 h. Tras la completa desaparición del material de partida, tal como se pone de manifiesto por CCF, la mezcla de reacción en bruto se filtró a través de un pequeño lecho de Celite®, y el disolvente se retiró a vacío para proporcionar un sólido incoloro (30,0 g). Este sólido se combinó con acetona (90 ml.) a 0 °C y la pasta resultante se agitó durante 1 h. A continuación este se filtró, se lavó con acetona (30 ml) enfriada (0 °C) y se secó a vacío en el mismo embudo de filtración a temperatura ambiente para dar el compuesto 2 (26,0 g, 86 %). La tabla 17 describe las propiedades medidas del producto.

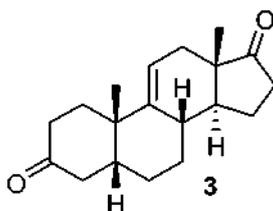
15

Tabla 17

CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R _f para 1,1 = 0,48 y R _f para 1,0 = 0,30
Fase móvil de CCF	30 % - EtOAc en DCM
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 2,37 - 2,40 (m, 1H), 2,02-2,11 (m, 2H), 1,31 - 1,91 (m, 19H), 0,96 (s, 3H), 0,84 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 221,0, 95,7, 80,1, 47,0, 43,6, 38,6, 38,5, 37,1, 35,9, 33,41, 32,9, 32,0, 27,9, 26,9, 21,5, 20,2, 20,0, 12,6
Masa (m / z)	305,0 [M ⁺ + 1], 322,0 [M ⁺ + 18]
IR (KBr)	3443, 2938, 1722, 1449, 1331, 1138 cm ⁻¹
p. f.	213 - 216 °C (a partir de DMF y acetona)
[α] _D	+116 (c = 1 % en CHCl ₃)
Pureza de ELSD	más de un 99 %, tiempo de ret. = 8,15, 9-HAD tiempo de ret. = 3,88, isómero 5 α del comp 121 tiempo de ret. = 4,91 (Waters Symmetry 250 x 4,6 mm, 5 μ m, C18), Agua : ACN (40 : 60)

Ejemplo 13

20

5 β -Androst-9(11)-en-3,17-diona (3)

25

A una solución del compuesto 2 (26,0 g, 85,4 mmol) en DCM (520 ml) se añadió ácido sulfúrico concentrado (7,53 g, 76,8 mmol) a lo largo de 15 minutos bajo una atmósfera inerte a 10 °C. La temperatura se elevó hasta 25 °C y la solución resultante se agitó durante 2 h. En este punto no quedó más material de partida tal como se pone de manifiesto por CCF. La reacción se interrumpió mediante la adición de una solución de NaHCO₃ acuosa al 10 %

(200 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo dos veces con DCM (2 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron de forma secuencial con agua (100 ml) y una solución de salmuera saturada (100 ml). La fase orgánica a continuación se secó sobre Na₂SO₄ (75 g) y se filtró. El filtrado se evaporó a vacío para proporcionar el compuesto 3 (23,0 g, 94 %) como un sólido de color blanco apagado. Este producto se usó "tal cual" en la siguiente etapa sin purificación adicional. La tabla 18 describe las propiedades medidas del producto.

5

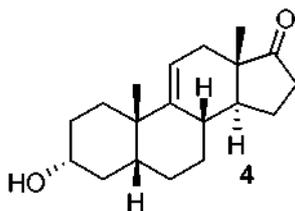
Tabla 18

CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R _f para 1,2 = 0,76 y R _f para 1,1 = 0,44
Fase móvil de CCF	30 % - EtOAc en DCM
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 5,61 (s, 1H), 2,47 - 2,57 (m, 2H), 2,24 - 2,42 (m, 4H), 2,05 - 2,20 (m, 3H), 1,86 - 1,99 (m, 2H), 1,84 - 1,85 (d, J = 6 Hz 1H), 1,57 - 1,63 (m, 5H), 1,37 - 1,40 (d, J = 13,5 Hz, 1H) 1,25 - 1,28 (dd, J = 4,0, 13,5 Hz, 1H), 1,17 (s, 3H) 0,85 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 221,3, 212,8, 140,1, 118,5, 48,5, 45,9, 44,3, 43,5, 39,0, 38,0, 37,3, 36,1, 35,8, 33,3, 28,8, 26,0, 25,5, 22,5, 13,9
Masa (m / z)	287 [M ⁺ + 1], 304 [M ⁺ + 18]
IR (KBr)	3450, 2913, 1737, 1707, 1413, 1403, 1207 cm ⁻¹
p. f.	143,4 - 145,9 °C (a partir de DCM)
[α] _D	+142 (c = 1 % en CHCl ₃)
Pureza de ELSD	99,7 %, Tiempo de retención = 5,04, (Inertsil ODS 3V 250 x 4,6 mm, 5 μm), ACN : TFA al 0,1 % en agua (90 : 10)

Ejemplo 14

10

3α-hidroxi-5β-androst-9(11)-en-17-ona (4)



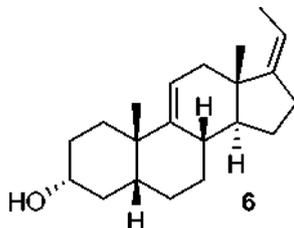
15 Una solución de THF de hidruro de litio y tri-*tert*-butoxialuminio (1,0 M, 84,4 ml, 84,4 mmol) se añadió a una solución fría (-40 °C) del compuesto 3 (23,0 g, 80,4 mmol) en THF (230 ml) bajo una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. En este punto se determinó que se había completado la reacción, tal como se pone de manifiesto por CCF, y la mezcla de reacción se interrumpió mediante la adición de una mezcla de HCl 1 N (200 ml) y acetato de etilo (230 ml). La mezcla de dos fases resultante se separó y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron de forma secuencial con agua (150 ml) y una solución de salmuera saturada (100 ml). La fase orgánica a continuación se secó sobre Na₂SO₄ (75 g) y se filtró. El filtrado se evaporó a vacío para dar el compuesto 4 (23,0 g) como un sólido de color blanco apagado. El producto en bruto anterior se usó "tal cual" en la siguiente etapa sin purificación. La tabla 19 describe las propiedades medidas del producto.

25

Tabla 19

CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R _f para 1,3 = 0,44 y R _f para 1,2 = 0,74
Fase móvil de CCF	30 % - EtOAc en DCM (30 %)
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 5,41 - 5,42 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 3,65 - 3,66 (m, 1H), 2,43 - 2,48 (m, 1H), 1,98 - 2,18 (m, 6H), 1,74 (s, 2H), 1,48 - 1,56 (m, 5H), 1,377 - 1,45 (m, 3H), 1,18 - 1,28 (m, 3H), 1,08 (s, 3H), 0,80 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 222,0, 140,9, 118,3, 71,9, 48,6, 45,9, 41,7, 38,8, 37,8, 36,2, 36,0, 35,7, 33,4, 31,7, 29,5, 26,5, 26,0, 22,7, 13,9
Masa (m / z)	289,0 [M ⁺ + 1], 306,0 [M ⁺ + 18]
IR (KBr)	3463, 2960, 2871, 1729, 1366, 1165, 1084, 1041 cm ⁻¹
p. f.	165 - 167,5 °C (mezcla de EtOAc / hexanos)
[α] _D	+161 (c = 1 % en CHCl ₃)
Pureza de ELSD	~ 93 %, Tiempo de retención = 5,23, (Inertsil ODS 3V 250 x 4,6 mm, 5 μm), ACN : TFA al 0,1 % en agua (90 : 10)

Ejemplo 15

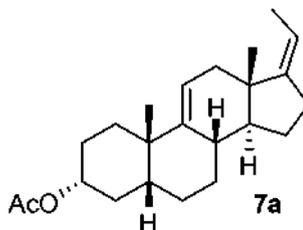
(Z)-3 α -Hidroxi-5 β -pregna-9(11),17(20)-dieno (6)

Una solución de *tert*-butóxido de potasio en THF (1 M, 230 ml, 231 mmol) se añadió gota a gota a una suspensión de bromuro de etiltrifenilfosfonio (88,7 g, 239 mmol) en THF (150 ml) a lo largo de 1 h a 25 °C. La mezcla de color rojo oscuro resultante se agitó durante 1 h más a 25 °C. Una solución del compuesto 4 (23,0 g, 79,7 mmol) en THF (230 ml) se añadió lentamente a la mezcla de color rojo a 25 °C. La mezcla resultante se agitó durante 3 - 4 h, punto en el que se determinó que se había completado mediante CCF. La reacción se interrumpió mediante la adición de una solución de NH₄Cl acuosa saturada (75 ml). Las fases se separaron y la capa acuosa se extrajo tres veces con EtOAc (3 x 150 ml). Las fracciones orgánicas se combinaron, se lavaron con una solución de salmuera saturada (100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ (75 g) y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío y el sólido en bruto se purificó mediante cromatografía en columna [49 mm (anchura) x 600 mm (longitud), sílice de 60 - 120 de malla, 300 g] eluyendo con acetato de etilo / hexanos (1 : 9). Las fracciones que contienen el producto se combinaron y se concentraron, proporcionando el compuesto 6 (19,1 g, 80,0 %) como un sólido de color blanco. La tabla 20 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 20

CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R _f para 1,5 = 0,72 y R _f para 1,3 = 0,46
Fase móvil de CCF	30 % - EtOAc en DCM
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 5,38 (s, 1H), 5,18 - 5,19 (d, <i>J</i> = 6,5 Hz 1H), 3,62 - 3,66 (m, 1H), 2,35 - 2,38 (d, <i>J</i> = 15 Hz, 3H), 2,23 - 2,25 (m, 1H), 1,97 - 2,07 (m, 3H), 1,64 - 1,75 (m, 6H), 1,32 - 1,55 (m, 6H), 1,17 - 1,24 (m, 4H), 1,06 (s, 3H), 0,79 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 150,1, 140,6, 119,6, 114,2, 72,2, 53,6, 42,0, 41,9, 39,6, 38,6, 37,9, 35,7, 35,6, 31,9, 31,8, 29,5, 26,9, 26,8, 25,5, 16,9, 13,3
Masa (m / z)	301 [M ⁺ + 1], 318 [M ⁺ + 18]
IR (CHCl ₃)	3304, 3033, 2925, 2863, 1449, 1368, 1040, 823 cm ⁻¹
p. f.	146 - 147,3 °C (mezcla de EtOAc / hexanos)
[α] _D	+84,4 (c = 1 % en CHCl ₃)
Pureza de ELSD	99,8 %, Tiempo de retención = 16,07, (Inertsil ODS 3V 250 x 4,6 mm, 5 μ m), ACN : TFA al 0,1 % en agua (90 : 10)

Ejemplo 16

(Z)-3 α -Acetoxi-5 β -pregna-9(11),17(20)-dieno (7a)

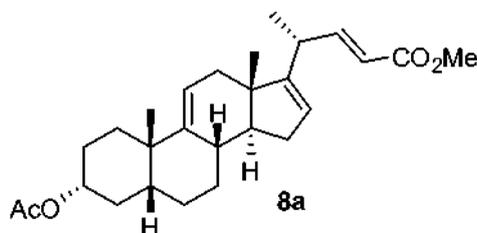
El compuesto 6 (19,0 g, 63 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (380 ml). Trietilamina (17,6 ml, 126,6 mmol), DMAP (0,772 g, 6 mmol) y anhídrido acético (8,98 ml, 94 mmol) se añadieron de forma secuencial a 25 °C bajo una atmósfera inerte de nitrógeno. La solución resultante se agitó durante 2 h a 25 °C, punto en el que se determinó mediante CCF que se había completado la reacción. La reacción se interrumpió mediante la adición de agua helada (100 ml) y las fases se separaron. La capa acuosa se extrajo tres veces con DCM (3 x 150 ml). Las fracciones orgánicas se combinaron y se lavaron con una solución de salmuera saturada (100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro (50 g) y se filtraron. El filtrado se concentró a vacío para dar el compuesto 7a (22,0 g, 95 % de rendimiento) como un sólido de color blanco apagado. La tabla 21 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 21

CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R _f para 1,6 = 0,5 y R _f para 1,5 = 0,15
Fase móvil de CCF	10 % - EtOAc en hexanos
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 5,38 (s, 1H), 5,18 - 5,20 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 4,72 - 4,76 (m, 1H), 2,35 - 2,40 (m, 3H), 2,22 - 2,25 (m, 1H), 2,03 - 2,09 (m, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,49 - 1,98 (m, 10H), 1,31 - 1,41 (m, 2H), 1,16 - 1,27 (m, 3H), 1,07 (s, 3H), 0,79 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 170,5, 150,0, 140,4, 119,6, 114,3, 74,7, 53,5, 42,0, 41,7, 39,6, 38,6, 35,6, 35,3, 33,8, 31,9, 29,5, 27,8, 26,7, 26,6, 25,5, 21,3, 16,9, 13,2
Masa (m / z)	342,9 [M ⁺ + 1], 360 [M ⁺ + 18]
IR (CHCl ₃)	3440, 3035, 1730, 1451, 1367, 1258, 1028 cm ⁻¹
p. f.	93,9 - 97,8 °C (mezcla de EtOAc / hexanos)
[α] _D	+109 (c = 1 % en CHCl ₃)
Pureza de HPLC	97,62 %; Tiempo de retención = 17,7, (Zorbax SB, C18; 250 x 4,6 mm, 5 μm), ACN : TFA al 0,1 % en agua (90 : 10)

Ejemplo 17

- 5 3α-Acetoxy-5β-col-9(11), 16, 22-trien-24-oato de (E)-metilo (8a)



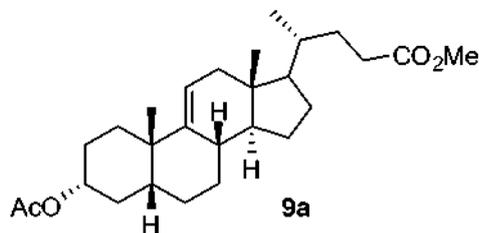
- 10 Dicloruro de etil aluminio (104,5 ml, 192 mmol, 1,8 M en tolueno) se añadió a una solución de propiolato de metilo (13,58 ml, 153 mmol) en DCM (100 ml) a 0 °C bajo una atmósfera inerte. La solución resultante se agitó durante 15 min y a continuación se añadió el compuesto 7a (22 g, 64,3 mmol). Después de agitar durante 20 min más a 0 °C, la temperatura se elevó hasta 25 °C y se mantuvo allí durante 18 h más. En este punto se determinó que se había completado la reacción mediante CCF, y la mezcla se vertió en agua fría (0 °C) (200 ml). Las fases se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (150 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron de forma secuencial con agua (200 ml) y una solución de salmuera saturada (100 ml). A continuación se secó sobre Na₂SO₄ anhidro (40 g) y se filtró. El filtrado se concentró a vacío y el sólido resultante se purificó mediante suspensión en metanol (280 ml) para proporcionar el compuesto 8a (17,5 g 68 %) como un sólido de color blanco. La tabla 22 describe las propiedades medidas del producto.

20

Tabla 22

CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R _f para 1.7a = 0,32 y R _f para 1.6a = 0,5
Fase móvil de CCF	10 % - EtOAc en hexanos
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 6,92 - 6,926 (q, J = 7,5, 15,5 Hz, 1H), 5,80 - 5,83 (d, J = 16 Hz, 1H), 5,37 - 5,43 (m, 2H), 4,73 - 4,75 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,02 - 3,04 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 2,15 - 2,23 (m, 3H), 2,05 - 2,08 (m, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,48 - 1,99 (m, 8H), 1,24 - 1,34 (m, 2H), 1,20 - 1,21 (d, J = 5 Hz, 3H), 1,11 - 1,17 (m, 1H), 1,07 (s, 3H), 0,67 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 170,5, 167,2, 155,0, 153,7, 141,6, 124,0, 118,8, 118,7, 74,6, 53,9, 51,3, 45,7, 41,7, 38,8, 37,1, 35,5, 35,3, 34,6, 33,7, 31,8, 29,5, 27,7, 26,5, 26,5, 21,3, 19,7, 15,7
Masa (m / z)	444,0 [M ⁺ + 18]
IR (KBr)	3443, 3030, 2930, 1719, 1650, 1247, 1359, 1032, 1170 cm ⁻¹
p. f.	114 - 116 °C (a partir de metanol)
[α] _D	+102 (c = 1 % en CHCl ₃)
Pureza de ELSD	99,7 %, Tiempo de retención = 19,57, (Inertsil ODS 3V 250 x 4,6 mm, 5 μm), ACN : TFA al 0,1 % en agua (90 : 10)

Ejemplo 18

3 α -Acetoxi-5 β -col-9(11)-en-24-oato de metilo (9a)

5

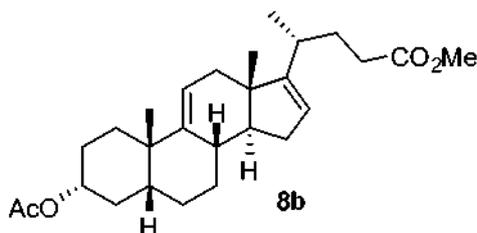
10

A una solución del compuesto 8a (17,5 g, 41 mmol) en EtOAc (350 ml) se añadió PtO₂ (4,37 g), y la pasta resultante se hidrogenó en un aparato de Parr (70 psi, 483 kPa) durante 14 - 16 h. En este punto se determinó que se había completado la reacción mediante CCF. La mezcla se filtró a través de un pequeño tapón de Celite® y el disolvente se retiró a vacío, dando el compuesto 9a (17,0 g, 96,0 %) como un sólido de color blanco. El producto anterior se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. La tabla 23 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 23

CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R _f para 1.8a = 0,32 y R _f para 1.7a = 0,30
Fase móvil de CCF	10 % - EtOAc en hexanos
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 5,31 (s, 1H), 4,73 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,03 - 2,37 (m, 7H), 2,01 (s, 3H), 1,09 - 1,98 (m, 18H), 1,06 (s, 3H), 0,91 - 0,92 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,59 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 174,6, 170,5, 139,8, 119,5, 74,8, 56,0, 53,3, 51,4, 41,9, 41,7, 40,9, 38,5, 36,4, 35,4, 35,2, 33,8, 31,0, 30,9, 29,5, 28,2, 27,8, 26,8, 26,7, 25,2, 21,4, 17,9, 11,5
Masa (m / z)	448,2 [M ⁺ + 18]
IR (KBr)	3435, 3039, 2941, 1729, 1448, 1435, 1252, 1022 cm ⁻¹
p. f.	122,1 - 123,9 °C (a partir de EtOAc)
[α] _D	+56 (c = 1 % en CHCl ₃)
Pureza de ELSD	97,7 %: Tiempo de retención = 14,57 (ZORBAX SB C-18 150 x 4,6 mm, 5 μm, ACN : TFA al 0,1 % en agua (90 : 10))

15 Ejemplo 19

3 α -Acetoxi-5 β -col-9(11), 16-dien-24-oato de metilo (8b)

20 Dicloruro de etil aluminio (14,2 ml, 25 mmol, 1,8 M en tolueno) se añadió a una solución de acrilato de metilo (1,89 ml, 20 mmol) en DCM (60 ml) a 0 °C bajo una atmósfera inerte. La solución resultante se agitó durante 15 min y a continuación se añadió el compuesto 7a (3 g, 8,7 mmol). Después de agitar durante 20 min más a 0 °C, la temperatura se elevó hasta 25 °C y se mantuvo allí durante 18 h más. En este punto se determinó que se había completado la reacción mediante CCF, a continuación la mezcla se vertió en agua fría (0 °C) (60 ml). Las fases se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (60 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron de forma secuencial con agua (50 ml) y una solución de salmuera saturada (100 ml). A continuación se secó sobre Na₂SO₄ anhidro (5 g) y se filtró. El filtrado se concentró a vacío, proporcionando el compuesto 8b (2,6 g, 70 %). La tabla 24 describe las propiedades medidas del producto.

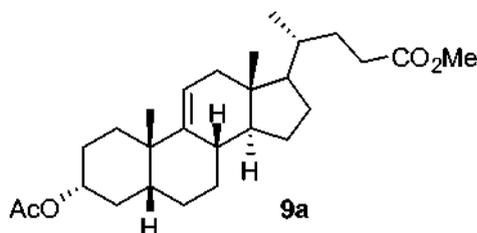
30

Tabla 24

Fase móvil de CCF	10 % - EtOAc en hexanos
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 5,34 - 5,43 (m, 2H), 4,73 - 4,75 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 2,15 - 2,34 (m, 6H), 2,05 - 2,08 (m, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,48 - 1,99 (m, 9H), 1,24 - 1,34 (m, 3H), 1,20 - 1,21 (d, J = 5 Hz, 3H), 1,11 - 1,17 (m, 1H), 1,07 (s, 3H), 0,67 (s, 3H)

Pureza de ELSD	93,9 %, tiempo de ret. = 4,55, (Waters Symmetry Shield 250 x 4,6 mm 5 μ), ACN : 100 %
----------------	--

Ejemplo 20

3 α -Acetoxi-5 β -col-9(11)-en-24-oato de metilo (9a)

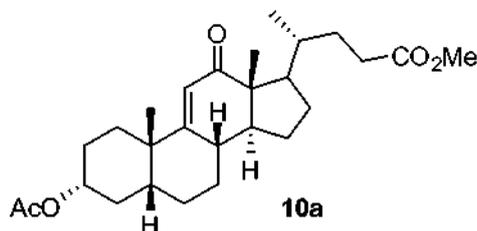
5

10 A una solución del compuesto 8a (3 g, 7 mmol) en EtOAc (60 ml) se añadió Pd / C al 10 % (300 mg, 10 % peso / peso), y la pasta resultante se hidrogenó en un aparato de Parr (70 psi, 483 kPa) durante 14 - 16 h. En este punto se determinó que se había completado la reacción mediante CCF (acetato de etilo al 10 % en hexanos). La mezcla se filtró a través de un pequeño tapón de Celite® y el disolvente se retiró a vacío, dando el compuesto 9a (2,6 g, 86 %) como un sólido de color blanco. La tabla 25 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 25

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)	δ = 5,31 (s, 1H), 4,73 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,37 - 2,03 (m, 7H), 2,01 (s, 3H), 1,98 - 1,09 (m, 18H), 1,06 (s, 3H), 0,92 - 0,91 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,59 (s, 3H)
Pureza de ELSD	95,9 %, tiempo de ret. = 4,75, (Waters Symmetry Shield 250 x 4,6 mm 5 μ), ACN : Agua (60 : 40)

15 Ejemplo 21

3 α -Acetoxi-5 β -col-9(11)-en-12-ona-24-oato de metilo (10a)

20 CrO_3 (17,0 g, 170 mmol) se añadió a una solución del compuesto 9a (17 g, 39,5 mmol) en AcOH (270 ml). La mezcla resultante se calentó a 50 $^\circ\text{C}$ durante 24 - 36 h. Tras la completa desaparición del material de partida mediante CCF, el disolvente se evaporó a vacío y el material en bruto se disolvió en acetato de etilo (400 ml) y agua (200 ml). Las dos fases se separaron y la capa orgánica se lavó dos veces con agua (2 x 100 ml) y a continuación una vez con una solución de salmuera saturada (100 ml). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro (40 g) y se filtró. El filtrado se concentró a vacío y el sólido resultante se purificó mediante cromatografía en columna [49 mm (anchura) x 600 mm (longitud), sílice de 60 - 120 de malla, 120 g], eluyendo con acetato de etilo / hexano (1 : 5) [fracciones de 10 ml, elución de 3 ml / min, con supervisión mediante CCF y se detectó con lámpara de luz UV (254 nm)]. Las fracciones que contienen producto se combinaron y se concentraron a vacío para dar el compuesto 10a (8,8 g, 50 % de rendimiento) como un sólido de color blanco. La tabla 26 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 26

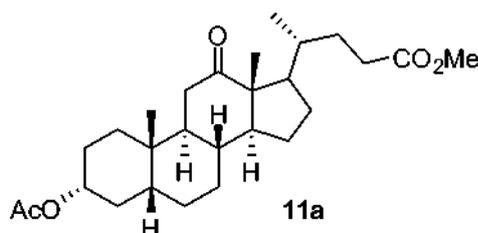
CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R_f para 1.9a = 0,28 y R_f para 18a = 0,52
Fase móvil de CCF	20 % - EtOAc en hexanos
RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)	δ = 5,71 (s, 1H), 4,71 - 4,75 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,37 - 2,42 (m, 3H), 2,02 - 2,31 (m, 2H), 2,0 (s, 3H), 1,67 - 1,98 (m, 9H), 1,24 - 1,56 (m, 9H), 1,19 (s, 3H), 1,01 - 1,02 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,90 (s, 3H)
RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3)	δ = 204,9, 174,5, 170,4, 163,8, 123,6, 73,7, 53,4, 53,0, 51,3, 47,2, 41,7, 39,8, 37,7, 35,2, 35,0, 33,9, 31,4, 30,5, 29,6, 27,6, 27,3, 26,4, 26,1, 24,1, 21,2, 19,4, 10,6
Masa (m / z)	445,0 [$\text{M}^+ + 1$], 462,0 [$\text{M}^+ + 18$]
IR	3437, 3045, 2946, 2870, 1729, 1680, 1252, 1168, 1020, cm^{-1}

p. f.	137 - 139 °C (a partir de mezcla de EtOAc / hexanos)
$[\alpha]_D$	+93 (c = 1 % en CHCl ₃)
Pureza de ELSD	94,6 %: Tiempo de retención = 8,68 (Inertsil ODS 3V, 250 x 4,6 mm, 5 μm, ACN : Agua (60 : 40))

Ejemplo 22

3α-Acetoxi-5β-colan-12-ona-24-oato de metilo (11a)

5



10 Pd / C al 10 % (900 mg) se añadió a una solución del compuesto 10a (2,0 g, 4,5 mmol) en EtOAc (150 ml) y la pasta resultante se hidrogenó en un aparato de Parr (50 psi, 345 kPa) a 50 °C durante 16 h. En este punto se determinó que se había completado la reacción mediante CCF. La mezcla se filtró a través de un pequeño tapón de Celite® y el disolvente se retiró a vacío, proporcionando el compuesto 11a (1,6 g, 80 % de rendimiento) como un sólido de color blanco. La tabla 27 describe las propiedades medidas del producto.

Tabla 27

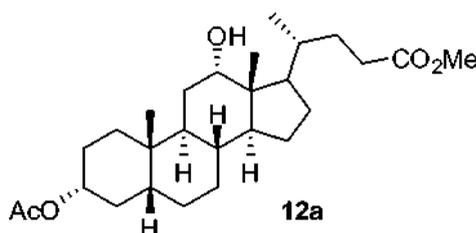
CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R _f para 2,0 = 0,36 y R _f para 1,9 = 0,32
Fase móvil de CCF	20 % - EtOAc en hexanos
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 4,67 - 4,71 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,45 - 2,50 (t, J = 15 Hz, 2H), 2,22 - 2,40 (m, 1H), 2,01 (s, 3H), 1,69 - 1,96 (m, 9H), 1,55 (s, 4H), 1,25 - 1,50 (m, 8H), 1,07 - 1,19 (m, 2H), 1,01 (s, 6H), 0,84 - 0,85 (d, J = 7,0 Hz, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 214,4, 174,5, 170,4, 73,6, 58,5, 57,4, 51,3, 46,4, 43,9, 41,2, 38,0, 35,6, 35,5, 35,2, 34,8, 32,0, 31,2, 30,4, 27,4, 26,8, 26,2, 25,9, 24,2, 22,6, 21,2, 18,5, 11,6
Masa (m / z)	447,0 [M ⁺ + 1], 464,0 [M ⁺ + 18]
IR (KBr)	3445, 2953, 2868, 1731, 1698, 1257, 1029 cm ⁻¹
p. f.	142,2 - 144,4 °C (a partir de mezcla de EtOAc / hexanos)
$[\alpha]_D$	+92 (c = 1 % en CHCl ₃)
Pureza de ELSD	96,6 %: Tiempo de retención = 9,93 (Inertsil ODS 3V, 250 x 4,6 mm, 5 μm, ACN : TFA al 0,1 % en agua (90 : 10))

15

Ejemplo 23

3α-Acetoxi-12α-hidroxi-5β-colan-24-oato de metilo (12a)

20



25 Una solución de THF de hidruro de litio y tri-*tert*-butoxialuminio (1 M, 22,4 ml, 22,4 mmol) se añadió gota a gota a una solución del compuesto 11 a (2,5 g, 5,6 mmol) en THF (25 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 4 - 5 h más, se determinó que se había completado la reacción mediante CCF. La reacción se interrumpió mediante la adición de HCl acuoso (1 M, 10 ml) y la mezcla se diluyó con EtOAc (30 ml). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó de forma secuencial con agua (15 ml) y una solución de salmuera saturada (10 ml). La fase orgánica a continuación se secó sobre Na₂SO₄ anhidro (3 g) y se filtró. El filtrado se concentró a vacío y el sólido resultante se purificó mediante cromatografía en columna [29 mm (anchura) x 500 mm (longitud), sílice de 60 - 120 de malla, 50 g], eluyendo con EtOAc / hexano (2 : 8) [fracciones de 5 ml, con supervisión mediante CCF con carbonización de *p*-anisaldehído]. Las fracciones que contienen el producto se combinaron y se concentraron a

30

ES 2 550 504 T3

vacío para proporcionar el compuesto 12a (2,3 g, 91 %) como un sólido de color blanco. La tabla 28 describe las propiedades medidas del producto.

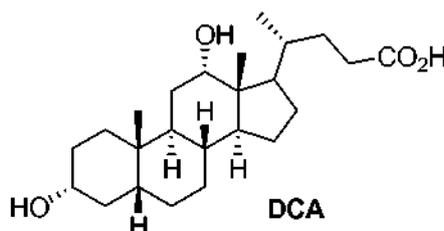
Tabla 28

CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R _f para 2,1 a = 0,45 y R _f para 2,0a = 0,55
Fase móvil de CCF	30 % - EtOAc en hexanos
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 4,68 - 4,73 (m, 1H), 3,98 (s, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,34 - 2,40 (m, 1H), 2,21 - 2,26 (m, 1H), 2,01 (s, 3H), 1,75 - 1,89 (m, 6H), 1,39 - 1,68 (m, 16H), 1,00 - 1,38 (m, 3H), 0,96 - 0,97 (d, J = 5,5 Hz, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,68 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃)	δ = 174,5, 170,5, 74,1, 72,9, 51,3, 48,1, 47,2, 46,4, 41,7, 35,8, 34,9, 34,7, 34,0, 33,5, 32,0, 30,9, 30,8, 28,6, 27,3, 26,8, 26,3, 25,9, 23,4, 22,9, 21,3, 17,2, 12,6
Masa (m / z)	449,0 [M ⁺ + 1], 466,0 [M ⁺ + 18]
IR (KBr)	3621, 2938, 2866, 1742, 1730, 1262, 1162, 1041, cm ⁻¹
p. f.	104,2 - 107,7 °C (a partir de EtOAc)
[α] _D	+56 (c = 1 % en CHCl ₃)
Pureza de ELSD	97,0 %: Tiempo de retención = 12,75 (Inertsil ODS 3V, 250 x 4,6 mm, 5 μm, ACN : Agua (60 : 40)

5

Ejemplo 24

Ácido desoxicólico (DCA)



10

Una solución de LiOH (187 mg, 4,4 mmol) en H₂O (2,0 ml) se añadió a una solución del compuesto 12a (500 mg, 1,11 mmol) en THF (8 ml) y MeOH (8 ml). La mezcla resultante se agitó durante 3 - 4 h a 50 °C. Tras la completa desaparición del material de partida mediante CCF, la mezcla de reacción se concentró a vacío. Una mezcla de agua (10 ml) y HCl 3 N (1 ml) se combinó y se enfrió hasta 0 °C y a continuación se añadió al producto en bruto. Después de agitar durante 1 h a 0 °C, los sólidos precipitados se filtraron y a continuación se lavaron con agua (10 ml) y hexano (20 ml). El secado a vacío a temperatura ambiente proporcionó ácido desoxicólico (DCA, 400 mg, 91 % de rendimiento) como un sólido de color blanco. La tabla 29 describe las propiedades medidas del producto.

15

20

Tabla 29

CCF	carbonización de <i>p</i> -anisaldehído, R _f para DCA = 0,32 y R _f para 2.1a = 0,82
Fase móvil de CCF	10 % - Metanol en DCM
RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃)	δ = 11,92 (s, 1H), 4,44 (s, 1H), 4,19 (s, 1H), 3,77 (s, 1H), 3,35 - 3,36 (m, 1H), 2,19 - 2,21 (m, 1H), 2,08 - 2,10 (m, 1H), 1,73 - 1,80 (m, 4H), 1,43 - 1,63 (m, 6H), 1,15 - 1,35 (m, 12H), 0,98 - 1,05 (m, 2H), 0,89 - 0,90 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,58 (s, 3H)
RMN de ¹³ C (125 MHz, DMSO)	δ = 174,8, 71,0, 69,9, 47,4, 46,1, 46,0, 41,6, 36,3, 35,6, 35,1, 34,9, 33,8, 32,9, 30,8, 30,7, 30,2, 28,6, 27,1, 27,0, 26,1, 23,5, 23,0, 16,9, 12,4
Masa (m / z)	393 [M ⁺ , + 1]
IR (KBr)	3363, 2933, 2863, 1694, 1453, 1372, 1042, cm ⁻¹
p. f.	171,4 - 173,6 °C (a partir de etanol); 174 - 176 °C (Alfa Aesar) y 171 - 174 °C (Aldrich)
[α] _D	+47 (c = 1 % en EtOH), +54° (c = 2 % en etanol) [Alfa Aesar]
Pureza de ELSD	99,7 %: Tiempo de retención = 5,25 (Inertsil ODS 3V, 250 x 4,6 mm, 5 μm, ACN : TFA al 0,1 % en agua (90 : 10)

Ejemplo 25

Se incubaron adipocitos humanos primarios con concentraciones variables de desoxicolato de sodio sintético que se sintetiza usando 9-HAD como material de partida o desoxicolato de sodio derivado de bovino que se obtiene de Sigma tal como se describe en lo sucesivo.

25

Materiales

- Adipocitos (Zen-Bio N° de cat. SA-1096)
- Placas de 96 pocillos (US Scientific N° de cat. cellstar con N° 655180)
- 5 Medio RPMI libre de suero (Mediatech N° de cat. 17 - 105-CV)
- Desoxicolato de sodio (DC) (Sigma N° de cat. D6750)
- Glicodesoxicolato de sodio sintético (Kythera)
- PBS (1 x)
- 10 Kit de ensayo MTS (Promega N° de cat. G3580)

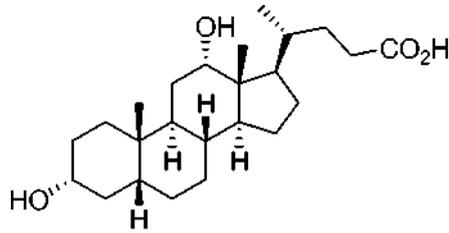
15 Los adipocitos llegaron diferenciados y a una densidad de 13.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos. Se recibieron dos placas y cada una se trató con las mismas muestras. Las células se incubaron durante 24 horas a 37 °C con CO₂ al 5 %. Una solución madre al 1 % de cada ácido biliar (DCA sintético y no sintético) se realizó mediante la disolución de 20 mg en 2 ml de medios (libres de suero). Usando la solución madre al 1 %, las siguientes 11 soluciones se prepararon mediante dilución: 0,005 %, 0,01 %, 0,015 %, 0,02 %, 0,025 %, 0,03 %, 0,035 %, 0,04 %, 0,05 %, 0,06 % y 0,1 %, así como 0 % (solo medios).

20 Las células se lavaron 2 x con 150 µl de PBS 1 x (solución salina tamponada con fosfato) a temperatura ambiente. Se retiraron los medios y a continuación PBS de los pocillos en una placa de 96 pocillos volteando la placa y decantando el líquido en un recipiente. Después del último lavado con PBS, se añadieron 80 µl de muestra por pocillo. Cada concentración de un ácido biliar específico se añadió a 8 pocillos y se incubó durante 1 hora a 37 °C con CO₂ al 5 %. Las placas a continuación se retiraron de la incubadora y la solución se decantó. Una solución de 100 µl de reactivo de MTS diluido (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio, sal interna) (40 µl en 1 ml de RPMI) se añadió directamente a cada pocillo. Las placas se incubaron a 37 °C con CO₂ al 5 % hasta que los pocillos de control (no los de ácido biliar) cambiaron de color a marrón anaranjado y a continuación se cargaron en un espectrofotómetro que analiza placas de 96 pocillos. Las muestras se realizaron con un ajuste de longitud de onda de 490 nm.

30 La viabilidad celular se evaluó usando un kit (MTS) de ensayo colorimétrico de Promega. Los resultados muestran una disminución dependiente de la dosis en la supervivencia celular tras el tratamiento o bien con NaDC sintético o bien con NaDC de Sigma (véase la figura 2). Ambas moléculas mostraron un comportamiento citolítico similar en este experimento, lo que indica que el NaDC sintético y el NaDC de Sigma derivado de bovino son funcionalmente idénticos en términos de su capacidad para destruir adipocitos.

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar ácido desoxicólico (DCA) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

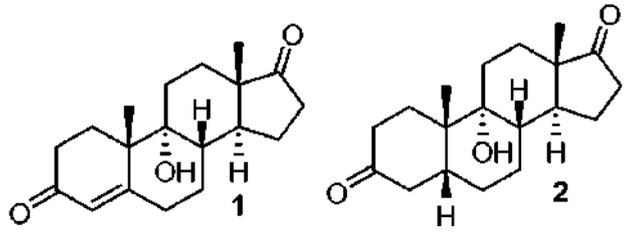


(DCA)

5

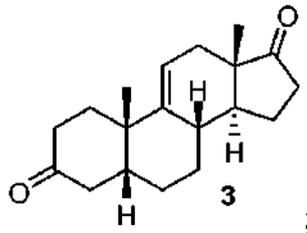
comprendiendo dicho método

10 (a) hacer reaccionar 9 α -hidroxiandrost-4-en-3,17-diona 1 con H₂ bajo unas condiciones de hidrogenación para formar el compuesto 2



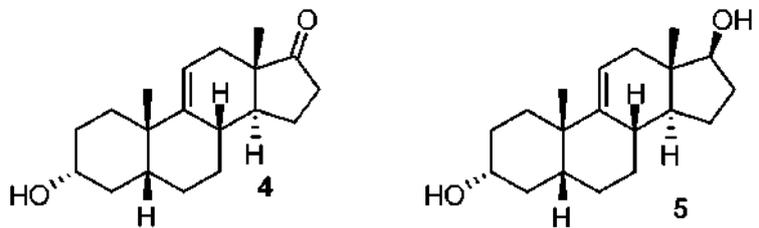
15

(b) hacer reaccionar el compuesto 2 con ácido para formar el compuesto 3

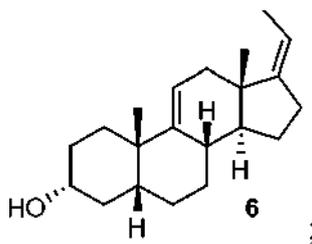


20

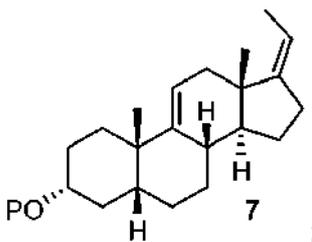
(c) hacer reaccionar el compuesto 3 con un agente reductor para formar el compuesto 4 como una mezcla de 4 y 5



(d) hacer reaccionar el compuesto 4 con un reactivo de olefinación de dos carbonos bajo unas condiciones de formación de olefina para formar el compuesto 6



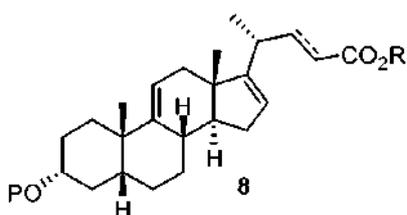
(e) convertir el compuesto 6 en un compuesto de la fórmula 7



5

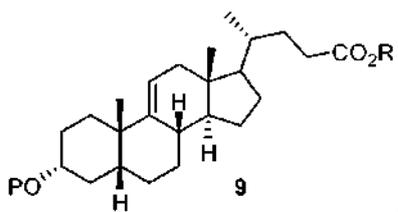
(f) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 7 con un propiolato de alquilo de la fórmula $\text{CH}=\text{CC}(\text{O})\text{OR}$ o un acrilato de alquilo de la fórmula $\text{CH}_2=\text{CHC}(\text{O})\text{OR}$ en la que R es alquilo, en presencia de un ácido de Lewis para formar un compuesto de la fórmula 8 en la que P es un grupo protector, R es alquilo y la línea de trazos ----- es un enlace simple o doble;

10



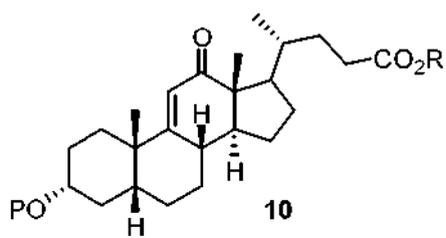
(g) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 8 con H_2 bajo unas condiciones de hidrogenación para formar un compuesto de la fórmula 9 en la que P es un grupo protector y R es alquilo;

15



(h) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 9 con un agente oxidante para formar un compuesto de la fórmula 10 en la que P es un grupo protector tal como acetilo y R es alquilo;

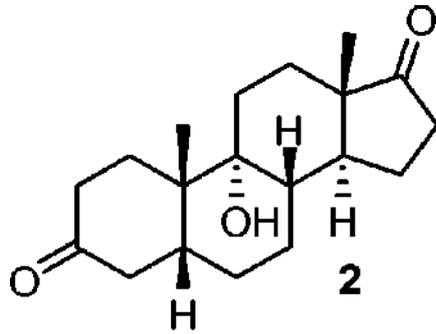
20



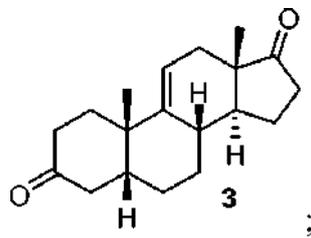
(i) hacer reaccionar el compuesto de la fórmula 10 con H_2 bajo unas condiciones de hidrogenación para formar un compuesto de la fórmula 11 en la que P es un grupo protector y R es alquilo;

25

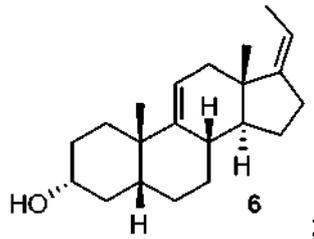
15. Un compuesto de la fórmula 2



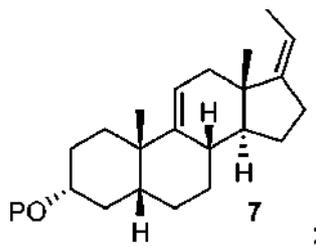
5 16. Un compuesto de la fórmula 3



10 17. Un compuesto de la fórmula 6

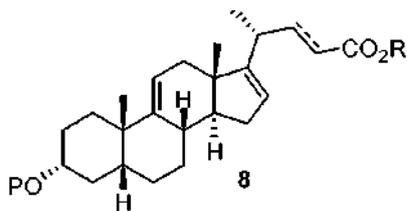


18. Un compuesto de la fórmula 7



15 en la que P es un grupo protector, tal como acetilo.

20 19. Un compuesto de la fórmula 8



en la que P es un grupo protector, tal como acetilo.

FIGURA 1

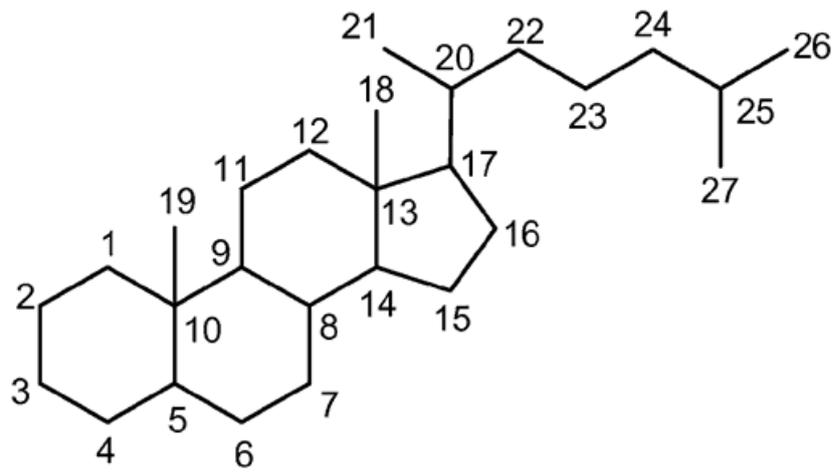


FIGURA 2

