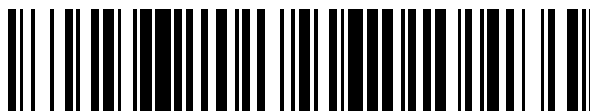


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 575 559**

51 Int. Cl.:

C07J 1/00 (2006.01)

C07J 5/00 (2006.01)

C07J 9/00 (2006.01)

C07J 13/00 (2006.01)

C07J 41/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2010 E 10798913 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.03.2016 EP 2513132**

54 Título: **Métodos para la purificación de ácido desoxicólico**

30 Prioridad:

18.12.2009 US 288132 P

12.02.2010 US 303816 P

25.05.2010 GB 201008726

26.05.2010 US 348686 P

05.02.2010 US 302007 P

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

29.06.2016

73 Titular/es:

KYTHERA BIOPHARMACEUTICALS, INC.

(100.0%)

27200 West Agoura Road, Suite 200

Calabasas, CA 91301, US

72 Inventor/es:

MORIARTY, ROBERT M.;

REID, JOHN GREGORY y

SWARINGEN JR., ROY A.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 575 559 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

Métodos para la purificación de ácido desoxicólico

Fundamento de la invención

Campo de la invención

- 5 Esta invención está dirigida a intermedios tales como 12-ceto o 12- α -hidroxiesteroides además de nuevos procedimientos para su preparación.

Estado de la técnica

10 La rápida eliminación de la grasa corporal es un viejo ideal, y muchas sustancias se han reivindicado para conseguir dichos resultados, aunque pocas han mostrado resultados. La "mesoterapia", o el uso de inyectables para la eliminación de grasa, no está aceptada ampliamente entre los profesionales médicos debido a problemas de seguridad y eficacia, aunque se han hecho reivindicaciones homeopáticas y cosméticas desde los años 50. 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 procesos médicos y cosméticos locales. Aunque la mesoterapia se empleó tradicionalmente para el alivio del dolor, sus aplicaciones cosméticas, particularmente la eliminación de grasa y celulitis, han recibido atención recientemente en los Estados Unidos. Un tratamiento presentado para la reducción de grasa localizada, que se popularizó en Brasil y usa inyecciones de fosfatidilcolina, se ha considerado de forma errónea como sinónimo de la mesoterapia. A pesar de su atracción como una pretendida inyección "que disuelve la grasa", hay pocos datos de seguridad y eficacia de estos tratamientos cosméticos. Véase, Rotunda, A.M. y M. Kolodney, *Dermatologic Surgery* 32, 465-480 (2006) ("Mesotherapy and Phosphatidylcholine Injections: Historical Clarification and Review").

15 La bibliografía publicada recientemente presenta que el ácido biliar, ácido desoxicólico, y sales del mismo, tienen propiedades de eliminación de grasa cuando se inyecta en depósitos grasos *in vivo*. Véanse, los documentos WO 2005/117900 y WO 2005/112942, además de los documentos US2005/0261258; US2005/0267080; US2006/127468; y US20060154906). El desoxicolato inyectado en el tejido adiposo degrada las células adiposas por medio de un mecanismo citolítico. Porque el desoxicolato inyectado en la grasa se inactiva rápidamente mediante la exposición a la proteína y vuelve después rápidamente a los contenidos intestinales, sus efectos están espacialmente contenidos. Como resultado de este efecto de atenuación que confiere seguridad clínica, las terapias de eliminación de grasa necesitan típicamente de 4 - 6 sesiones. Esta eliminación de grasa localizada sin la necesidad de cirugía es beneficiosa no solo para el tratamiento terapéutico relacionado con depósitos de grasa localizados patológicos (por ejemplo, dislipidemias incidentes con la intervención médica en el tratamiento de VIH), sino también para la eliminación de grasa cosmética sin el riesgo relacionado inherente a la cirugía (por ejemplo, liposucción). Véase, Rotunda et al., *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 et al., *J. Am. Acad. Dermatol.* (2005: 973-978) ("Lipomas treated with subcutaneous deoxycholate injections").

20 Además, muchos esteroides importantes tienen un 12- α -hidroxi-sustituyente en el anillo C del esteroide. Dichos compuestos incluyen, por medio del ejemplo, ácidos biliares tales como ácido desoxicólico, ácido cólico, ácido litocólico y similares. Hasta ahora, dichos compuestos se recuperaban típicamente de fuentes bovinas y ovinas que proporcionaban una fuente lista de ácidos biliares en una base efectiva en coste. Sin embargo, con el reciente descubrimiento de que patógenos tales como priones pueden contaminar dichas fuentes, los métodos alternativos para la síntesis de ácidos biliares a partir de fuentes vegetales o materiales de partida sintéticos se han vuelto cada vez más importantes. Por ejemplo, el ácido desoxicólico procedente de animales en Nueva Zelanda son una fuente de ácidos biliares para uso humano bajo regímenes reguladores de EE.UU., mientras los animales continúen permaneciendo aislados y libres de otra forma de patógenos observables. Dichas condiciones astringentes imponen una limitación en la cantidad de ácidos biliares de fuentes de mamíferos adecuados y no descartan la posibilidad de que el ácido biliar estará libre de dichos patógenos.

25 Permanece una necesidad de cantidades adecuadas de ácidos biliares eficaces tales como ácido desoxicólico que se conocen desde el principio por estar libres de restos de origen animal (o restos patógenos capaces de actuar en un animal, particularmente un mamífero, y para uso humano, que tiene un efecto nocivo en un ser humano), y otros agentes dañinos tales como metabolitos animales o microbianos, toxinas, que incluyen toxinas bacterianas, tales como pirógenos, para uso como medicamentos en seres humanos.

30 Además, hay una necesidad de preparar una composición de ácido biliar libre de otros ácidos biliares no previstos. A este respecto, se sabe que el ácido desoxicólico de fuentes de mamíferos está contaminado con ácido cólico. A su vez, se sabe además que el ácido cólico es un componente esencial en la formación de cálculos biliares. Por consiguiente, hay una necesidad en progreso para proporcionar métodos para preparar ácido desoxicólico cuyos métodos no darían por resultado contaminación con otros ácidos biliares.

Hasta ahora, el documento GB2452358 describe la síntesis de ácido desoxicólico que comienza con 9 α -hidroxiandro-4-en-3,17-diona. En esa síntesis, el intermedio 3 α -hidroxi-5 β -andro-9(11)-en-17-ona se describe como que se deriva de 9 α -hidroxiandro-4-en-3,17-diona. Mientras 9 α -hidroxiandro-4-en-3,17-diona se convierte de forma efectiva en ácido desoxicólico como se describe en esa patente, la síntesis de ácido desoxicólico a partir de hidrocortisona sería de valor particular ya que la hidrocortisona está ampliamente disponible.

La cortisona y la hidrocortisona tienen un grupo 11-ceto o 11- β -hidroxi respectivamente más que el grupo 12- α -hidroxi del ácido desoxicólico. La conversión del grupo 11-ceto o 11- β -hidroxi en el esqueleto esteroideo al correspondiente grupo 12- α -hidroxi o 12-ceto no es trivial ya que no solo debe hacerse la conversión, debe hacerse de forma estereoselectiva. La Publicación de Solicitud de Patente Internacional núm. WO2008/157635 presenta múltiples esquemas de reacción donde, en un caso, un 3- β -acetoxi-11-cetoesteroide se convierte a un 3- β -acetoxi-12- α -hidroxiesteroide por medio de la formación de una funcionalidad Δ -9,11-eno en dicho esteroide seguido por oxidación alílica en la posición 12 con trióxido de cromo. El uso de trióxido de cromo proporciona modestos rendimientos de Δ -9,11-eno-12-oxo funcionalidades y los productos secundarios generados por esta reacción estorban la purificación del producto deseado. Además, el trióxido de cromo es altamente tóxico, corrosivo y carcinogénico. Es el principal ejemplo de cromo hexavalente, un riesgo medioambiental. El uso de trióxido de cromo en el procedimiento de oxidación debería limitarse.

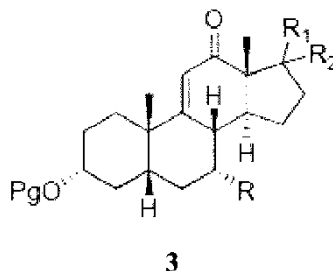
En vista de lo anterior, hay una necesidad de proporcionar un método sintéticamente eficiente para convertir los 11- β -hidroxi/11-ceto esteroides a los correspondientes Δ -9,11-eno, 12- α -hidroxi/12-ceto esteroides usando agentes oxidantes compatibles medioambientalmente y menos tóxicos.

Los compuestos químicos de grado farmacéutico necesitan niveles consistentemente reproducibles de pureza. En algunas realizaciones, los procedimientos de purificación deberían proporcionar al menos el 95% de pureza o al menos el 99% de pureza. Sin embargo, la purificación a al menos el 99% es técnicamente un desafío. Por ejemplo, los disolventes usados en el procedimiento de purificación pueden quedar atrapados con el producto reduciendo así su pureza y otros contaminantes pueden pasarse por cualquier procedimiento de purificación.

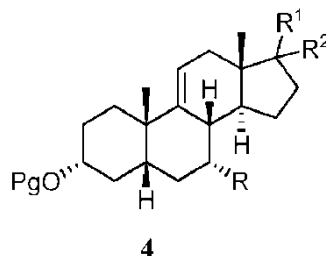
Este problema es particularmente relevante con el ácido desoxicólico y sales del mismo ya que este producto se describe para uso cosmético en la eliminación de depósitos de grasa indeseables. Véase, por ejemplo, la Patente de EE.UU. núm. 7.622.130. Como los procedimientos cosméticos son enteramente electivos, típicamente se demandan mayores estándares de seguridad por las autoridades reguladoras.

Compendio de la invención

Según un primer aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento para preparar un 12-ceto compuesto 3:



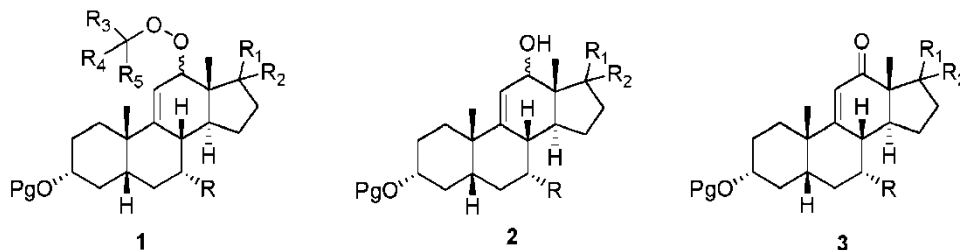
a partir del correspondiente Δ -9,11-eno compuesto 4:



donde Pg es un grupo protector de hidroxilo, R es hidrógeno, hidroxilo o -OPg, R¹ es la cadena lateral 17 de un ácido biliar, cuyo ácido biliar se selecciona del grupo que consiste en ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido taurocólico y ácido glicocólico, en donde la funcionalidad carboxilo de dicha cadena lateral está opcionalmente esterificada con un grupo alquilo C₁-C₆, y R² es hidrógeno, o R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo ceto o un grupo protector de ceto;

dicho procedimiento comprende:

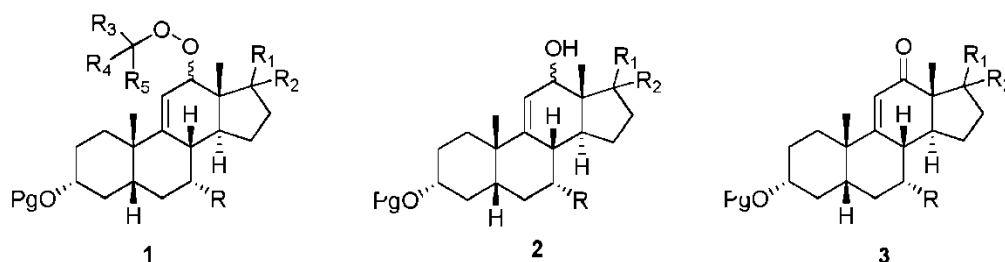
efectuar la oxidación alílica en la posición 12 del compuesto 4 por reacción con un alquilhidroperóxido de la fórmula $(R^3)(R^4)(R^5)C-O-OH$ en presencia de un co-oxidante, en donde cada uno de R^3 , R^4 y R^5 es independientemente alquilo C_1-C_3 , en donde el co-oxidante se selecciona del grupo que consiste en hipoclorito sódico acuoso, paladio en carbono, $Pd(OOCF_3)_2$, $Pd(OAc)_2$ y CuI , para proporcionar primero una mezcla de compuestos 1, 2 y 3:



5 y opcionalmente en donde el compuesto 2 se oxida adicionalmente para proporcionar el Δ -9,11-eno-12-ona compuesto 3.

En una realización, la oxidación alílica se efectúa por más de un equivalente de hidroperóxido de terc-butilo y el co-oxidante es CuI .

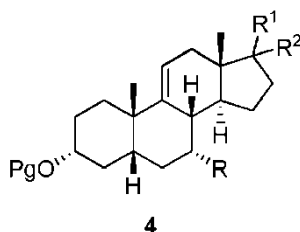
10 Se describe un procedimiento de oxidación que o bien elimina o limita la cantidad de agente oxidante de cromo (VI) empleado durante la oxidación alílica en la posición 12 de Δ -9,11-eno esteroides. La oxidación emplea una mezcla co-oxidante compatible medioambientalmente que proporciona compuestos 1, 2 y 3:



15 en donde Pg es un grupo protector de hidroxilo, R es hidrógeno, hidroxilo o $-OPg$, R^1 es la cadena lateral 17 de un ácido biliar, cuyo ácido biliar se selecciona del grupo que consiste en ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido taurocólico y ácido glicocólico, en donde la funcionalidad carboxilo de dicha cadena lateral está opcionalmente esterificada con un grupo alquilo C_1-C_6 , y R^2 es hidrógeno, o R^1 y R^2 junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo ceto o un grupo protector de ceto; y cada uno de R^3 , R^4 y R^5 es independientemente alquilo C_1-C_3 .

20 Opcionalmente, en una etapa adicional, la mezcla anterior se trata con un agente oxidante de cromo (VI) para convertir los productos parcialmente oxidados en la posición 12 a la correspondiente cetona. En este procedimiento, la cantidad de agente oxidante de cromo (VI) empleado es significativamente menor que la presentada en el Ejemplo 10 de la Serie de EE.UU. núm. 12/153.446 que empleó trióxido de cromo como el único agente oxidante.

Por consiguiente, en una realización, se proporciona un método para efectuar la oxidación alílica en la posición 12 del compuesto Δ -9,11-eno esteroideo 4:



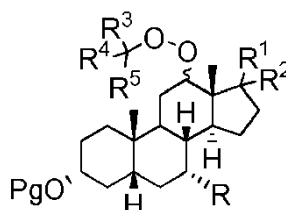
25 al correspondiente 12-ceto compuesto 3:

cuyo procedimiento comprende poner en contacto el compuesto 4 con una mezcla co-oxidante según la invención bajo condiciones oxidantes para proporcionar una mezcla de compuesto 1, 2 y 3; y

5 oxidar adicionalmente dicha mezcla con una cantidad efectiva de un agente oxidante de cromo (VI) para proporcionar el compuesto 3, en donde Pg es un grupo protector de hidroxilo, R es hidrógeno, hidroxilo o -OPg, R¹ es la cadena lateral 17 de un ácido biliar, cuyo ácido biliar se selecciona del grupo que consiste en ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido taurocólico y ácido glicocólico, en donde la funcionalidad carboxilo de dicha cadena lateral se esterifica opcionalmente con un grupo alquilo C₁-C₆, y R² es hidrógeno, o R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo ceto o un grupo protector de ceto.

10 En una realización opcional, la mezcla de compuestos 1, 2 y 3 se hacen reaccionar bajo condiciones de hidrogenación para hidrogenar el Δ-9,11-eno antes de la oxidación con el agente oxidante de cromo (VI).

Cuando dicha hidrogenación opcional se da antes de la oxidación con el cromo (VI), se proporciona un nuevo intermedio de fórmula 5:



5

en donde Pg, R, R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ son como se definen anteriormente.

15 En una realización preferida, la hidrogenación se da después de que la(s) etapa(s) de oxidación se ha(n) completado.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 proporciona un espectro RMN de protón del compuesto 9 usando un instrumento de 500 MHz.

La Figura 2 proporciona un espectro ¹³C RMN del compuesto 9 usando un instrumento de 125 MHz.

20 La Figura 3 proporciona un espectro de masas del compuesto 9.

Descripción detallada de la invención

Como se usa en esta memoria, ciertos términos pueden tener los siguientes significados definidos. Como se usa en la memoria y las reivindicaciones, la forma singular "un," "una", "el/la" incluyen las referencias en singular y plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

25 A menos que se indique otra cosa, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, etcétera, usados en la memoria y las reivindicaciones se va a entender que están modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". De acuerdo con esto, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos presentados en la memoria y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones. Cada parámetro numérico se debe considerar al menos a la luz del número de dígitos significativos presentados y aplicando técnicas de redondeo normales.

30 Como se usa en esta memoria, el término "que comprende" se pretende que signifique que los compuestos y métodos incluyen los elementos enumerados, aunque no excluyen otros. "Que consiste esencialmente en" cuando se usa para definir composiciones y métodos, indicará que excluye otros elementos de cualquier importancia esencial a los compuestos o método. "Que consisten en" indicará que excluye más que elementos traza de otros ingredientes para los compuestos reivindicados y etapas de método esenciales. Las realizaciones definidas por cada uno de estos términos de transición están dentro del alcance de esta invención. Por consiguiente, se pretende que los métodos y compuestos puedan incluir etapas y componentes adicionales (que comprenden) o incluir de forma alternativa etapas y compuestos adicionales sin importancia (que consisten esencialmente en) o alternativamente, indicando solo las etapas de métodos o compuestos enumerados (que consisten en).

40 El término "alquilo" se refiere a grupos hidrocarbilo alifáticos saturados monovalentes que tienen de 1 a 10 átomos de carbono o 1 a 6 átomos de carbono. El término "alquilo inferior" se refiere a un alquilo de 1-6 átomos de carbono o 1-4 átomos de carbono. Este término incluye, por medio del ejemplo, grupos hidrocarbilo lineales y ramificados tal como metilo (CH₃-), etilo (CH₃CH₂-), *n*-propilo (CH₃CH₂CH₂-), isopropilo ((CH₃)₂CH-), *n*-butilo (CH₃CH₂CH₂CH₂-), isobutilo ((CH₃)₂CHCH₂-), *sec*-butilo ((CH₃)(CH₃CH₂)CH-), *t*-butilo ((CH₃)₃C-), *n*-pentilo CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂-), y neopentilo ((CH₃)₃CCH₂-).

45

El término "*t*-alquilo" o "*terc*-alquilo" se refiere a grupos alquilo terciarios de la fórmula $R^1R^2R^3C$ - donde cada uno de R^1 , R^2 y R^3 son independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono y un total de 10 átomos de carbono. Dichos grupos tienen preferiblemente no más de 4-6 átomos de carbono.

5 El término "agente oxidante" se refiere a un reactivo que puede aceptar electrones en una reacción de oxidación-reducción. De esta forma, el oxígeno puede añadirse a una molécula o el hidrógeno puede eliminarse de una molécula. Los agentes oxidantes incluyen por medio del ejemplo solo reactivo de Jones, hidroperóxido de *terc*-butilo, hipoclorito sódico, clorocromato de piridinio y CrO_3 . En un ejemplo, el agente oxidante es específico para alcoholes vecinales (1,2) e incluyen compuestos de peryodato. Dichos agentes oxidantes se denominan a veces como "agentes oxidantes de alcohol vecinal".

10 El término "agentes oxidantes de cromo" se refiere a compuestos de cromo VI capaces de efectuar la oxidación. En una realización, el agente oxidante de cromo es capaz de oxidar alcoholes primarios a aldehídos y alcoholes secundarios a cetonas. Dichos agentes oxidantes de cromo selectivos se complejan típicamente con una base tal como piridina. Un agente oxidante de cromo particularmente preferido es clorocromato de piridinio. En otra realización, el agente oxidante de cromo es capaz de oxidar un grupo metileno alfa a insaturación de vinilo para efectuar la formación de una cetona alfa. En esa realización, los agentes oxidantes de cromo preferidos incluyen trióxido de cromo y una mezcla co-oxidante de $NaOCl$ y peróxido de *t*-alquilhidrógeno tal como peróxido de *t*-butilhidrógeno (TBHP).

20 El término "grupo protector de hidroxilo" se refiere a un grupo capaz de proteger el grupo hidroxilo (-OH) de un compuesto y liberar el grupo hidroxilo bajo condiciones de desprotección adecuadas. Tales grupos comunes incluyen acilo (que forma un éster con el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo), tal como acetilo, benzoilo y grupos que forman un éter con el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo, tal como bencilo y metoximetilo, etc. Los grupos protectores de hidroxilo se conocen bien en el campo de la síntesis orgánica.

25 El término "condiciones de eliminación" se refiere a condiciones de reacción en que una pequeña molécula, tal como H_2O , HCl o HBr , etc., se pierde de un compuesto que comprende un grupo hidroxilo, cloro o bromo, etc. para formar un compuesto correspondiente que comprende un grupo alqueno. En un ejemplo, una condición de eliminación incluye condiciones de deshidratación en donde el grupo hidroxilo y el átomo de hidrógeno vecino se eliminan para formar un grupo vinilo (un grupo "eno"). Las condiciones de deshidratación pueden incluir convertir el grupo hidroxilo a un grupo saliente tal como cloro, bromo, tosilo, mesilo, $-OS(O)Cl$.

El término "Ac" se refiere a un grupo acetilo que tiene la fórmula $CH_3C(O)$ -.

30 El término "ceto" se refiere al grupo ($>C=O$).

El término "grupo protector de ceto" se refiere a un grupo capaz de proteger un grupo ceto de un compuesto y liberar el grupo ceto bajo condiciones de desprotección adecuadas. Dichos grupos comunes incluyen cetales y acilales. Los grupos protectores de ceto se conocen bien en el campo de la síntesis orgánica.

35 Los grupos protectores de hidroxilo o ceto adecuados y otros grupos protectores que pueden emplearse, y las condiciones para su eliminación, se describen en libros tales como *Protective groups in organic synthesis*, 3 ed., T. W. Greene y P. G. M. Wuts, eds., John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, N.Y., U.S.A., 1999, y serán bien conocidos por una persona experta en la técnica.

40 El término "cetal" se refiere a un grupo que tiene dos grupos $-OR^{22}$ unidos al mismo átomo de carbono en una molécula, donde R^{22} representa un grupo alquilo o los dos grupos R^{22} junto con el átomo de carbono y los dos átomos de oxígeno unidos a ellos forman una estructura anular. Los dos grupos $-OR^{22}$ pueden ser iguales o diferentes.

El término "acilal" se refiere a un grupo que tiene dos grupos $-O(C=O)R^{23}$ unidos al mismo átomo de carbono en una molécula, donde R^{23} representa un grupo alquilo o los dos grupos R^{23} junto con el átomo de carbono y los grupos $-O(C=O)$ - unidos a ellos forman una estructura anular. Los dos grupos $-O(C=O)R^{23}$ pueden ser iguales o diferentes.

45 El término "agente reductor" se refiere a un reactivo que puede dar electrones en una reacción de oxidación-reducción, permitiendo al hidrógeno añadirse a una molécula. Los agentes reductores adecuados incluyen hidruro de litio y aluminio, borohidruro sódico, cianoborohidruro sódico y similares.

El término "reactivo acetilante" se refiere a un reactivo en que puede añadirse un grupo acetilo (Ac) $CH_3C(O)$ - a un resto de alcohol de una molécula.

50 El término "ácido" se refiere a reactivos capaces de dar H^+ .

El término "ácido de Lewis" se refiere a un aceptor de pares de electrones. Los ácidos de Lewis incluyen reactivos organometálicos tales como haluros de alquilaluminio (por ejemplo Et_2AlCl y $MeAlCl_2$).

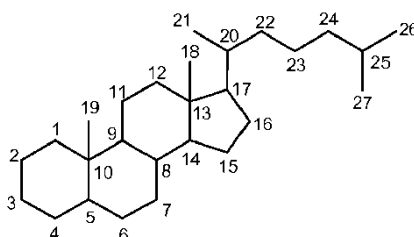
El término "condiciones de hidrogenación" se refiere a condiciones adecuadas y catalizadores para introducir H₂ a través de uno o más dobles enlaces. Los catalizadores de hidrogenación incluyen los basados en metales del grupo del platino (platino, paladio, rodio y rutenio) tal como Pd/C y PtO₂.

- 5 El término "reactivo de olefinación" se refiere a reactivos que reaccionan con cetonas para formar las correspondientes olefinas. El término "condiciones de formación de olefinas" se refiere a condiciones adecuadas para llevar a cabo dichas transformaciones. Los ejemplos de dichos reactivos incluyen reactivos de Wittig y condiciones de olefinación de Wittig.

El término "condiciones de reflujo" se refiere a las condiciones en donde un líquido hierve, y el vapor del líquido hirviente condensa y vuelve hacia abajo en el líquido posterior.

- 10 El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales farmacéuticamente aceptables de ácido desoxicólico, cuyas sales se derivan de una variedad de contraiones orgánicos e inorgánicos bien conocidos en la técnica e incluyen, por medio solo de ejemplo, sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio y tetraalquilamonio.

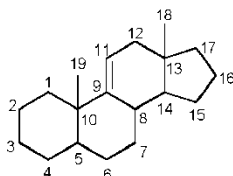
La numeración de la estructura esteroidea como se usa en esta memoria sigue la convención general:



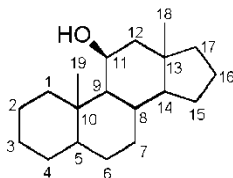
- 15 Se va a entender que a menos que se especifique otra cosa, las estructuras solo representan la posición de átomos de carbono. Uno o más enlaces entre dos átomos de carbono adyacentes pueden ser un doble enlace y uno o más átomos de carbono pueden estar opcionalmente sustituidos.

El término " Δ -9,11-eno esteroideo" o "compuesto Δ -9,11-eno" como se usa en esta memoria se refiere a un compuesto esteroideo que tiene un doble enlace entre los átomos de carbono 9 y 11 que puede representarse mediante la estructura de:

20

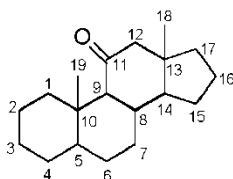


El término "11- β -hidroxilo esteroideo" o "compuesto 11- β -hidroxilo" como se usa en esta memoria se refiere a un compuesto esteroideo que tiene un sustituyente hidroxilo en el átomo de carbono en la posición 11 que puede representarse mediante la estructura de:

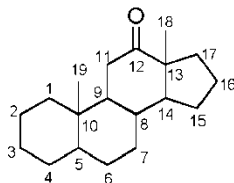


25

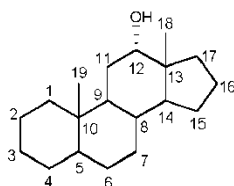
El término "11-ceto esteroideo" o "compuesto 11-ceto" como se usa en esta memoria se refiere a un compuesto esteroideo que tiene un sustituyente ceto en el átomo de carbono en la posición 11 que puede representarse mediante la estructura de:



El término "12-ceto esteroideo" o "compuesto 12-ceto" como se usa en esta memoria se refiere a un compuesto esteroideo que tiene un sustituyente ceto en el átomo de carbono en la posición 12 que puede representarse mediante la estructura de:



- 5 El término "12-alfa-hidroxi esteroideo" o "12-alfa-hidroxi compuesto" como se usa en esta memoria se refiere a un compuesto esteroideo que tiene un sustituyente hidroxilo en el átomo de carbono en la posición 12 que puede representarse mediante la estructura de:



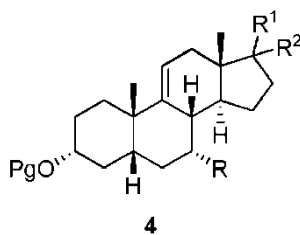
El término "cadena lateral 17 de un ácido biliar" se refiere al sustituyente en el átomo de carbono en la posición 17.

10 Procedimientos sintéticos

A. Conversión de 11-β-hidroxi/11-ceto esteroides a los correspondientes 12-α-hidroxi/12-cetoesteroides

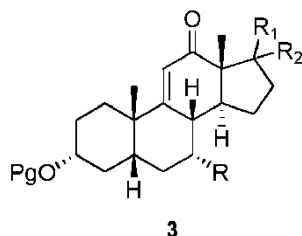
- 15 En otra realización, esta invención proporciona procedimientos sintéticos para la conversión eficiente de 11-β-hidroxi/11-ceto esteroides a los correspondientes 12-α-hidroxi/12-cetoesteroides cuyos compuestos son útiles en la síntesis de ácidos biliares. Los procedimientos emplean preferiblemente esteroides tales como 9-HAD, cortisona o hidrocortisona, que pueden prepararse también de forma sintética y convertirse al compuesto 4 por métodos descritos, por ejemplo, en la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. núm. 61/303.816, presentada el 12 de febrero de 2010, titulada "Preparation of Deoxycholic Acid and Intermediates Thereof".

En uno de sus aspectos del procedimiento, esta invención se dirige a un procedimiento para convertir un Δ-9,11-eno compuesto 4:



20

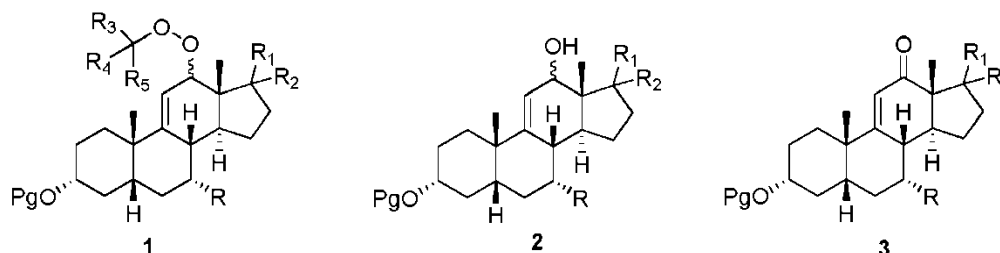
al correspondiente 12-ceto compuesto 3:



- 25 donde Pg es un grupo protector de hidroxilo, R es hidrógeno, hidroxilo o -OPg, R¹ es la cadena lateral 17 de un ácido biliar, cuyo ácido biliar se selecciona del grupo que consiste en ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido taurocólico, y ácido glicocólico, en donde la funcionalidad carboxilo de dicha cadena lateral está opcionalmente esterificada con un grupo alquilo C₁-C₆, y R² es hidrógeno, o R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo ceto o un grupo protector de ceto, tal como un cetal;

en donde dicho procedimiento comprende:

efectuar oxidación alílica en la posición 12 del compuesto 4 por reacción con un *t*-alquilhidroperóxido de la fórmula $(R^3)(R^4)(R^5)C-O-OH$ en presencia de un co-oxidante, en donde cada uno de R^3 , R^4 y R^5 es independientemente alquilo C_1-C_3 , para proporcionar primero una mezcla de compuestos 1, 2 y 3:



5 y en donde opcionalmente el compuesto 2 se convierte adicionalmente para proporcionar el compuesto Δ -9,11-eno-12-ona 3.

En algunas realizaciones, el *t*-alquilhidroperóxido es *tert*-butilhidroperóxido.

10 El co-oxidante es como se define anteriormente y es un agente oxidante que funciona en concierto con el alquilhidroperóxido para efectuar la oxidación en la posición 12 no obstante si la oxidación proporciona un ceto alílico, un alcohol alílico o un peróxido alílico como se muestra anteriormente en las fórmulas 1, 2 y 3. En algunas realizaciones, el co-oxidante es hipoclorito sódico acuoso (NaOCl). En una realización, la oxidación alílica en la posición 12 de compuesto 4 se efectúa mediante un exceso de hidroperóxido de *tert*-butilo (por ejemplo, a o por encima de 1,5 equivalentes, a o por encima de 6 equivalentes, a o por encima de 10 equivalentes o aproximadamente 35 equivalentes) y un exceso de hipoclorito sódico (por ejemplo, aproximadamente 7 equivalentes) a una baja temperatura (por ejemplo, a o por debajo de 22°C, a o por debajo de 10°C y aproximadamente 0-5°C). El hidroperóxido de *tert*-butilo puede añadirse como una disolución acuosa en una concentración de, por ejemplo, aproximadamente 70%. El hipoclorito sódico puede añadirse como una disolución acuosa en una concentración de, por ejemplo, aproximadamente 2,5% a 13%, aproximadamente 5% o 10%. En algunas realizaciones, la oxidación alílica se efectúa en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en agua, acetato de etilo, hexano, heptanos, tolueno, alcohol *t*-butílico, dimetoxipropano, éter de petróleo y dicloroetano, o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, puede emplearse un catalizador de transferencia de fase. El uso de estos co-oxidantes proporciona oxidación sin el uso de los oxidantes de cromo VI tóxicos.

En algunas realizaciones, el co-oxidante es un compuesto metálico tal como CuI.

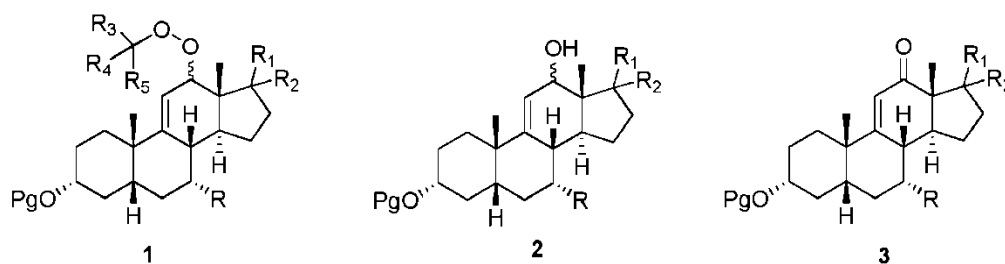
25 En algunas realizaciones, la oxidación alílica se efectúa en presencia de paladio en carbón y una base. En otra realización, la oxidación alílica en la posición 12 del compuesto 4 se efectúa por un reactivo de paladio (por ejemplo Pd/C, Pd(OAc)₂·BINAP, Pd(OCOCF₃)₂ o Pd(OAc)₂ en carbón), un exceso de hidroperóxido de *tert*-butilo (por ejemplo aproximadamente 5 equivalentes) y carbonato de potasio o bifosfato sódico en un disolvente, tal como DCM.

30 En algunas realizaciones, la conversión del compuesto 1 al compuesto 3 comprende la adición de un reactivo de paladio (por ejemplo Pd/C, Pd(OAc)₂·BINAP, Pd(OCOCF₃)₂ o Pd(OAc)₂ en carbón), un exceso de hidroperóxido de *tert*-butilo (por ejemplo aproximadamente 5 equivalentes) y carbonato de potasio o bifosfato sódico en un disolvente, tal como DCM.

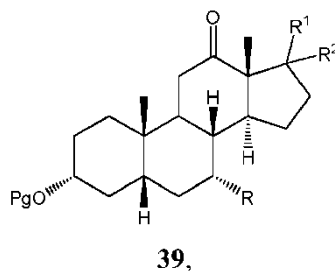
35 En algunas realizaciones, la oxidación del compuesto 2 comprende la adición de un agente oxidante capaz de oxidar una funcionalidad alcohol (-OH) a una funcionalidad ceto (=O), que se conocen en la técnica, por ejemplo, clorocromato de piridinio (PCC). Cuando se usa así, la cantidad de clorocromato de piridinio empleado es significativamente menor que el uso de trióxido de cromo [VI]. Por ejemplo, en una realización preferida, el clorocromato de piridinio se emplea en una relación molar de aproximadamente 1 a 1,5 al compuesto 2 y preferiblemente en aproximadamente una relación molar de 1,1. Esto compara favorablemente con la cantidad de trióxido de cromo usado anteriormente para efectuar la oxidación - aproximadamente 4 veces más.

40 En algunas realizaciones, el compuesto 1 se aísla primero de la mezcla y después se convierte al compuesto 2 por reducción con, por ejemplo, un agente reductor tal como amalgama de aluminio o hidrogenación catalítica.

Se describe adicionalmente un procedimiento de dos etapas de conversión de una mezcla de compuestos 1, 2 y 3:



al correspondiente 12-ceto compuesto 39:

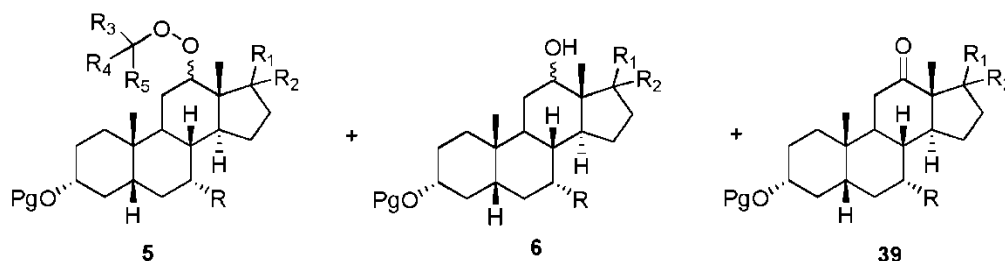


donde cada uno de Pg, R, R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ son como se definen anteriormente;

- 5 en donde dicho procedimiento comprende primero hacer reaccionar dicha mezcla bajo condiciones de hidrogenación; y

después hacer reaccionar el producto formado así bajo condiciones de oxidación.

Se describe adicionalmente la hidrogenación de la mezcla de compuestos 1, 2 y 3 que forma una mezcla de compuestos que comprende los compuestos 5, 6 y 39:



- 10 Las condiciones de hidrogenación pueden comprender gas hidrógeno, un catalizador y un disolvente. El catalizador puede seleccionarse del grupo que consiste en catalizadores basados en platino (Pt), paladio (Pd), rodio (Rh), y rutenio (Ru), tales como Pd/C, RhCl(PPh₃)₃ y PtO₂. El disolvente puede ser acetato de etilo (AcOEt).

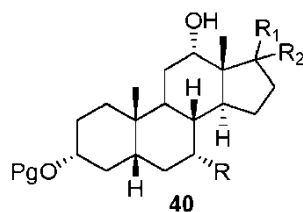
- 15 En algunas realizaciones, las condiciones de oxidación comprenden un agente oxidante capaz de oxidar una funcionalidad alcohol (-OH) a una funcionalidad ceto (=O) que se conocen en la técnica.

Las condiciones de oxidación conocidas en la técnica incluyen, aunque no están limitados a oxidación de Corey-Kim (que usa N-clorosuccinimida y sulfuro de dimetilo), oxidación de Dess-Martin (que usa ácido de 2-yodoxibenzoico o peryodinano de Dess-Martin), oxidación de Jones (que usa CrO₃), y oxidación de Swern (que usa sulfóxido de dimetilo y cloruro de oxalilo).

- 20 En algunas realizaciones, el agente de oxidación es clorocromato de piridinio (PCC). Otro agente oxidante puede incluir, aunque no están limitado a, dicromato de piridinio, percarbonato sódico, ácido yodoxibenzoico, V₂O₅, Na₂Cr₂O₇, CrO₃, percarbonato sódico, peróxido de hidrógeno y urea, y oxona, etc.

- 25 Cuando R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo ceto, el grupo ceto puede convertirse a la cadena lateral de la posición 17 de un ácido biliar por métodos conocidos en la técnica, tal como los descritos en el documento WO2008/157635.

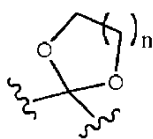
Se describe adicionalmente que el procedimiento comprende además el compuesto reductor 39 para proporcionar el compuesto 40:



La reducción del compuesto 39 para proporcionar compuesto 40 puede comprender la adición de agente de reducción capaz de reducir estereoselectivamente, preferiblemente estereoespecíficamente, una funcionalidad ceto (=O) a una funcionalidad alcohol (-OH) por ejemplo hidruro de litio y tri-*tert*-butoxialuminio.

- 5 En algunas realizaciones, R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo ceto.

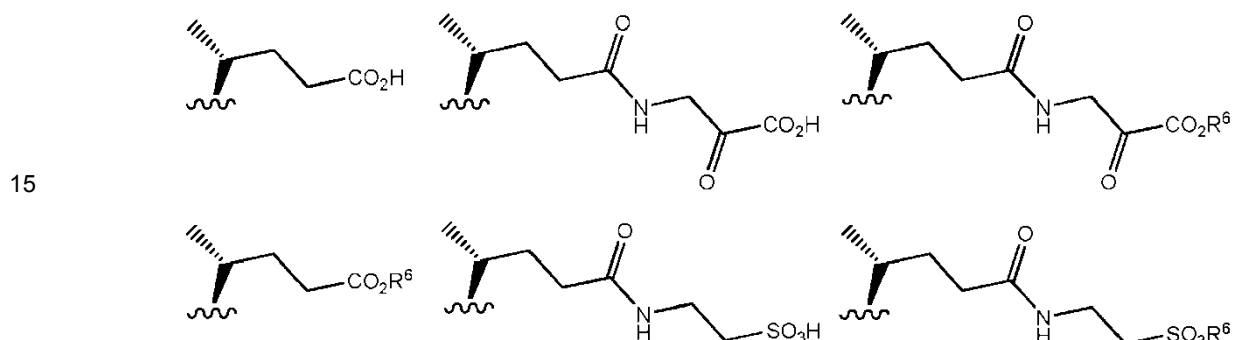
En algunas realizaciones, R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo protector de ceto, tal como:



en donde n es 1, 2 o 3 y la línea ondulada \sim representa el punto de conexión al resto de la molécula.

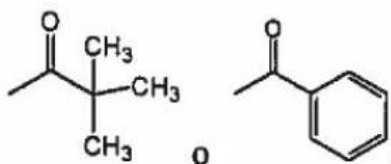
- 10 En algunas realizaciones, R¹ es la cadena lateral 17 de un ácido biliar, cuyo ácido biliar se selecciona del grupo que consiste en ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido taurocólico y ácido glicocólico. En algunas realizaciones, la funcionalidad carboxilo de dichas cadenas laterales se esterifica opcionalmente con un grupo alquilo C₁-C₆, por ejemplo un grupo alquilo C₁-C₄, tal como un grupo metilo.

En algunas realizaciones, R¹ se selecciona del grupo que consiste en



en donde R⁶ es alquilo inferior y la línea ondulada \sim representa el punto de conexión a la posición 17 de la estructura esteroidea.

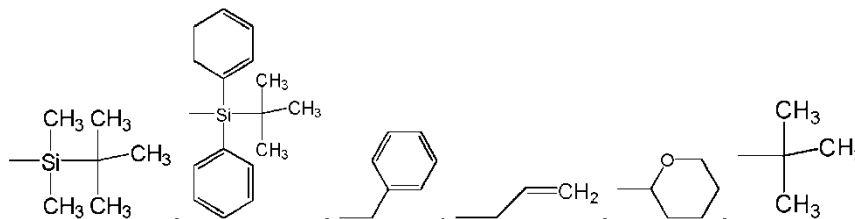
- 20 En algunas realizaciones, Pg es -C(O)R¹², en donde R¹² es alquilo inferior opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, -OR¹³; y fenilo opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo inferior y -OR¹³; en donde R¹³ es hidrógeno o alquilo inferior. En algunas realizaciones, Pg es -C(O)CH₃ o -C(O)CH₂CH₃. En algunas realizaciones, Pg es:



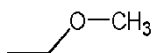
- 25 En algunas realizaciones, Pg es -R¹⁴, en donde R¹⁴ se selecciona del grupo que consiste en alquilo inferior opcionalmente sustituido con fenilo, -OR¹³ o vinilo (-CH=CH₂); -Si(R¹⁵)₃; heterocicloalquilo; y fenilo opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo inferior y -OR¹³; en donde R¹³ es hidrógeno o alquilo inferior y cada R¹⁵ se selecciona independientemente del grupo que consiste en

KYT-C-P1422EP

de alquilo inferior o fenilo. En algunas realizaciones, Pg se selecciona del grupo que consiste en:



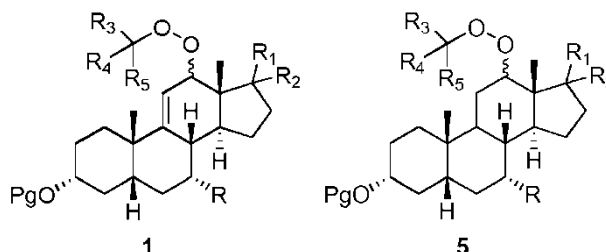
y



5 El material de partida del procedimiento de esta invención puede producirse por conversión de un 11- β -hidroxiesteroide (que puede prepararse a partir de un correspondiente 11-cetoesteroide por reacción de reducción convencional del grupo ceto) seguido por deshidratación para proporcionar un Δ -9,11-eno esteroide, que se oxida al correspondiente 12-ceto esteroide mediante un alquilhidroperóxido según el procedimiento de la presente invención. Este procedimiento proporciona rendimientos inesperadamente altos en comparación con los procedimientos conocidos anteriormente usando el agente oxidante tal como CrO_3 para convertir el Δ -9,11-eno esteroide al 12-ceto esteroide. Como se muestra en la tabla en el Ejemplo 2 posterior, el rendimiento de uso de CrO_3 durante la preparación de ácido desoxicólico era típicamente menor que 50% o menos que 40%. Usando el procedimiento de esta invención, se obtuvieron rendimientos inesperadamente altos de más del 60% de forma consistente. Además, el uso de NaOCl (lejía) y TBHP es significativamente más compatible medioambientalmente que los agentes oxidantes de cromo (VI). Se va a entender que las etapas individuales en los procedimientos descritos en esta memoria pueden hacerse de forma secuencial como se describe aunque no se realizan necesariamente de forma secuencial. Una o más de las etapas pueden realizarse como parte de un esquema mayor. Un experto en la técnica puede hacer reaccionar fácilmente otras partes de los compuestos descritos en esta memoria para hacer análogos de estos compuestos.

20 Compuestos

En otro aspecto, esta invención está dirigida a un compuesto de fórmula 1 o 5:



en donde

Pg es un grupo protector de hidroxilo;

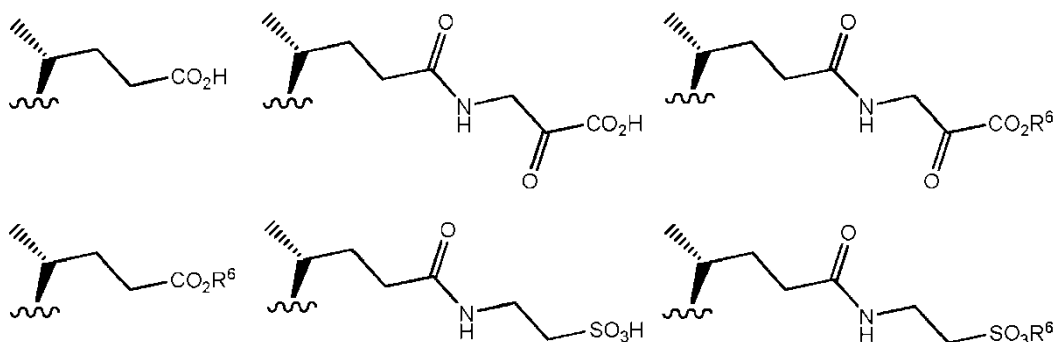
25 R es hidrógeno, hidroxilo o -OPg;


R¹ es la cadena lateral 17 de un ácido biliar seleccionado del grupo que consiste en ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido taurocólico, en donde la funcionalidad carboxilo de dicha cadena lateral está opcionalmente esterificada con un grupo alquilo C₁-C₆ o bencilo, y ácido glicocólico y R² es hidrógeno, o R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo ceto o un grupo protector de ceto; y

30 cada uno de R³, R⁴ y R⁵ es independientemente alquilo C₁-C₃.

En una realización, R es hidrógeno.

En algunas realizaciones, R¹ se selecciona del grupo que consiste en

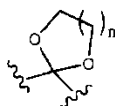


en donde R⁶ es alquilo inferior y la línea ondulada  representa el punto de conexión a la posición 17 de la estructura esteroidea.

- 5 En algunas realizaciones, R¹ es la cadena lateral 17 de un ácido biliar seleccionado del grupo que consiste en ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido taurocólico y ácido glicocólico. En algunas realizaciones, la funcionalidad carboxilo de dicha cadena lateral está opcionalmente esterificada con un grupo alquilo C-1-C₆, tal como un metilo, etilo o terc-butilo.

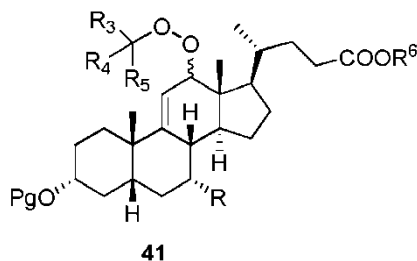
En algunas realizaciones, R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo ceto.

- 10 En algunas realizaciones, R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo protector de ceto, tal como:



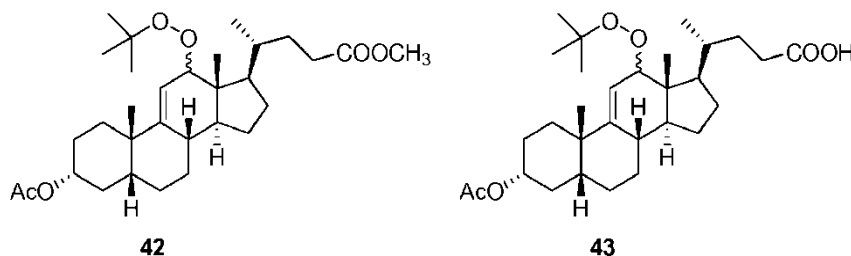
en donde n es 1, 2 o 3 y la línea ondulada  representa el punto de conexión al resto de la molécula.

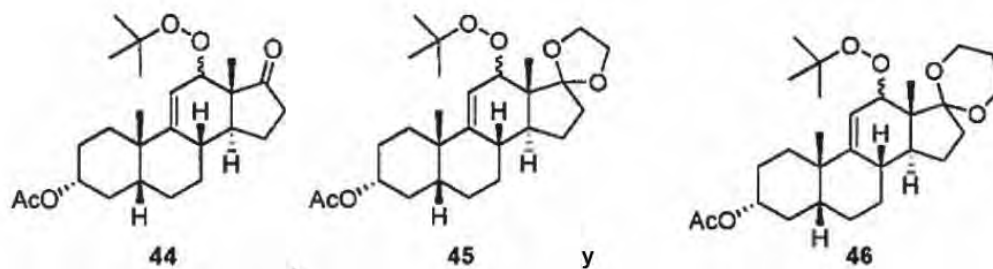
En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula 1 es compuesto 41:



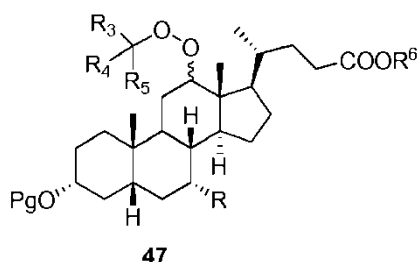
15

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula 1 se selecciona del grupo que consiste en el compuesto 42, 43, 44, 45 o 46:



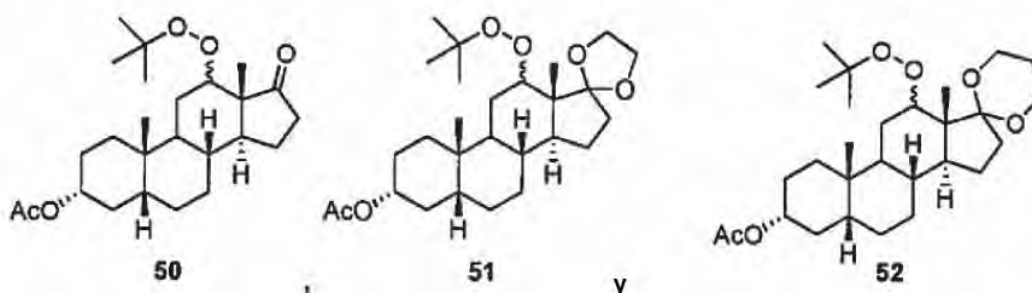
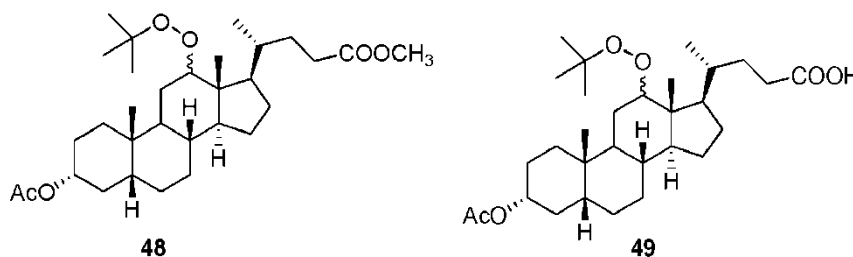


En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula 5 es compuesto 47:



En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula 5 se selecciona del grupo que consiste en el compuesto 48, 49, 50, 51 o 52:

5



10 Los compuestos de realizaciones preferidas pueden prepararse a partir de materiales de partida fácilmente disponibles usando los siguientes métodos y procedimientos generales. Se apreciará que donde se dan condiciones de procedimiento típicos o preferidos (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactivos, disolventes, presiones, etc.), otras condiciones de procedimiento pueden usarse también a menos que se afirme otra cosa. Las condiciones óptimas de reacción pueden variar con los reactivos particulares o disolventes usados, aunque dichas condiciones pueden determinarse por un experto en la técnica mediante procedimientos de optimización rutinarios.

15 Adicionalmente, como será evidente para los expertos en la técnica, los grupos protectores convencionales pueden ser necesarios para evitar que ciertos grupos funcionales experimenten reacciones indeseadas. Los grupos protectores adecuados para varios grupos funcionales además de condiciones adecuadas para proteger y desproteger grupos funcionales particulares se conocen bien en la técnica. 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 las referencias citadas en él.

20

Los materiales de partida y reactivos para las reacciones descritas en esta memoria son compuestos generalmente conocidos o pueden prepararse por procedimientos conocidos o modificaciones obvias de los mismos. Por ejemplo, muchos de los materiales de partida y reactivos están disponibles de suministradores comerciales tales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, USA), Bachem (Torrance, California, USA), Emka-Chem o Sigma (St. Louis, Missouri, USA). Otros pueden prepararse mediante procedimientos, o modificaciones obvias de los mismos, descritos en textos de referencia estándar tales como Fieser y Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Volúmenes 1-15 (John Wiley and Sons, 1991), Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volúmenes 1-5 y Supplementals (Elsevier Science Publishers, 1989), Organic Reactions, Volúmenes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991), March's Advanced Organic Chemistry, (John Wiley and Sons, 4ª Edición), y Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989). Por ejemplo, la hidrocortisona puede prepararse a partir de cortisona usando técnicas de reducción convencionales.

Los diversos materiales de partida, intermedios y compuestos de las realizaciones preferidas pueden aislarse y purificarse donde 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 punto de fusión, espectro de masas, resonancia magnética nuclear, y otros diversos análisis espectroscópicos.

El anterior y otros aspectos de las realizaciones descritas en esta memoria pueden entenderse mejor en conexión con los siguientes ejemplos.

Ejemplos

En los ejemplos posteriores y en otra parte en la memoria, las siguientes abreviaturas tienen los significados indicados. Si una abreviatura no está definida, tiene su significado generalmente aceptado.

Ac ₂ O	Anhídrido acético
ACN	Acetonitrilo
AcOH	Ácido acético
CAD	Detector de aerosol cargado
CONC	Concentrado
CrO ₃	Trióxido de cromo
DCA	Ácido desoxicólico
DCM (CH ₂ Cl ₂)	Diclorometano
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	<i>N, N</i> -Dimetilformamida
EtAlCl ₂	Dicloruro de etilaluminio
EtOAc	Acetato de etilo
H o h	Hora
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HCl	Ácido clorhídrico
HClO ₄	Ácido perclórico
HPLC	Cromatografía líquida a alta presión
HPLC-RI	Cromatografía líquida a alta presión con detección de índice refractario
Hz	Hertzio
KBr	Bromuro de potasio

K-O ^t Bu	<i>tert</i> -butóxido de potasio
LiAl(O ^t Bu) ₃ H	Hidruro de litio y tri- <i>tert</i> -butoxialuminio
LiOH	Hidróxido de litio
LOD	Pérdida en el secado
MeOH	Metanol
MHz	Megahertzio
Min	Minutos
mL	Mililitro
Mmol	Milimol
Mol	Mol
MTBE	Metil- <i>tert</i> -butiléter
Na ₂ SO ₄	sulfato sódico
NaOH	hidróxido sódico
NMT	No más que
Obs	Observado
PCC	Clorocromato de piridinio
Pd/C	Paladio en carbono
PtO ₂	Óxido de platino
Rep	Reportado
TEA	trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TLC	Cromatografía en capa fina
UV	Ultravioleta
Wt	Peso

5 General: Todas las manipulaciones de materiales sensibles al oxígeno y humedad se llevaron a cabo con matraces secos con llama de dos cuellos estándar bajo una atmósfera de argón o nitrógeno. La cromatografía en columna se realizó usando gel de sílice (malla de 60-120). La cromatografía de capa fina analítica (TLC) se realizó en platos de Merck Kiesinger 60 F₂₅₄ (0,25 mm). La visualización de manchas fue o bien por luz UV (254 nm) o por quemado con una disolución de ácido sulfúrico (5%) y *p*-anisaldehído (3%) en etanol.

10 Aparato: Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón y carbono-13 (¹H RMN y ¹³C RMN) se grabaron en un espectrómetro Varian Mercury-Gemini 200 (¹H RMN, 200 MHz; ¹³C RMN, 50 MHz) o un Varian Mercury-Inova 500 (¹H RMN, 500 MHz; ¹³C RMN, 125 MHz) con resonancias de disolvente como los estándares internos (¹H RMN, CHCl₃ a 7,26 ppm o DMSO a 2,5 ppm y DMSO-H₂O a 3,33 ppm; ¹³C RMN, CDCl₃ a 77,0 ppm o DMSO a 39,5 ppm). Los datos de ¹H RMN se presentan como sigue: desplazamiento químico (δ, ppm), multiplicidad (s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuadruplete, br = ancho, m = multiplete), constantes de acoplamiento (Hz), e integración. Los espectros infrarrojos (FT-IR) se realizaron en un modelo JASCO-460*. Los espectros de masa se obtuvieron con un espectrómetro Perkin Elmer API-2000 usando el modo ES⁺. Los puntos de fusión se determinaron usando un

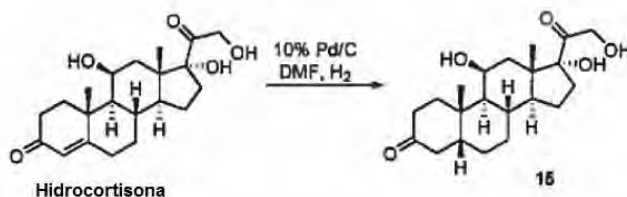
aparato de medida del punto de fusión LAB-INDIA y están sin corregir. Los cromatogramas de HPLC se grabaron usando un modelo SHIMADZU-2010 con un detector PDA. Las rotaciones ópticas específicas se determinaron usando un JASCO-1020 a 589 nm y están sin corregir.

- 5 Compuestos químicos: A menos que se anote otra cosa, se usaron reactivos comercialmente disponibles sin purificación. Se destilaron dietiléter y THF a partir de sodio/benzofenona. Se usaron DMF anhidro en grado de laboratorio, DCM disponible comercialmente, acetato de etilo y hexano.

Ejemplo 1

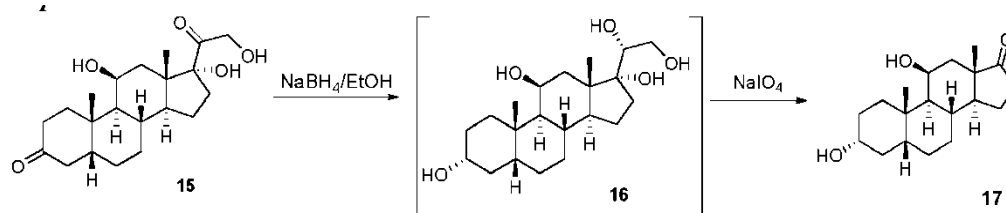
Síntesis de 3 α -acetoxi-5 β -androstano-9, 11-eno-17-ona (36) a partir de hidrocortisona

Etapas 1



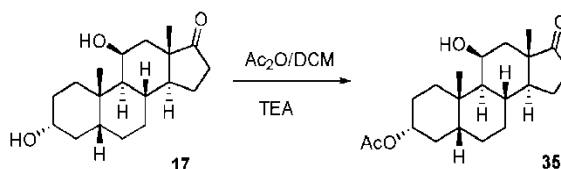
- 10 A una disolución de hidrocortisona (25,0 g) en DMF (150 mL) se añadió 10% de Pd/C (1,5 g, 6% en peso) y la lechada resultante se hidrogenó en un autoclave (60 psi) durante 6 h a 25-35°C. A la completa desaparición del material de partida, como se evidencia por TLC (30% de EtOAc en DCM), la mezcla de reacción en bruto se filtró a través de un lecho de Celite® (8 g) y se lavó con DMF (100 mL). El disolvente se eliminó completamente por destilación al vacío a menos de 65°C, que proporcionó el compuesto 15 como un sólido blanco (23,0 g, 91,5%).
- 15

Etapas 2



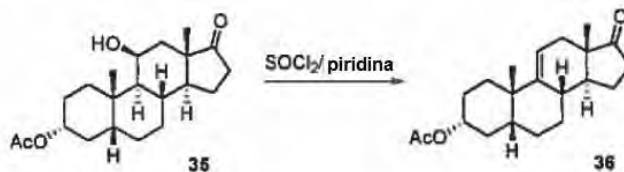
- 20 A una disolución del compuesto 15 (23,0 g) en etanol (350 mL) y DCM (350 mL) se añadió borohidruro sódico (2,4 g), y la disolución resultante se agitó durante 3 h a 25-35°C. En este punto, se añadió acetona acuosa al 50% (200 mL) para apagar el reactivo en exceso y se añadió entonces periodato sódico (33,7 g). La disolución resultante se agitó durante 16 horas a 25-35°C. El TLC mostró la desaparición completa del intermedio (40% de EtOAc en DCM). Se añadió agua (400 mL) a la mezcla de reacción. Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con DCM (600 mL). Las fases orgánicas se combinaron y después se lavaron con disolución saturada de salmuera (200 mL). El disolvente se evaporó al vacío para proporcionar compuesto 16 en bruto como un sólido blanco (23,0 g). El producto en bruto se agitó en hexano (200 mL) a 30°C durante 1 h, se filtró y se lavó con hexano (50 mL) para proporcionar el compuesto 16 como un sólido blanco (19,0 g, 98%).
- 25

Etapas 3



- 30 A una disolución del compuesto 16 (19,3 g) en DCM (340 mL) se añadió trietilamina (12,7 g), DMAP (0,76 g) y anhídrido acético (12,9 g) a 25-35°C. Después de agitar durante 2 h a 25-35°C, el análisis de TLC (60% de EtOAc en hexanos) mostró que la reacción estaba completa. La mezcla de reacción se lavó con disolución saturada de bicarbonato sódico (200 mL) seguido por un segundo lavado con disolución de salmuera (100 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ (50 g) y se filtró. El filtrado se concentró por destilación al vacío para dar el compuesto 35 como un sólido crudo (18,0 g, 82%).
- 35

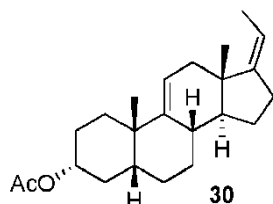
Etapas 4



A una disolución de compuesto 35 (18,0 g) en piridina (100 mL) se añadió cloruro de tionilo (6,0 mL) a 25-35°C y la disolución resultante se agitó durante 1 h a 25-35°C. En este punto la reacción se determinó por TLC (30% de EtOAc en hexanos) que estaba completa. La piridina se eliminó por evaporación al vacío a por debajo de 60°C. El material en bruto se disolvió en una mezcla de agua (100 mL) y acetato de etilo (180 mL) y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (180 mL) y las fases orgánicas se combinaron. La fase orgánica combinada se lavó con HCl 2N (100 mL) y disolución de salmuera saturada (100 mL). Después de secar sobre Na₂SO₄ anhidro (40 g), la mezcla se filtró y el filtrado se concentró hasta sequedad por destilación al vacío para proporcionar el compuesto 36 como un sólido blanco (15,0 g, 88%).

10 Ejemplo 2

(Z)-3 α -Acetoxi-5 β -pregna-9(11),17(20)-dieno (30):



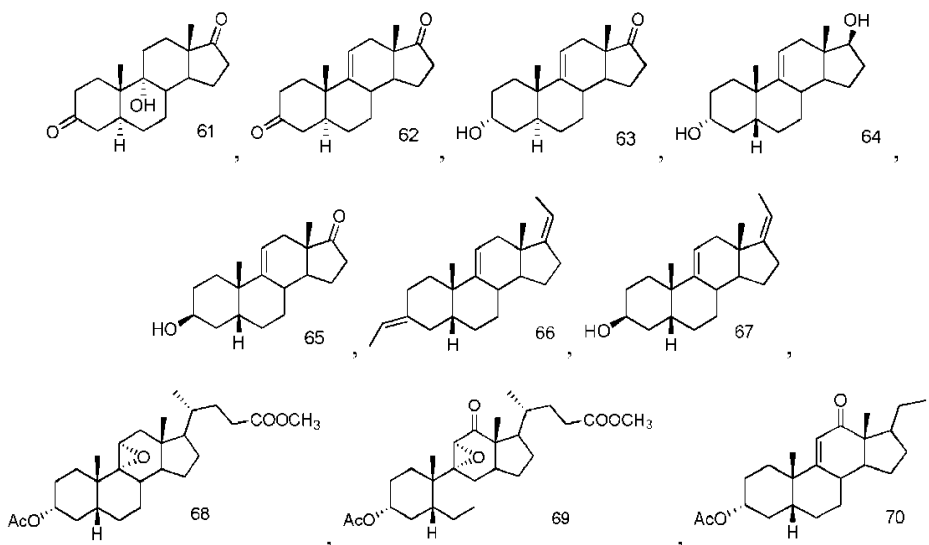
El compuesto 30 puede prepararse mediante procedimientos similares a los descritos en el Ejemplo 8, convirtiendo el compuesto 28 al compuesto 30.

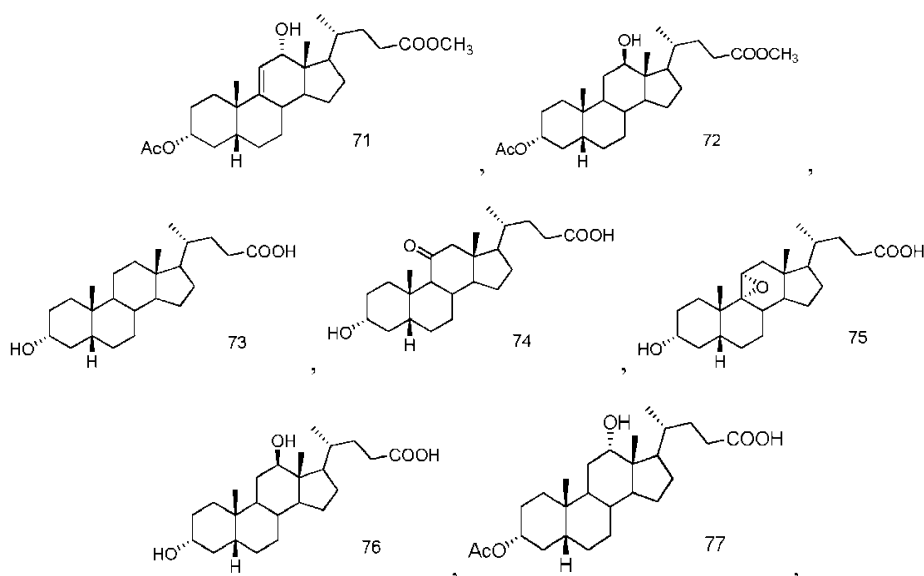
15 Los métodos y ejemplos para preparar y purificar DCA a partir del compuesto 60 se describen en el documento GB2452358 y la Solicitud Provisional de EE.UU. 61/288.132, titulada "METHODS FOR THE PURIFICATION OF DEOXYCHOLIC ACID", presentada el 18 de diciembre de 2009.

Ejemplo 3

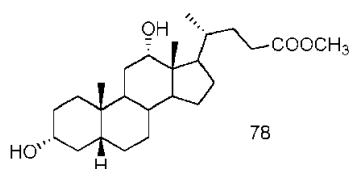
Impurezas aisladas durante la preparación de DCA o intermedios del mismo

20 Los siguientes compuestos se recuperaron como impurezas durante la síntesis descrita en esta memoria:





y



5

Los compuestos enumerados anteriormente tienen utilidad como intermedios que pueden reciclarse en un esquema de reacción que lleva al compuesto 18. Por ejemplo, los compuestos 61 y 62 pueden deshidrogenarse por medios convencionales para proporcionar el compuesto 4,5-eno que puede rehidrogenarse para proporcionar la estereoquímica apropiada en la posición 5.

10 El grupo 17-ceto del compuesto 63 y 65 pueden protegerse por medios convencionales tales como la formación de cetal. El grupo 3-hidroxilo de ambos compuestos 63 y 65 puede oxidarse entonces para formar el grupo 3-ceto. Para el compuesto 63, la deshidrogenación en la posición 4,5 seguido por hidrogenación proporcionará la estereoquímica apropiada en la posición 5. Para ambos compuestos 63 y 65, la reducción del grupo 3-ceto seguido por la desprotección del grupo 17-ceto proporciona el compuesto 18.

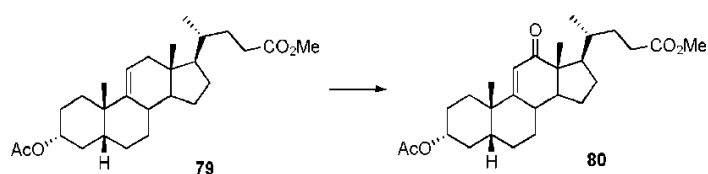
15 El compuesto 64 puede protegerse de forma selectiva en el grupo 3-hidroxilo y el grupo 17-hidroxilo puede oxidarse entonces seguido por desprotección en el 3-hidroxilo para proporcionar el compuesto 18.

El 3,17-dialil compuesto 66 puede oxidarse para proporcionar el 3,17-di-ceto compuesto que puede reducirse por medios convencionales para proporcionar el 3,17-hidroxil compuesto tal como el compuesto 64.

20 El compuesto 67 puede oxidarse en la posición 3 y después reducirse y el grupo 3-hidroxilo protegerse para proporcionar el compuesto 18.

De forma similar, los compuestos restantes pueden modificarse asimismo para generar uno o más intermedios usados en los métodos de esta invención.

Ejemplo 4



25 Síntesis del compuesto 80 a partir del compuesto 79 mediante un método de esta invención

El compuesto 79 (120,0 g) se oxidó usando el hidroperóxido de *tert*-butilo al 70% ((CH₃)₃C-O-OH) en agua (35 equiv) e hipoclorito sódico al 10% (NaOCl) (7,0 equiv; añadido en 7 horas de duración) en acetato de etilo a 0-5°C. Después de generarse, la fase orgánica se trató con sulfito sódico seguido de PCC (1,0 equiv.), el tratamiento

proporcionó 185 g de residuo. El residuo en purificación en lechada en metanol acuoso al 20% (2 vol) proporcionó 75,2 g (60,6% de rendimiento) de compuesto 80 puro.

Procedimiento de comparación de síntesis del compuesto 80 a partir del compuesto 79 usando CrO_3

5 El CrO_3 (65 g, 599 mmoles) se añadió en dos lotes (40 g y 25 g) a una disolución del compuesto 79 (65 g, 139 mmoles) en AcOH (975 mL) en un matraz limpio y seco. (Precaución: altamente exotérmica, controlar la temperatura por debajo de 50°C con enfriamiento de hielo en agua como se necesite). La mezcla resultante se calentó a $30\text{-}35^\circ\text{C}$ durante 3 h. Pueden usarse temperaturas menores de $25\text{-}35^\circ\text{C}$. Tras la terminación de la reacción mediante TLC (EtOAc al 30% en hexano, NMT 2% de compuesto 79), se añadió alcohol isopropílico (108 mL) y la mezcla se agitó durante 15 min antes de que el disolvente se evaporase al vacío por debajo de 60°C . Al material de residuo se
10 añadió agua (1200 mL) y MTBE (650 mL). Se separaron las dos fases y se extrajo la fase acuosa con MTBE (2 x 650 mL). La fase orgánica combinada se lavó con agua (750 mL) y disolución de salmuera (332 mL). El disolvente se eliminó completamente al vacío por debajo de 50°C . Al residuo se añadió metanol (195 mL) y el disolvente se eliminó completamente por medio de destilación al vacío por debajo de 50°C . Se añadió metanol (130 mL) de nuevo y la mezcla se enfrió a $10\text{-}15^\circ\text{C}$, se agitó durante 1 h a $10\text{-}15^\circ\text{C}$, se filtró y la torta se lavó con metanol helado ($0\text{-}5^\circ\text{C}$)
15 (65 mL). El sólido blanco se secó en un secador de aire caliente a $50\text{-}55^\circ\text{C}$ hasta que la LOD es NMT 0,5% para proporcionar compuesto 80 (36 g, 53,7% de rendimiento).

^1H RMN (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).

^{13}C RMN (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,
20 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. = $137\text{-}139^\circ\text{C}$ (desde EtOAc/mezcla de hexanos).

$[\alpha]_D = +93$ (c = 1% en CHCl_3).

25 Ejemplo 5

La siguiente tabla muestra los resultados de la preparación del compuesto 80 a partir del compuesto 79 usando o bien CrO_3 o $(\text{CH}_3)_3\text{C-O-OH}$ y NaOCl como el agente oxidante.

Reactivo	ENTRADA	SALIDA	RENDIMIENTO	HPLC-RI (PUREZA)*	HPLC-RI (ENSAYO)**
CrO_3	2,5 Kg	1,0 Kg	38,70%	82,75%	73,90%
CrO_3	12,2 Kg	6,2 Kg	49,20%	80,29%	75,30%
$(\text{CH}_3)_3\text{C-O-OH}$ y NaOCl	20,0 g	13,0 g	63%	96,62%	90,20%
$(\text{CH}_3)_3\text{C-O-OH}$ y NaOCl	20,0 g	12,8 g	62%	97,06%	89,60%
$(\text{CH}_3)_3\text{C-O-OH}$ y NaOCl	50,0 g	32,0 g	62%	95,35%	87,30%
$(\text{CH}_3)_3\text{C-O-OH}$ y NaOCl	50,0 g	31,5 g	61%	93,50%	86,00%
$(\text{CH}_3)_3\text{C-O-OH}$ y NaOCl	120,0 g	75,2 g	61%	96,00%	86,20%

* pureza basada en la relación del área del pico del compuesto al área del pico total

** pureza basada en la relación del área del pico del compuesto con el área del pico de un estándar de referencia conocido

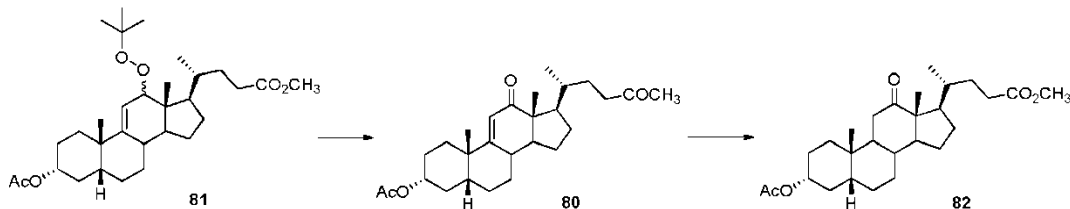
Ejemplo 6

30 Identificación de Peróxido compuesto 81

Después de la filtración del compuesto 80 puro, se recogieron las aguas madres del filtro (enriquecidas con impurezas de ~30% con un tiempo de retención de 3,14 minutos). La impureza a 3,14 minutos se aisló por

cromatografía en columna, que proporcionó 100 mg de un producto puro como un aceite. Los datos de RMN y Masa revelaron que la impureza es 12-*terc*-butilperoxi compuesto 81, que se proporcionan en las Figuras 1-3.

Ejemplo 7

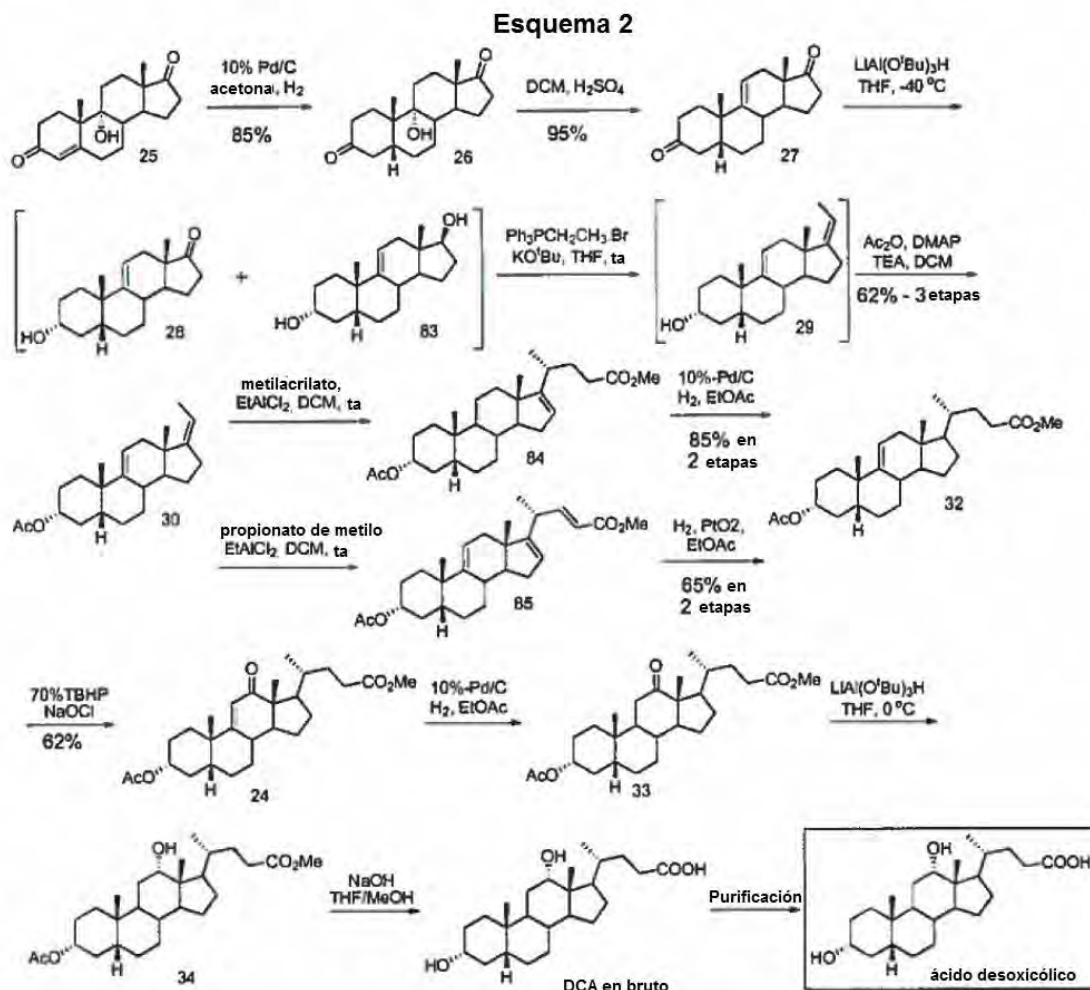


5 El 12-*terc*-butilperoxi compuesto 81 (50 mg) se trató con Pd/C (12% en peso), hidroperóxido de *terc*-butilo (5 equiv) y carbonato de potasio (0,025 equiv) en diclorometano (10 partes) a temperatura ambiente durante 24 horas, el análisis de HPLC reveló aún la presencia de 89% de un 12-*terc*-butilperoxi compuesto 81 sin reaccionar y se observó solo 11% de compuesto 80.

10 El compuesto 80 (10,0 g) se hidrogenó usando Pd/C al 10% seco comercial (25% en peso) en acetato de etilo (25 partes) a 45-50°C bajo presión de hidrógeno durante 18 horas proporcionó ~25% de alcohol alílico que se trató con PCC (1,2 equiv) a temperatura ambiente durante 2 horas, después se lavó con agua y disolución de salmuera. Una mitad de la fase orgánica se destiló al vacío y después se sometió de nuevo a hidrogenación usando Pd/C fresco (25% en peso) a 45-50°C a presión de hidrógeno de 50 psi durante 18 horas, que proporcionó 9,5 g de compuesto 82 (95% de rendimiento con 87% de pureza de HPLC-RI).

15 Ejemplo 8

En el Esquema 2 posterior, se proporciona un esquema para la síntesis total de ácido desoxicólico.



Conversión del compuesto 25 al compuesto 26:

Selección de disolvente

Varios disolventes se estudiaron en la modificación de esta etapa. Los siguientes experimentos se llevaron a cabo usando los disolventes anteriores y los resultados se tabulan debajo.

Núm. de muestra	Entrada (g)	Disolvente	Salida (g)	Comentarios
1	1,0	DMF	0,9	5 β -producto: 85,8% por HPLC-RI 5 α -producto: 8,6%
2	0,5	Acetona	0,45	5 β -producto: 88,5% 5 α -producto: 7,8%
3	0,3	IPA	0,25	5 β -producto: 81,5% 5 α -producto: 11,8%
4	0,3	Etanol	0,25	5 β -producto: 68,6% 5 α -producto: 14,3%
5	0,3	Acetona acuosa al 3%	0,25	5 β -producto: 86,9% 5 α -producto: 8,5%
6	0,3	DCM	0,25	5 β -producto: 47,2% 5 α -producto: 32,7%
7	0,3	EtOAc	0,25	5 β -producto: 78,7% 5 α -producto: 13,2%
8	0,3	MeOH	0,25	3-metoxi 3,9-enlace sencillo observado
9	0,3	Hexano	0,25	5 β -producto: 50,5% 5 α -producto: 12,9%
10	0,3	n-Butanol	0,25	5 β -producto: 58,1% 5 α -producto: 34,9%
11	0,3	THF	0,25	5 β -producto: 77,7% 5 α -producto: 13,9%
12	0,3	MTBE	0,25	5 β -producto: 57,5% 5 α -producto: 34,0%
13	5,0	1,4-Dioxano	4,5	5 β -producto: 43,8% 5 α -producto: 1,1%, rxn no completado.

5

Quando se usó diclorometano, metanol o acetato de etilo como un disolvente en la hidrogenación del compuesto 25, se observó el consumo completo del material de partida (por TLC). Después del aislamiento del producto y el análisis por HPLC-RI, ambos isómeros 5 α y 5 β del compuesto 26 se formaron en una relación de aproximadamente 1:1. Cuando se usó acetona como disolvente en la hidrogenación del compuesto 25, se observó el consumo completo del material de partida (por TLC). Después del aislamiento del producto y análisis por HPLC-RI, se formó casi exclusivamente el isómero 5 β del compuesto 26 y menos del 10% de formación del isómero 5 α . Así, la acetona proporcionó más del 90% de selectividad y más del 85% de rendimiento en esta etapa.

10

A una disolución de 9 α -hidroxiandrost-4-eno-3,17-diona (150,0 g) en acetona (3600 mL) se añadió 10% de Pd/C (12 g, 8% en peso, 50% de humedad) y la lechada resultante se hidrogenó en autoclave (50 psi) durante 5 h a 25-25°C. Tras la completa desaparición del material de partida, como se evidenció por TLC (30% de EtOAc en DCM), la mezcla de reacción en bruto se filtró a través de un lecho de Celite® (20 g) y se lavó con diclorometano (1500 mL). El filtrado se eliminó al vacío y el producto en bruto (145,0 g) se obtuvo como un sólido blanco. Este producto en bruto se combinó con (145,0 g) acetona (300 mL) a 0°C, se agitó durante 1 h, después se filtró y se lavó con acetona helada (150 mL) y se secó al vacío a 50°C. Esto proporcionó compuesto 26 (129 g, 85%) como un sólido blanco.

15

20 TLC: carbonización de *p*-anisaldehído. R_f para el compuesto 26 = 0,48 y R_f para el compuesto 25 = 0,3. El eluyente fue EtOAc al 30% en DCM.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ = 2,40-2,37 (m, 1H), 2,11-2,02 (m, 2H), 1,91-1,31 (m, 19H), 0,96 (s, 3H), 0,84 (s, 3H).

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): 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.

25 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 (de acetona).

$[\alpha]_D = +116$ (c = 1% en CHCl_3).

Pureza HPLC/RI: 99,0%.

Conversión del compuesto 26 al compuesto 27:

5 A una disolución del compuesto 26 (121 g) en DCM (1815 mL) se añadió ácido sulfúrico (19,1 mL) durante 15 minutos en una atmósfera inerte a 5-10°C. La temperatura se elevó a 25-35°C, y la mezcla se agitó durante 2 h. En este punto se determinó que la reacción estaba completa (TLC, EtOAc al 30% en DCM). La mezcla se lavó con agua (600 mL) y después se lavó con disolución acuosa de NaHCO_3 al 10% (600 mL). La fase orgánica se lavó de nuevo con agua (200 mL) seguido por disolución de salmuera saturada (200 mL). El disolvente se destiló entonces al vacío, proporcionando el compuesto 27 (108,2 g, 95%) como un sólido de color crudo. Se usó el producto bruto en la siguiente etapa sin purificación adicional.

10 TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para el compuesto 27 = 0,76 y R_f para el compuesto 25 = 0,44. El eluyente fue EtOAc al 30% en DCM.

15 ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 5,61$ (s, 1H), 2,57-2,47(m, 2H), 2,42-2,24 (m, 4H), 2,20-2,05 (m, 3H), 1,99-1,86 (m, 2H), 1,85-1,84 (d, $J = 6$ Hz 1H), 1,63-1,57 (m, 5H), 1,40-1,37(d, $J = 13,5$ Hz, 1H) 1,28-1,25 (dd, $J = 4,0, 13,5$ Hz, 1H), 1,17 (s, 3H) 0,85 (s, 3H).

^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 221,3, 212,8, 140,1, 118,5, 48,5, 45,9, 44,3, 43,5, 39,0, 38,0, 37,3, 36,1, 35,8, 33,3, 28,8, 26,0, 25,5, 22,5, 13,9$.

Masa (m/z) = 287 [$\text{M}^+ + 1$], 304 [$\text{M}^+ + 18$].

IR (KBr) = 3450, 2913, 1737, 1707,1413, 1403, 1207 cm^{-1} .

20 p.f. = 143,4-145,9°C (de DCM).

$[\alpha]_D = +142$ (c = 1% en CHCl_3).

Pureza HPLC/RI: 96,7%.

Conversión del compuesto 27 al compuesto 30:

25 A una disolución del compuesto 27 (108,0 g) en THF (1080 mL) se añadió hidruro de litio y tri-*terc*-butoxialuminio (700 mL) a -40 a -45°C en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 horas a -40 a -45°C. Tras completarse la reacción, como se evidencia por TLC (EtOAc al 30% en DCM), la mezcla de reacción se apagó mediante la adición de disolución de HCl 2N. Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa resultante con diclorometano (648 mL). Las fracciones orgánicas se combinaron y se lavaron con agua (648 mL) seguido por disolución de salmuera saturada (540 mL). La fase orgánica se evaporó al vacío que proporcionó compuesto 28, disuelto en THF (540 mL).

35 A una disolución de bromuro de etiltrimetilfosfonio (417 g) en THF (216 mL) se añadió *terc*-butóxido de potasio (1086 mL, disolución 1M en THF) en gotas durante 20 minutos en nitrógeno a 25-35°C. La mezcla de reacción roja oscura resultante se agitó durante 1 h adicional a la misma temperatura. La disolución anterior del compuesto 28 se añadió lentamente en 30-40 minutos a la suspensión anterior a 25-35°C. La mezcla de reacción se agitó durante unas 3-5 h adicionales, llevando al consumo completo del material de partida (como se evidencia por TLC; EtOAc al 30% en DCM). La mezcla de reacción se apagó con agua helada (1,080 L). La fase acuosa se extrajo con MTBE (2 x 540 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con disolución de salmuera saturada (540 mL) la fase orgánica se concentró al vacío y el material en bruto se purificó usando MTBE (2X540 mL) se filtró, se destiló el filtrado del 25% del disolvente al vacío, a una disolución de compuesto 29 se enfrió a 25°C se añadió trietilamina (105,2 mL), DMAP (4,5 g) y anhídrido acético (53,5 mL) a 25-35°C en nitrógeno. Después de agitar durante 2 hr a 25-35°C, se determinó que la reacción estaba completa por TLC (EtOAc al 10% en hexanos). La mezcla de reacción se lavó con agua (1080 mL) seguido por disolución de salmuera (324 mL). La fase orgánica se concentró al vacío para proporcionar el compuesto 30 en bruto (225 g), el residuo se re-cristalizó en metanol acuoso al 2% proporcionó 85 g de compuesto 30 puro (63,5% de rendimiento con pureza de HPLC-RI del 96%).

45 TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para el compuesto 30 = 0,5 y R_f para el compuesto 29 = 0,15. Eluyente = EtOAc al 10% en hexanos.

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 5,38$ (s, 1H), 5,20-5,18 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 4,76-4,72 (m, 1H), 2,40-2,35 (m, 3H), 2,25-2,22 (m, 1H), 2,09-2,03 (m, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,98-1,49 (m, 10H), 1,41-1,31 (m, 2H), 1,27-1,16 (m, 3H), 1,07 (s, 3H), 0,79 (s, 3H).

50 ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,5, 150,0, 140,4, 119,6, 114,3, 74,7, 53,5, 42,0, 41,7, 39,6, 38,6, 35,6, 35,3, 33,8, 31,9, 29,5, 27,8, 26,7, 26,6, 25,5, 21,3, 16,9, 13,2$ Masa (m/z) = 342,9 [$\text{M}^+ + 1$], 360 [$\text{M}^+ + 18$].

ES 2 575 559 T3

IR (CHCl₃) = 3440, 3035, 1730, 1451, 1367, 1258, 1028 cm⁻¹.

Pf = 93,9-97,8°C.

[α]_D = +109 (c = 1% en CHCl₃).

Pureza HPLC/RI: 96,0%.

5 Conversión del compuesto 30 al compuesto 32 por medio del compuesto 84:

10 A una disolución de compuesto 30 (56 g) en DCM (560 mL) se añadió acrilato de metilo (35,13 mL) a 0-5°C en una atmósfera inerte agitando durante 60 min, la disolución se enfrió a 0-5°C, se añadió dicloruro de etilaluminio (272,9 mL; 1,8 M en tolueno), durante un periodo de 60 min. La temperatura se elevó entonces a 25-35°C y la mezcla se agitó durante ~18 hr. En este punto el análisis por TLC (EtOAc al 10% en hexanos) mostró que la reacción estaba completa, de manera que la mezcla se vertió en agua fría con hielo (1120 mL). Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con DCM (2 X 255 mL). Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron secuencialmente con agua (560 mL) y disolución de salmuera (560 mL), la fase orgánica se evaporó al vacío, que proporcionó el compuesto 84 (66 g) como un aceite.

15 A una disolución de compuesto 84 en acetato de etilo (550 mL), se añadió lechada de Pd/C (6,7 g) en acetato de etilo (110 mL) a 25-35°C. La lechada resultante se agitó bajo presión de hidrógeno de ~70 psi durante ~16 h. El progreso de la reacción se monitorizó por HPLC. El catalizador se filtró en un lecho de Celite® (25 g) y la torta se lavó con acetato de etilo (990 mL). El filtrado se evaporó al vacío, que proporcionó compuesto 32 (59 g, 85%) como un sólido.

20 TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para compuesto 32 = 0,32 y R_f para compuesto 84 = 0,30 Eluyente = EtOAc al 10% en hexanos.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): 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).

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): 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

25 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.

[α]_D = +56 (c = 1% en CHCl₃).

Pureza HPLC/RI: 93,0%.

30 Conversión del compuesto 30 al compuesto 32 por medio del compuesto 85:

35 Se añadió dicloruro de etilaluminio (104,5 mL, 192 mmoles, 1,8 M en tolueno) a una disolución de propiolato de metilo (13,58 mL, 153 mmoles) en DCM (100 mL) a 0°C bajo atmósfera inerte. La disolución resultante se agitó durante 15 min y entonces se añadió el compuesto 30 (22 g, 64,3 mmoles). Después de agitar durante unos 20 min adicionales a 0°C, la temperatura se elevó a 25°C y se dejó ahí durante unas 18 h adicionales. En este punto se determinó que la reacción estaba completa por TLC, y la mezcla se vertió en agua fría (0°C) (200 mL). Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con DCM (150 mL). Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron secuencialmente con agua (200 mL) y disolución de salmuera saturada (100 mL). Entonces se secó sobre Na₂SO₄ anhidro (40 g) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío y el sólido resultante se purificó formando lechada en metanol (280 mL) para proporcionar compuesto 85 (17,5 g, 68%) como un sólido blanco.

40 TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para 85 = 0,32 y R_f para 30 = 0,5.

TLC de fase móvil: EtOAc al 10% en hexanos.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): 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).

45 ¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): 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.

ES 2 575 559 T3

p.f. = 114-116°C (de metanol)

$[\alpha]_D = +102$ (c = 1% en CHCl_3).

Pureza de ELSD: 99,7%, Tiempo de retención = 19,57, (Inertsil ODS 3V 250 × 4,6 mm, 5 μm), ACN: TFA al 0,1% en agua (90:10).

5 A una disolución de compuesto 85 (17,5 g, 41 mmoles) en EtOAc (350 mL) se añadió PtO_2 (4,37 g), y la lechada resultante se hidrogenó en un aparato Parr (70 psi) durante 14-16 h. En este punto se determinó que la reacción estaba completa por TLC. La mezcla se filtró a través de un pequeño tapón de Celite® y el disolvente se eliminó al vacío, proporcionando el compuesto 32 (17,0 g, 96,0%) como un sólido blanco. Se usó el producto anterior en la siguiente etapa sin purificación adicional.

10 TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para 32 = 0,32 y R_f para 85 = 0,30.

TLC de fase móvil: EtOAc al 10% en hexanos.

^1H RMN (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).

15 ^{13}C RMN (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 (de EtOAc).

$[\alpha]_D = +56$ (c = 1% en CHCl_3)

20 Pureza de ELSD: 97,7%: Tiempo de retención = 14,57 (ZORBAX SB C-18 150 × 4,6 mm, 5 μm , ACN: TFA al 0,1% en agua (90:10).

Conversión del compuesto 32 al compuesto 24:

25 A una disolución de compuesto 32 (20 g) en acetato de etilo (200 mL) se añadió TBHP al 70% en agua (200 mL) la disolución de reacción se enfrió a 0°C, se añadió lentamente hipoclorito sódico al 10% durante aproximadamente 6-7 h a 0-5°C, agitar durante 2-3 h a la misma temperatura. Tras la completa desaparición del compuesto 32 por TLC (eluyente = EtOAc al 20% en hexanos), separar la fase orgánica y la fase acuosa extraída con acetato de etilo (60 mL). La fase orgánica combinada se lavó con agua (2X 400 mL) seguido por tratamiento con sol de sulfito sódico al 20% (220 mL) a 50-55°C durante 2h, separar dos fases, la fase orgánica se trató con clorocromato de piridinio (10,9 g) durante 6-8 h a 25-30°C. Tras la completa desaparición de alcohol alílico por TLC (eluyente = EtOAc al 20% en hexanos), las fases orgánicas se lavaron con agua caliente (4X 500 mL) seguido por disolución de salmuera saturada (100 mL). La fase orgánica se evaporó al vacío a 45-50°C. El material en bruto resultante se purificó agitándolo con metanol acuoso al 20% (40 mL) a 5-10°C durante 1 h de filtrado; la torta se lavó con metanol acuoso al 20% (20 mL) y después se secó al vacío a 45-50°C, que proporcionó el compuesto 24 (13 g) como un sólido amarillo claro.

35 TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para el compuesto 24 = 0,28 y R_f para el compuesto 32 = 0,52. Eluyente = EtOAc al 20% en hexanos.

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ = 5,71 (s, 1H), 4,75-4,71 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,42-2,37 (m, 3H), 2,31-2,02 (m, 2H), 2,0 (s, 3H), 1,98-1,67 (m, 9H), 1,56-1,24 (m, 9H), 1,19 (s, 3H), 1,02-1,01 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,90 (s, 3H).

40 ^{13}C RMN (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 [M^+ + 1], 462,0 [M^+ + 18].

IR = 3437, 3045, 2946, 2870, 1729, 1680, 1252, 1168, 1020 cm^{-1} .

p.f. = 141-142°C.

$[\alpha]_D = +102$ (c = 1% en CHCl_3).

45 Pureza HPLC/RI: 96,2%.

Conversión del compuesto 24 al compuesto 33:

La hidrogenación del compuesto 24 en escala de 10,0 g usando Pd/C al 10% seco (15% en peso) en acetato de etilo (20 partes) se añadió y se aplicó presión de hidrógeno de aproximadamente 50 psi y la temperatura se elevó a 70°C. Después de alcanzar la temperatura de 70°C, se observó el aumento de presión de hidrógeno a aproximadamente 60 psi, en estas condiciones se mantuvo durante 60 h. Después de 60 horas aún se observaba 0,6% de compuesto 24 y 2,75% de alcohol alílico, así que se agitó más adicionalmente 12 h (se observó 0,16% de alcohol alílico y 0,05% de compuesto 24). Después de la elaboración, la reacción proporcionó 9,5 g de residuo.

Otra reacción de hidrogenación en 25 g de compuesto 24 con las condiciones anteriores durante 76 h proporcionó 24,5 g de residuo.

Método A

10 A una disolución de compuesto 24 (2,0 g, 4,5 mmoles) en EtOAc (150 mL) se añadió Pd/C al 10% (900 mg), y la lechada resultante se hidrogenó en un aparato Parr (50 psi) a 50°C durante 16 h. En este punto se determinó que la reacción estaba completa por TLC. La mezcla se filtró a través de un pequeño tapón de Celite® y el disolvente se eliminó al vacío, proporcionando el compuesto 33 (1,6 g, 80% de rendimiento) como un sólido blanco.

TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para 33 = 0,36 y R_f para 25 = 0,32.

15 TLC de fase móvil: EtOAc al 20% en hexanos.

^1H RMN (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).

20 ^{13}C RMN (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 (de EtOAc/mezcla de hexanos).

$[\alpha]_D = +92$ (c = 1% en CHCl_3).

25 Pureza de ELSD: 96,6%: Tiempo de retención = 9,93, (Inertsil ODS 3V 250 × 4,6 mm, 5 μm , ACN: TFA al 0,1% en agua (90:10).

Método B

30 Una lechada de Pd/C al 10% (9 g en 180 mL de acetato de etilo) se añadió a una disolución de compuesto 24 (36 g, 81 mmoles) en EtOAc (720 mL) y la lechada resultante se trató con gas hidrógeno (50 psi) a 45-50°C durante 16 h. (Puede usarse un total de 1080 mL de disolvente). En este punto se determinó que la reacción estaba completa por HPLC (NMT 1% de compuesto 24). La mezcla se filtró a través de Celite® (10 g) y se lavó con acetato de etilo (900 mL). El filtrado se concentró al 50% de su volumen por medio de destilación al vacío por debajo de 50°C. A la disolución concentrada se añadió clorocromato de piridinio (20,8 g) a 25-35°C y la mezcla se agitó durante 2 h a 25-35°C, cuando la reacción se completó por HPLC (el contenido en alcohol alílico es NMT 1%).

35 El siguiente procedimiento puede llevarse a cabo si el contenido en compuesto 24 es más de 5%. Filtrar la masa de reacción a través de Celite® (10 g) y lavar con acetato de etilo (360 mL). Lavar el filtrado con agua (3 x 460 mL) y después con salmuera saturada (360 mL). Secar la fase orgánica sobre sulfato sódico (180 g), filtrar y lavar con acetato de etilo (180 mL). Concentrar el volumen al 50% por medio de destilación al vacío por debajo de 50°C. Transferir la disolución a una autoclave limpia y seca. Añadir lechada de paladio en carbono al 10% (9 g en 180 mL de acetato de etilo). Presurizar a 50 psi con hidrógeno y agitar la mezcla de reacción a 45-50°C durante 16 h.

45 Tras completar el consumo de compuesto 24 por HPLC (siendo el contenido de compuesto 24 NMT 1%), la mezcla de reacción se filtró a través de Celite® (10 g) y la torta se lavó con acetato de etilo (900 mL). El disolvente se concentró hasta sequedad por medio de destilación al vacío por debajo de 50°C. Se añadió metanol (150 mL) y se concentró hasta sequedad por medio de destilación al vacío por debajo de 50°C. Se añadió metanol (72 mL) al residuo y la mezcla se agitó durante 15 -20 min a 10-15°C, se filtró y la torta se lavó con metanol (36 mL). El sólido blanco se secó en un secador de aire caliente a 45-50°C durante 8 h hasta que la LOD es NMT 1% para proporcionar compuesto 33 (30 g, 83,1% de rendimiento).

Conversión del compuesto 33 al compuesto 34:

Método A

Una disolución en THF de hidruro de litio y tri-*tert*-butoxialuminio (1 M, 22,4 mL, 22,4 mmoles) se añadió en gotas a una disolución de compuesto 33 (2,5 g, 5,6 mmoles) en THF (25 mL) a temperatura ambiente. Después de agitar durante unas 4-5 h adicionales, se determinó que la reacción estaba completa por TLC. La reacción se apagó añadiendo 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 secuencialmente con agua (15 mL) y disolución de salmuera saturada (10 mL). La fase orgánica se secó entonces sobre Na₂SO₄ (3 g) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío y el sólido resultante se purificó por cromatografía en columna [29 mm (A) × 500 mm (L), 60-120 de malla de sílice, 50 g], eluyendo con EtOAc/hexano (2:8) [fracciones de 5 mL, monitorizado por TLC con carbonización de *p*-anisaldehído]. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar compuesto 34 (2,3 g, 91%) como un sólido blanco.

TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para 34 = 0,45 y R_f para 33 = 0,55.

TLC de fase móvil: 30% - EtOAc en hexanos.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): 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).

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): 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 (de EtOAc).

[α]_D = +56 (c = 1% en CHCl₃).

Pureza de ELSD: 97,0%: Tiempo de retención = 12,75, (Inertsil ODS 3V 250 × 4,6 mm, 5 μm, ACN: Agua (60:40)

Método B

Una disolución en THF de hidruro de litio y tri-*tert*-butoxialuminio (1 M, 107,6 mL, 107,6 mmoles) se añadió durante 1 h a una disolución de compuesto 33 (30,0 g, 67 mmoles) en THF seco (300 mL) a 0-5°C. Después de agitar durante unas 4 h adicionales a 5-10°C, se determinó que la reacción estaba completa por HPLC (NMT 1% de compuesto 33). La reacción se enfrió a 0-5°C y se apagó añadiendo HCl 4N (473 mL). Las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con DCM (2 x 225 mL) y la fase orgánica combinada se lavó secuencialmente con agua (300 mL) y disolución de salmuera saturada (300 mL). La fase orgánica se concentró entonces hasta sequedad por destilación al vacío por debajo de 50°C. Se añadió metanol (150 mL) al residuo y se concentró hasta sequedad por destilación al vacío por debajo de 50°C. Se añadió agua (450 mL) entonces al residuo y la mezcla se agitó durante 15 -20 min, se filtró y la torta se lavó con agua (240 mL). El sólido blanco se secó en un secador de aire caliente a 35-40°C durante 6 h para proporcionar compuesto 34 (30 g, 99,6%).

35 Conversión del compuesto 34 a DCA en bruto:

Método A

Una disolución de LiOH (187 mg, 4,4 mmoles) en H₂O (2,0 mL) se añadió a una disolución de compuesto 34 (500 mg, 1,11 mmoles) en THF (8 mL) y MeOH (8 mL). La mezcla resultante se agitó durante 3-4 horas a 50°C. Tras la completa desaparición del material de partida por TLC, la mezcla de reacción se concentró al vacío. Una mezcla de agua (10 mL) y HCl 3N (1 mL) se combinaron y enfriaron a 0°C y después se añadió al producto en bruto. Después de agitar durante 1 h a 0°C, los sólidos precipitados se filtraron y después se lavaron con agua (10 mL) y hexano (20 mL). El secado al vacío a temperatura ambiente proporcionó ácido desoxicólico (DCA, 400 mg, 91% de rendimiento) como un sólido blanco.

TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para DCA = 0,32 y R_f para 2.1a = 0,82.

45 TLC de fase móvil: 10% - Metanol en DCM.

¹H RMN (500 MHz, DMSO): 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).

¹³C RMN (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.

50

Masa (m/z) = 393 [M⁺, + 1].

IR = 3363, 2933, 2863, 1694, 1453, 1372, 1042 cm⁻¹.

p.f. = 171,4-173,6°C (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]

- 5 Pureza de ELSD: 99,7%: Tiempo de retención = 5,25, (Inertsil ODS 3V 250 × 4,6 mm, 5 μm, ACN: TFA al 0,1% en agua (90:10).

Método B

- 10 Una disolución de NaOH al 20% (40 g, 270 mmoles) en H₂O (54 mL) se añadió a una disolución de compuesto 34 (30 g, 67 mmoles) en THF (120 mL) y MeOH (120 mL) a 0-5°C. La mezcla resultante se agitó durante 4 h a 25-35°C. Tras completar la reacción por HPLC (NMT 0,5% de compuesto 34 e intermedios), el disolvente se eliminó por medio de destilación al vacío por debajo de 50°C. El residuo se disolvió en agua (300 mL) y se lavó con DCM (2 × 150 mL). El pH de la fase acuosa se ajustó a 1-2 con HCl 2N (~ 173 mL). Los sólidos se filtraron, se lavaron completamente con agua (3 L) y se secaron mediante un secador de aire caliente a 70-75°C hasta que el contenido en humedad es menor que 2% para proporcionar ácido desoxicólico (DCA, 26 g, 99% de rendimiento) como un sólido blanco.
- 15

Ejemplo 9

Purificación de ácido desoxicólico (DCA)

1. Selección de disolvente

Dos sistemas disolventes se exploraron para purificación adicional de DCA:

- 20
- Hexanos al 10% en EtOAc
 - DCM

Los siguientes experimentos se han realizado y los resultados experimentales se tabulan a continuación.

Núm.	Tamaño de carga (g)	Disolvente	Salida (g)	Pureza por HPLC
1	136	Hexanos al 10% EtOAc	100	pureza de HPLC al 95% por detección RI
2	9,5	DCM*	6,8	pureza de HPLC a >99% por detección RI
3	4,0	DCM*	3,0	pureza de HPLC a >99% por detección RI

* El DCA a purificar se disolvió en una mezcla de metanol y DCM y después el metanol se eliminó por destilación azeotrópica. La cantidad de metanol necesaria para disolver el DCA en bruto depende de cómo de puro es con el que se comienza. El material en bruto típico era de ~75% de pureza y podría disolverse a reflujo usando metanol al 10%-DCA (en volumen) usando ~20 mL por gramo. Con DCA más puro, el porcentaje de metanol tendría que aumentarse a 15%.

- 25 La purificación efectiva se alcanzó por cristalización del producto a partir de DCM seguido por disolución en una mezcla de metanol y DCM y eliminación azeotrópica del metanol por medio de destilación atmosférica.

2. Cantidad de disolvente

Los experimentos se ha realizado usando diferentes volúmenes de disolvente y los resultados experimentales se tabulan a continuación.

Núm.	Tamaño de carga (g)	Cantidad de Disolvente	Salida (g)	Pureza por HPLC
1	4,0	25 vol	3,0	pureza de HPLC al 99,3% por detección RI
2	5,0	15 vol	3,56	pureza de HPLC al 99,3% por detección RI

3	5,0	20 vol	3,4	pureza de HPLC al 99,3% por detección RI
4	100	15 vol	70	pureza de HPLC al 99,3% por detección RI
5	47	15 vol	44	pureza de HPLC al 99,5% por detección RI

Se obtuvieron excelentes recuperaciones y calidad de producto a todos los niveles de disolvente.

3. Temperatura de aislamiento

5 Los siguientes experimentos se han realizado variando la temperatura de aislamiento y los resultados se tabulan a continuación:

Núm	Tamaño de carga (g)	Temp. (°C)	Salida (g)	Comentarios
1	5,0	10-15	3,0	pureza de HPLC al 99,0% por detección RI
2	100	25-30	70	pureza de HPLC al 99,3% por detección RI
3	47	25-30	44	pureza de HPLC al 99,5% por detección RI

Se obtuvo producto de mayor calidad cuando el aislamiento se hace a 25-30°C en comparación con 10-15°C.

Purificación de DCA en escala de 100 g

El procedimiento de purificación final para esta etapa se da a continuación:

Núm.	Materia prima	Cantidad	Unidad	Peso molecular	Mol	Relación Molar
1	DCA en bruto	100	g	392	0,255	1,0
2	Diclorometano	5,0	L	-	-	50 V
3	Metanol	250	mL	-	-	2,5 V
4	NaOH	12,23	g	40	0,3058	1,2
5	HCl 2N	204	mL	-	-	2,04 V
6	Agua desmineralizada (D.M.)	10	L	-	-	100 V

10 El DCA en bruto (110 g) se disolvió en metanol al 10% en DCM (2,5 L) a temperatura de reflujo. A esta disolución clara se añadieron 2,5 L de diclorometano a temperatura de reflujo y después aproximadamente 3,0 L de disolvente se destilaron a presión atmosférica (análisis de GC del sobrenadante de masa de reacción reveló la presencia de aproximadamente 3% de metanol). La lechada de reacción se enfrió a 20-25°C y después se agitó durante 3-4 h. La mezcla se filtró y los sólidos se lavaron con DCM (300 mL). El producto se secó en un horno de aire caliente a 50-55°C durante 6-8 h.

15 El DCA seco anterior se añadió a agua (1,0 L) y después se añadió disolución de hidróxido sódico al 10% (122 mL) dando por resultado una disolución clara. Esta disolución se filtró a través de papel de filtro 5 μ . El filtrado se diluyó con agua (2,0 L) y el pH se ajustó a 1-2 con disolución de HCl 2N (204 mL). Los sólidos precipitados se agitaron durante 1 h, se filtraron y los sólidos se lavaron con agua adicional (7,0 L). Después de secar en un horno de aire caliente a 70-75°C durante 16-20 h, se obtuvo DCA purificado (~66 g con más del 99% de pureza por detección de HPLC RI) como un sólido blanco.

20 TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para DCA = 0,32 y R_f para compuesto 34 = 0,82. Eluyente = metanol al 10% en DCM.

^1H RMN (500 MHz, DMSO): δ = 11,92 (s, 1H), 4,44 (s, 1H), 4,19 (s, 1H), 3,77 (s, 1H), 3,36-3,35 (m, 1H), 2,21-2,19 (m, 1H), 2,10-2,08 (m, 1H), 1,80-1,73 (m, 4H), 1,63-1,43 (m, 6H), 1,35-1,15 (m, 12H), 1,05-0,98 (m, 2H), 0,90-0,89 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,58 (s, 3H).

^{13}C RMN (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 = 3363, 2933, 2863, 1694, 1453, 1372, 1042 cm^{-1} .

p.f. = 171,4-173,6°C (de etanol); 174-176°C (Alfa Aesar) y 171-174°C (Aldrich).

Recristalización de ácido desoxicólico (DCA)

10 El DCA obtenido a partir del Método B (26 g) anterior, se cargó en un matraz limpio y seco. Se añadieron metanol (65 mL) y DCM (585 mL). La mezcla se calentó a reflujo para obtener una disolución clara. El DCM (650 mL) se cargó a la disolución y el disolvente se destiló atmosféricamente hasta que se recogieron 780 mL de disolvente. La mezcla se ensayó por GC para determinar la composición de disolvente. Si el contenido en metanol es más que 2%, añadir DCM (200 mL) y destilar atmosféricamente hasta que se hayan recogido 200 mL de destilado.

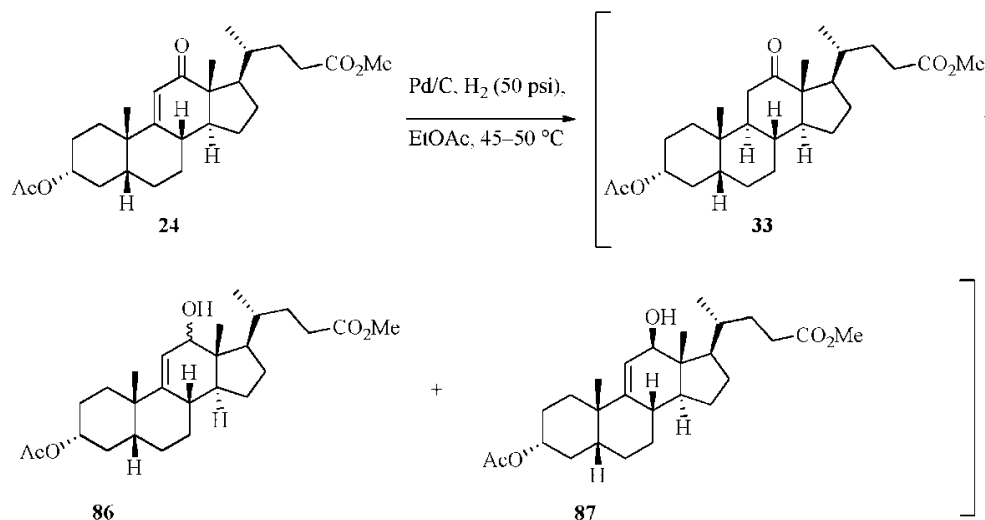
15 El contenido de metanol por GC). La mezcla de reacción se enfrió durante 1-2 h a 20-25°C y se agitó a esta temperatura durante 3-4 h. El producto se filtró y se lavó con DCM (81 mL), se secó en un secador de aire caliente a 50-55°C durante 8 h. La pureza se determinó por HPLC. Si la única impureza máxima es más de 0,1%, el procedimiento anterior se repite.

20 El material seco de lo anterior se cargó en un matraz limpio. Se añadió agua (190 mL) y seguido por NaOH acuoso al 10% (3,18 g en 31,8 mL de agua). La disolución se filtró a través de un papel de filtro 5 μ y el filtrado se diluyó con agua adicional (380 mL). El pH se ajustó a 1-2 con HCl 2N (53 mL). Los sólidos resultantes se filtraron, se lavaron completamente con agua (1,9 L) y se secaron en un secador de aire caliente a 70-75°C hasta que el contenido en agua está por debajo de 1% para dar DCA como un sólido blanco (17 g, % de recuperación: 65).

Ejemplo 10

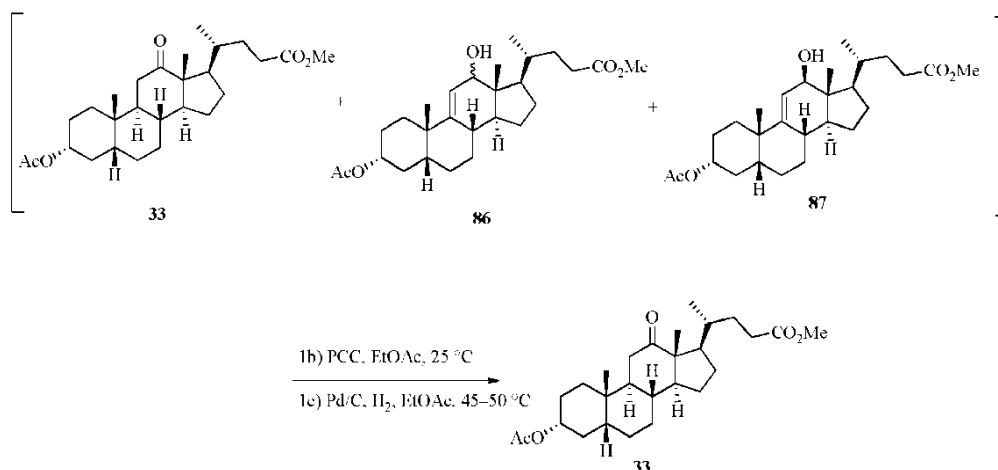
25 Método alternativo de síntesis y purificación de DCA a partir del compuesto 33

Etapa 1a - Hidrogenación de 3 α -acetoxi-12-oxo--5 β -col-9(11)-en-24-oato de metilo (24)



30 Se añadió Pd/C seco (75,0 g, 25% en peso) a 24 (300,0 g, 0,7 moles) en EtOAc (7,5 L, 25 vol). La mezcla de reacción se calentó a 45° - 50°C y se presurizó a 50 psi de H₂. El análisis de HPLC después de 21 horas indicó <0,1% de área bajo la curva (AUC) de 24 restante; 4,6% de AUC de la impureza de alcohol alílico 86 y 11,1% de AUC del 87 formado. La mezcla de reacción se enfrió a 30° - 35°C, se filtró sobre Hyflo® (300 g) y se lavó con EtOAc (7,5 L) para eliminar el catalizador. El filtrado resultante se concentró a aproximadamente 6 L y se llevó hacia adelante sin manipulación adicional (67,8% de AUC por HPLC, 5,5% de AUC de la impureza del alcohol alílico 86 y 13,0% de AUC de 87).

35 Etapa 1b/c - Oxidación del alcohol alílico 86 y 87 y rehidrogenación de 24 a 3 α -acetoxi-12-oxo-5 β -colan-24-oato de metilo (33)



Etapa 1b - Oxidación con PCC del alcohol alílico 86 y 87

Una lechada de PCC (149,1 g, 1,03 equiv.) en EtOAc (1.5 L) se añadió a la disolución de 33 desde por encima de 20° - 25°C. La reacción se dejó seguir durante 3,5 horas donde el análisis de HPLC mostró que < 1% de AUC del alcohol alílico 86 y < 1% de AUC de 87 permaneció. La mezcla de reacción se filtró sobre Hyflo® (300 g) y se lavó con EtOAc (3,0 L). El filtrado de EtOAc se lavó con agua desionizada (DI) (2 x 3,6 L) y salmuera (3,6 L), se filtró sobre Hyflo® (300 g) y se lavó con EtOAc (3,0 L). El filtrado resultante se concentró a ~7,5 L y se siguió adelante sin manipulación adicional (77,7% de AUC por HPLC que contenía 5,3% de AUC de 24).

Etapa 1c - Reducción de 24 a 33

El polvo activado por carbono DARCO (60 g, 20% en peso) se añadió a la disolución de 33 en bruto a partir de lo anterior que contiene 24. La lechada resultante se calentó a 45° - 50°C durante 4 horas, se enfrió a 30° - 35°C y se filtró sobre Celite®. La torta de filtrado se lavó con EtOAc (7,5 L), se concentró a ~7,5 L y se añadió a Pd/C seco (60,0 g, 20% en peso). La mezcla de reacción se calentó a 45° - 50°C y se presurizó a 50 psi de H₂ durante 6 horas. El análisis de HPLC indicó <1,0% de AUC de 24 restante; 1,1% de AUC de impureza 86 y < 1,0% de AUC de 87 formado. La reacción se consideró completa y se enfrió a 30°-35°C, se filtró sobre Celite® y se lavó con EtOAc (7,5 L). El filtrado de EtOAc se concentró a ~5 volúmenes y se hizo azeótropo con MeOH (2 x 4,5 L) vuelto a ~5 volúmenes. La lechada resultante se diluyó con agua DI (2,4 L) y se mantuvo a 20-25°C. La lechada se filtró, se lavó con agua DI (2 x 600 mL) y se secó al vacío a 40° - 50°C para dar 266 g (88%) de 33 (66,2% de AUC por HPLC).

Etapa 2 - Síntesis de 34

Una disolución de 33 (245 g, 0,5 moles) en THF (2,5 L) se enfrió a 0° - 5°C y se añadió disolución 1 M de Li(*t*-BuO)₃AlH (822,9 mL, 1,5 equiv.) mientras se mantenía la temperatura por debajo de 5°C. La mezcla de reacción se agitó a 5° - 10°C durante 22 horas. La reacción puede completarse en 2-4 horas. El análisis HPLC indicó que la reacción estaba completa con < 1% de 33 restante. La reacción se apagó con HCl 4 M (3,7 L) mientras se mantenía la temperatura por debajo de 20°C. La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 2,5 L) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua DI (2 x 2,5 L). La fase de CH₂Cl₂ se concentró para proporcionar 300 g (122%) de 34 (73,5% de AUC por HPLC). El análisis ¹H RMN indicó que el 9,7% en peso de THF y el 0,8% en peso de CH₂Cl₂ permanecieron.

Etapa 3 - Síntesis de DCA

Una disolución de NaOH (87,6 g, 4 equiv.) en agua DI (438,6 mL) se añadió a una disolución de 34 (245 g, 0,5 moles) en MeOH (980 mL) y THF (475 mL) a 0°-5°C. Se dejó calentarse la mezcla de reacción a 20° - 25°C. El análisis de HPLC mostró que la reacción estaba completa después de 1 hora con <0,5% de 34 y <0,5% de los intermediarios de hidrólisis restantes. La reacción se diluyó con agua DI (2,5 L) y se concentró a ~10 volúmenes. La disolución acuosa se lavó con CH₂Cl₂ (2 x 1,3 L) y se ajustó a pH 1,7 - 2,0 usando HCl 2M (1,6 L). Una lechada blanca se formó y se agitó a 20° - 25°C durante 1 hora. La lechada se filtró, se lavó con agua DI (7 x 1 L) y se secó al vacío para dar 195 g (91%) de DCA (82,2% de AUC por HPLC).

Etapa 4 - Purificación de DCA

Una disolución de DCA obtenida anteriormente (190 g, 0,48 moles) en MeOH (475 mL) y CH₂Cl₂ (4275 mL) se calentó a 35° - 40°C. El MeOH/CH₂Cl₂ se destiló de la mezcla mientras CH₂Cl₂ (4740 mL) se añadió emparejando la velocidad de destilación. El análisis de la composición de disolvente por ¹H RMN indicó 4,5% en moles de MeOH restante respecto a CH₂Cl₂. La lechada se dejó enfriar a 20° - 25°C y se dejó durante 16 horas. Los sólidos se aislaron por filtración, se lavó con CH₂Cl₂ (600 mL) y se secó al vacío para dar 104 g (55%) de DCA (> 99% de AUC por HPLC-RID y 98,7% de AUC por HPLC-CAD).

5 La recristalización se repitió calentando una mezcla de DCA (103 g, 0,3 moles) en MeOH (359 mL) y CH₂Cl₂ (1751 mL) a 35° - 40°C. El MeOH/CH₂Cl₂ se destiló de la mezcla mientras CH₂Cl₂ (3760 mL) se añadió emparejando la velocidad de destilación. El análisis de la composición de disolvente por ¹H RMN indicó 4,7% en moles de MeOH restante respecto a CH₂Cl₂. Se dejó enfriar la lechada a 20° - 25°C. Después de 1 hora, los sólidos se aislaron por filtración, se lavó con CH₂Cl₂ (309 mL) y se secó al vacío para dar 82 g (79%) de DCA (> 99% de AUC por HPLC-RID y 99,3% de AUC por HPLC-CAD).

10 Para evaluar el efecto de purificación adicional y reprocesado, el producto se recristalizó una tercera vez antes de la etapa de aislamiento en agua final normal. La muestra anterior de DCA (80 g, 0,2 moles) en MeOH (240 mL) y CH₂Cl₂ (1400 mL) se calentó a 35°-40°C. El MeOH/CH₂Cl₂ se destiló de la mezcla mientras CH₂Cl₂ (2000 mL) se añadió emparejando la velocidad de destilación. El análisis de la composición de disolvente por ¹H RMN indicó 6,7% en moles de MeOH restante respecto a CH₂Cl₂. Se dejó enfriar la lechada a 20° - 25°C. Después de 1 hora, los sólidos se aislaron por filtración, se lavaron con CH₂Cl₂ (240 mL) y se secaron al vacío para dar 72 g (89%) de DCA (99,7% de AUC por HPLC-CAD).

15 La muestra se hizo lechada en agua DI (840 mL) y se diluyó con una disolución de NaOH (14,0 g) en agua DI (140 mL). La disolución resultante se filtró sobre Celite® y se lavó con agua DI (1,4 L). El filtrado se ajustó a pH 1,6 con HCl 2 M (-300 mL) dando por resultado un precipitado blanco que se dejó durante 1 hora a 20° - 25°C. El producto se aisló por filtración, se lavó con agua DI (9,0 L) y se secó al vacío para dar 63 g (87%) de DCA (99,7% de AUC por HPLC-CAD).

Ejemplo 11

20 Un procedimiento de fabricación para compuesto 24 material de partida clave de ácido desoxicólico se ha modificado y hecho adecuado para producción a gran escala. El procedimiento de fabricación es seguro, económico, respetuoso con el medioambiente y produce producto final de alta calidad que encuentra de forma consistente especificaciones.

El procedimiento de fabricación implica:

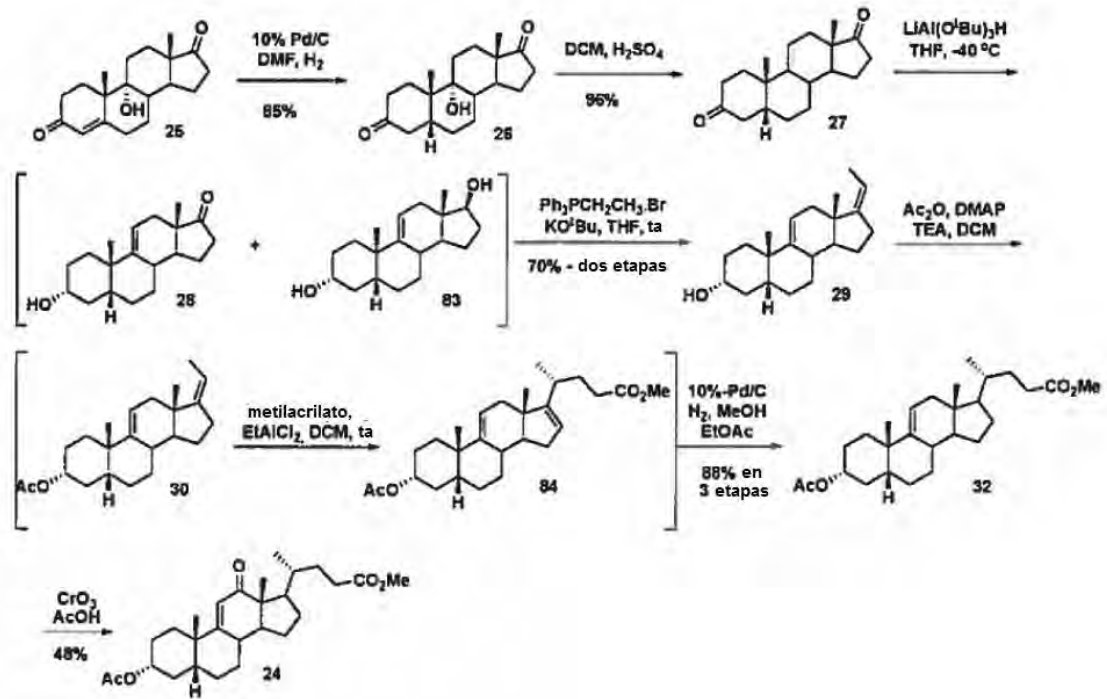
25 • Preparación del Material de Partida Clave (es decir, 3 α -acetoxi-12-oxo-5 β -col-9(11)-en-24-oato de metilo) compuesto 24.

30 El material de partida clave se prepara en ocho etapas químicas a partir de 9- α -hidroxiandrost-4-en-3,17-diona (9-HAD). Como algunos de los intermedios no están aislados, esta parte del procedimiento corresponde a la Etapa-I a Etapa-V. Las asignaciones estructurales para todos los intermedios son coherentes con los datos de RMN y espectro de masas. Los procedimientos detallados para el procedimiento final junto con los datos espectrales del producto de cada etapa se proporcionan en la sección de Procedimiento.

El programa de impurezas junto con su estado (aislado, identificado, no observado, etc.), una lista de materias primas y una descripción de parámetros del procedimiento críticos se proporcionan todos en las secciones finales del informe.

35 En base a los resultados de la modificación del procedimiento y la carga de demostración, el procedimiento de fabricación es adecuado para su propósito previsto.

Esquema 1 - Esquema sintético que comienza a partir de 9 α -Hidroxiandrostenediona



Modificación del Procedimiento Final

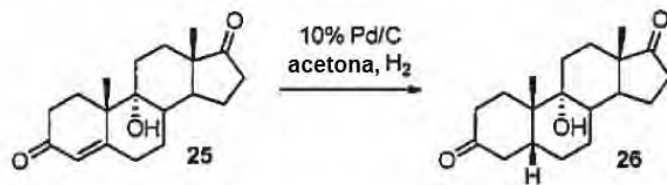
- Inconvenientes de las marchas iniciales de las etapas de procedimiento propuestas

- 5 El procedimiento para la preparación de DCA se manejó razonablemente bien en la marcha inicial a través de la ruta propuesta y fuimos capaces de preparar cantidades multi-gramo de DCA sintético con pureza bastante alta, aunque las desventajas son pureza de materia de partida clave, rendimiento y cromatografía en columna de la etapa de Wittig no viable para la escala en planta estas cosas se evitan con éxito usando métodos de cristalización en metanol acuoso, reacción de oxidación alílica también mejoró el buen rendimiento y la pureza del compuesto 24, el procedimiento experimental inicial y los resultados para cada etapa se dan a continuación.
- 10 Se comenzó la modificación de cada etapa de las nuevas modificaciones del procedimiento. Estos estudios de modificación se describen en esta sección. Se hicieron intentos para combinar etapas para minimizar los desarrollos y aislamientos, dando por resultado un aumento en la eficiencia. El procedimiento resultante tiene un total de ocho etapas. - cinco etapas están implicadas para preparar el material de partida regulador (material de partida clave, compuesto 24) y tres para su conversión a DCA. Hay también una etapa adicional para la purificación final.

15 Estudio de modificación para la Etapa 1

Nombre químico del producto: 9 α -Hidroxi-5 β -androstano-3,17-diona

Esquema sintético:



Plan de modificación para la Etapa 1

- 20
- Selección de disolvente
 - Cantidad de disolvente
 - Tiempo de reacción
 - Cantidad de catalizador

Selección de disolvente

Los siguientes disolventes se estudiaron en la modificación de esta etapa:

- N,N-dimetilformamida (DMF)
- Acetona
- 5 • Acetona acuosa
- Diclorometano (DCM)
- Metanol (MeOH)
- Etanol (EtOH)
- Alcohol isopropílico (IPA)
- 10 • n-Butanol
- Tetrahidrofurano (THF)
- Metil-*terc*-butiléter (MTBE)
- 1,4-Dioxano
- Acetato de etilo (EtOAc)

15 Los siguientes experimentos se llevaron a cabo usando los disolventes anteriores y los resultados se tabulan debajo.

Núm. de muestra	Entrada (g)	Disolvente	Salida (g)	Comentarios
1	1,0	DMF	0,9	5 β -producto: 85,8% por HPLC-RI 5 α -producto: 8,6%
2	0,5	Acetona	0,45	5 β -producto: 88,5% 5 α -producto: 7,8%
3	0,3	IPA	0,25	5 β -producto: 81,5% 5 α -producto: 11,8%
4	0,3	Etanol	0,25	5 β -producto: 68,6% 5 α -producto: 14,3%
5	0,3	Acetona acuosa al 3%	0,25	5 β -producto: 86,9% 5 α -producto: 8,5%
6	0,3	DCM	0,25	5 β -producto: 47,2% 5 α -producto: 32,7%
7	0,3	EtOAc	0,25	5 β -producto: 78,7% 5 α -producto: 13,2%
8	0,3	MeOH	0,25	3-metoxi 3,9-enlace sencillo observado
9	0,3	Hexano	0,25	5 β -producto: 50,5% 5 α -producto: 12,9%
10	0,3	n-Butanol	0,25	5 β -producto: 58,1% 5 α -producto: 34,9%
11	0,3	THF	0,25	5 β -producto: 77,7% 5 α -producto: 13,9%
12	0,3	MTBE	0,25	5 β -producto: 57,5% 5 α -producto: 34,0%
13	5,0	1,4-Dioxano	4,5	5 β -producto: 43,8% 5 α -producto: 1,1%, rx no completado.

Comentarios:

20 Cuando se usó diclorometano, metanol o acetato de etilo como un disolvente en la hidrogenación de 25, se observó el consumo completo del material de partida (por TLC). Después del aislamiento del producto y el análisis por HPLC-RI, ambos isómeros 5 α y 5 β del compuesto 26 se formaron en una relación de aproximadamente 1:1.

Cuando se usó acetona como disolvente en la hidrogenación de 25, se observó el consumo completo del material de partida (por TLC). Después del aislamiento del producto y análisis por HPLC-RI, se observó la formación casi exclusiva del isómero 5 β del compuesto 26 y menos de la formación del 10% del isómero 5 α .

- 5 Conclusión: En base a los resultados experimentales anteriores, la acetona se eligió como el disolvente preferido, proporcionando más del 90% de selectividad y más del 85% de rendimiento en esta exigente etapa.

Cantidad de disolvente

La reacción se ha llevado a cabo con diferentes volúmenes de Acetona para determinar la cantidad de disolvente preferida. Los siguientes experimentos se han realizado y los resultados experimentales se tabulan a continuación:

Núm. de muestra	Entrada (g)	Volumen de disolvente (mL por g)	Salida (g)	Comentarios
1	5,0	20	4,0	Nivel de 5 α = 8,0%
2	0,5	22	0,4	Nivel de 5 α = 7,4%
3	10,0	24	8,5	Nivel de 5 α = 8,5%
4	150,0	24	129	Nivel de 5 α = 8,5%

- 10 Comentarios:

- Los rendimientos y la calidad del producto son similares en todas las concentraciones.
- La calidad del producto se monitorizó por HPLC (detección IR), RMN y MASAS. Conclusión: Como el rendimiento y la calidad del producto son esencialmente iguales en todas las concentraciones, se eligieron 24 mL/g ya que sería el material de partida no soluble más productivo, también el de menor volumen.

- 15 Tiempo de reacción

Los siguientes experimentos se han realizado para determinar el tiempo de reacción más adecuado y los resultados se tabulan a continuación.

Núm. de muestra	Entrada	Tiempo	Salida	Comentarios
1	10 g	5 hr	8,63 g	25 se consumió completamente
2	10 g	12 hr	8,32 g	25 se consumió completamente
3	0,3 g	3 hr	-	25 no se consumió completamente
4	50 g	5 hr	43,3 g	25 se consumió completamente

Conclusión: En base a los resultados experimentales, el tiempo de reacción se ajustó a 4-5 h (a 25 - 35°C).

- 20 Cantidad de catalizador

Para modificar la cantidad de Pd/C, los siguientes experimentos se han realizado y los resultados experimentales se tabulan a continuación. El catalizador usado en todos los casos era de paladio en carbono húmedo al 50%.

Núm. de muestra	Núm. Exp.	Tamaño de la carga (g)	Cantidad de catalizador (g)	Salida(g)	Comentarios
1	BDA-09-004-I-024	0,3	0,021 (7%)	-	25 no se consumió completamente
2	BDA-09-004-I-025	1,0	0,1 (10%)	0,9	25 se consumió completamente
3	BDA-09-004-I-026	0,3	0,036 (12%)	0,9	25 se consumió completamente
4	BDA-09-005-I-03	0,3	0,024 (8%)	0,25	25 se consumió completamente

Comentarios:

Cuando los experimentos se realizan con 7% en peso de catalizador, la reacción quedó incompleta incluso después de 5 h de tiempo de reacción.

- 5 Conclusión: Al menos el 8% en peso del catalizador se usaría para obtener de manera fiable el consumo total del material de partida.

Procedimiento modificado final para la Etapa 1:

El procedimiento modificado final para esta etapa se da a continuación.

Detalles de entrada de materia prima:

Núm. de muestra	Materias primas	Cantidad	Unidad	Peso molecular	Moles	Relación Molar
1	9 α -Hidroxiandrost-4-eno-3,17-diona	150,0	g	302	0,496	1,0
2	Pd/C al 10% (50% de humedad)	12,0	g	-	-	8 % en peso
3	Acetona	4050	mL	-	-	27,0 V
4	Diclorometano	1500	mL	-	-	15 V
5	Celite	20	g	-	-	-

- 10 Procedimiento experimental: A una disolución de 9 α -Hidroxiandrost-4-eno-3,17-diona (150,0 g) en acetona (3600 mL) se añadió Pd/C al 10% (12 g, 8% en peso, 50% de humedad) y la lechada resultante se hidrogenó en autoclave (50 psi) durante 5 h a 25-25°C. Tras la completa desaparición del material de partida, como se evidencia por TLC (EtOAc al 30% en DCM), la mezcla de reacción en bruto se filtró a través de un lecho de Celite® (20 g) y se lavó con diclorometano (1500 mL). El filtrado se eliminó al vacío y el producto en bruto (145,0 g) se obtuvo como un sólido blanco.
- 15 Este producto en bruto se combinó con (145,0 g) acetona (300 mL) a 0°C, se agitó durante 1 h, después se filtró y se lavó con acetona helada (150 mL) y se secó al vacío a 50°C. Esto proporcionó compuesto 26 (129 g, 85%) como un sólido blanco.

TLC: carbonización de *p*-anisaldehído. R_f para el compuesto 26 = 0,48 y R_f para el compuesto 25 = 0,3. El eluyente fue EtOAc al 30% en DCM.

- 20 ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ = 2,40-2,37 (m, 1H), 2,11-2,02 (m, 2H), 1,91-1,31 (m, 19H), 0,96 (s, 3H), 0,84 (s, 3H).

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): 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.

- 25 p.f. = 213-216°C (de acetona).

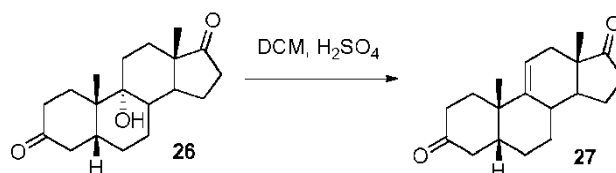
[α]_D = +116 (c = 1% en CHCl₃).

Pureza HPLC/RI: 99,0%.

Estudios de modificación para la Etapa 2

Nombre químico del producto: 5 β -Androst-9(11)-eno-3,17-diona

- 30 Esquema sintético:



Plan de modificación para la Etapa 2

- Selección de reactivo

Selección de reactivo

Los siguientes experimentos se han realizado y los resultados se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de carga (g)	Reactivo	Salida (g)	Comentarios
1	0,1	Resina (H+)	-	el compuesto 26 no se completó
2	0,1	Resina (H+)	-	el compuesto 26 no se completó
3	0,2	Resina (H+)	-	el compuesto 26 no se completó
4	108	H ₂ SO ₄	-	el compuesto 26 se completó
5	0,2	H ₃ PO ₄	-	el compuesto 26 no se completó
6	0,2	H ₂ SO ₄ acuoso al 25%	-	el compuesto 26 se completó

5

Conclusión: se eligió ácido sulfúrico como el reactivo preferido para la eliminación, en reacción de resina ácida no se completó.

Procedimiento modificado final para la Etapa 2:

El procedimiento modificado final para esta etapa se da a continuación:

10 Núm. de Exp. de Ref.: BDA-09-008-II-02

Número de muestra	Materias primas	Cantidad	Unidad	Peso molecular	Mol	Reacción Molar
1	compuesto 26	121	g	304	0,3979	1,0
2	Ácido sulfúrico	19,1	mL	98	0,3579	0,9
3	Diclorometano	1815	mL	-	-	15 V
4	Agua	800	mL	-	-	6,6 V
5	Bicarbonato sódico	600	mL	-	-	5,0 V
6	Disolución de salmuera	200	mL	-	-	1,65 V

15

Procedimiento experimental: A una disolución del compuesto 26 (121 g) en DCM (1815 mL) se añadió ácido sulfúrico (19,1 mL) durante 15 minutos en una atmósfera inerte a 5-10°C. La temperatura se elevó a 25-35°C, y la mezcla se agitó durante 2 h. En este punto se determinó que la reacción estaba completa (TLC, EtOAc al 30% en DCM). La mezcla se lavó con agua (600 mL) y después se lavó con disolución de NaHCO₃ acuosa al 10% (600 mL). La fase orgánica se lavó de nuevo con agua (200 mL) seguido por disolución de salmuera saturada (200 mL). El disolvente se destiló entonces al vacío, proporcionando el compuesto 27 (108,2 g, 95%) como un sólido de color crudo. Se usó el producto en bruto en la siguiente etapa sin purificación adicional.

20

TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para el compuesto 27 = 0,76 y R_f para el compuesto 25 = 0,44. El eluyente fue EtOAc al 30% en DCM.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ = 5,61 (s, 1H), 2,57-2,47(m, 2H), 2,42-2,24 (m, 4H), 2,20-2,05 (m, 3H), 1,99-1,86 (m, 2H), 1,85-1,84 (d, J = 6 Hz 1H), 1,63-1,57 (m, 5H), 1,40-1,37(d, J = 13,5 Hz, 1H) 1,28-1,25 (dd, J = 4,0, 13,5 Hz, 1H), 1,17 (s, 3H) 0,85 (s, 3H).

25

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃): 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 (de DCM).

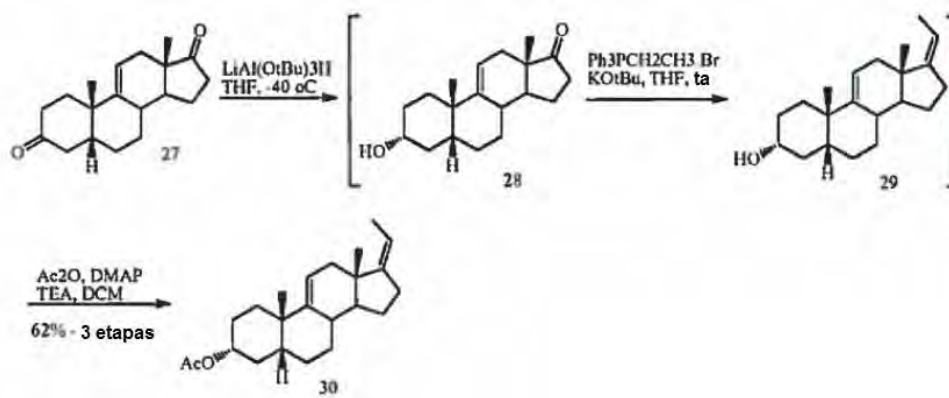
[α]_D = +142 (c = 1% en CHCl₃).

5 Pureza HPLC/RI: 96,7%.

Estudios de modificación para la Etapa 3

Nombre químico del producto: (Z)-3α-Acetoxi-5β-preg-9(11),17(20)-dieno (compuesto 30)

Esquema sintético:



10 Procedimiento modificado final para la Etapa 3:

El procedimiento modificado final para esta etapa se da a continuación:

Plan de modificación para la Etapa 3

- Cantidad de disolvente

Cantidad de disolvente

15 Para evaluar la cantidad de MTBE, los siguientes experimentos se han realizado y los resultados experimentales se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Cantidad de disolvente	Salida (g)	Comentarios
1	10,4	104 mL	6,8	10 volúmenes de reacción se completaron
2	10,4	156 mL	6,7	15 volúmenes de reacción se completaron
3	43,5	528 mL	29	12 volúmenes de reacción se completaron

Conclusión: Esta reacción funciona igualmente bien a 12 mL de disolvente por gramo de sustrato. Por el mayor rendimiento a 12 mL por gramo, esta se seleccionó como la cantidad preferida.

20 Selección de disolvente de purificación:

Varios sistemas disolventes se exploraron para esta purificación final. Son:

- Metanol
- Metanol acuoso
- Etanol

ES 2 575 559 T3

- Alcohol isopropílico
- Acetona

Los siguientes experimentos se han realizado y los resultados experimentales se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Disolvente	Salida (g)	Pureza por HPLC
1	10,4	Metanol	6,8	pureza por HPLC al 95,8% por detección RI
2	2,0	Metanol acuoso al 1%	1,3	pureza por HPLC al 94% por detección RI
3	2,0	Metanol acuoso al 2%	1,39	pureza por HPLC al 96% por detección RI
4	2,0	IPA	0,81	pureza por HPLC al 80,3% por detección RI
5	2,0	Etanol	0,9	pureza por HPLC al 97% por detección RI
6	2,0	Acetona	0,36	pureza por HPLC al 97% por detección RI
7	5,0	Metanol acuoso al 2%	3,68	pureza por HPLC al 94,3% por detección RI
8	11,0	Metanol acuoso al 2%	8,2	pureza por HPLC al 95% por detección RI

- 5 Conclusión: Se alcanzaron purificación, pureza y rendimiento extremadamente efectivos por cristalización del producto a partir de metanol acuoso al 2%.

Cantidad de disolvente

Los experimentos se ha realizado usando diferentes volúmenes de disolvente y los resultados experimentales se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Cantidad de disolvente	Salida (g)	Pureza por HPLC
1	2,0	2 vol	1,3	pureza por HPLC al 94% por detección RI
2	5,0	4 vol	3,45	pureza por HPLC al 97,4% por detección RI
3	11,0	4 vol	8,2	pureza por HPLC al 95,1% por detección RI

10

Conclusión: Se vieron excelentes recuperaciones y calidad de producto en todos los niveles de disolvente, así que se seleccionaron 4 volúmenes ya que este es el más productivo.

Temperatura de aislamiento

Los siguientes experimentos se han realizado variando la temperatura de aislamiento y los resultados se tabulan a continuación.

15

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Temp. (°C)	Salida (g)	Comentarios
1	5,0	25-30	3,68	pureza por HPLC al 95% por detección RI
2	11,0	15-20	8,2	pureza por HPLC al 95,1% por detección RI
3	11,0	10-15	8,3	pureza por HPLC al 94% por detección RI
4	11,0	15-20	8,2	pureza por HPLC al 95% por detección RI

Conclusión: El aislamiento del producto a 15-20°C, proporcionó buena calidad y rendimiento.

Procedimiento modificado final para la Etapa 3:

El procedimiento modificado final para esta etapa se da a continuación:

Número de muestra	Materia prima	Cantidad	Unidad	Peso molecular	Mol	Relación Molar
1	compuesto 27	108	g	286	0,377	1,0
2	Hidruro de litio y tri- <i>tert</i> -butoxialuminio	700	mL		0,489	1,3
3	THF	1080	mL	-	-	10 V
4	Diclorometano	648	mL	-	-	10 V
5	Agua	648	mL	-	-	6,0 V
6	HCl 2N	648	mL	-	-	6,0 V
7	Disolución de salmuera	540	mL	-	-	5,0 V
8	THF	756	mL	-	-	7,0 V
9	<i>tert</i> -butóxido de potasio (1,0 M en THF)	1086	mL	-	1,085	3,0
10	Bromuro de etiltripenilfosfonio	417	g	371,26	1,12	2,9
11	MTBE	4104	mL	-	-	38 V
12	Agua	1080	mL	-	-	10 V
13	Disolución de salmuera	540	mL	-	-	5 V
14	Anhídrido acético	53,5	mL	102	0,566	1,5
15	MTBE	216	mL	-	-	2 V
16	triethylamina	105,2	mL	101	0,755	2,0
17	4-(<i>N,N</i> -Dimetil-amino)piridina	4,6	g	122	0,037	0,1
18	Agua	1080	mL	-	-	10 V
19	Disolución de salmuera	324	mL	-	-	3V

- 5 Procedimiento experimental: A una disolución del compuesto 27 (108,0 g) en THF (1080 mL) se añadió hidruro de litio y tri-*tert*-butoxialuminio (700 mL) a -40 a -45°C en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 horas a -40 a -45°C. Tras completarse la reacción, como se evidencia por TLC (EtOAc al 30% en DCM), la mezcla de reacción se apagó mediante la adición de disolución de HCl 2N. Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa resultante con diclorometano (648 mL). Las fracciones orgánicas se combinaron y se lavaron con agua (648 mL) seguido por disolución de salmuera saturada (540 mL). La fase orgánica se evaporó al vacío que proporcionó compuesto 28, disuelto en THF (540 mL).

- 10 A una disolución de bromuro de etiltripenilfosfonio (417 g) en THF (216 mL) se añadió *tert*-butóxido de potasio (1086 mL, disolución 1M en THF) en gotas durante 20 min en nitrógeno a 25-35°C. La mezcla de reacción roja oscura resultante se agitó durante 1 h adicional a la misma temperatura. La disolución anterior del compuesto 28 se añadió lentamente en 30-40 minutos a la suspensión anterior a 25-35°C. La mezcla de reacción se agitó durante unas 3-5 h adicionales, llevando al consumo completo del material de partida (como se evidencia por TLC; EtOAc al 30% en DCM). La mezcla de reacción se apagó con agua helada (1,080 L). La fase acuosa se extrajo con MTBE (2 × 540 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con disolución de salmuera saturada (540 mL) la fase orgánica se concentró al vacío y el material en bruto se purificó usando MTBE (2X540 mL) se filtró, el filtrado se destiló al 25% de disolvente al vacío. A una disolución de compuesto 29 que se enfrió a 25°C se añadió triethylamina (105,2

mL), DMAP (4,5 g) y anhídrido acético (53,5 mL) a 25-35°C en nitrógeno. Después de agitar durante 2 hr a 25-35°C, se determinó que la reacción estaba completa por TLC (EtOAc al 10% en hexanos). La mezcla de reacción se lavó con agua (1080 mL) seguido por disolución de salmuera (324 mL). La fase orgánica se concentró al vacío para proporcionar el compuesto 30 en bruto (225 g), el residuo se re-cristalizó en metanol acuoso al 2% proporcionó 85 g de compuesto 30 puro (63,5% de rendimiento con pureza por HPLC-RI al 96%).

TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para el compuesto 30 = 0,5 y R_f para el compuesto 29 = 0,15. Eluyente = EtOAc al 10% en hexanos.

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ = 5,38 (s, 1H), 5,20-5,18 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 4,76-4,72 (m, 1H), 2,40-2,35 (m, 3H), 2,25-2,22 (m, 1H), 2,09-2,03 (m, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,98-1,49 (m, 10H), 1,41-1,31 (m, 2H), 1,27-1,16 (m, 3H), 1,07 (s, 3H), 0,79 (s, 3H).

^{13}C RMN (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 [$\text{M}^+ + 1$], 360 [$\text{M}^+ + 18$].

IR (CHCl_3) = 3440, 3035, 1730, 1451, 1367, 1258, 1028 cm^{-1}

Pf = 93,9-97,8°C.

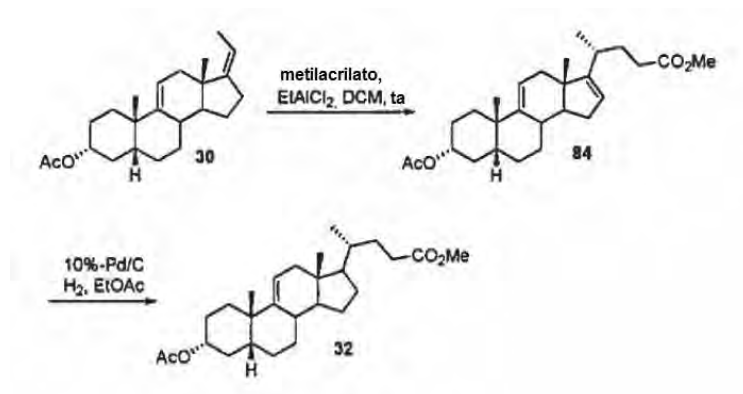
$[\alpha]_D^{25} = +109$ ($c = 1\%$ en CHCl_3).

Pureza HPLC/RI: 96,0%.

Estudios de modificación para la Etapa 4

Nombre químico del producto: 3 α -acetoxi-5 β -cola-9(11),16-dien-24-oato de metilo (compuesto 84)

Esquema sintético:



Plan de modificación para la Etapa 6

- Selección de ácido de Lewis
- Cantidad de ácido de Lewis
- Selección del catalizador
- Cantidad de catalizador

Selección de ácido de Lewis

Para examinar ácidos de Lewis alternativos como un catalizador en esta etapa, los siguientes experimentos se han realizado y los resultados se tabulan a continuación:

Número de muestra	Tamaño de carga(g)	Reactivo	Salida (g)	Comentarios
1	0,1	SnCl_4	-	Sin reacción - solo es material de partida
2	0,1	ZnCl_2	-	Sin reacción - solo es material de partida

3	0,3	SnCl ₄	-	Sin reacción - solo es material de partida
---	-----	-------------------	---	--

Cantidad de ácido de Lewis:

Se encontró que el dicloruro de etilaluminio era efectivo para esta etapa. Se estudiaron relaciones molares de dicloruro de etilaluminio y los resultados se tabulan a continuación:

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Ácido de Lewis (Equiv)	Salida (g)	Comentarios
1	0,2	2,0	-	10% de material de partida observado.
2	0,2	2,5	-	10% de material de partida observado.
3	27	3,0	30,0	Ausencia de material de partida observada.

5

Conclusión: La reacción funcionó bien con 3,0 equiv de dicloruro de etilaluminio.

Selección del catalizador

Se había usado inicialmente óxido de platino como un catalizador en esta etapa. El paladio en carbono es menos caro y es además un catalizador de hidrogenación típico, así que esto se exploró también. Los siguientes experimentos se han realizado y los resultados se tabulan a continuación:

10

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Catalizador	Salida (g)	Comentarios
1	2,0	Pd/C (50% de humedad)	-	La reacción se completó.
2	5,0	Pd/C (50% de humedad)	-	La reacción no se completó.
3	43,0	Pd/C (seco)	45,0	La reacción se completó.

Conclusión: El paladio/carbono con 50% de humedad funcionó a pequeña escala en medio de acetato de etilo, usando catalizador de paladio seco comercial.

Procedimiento de modificación final para la Etapa 4:

15

El procedimiento de medicación final para esta etapa se da a continuación:

Número de muestra	Materia prima	Cantidad	Unidad	Peso molecular	Mol	Relación Molar
1	compuesto 30	56	g	342	0,163	1,0
2	Diclorometano	1120	mL	-	-	20 V
3	Acrilato de metilo	35,13	mL	86	0,389	2,38
4	Dicloruro de etilaluminio (1,8 M en tolueno)	272,9	mL	-	0,491	3,0
5	Agua	1680	mL	-	-	30 V
6	Disolución de salmuera	560	mL	-	-	10 V
7	Metanol	336	mL	-	-	6,0 V
8	Acetato de etilo	1650	mL	-	-	29,5 V
9	Paladio en carbono al 10%	6,7	g	-	-	12% en

						peso
10	Celite	25	g	-	-	-

5 Procedimiento experimental: A una disolución de compuesto 30 (56 g) en DCM (560 mL) se añadió acrilato de metilo (35,13 mL) a 0-5°C en una atmósfera inerte agitando durante 60 min, la disolución se enfrió a 0-5°C, se añadió dicloruro de etilaluminio (272,9 mL; 1,8 M en tolueno) durante un periodo de 60 min. La temperatura se elevó entonces a 25-35°C y la mezcla se agitó durante ~18 hr. En este punto el análisis por TLC (EtOAc al 10% en hexanos) mostró que la reacción estaba completa, de manera que la mezcla se vertió en agua fría con hielo (1120 mL). Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con DCM (2 X 255 mL). Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron secuencialmente con agua (560 mL) y disolución de salmuera (560 mL), la fase orgánica se evaporó al vacío, que proporcionó el compuesto 84 (66 g) como un aceite.

10 A una disolución de compuesto 84 en acetato de etilo (550 mL), se añadió lechada de Pd/C (6,7 g) en acetato de etilo (110 mL) a 25-35°C. La lechada resultante se agitó bajo presión de hidrógeno de ~70 psi durante ~16 h. El progreso de la reacción se monitorizó por HPLC. El catalizador se filtró en un lecho de Celite® (25 g) y la torta se lavó con acetato de etilo (990 mL). El filtrado se evaporó al vacío, que proporcionó compuesto 32 (59 g, 85%) como un sólido.

15 TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para compuesto 32 = 0,32 y R_f para compuesto 84 = 0,30 Eluyente = EtOAc al 10% en hexanos.

^1H RMN (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).

20 ^{13}C RMN (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.

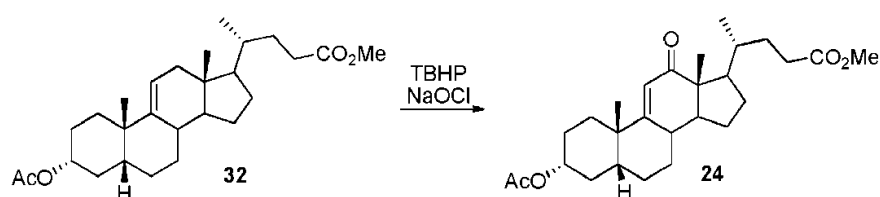
$[\alpha]_D = +56$ (c = 1% en CHCl_3).

Pureza HPLC/RI: 93,0%.

25 Estudio de modificación para la Etapa 5

Nombre químico del producto: 3 α -acetoxi-12-oxo-5 β -col-9(11)-en-24-oato de metilo (compuesto 24)

Esquema sintético:



Plan de modificación para la Etapa 8

- 30
- Selección de reactivo
 - Estequiometría del reactivo
 - Selección de disolvente
 - Cantidad de disolvente
 - Temperatura de reacción
- 35
- Tiempo de reacción
 - Disolvente de aislamiento de producto
 - Recristalización del producto

ES 2 575 559 T3

Selección de reactivo

La reacción se intentó con un gran número de agentes oxidantes alternativos. Los siguientes experimentos se realizaron y los resultados se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Reactivo	Salida (g)	Comentarios
1	0,5	NBS	-	La reacción no se completó.
2	0,2	Br ₂	-	La reacción no se completó.
3	0,2	DDHT	-	La reacción no se completó.
4	0,2	HBr	-	La reacción no se completó.
5	1,0	DDHT/AIBN	-	La reacción no se completó.
6	0,1	NBS/ Peróxido de benzoilo	-	La reacción no se completó.
7	0,1	DDHT/ Peróxido de benzoilo	-	La reacción no se completó.
8	0,2	SeO ₂ / NMO	-	La reacción no se completó.
9	0,2	SeO ₂ / TBHP	-	La reacción no se completó.
10	0,1	SeO ₂	-	La reacción no se completó.
11	0,1	Br ₂ /AcOH	-	La reacción no se completó.
12	0,1	Br ₂ /AcOH	-	La reacción no se completó.
13	0,2	CrO ₃ / Piridina	-	La reacción no se completó.
14	0,1	CrO ₃ acuoso al 6%	-	La reacción se completó.
15	0,2	CrO ₃ / DMP	-	La reacción no se completó.
16	0,5	TBHP, CuI / NaOCl	-	La reacción no se completó.
17	2,0	TBHP / NaOCl	-	La reacción se completó.
18	5,0	TBHP / NaOCl	2,0	La reacción se completó.
19	0,2	CrO ₃ / Estireno	-	La reacción no se completó.
20	0,2	CrO ₃ / DMB	-	La reacción no se completó.
21	1,0	TBHP / NaOCl	0,4	La reacción se completó.
22	2,0	TBHP / NaOCl	0,8	La reacción se completó.
23	10,0	TBHP / NaOCl	4,5	La reacción se completó.
24	5,0	TBHP / Ca(OCl) ₂	4,5	La reacción se completó.
25	20,0	TBHP / NaOCl	13,0	La reacción se completó.
26	20,0	TBHP / NaOCl	12,8	La reacción se completó.

• Nota: DDHT: Dibromo dimetilhidantoina, DMP: Dimetilpirazol, DMB: 3,3-Dimetil 1-buteno

• TBHP - hidroperóxido de *tert*-Butilo Varios reactivos distintos tales como CrO₃/TBHP, NaClO₂/TBHP, y similares también se probaron.

Conclusión: Con respecto a TBHP / NaOCl, se nota que los oxidantes alternativos distintos de trióxido de cromo no funcionaron bien. Por consiguiente, TBHP/NaOCl se seleccionaron como el reactivo oxidante.

Selección de disolvente

5 Durante las marchas de esta etapa, se usó ácido acético como disolvente. Los siguientes disolventes se seleccionaron como alternativas y los resultados se compararon.

- Diclorometano
- Acetato de etilo
- Agua
- Numerosos disolventes distintos se han probado con las diferentes condiciones de oxidación. Algunos de los distintos disolventes son ACN, acetona y AcOH aunque pueden incorporarse otros.

10

Los siguientes experimentos se realizaron y los resultados se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Disolvente	Salida (g)	Comentarios
1	1,0	DCM	-	El material de partida no se consumió.
2	0,5	Agua	-	El material de partida no se consumió.
3	1,0	EtOAc	0,4	La reacción se completó.
4	2,0	EtOAc	0,8	La reacción se completó.

Conclusión: Los resultados fueron mejores cuando se usó EtOAc como el disolvente en comparación con DCM. Por lo tanto, se eligió acetato de etilo como el disolvente preferido.

15 Cantidad de disolvente

Se usaron 20 volúmenes de acetato de etilo en las marchas iniciales de esta etapa. Los siguientes experimentos se realizaron para ver si podría usarse menos disolvente. Los resultados se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Cantidad de Disolvente	Relación de Disolvente	Salida (g)	Comentarios
1	2,0	10 mL	5 V	0,8	La reacción se completó.
2	10,0	200 mL	20 V	4,5	La reacción se completó.
3	20,0	200 mL	10 V	13,0	La reacción se completó.
4	20,0	200 mL	10 V	12,8	La reacción se completó.

Conclusión: se eligieron 10 volúmenes de disolvente como la cantidad preferida.

20 Estequiometría del reactivo

Las marchas iniciales de esta etapa se realizaron con menos equivalentes de TBHP. Los siguientes experimentos se han realizado para modificar esta cantidad de este reactivo y los resultados se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Relación Molar	Salida (g)	Comentarios
1	0,2	10	-	La reacción no se completó.
2	1,0	20	-	La reacción no se completó.

3	1,0	25	-	La reacción no se completó.
4	1,0	30	-	La reacción no se completó.
5	20,0	34	13,0	La reacción se completó.
6	20,0	34	12,8	La reacción se completó.

Conclusión: La reacción se completó con 34 equivalentes de reactivo, aunque estuvo incompleta en los dos experimentos donde se usó menos. Por lo tanto, 34 equivalentes se seleccionaron como la cantidad preferida.

Estequiometría del reactivo

- 5 Las marchas iniciales de esta etapa se realizaron con menos equivalentes de NaOCl. Los siguientes experimentos se han realizado para modificar esta cantidad de este reactivo y los resultados se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Relación Molar	Salida (g)	Comentarios
1	1,0	3,0	-	La reacción no se completó.
2	0,2	5,0	-	La reacción no se completó.
3	5,0	5,0	-	La reacción no se completó.
4	1,0	10,0	0,4	La reacción se completó.
5	5,0	7,0	2,0	La reacción no se completó.
6	5,0	7,0	2,2	La reacción no se completó.

Conclusión: La reacción se completó con 7,0 equivalentes de reactivo, aunque estuvo incompleta en los dos experimentos donde se usó menos. Por lo tanto, 7,0 equivalentes se seleccionaron como la cantidad preferida.

- 10 Temperatura de reacción

Para modificar la temperatura de reacción, los siguientes experimentos se han realizado y los resultados se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Temperatura	Salida (g)	Comentarios
1	5,0	25-30°C	2,0	La reacción se completó.
2	5,0	10-15°C	2,2	La reacción se completó.
3	20,0	0-5°C	13,0	La reacción se completó.
4	20,0	0-5°C	12,8	La reacción se completó.

- 15 Conclusión: La reacción funcionó a todas las temperaturas entre 0 y 5°C, por lo que se eligió un intervalo de 0-10°C ya que se espera que la reacción sea más selectiva a menos temperatura y los rendimientos se observó que eran mayores.

Tiempo de reacción

Durante las marchas iniciales, la reacción se realizó a 0-5°C (durante 24 hr). Para determinar si se modifica el tiempo de reacción, los siguientes experimentos se realizaron y los resultados se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Tiempo	Salida (g)	Comentarios
1	1,0	24	0,4	La reacción se completó.
2	20,0	8,0	13,0	La reacción se completó.
3	20,0	8,0	12,8	La reacción se completó.

Conclusión: La reacción parece completarse a 0-5°C en 8 h, así que se eligió como el tiempo de reacción preferido.

Selección del disolvente de aislamiento del producto:

Dos sistemas disolventes se exploraron para esta purificación final. Son:

- 5
- Metanol
 - Metanol acuoso

Los siguientes experimentos se han realizado y los resultados experimentales se tabulan a continuación.

Número de muestra	Número de experimento	Tamaño de la carga (g)	Disolvente	Salida (g)	Pureza por HPLC
1	BDA-09-009-V-05	20,0	Metanol	10,0	pureza de HPLC al 95,6% por detección RI
2	BDA-09-009-V-017	50,0	Metanol acuoso al 20%	31,9	pureza de HPLC al 95,2% por detección RI
3	BDA-10-003-V-01	60,0	Metanol acuoso al 20%	38,0	pureza de HPLC al 91,2% por detección RI
4	BDA-10-003-V-06A	13,0	Metanol acuoso al 30%	10,5	pureza de HPLC al 81,8% por detección RI
5	BDA-10-003-V-06B	13,0	Metanol acuoso al 40%	11,0	pureza de HPLC al 80,3% por detección RI
6	BDA-10-003-V-06C	13,0	Metanol acuoso al 50%	11,0	pureza de HPLC al 80,4% por detección RI

- 10 Conclusión: Se alcanzaron purificación, pureza y rendimiento extremadamente efectivos por aislamiento del producto a partir de metanol acuoso al 20%. De forma alternativa, se usa la purificación en columna con gel de sílice y un sistema disolvente en gradiente (EtOAc/hexanos).

Selección de disolvente de purificación:

Dos sistemas disolventes se exploraron para esta purificación final. Son:

- 15
- Metanol
 - Metanol acuoso

Los siguientes experimentos se han realizado y los resultados experimentales se tabulan a continuación.

Número de muestra	Tamaño de la carga (g)	Disolvente	Salida (g)	Pureza por HPLC
1	10,0	Metanol	8,0	pureza de HPLC al 93,6% por detección RI
2	18,0	Metanol acuoso 13%	15,5	pureza de HPLC al 93,8% por detección RI

3	25,0	Metanol	10,0	pureza de HPLC al 91,9% por detección RI
4	20,0	Metanol acuoso 13%	17,0	pureza de HPLC al 93,8% por detección RI
5	20,0	Metanol acuoso 13%	17,0	pureza de HPLC al 93,3% por detección RI

Conclusión: Se alcanzaron purificación, pureza y rendimiento extremadamente efectivos por recristalización del producto a partir de metanol acuoso al 13%. De forma alternativa, se usa la purificación en columna con gel de sílice y un sistema disolvente en gradiente (EtOAc/hexanos).

5 Procedimiento modificado final para la Etapa 8:

El procedimiento modificado final para esta etapa se da a continuación.

Número de muestra	Materia prima	Cantidad	Unidad	Peso molecular	Mol	Relación Molar
1	compuesto 32	20,0	g	430	0,046	1,0
2	Hipoclorito sódico al 10%	220	mL	74,5	0,322	7,0
3	TBHP al 70% en agua	200	mL	90	1,56	34,0
4	Acetato de etilo	300	mL	-	-	15 V
5	Clorocromato de piridinio	10,9	g	215,5	0,056	1,1
6	Metanol	140	mL	-	-	7,0 V
7	Agua	2000	mL	-	-	100 V
8	Disolución de salmuera	100	mL	-	-	5,0 V

10 Procedimiento experimental: A una disolución de compuesto 32 (20 g) en acetato de etilo (200 mL) se añadió TBHP al 70% en agua (200 mL) la disolución de reacción se enfrió a 0°C, se añadió lentamente hipoclorito sódico al 10% durante aproximadamente 6-7 h a 0-5°C, agitar durante 2-3 h a la misma temperatura. Tras la completa desaparición del compuesto 32 por TLC (eluyente = EtOAc de 20% en hexanos), separar la fase orgánica y la fase acuosa extrajo con acetato de etilo (60 mL). La fase orgánica combinada se lavó con agua (2X 400 mL) seguido por tratamiento con sol de sulfito sódico al 20% (220 mL) a 50-55°C durante 2h, separar dos fases, la fase orgánica se trató con clorocromato de piridinio (10,9 g) durante 6-8 h a 25-30°C. Tras la completa desaparición de alcohol alílico por TLC (eluyente = EtOAc 20% en hexanos), las fases orgánicas se lavaron con agua caliente (4X 500 mL) seguido por disolución de salmuera saturada (100 mL). La fase orgánica se evaporó al vacío a 45-50°C. El material en bruto resultante se purificó agitándolo con metanol acuoso al 20% (40 mL) a 5-10°C durante 1 h filtrada; la torta se lavó con metanol acuoso al 20% (20 mL) y después se secó al vacío a 45-50°C. La fase orgánica se concentró y se absorbió en sílice (1,5 equiv.). De forma separada se preparó una columna de gel de sílice (hexanos) con 7 equiv. de sílice y la mezcla resultante que contenía producto se cargó en la columna. El producto se eluyó entonces con una mezcla en gradiente de hexano/EtOAc para dar fracciones de columna que contenían compuesto 24. Cada fracción se muestreó y se ensayó por la pureza. Todas las fracciones con la pureza deseada se combinaron y se concentraron al vacío. La mezcla resultante se precipitó entonces de los hexanos y después se secó al vacío a 45-50°C, que proporcionó el compuesto 24 (13 g) como un sólido amarillo claro.

25 TLC: Carbonización de *p*-anisaldehído, R_f para el compuesto 24 = 0,28 y R_f para el compuesto 32 = 0,52. Eluyente = EtOAc al 20% en hexanos.

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ = 5,71 (s, 1H), 4,75-4,71 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,42-2,37 (m, 3H), 2,31-2,02 (m, 2H), 2,0 (s, 3H), 1,98-1,67 (m, 9H), 1,56-1,24 (m, 9H), 1,19 (s, 3H), 1,02-1,01 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,90 (s, 3H).

30 ^{13}C RMN (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 [M^+ + 1], 462,0 [M^+ + 18].

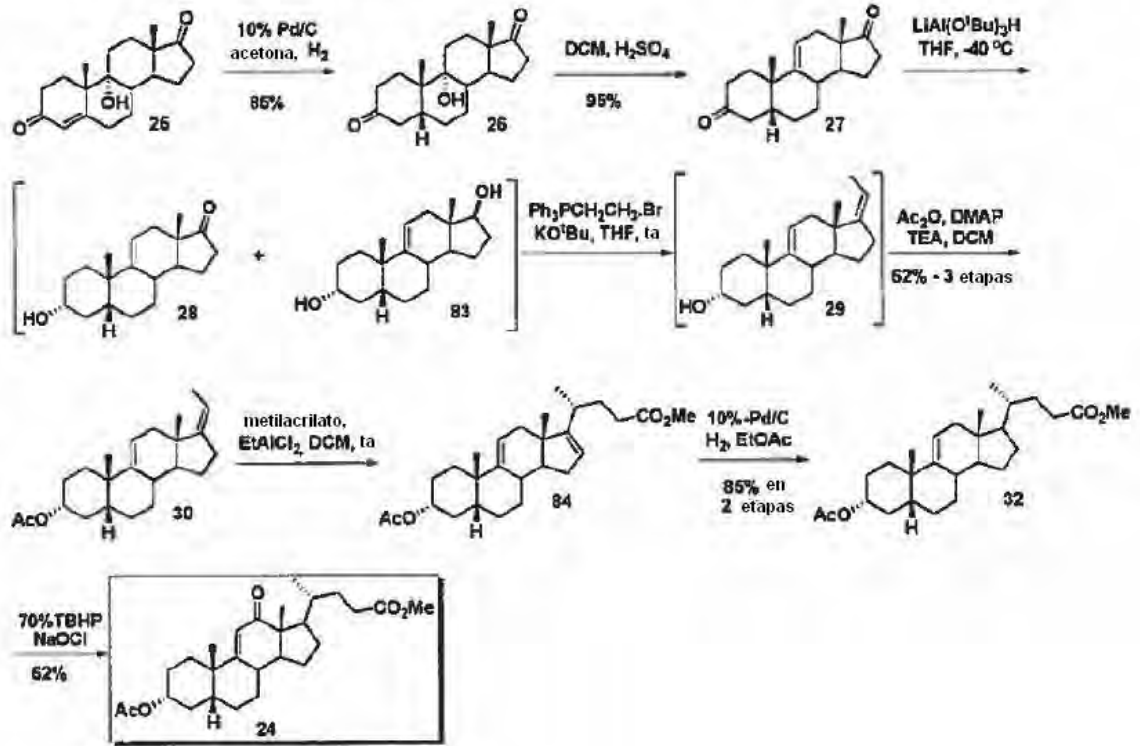
IR = 3437, 3045, 2946, 2870, 1729, 1680, 1252, 1168, 1020 cm^{-1} .

p.f. =141-142°C.

$[\alpha]_D = +102$ (c = 1% en CHCl_3).

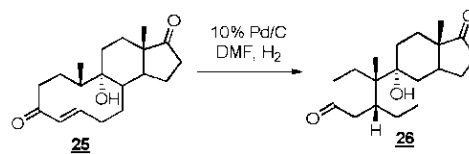
Pureza HPLC/RI: 96,2%.

Esquema 3- La síntesis final a partir de 25

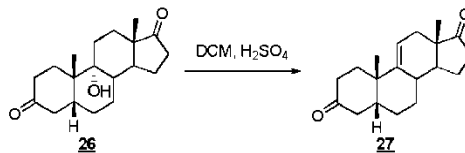


5 Compendio

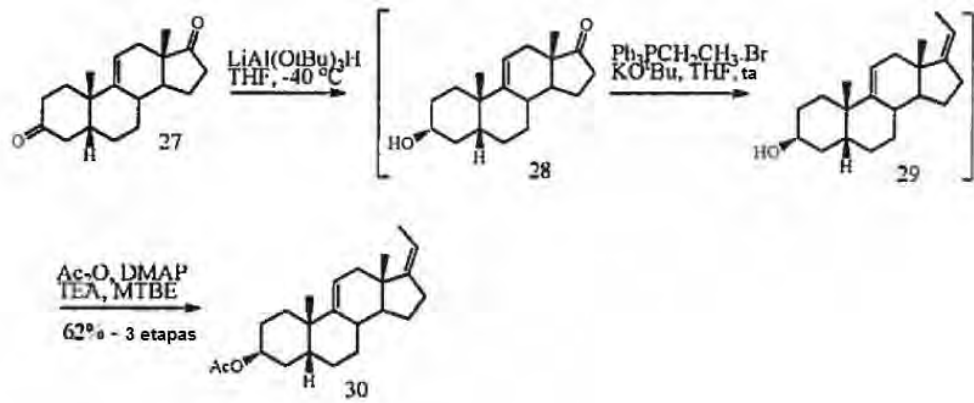
Etapa-I: 9 α -Hidroxi-5 β -androstandio-3,17-diona



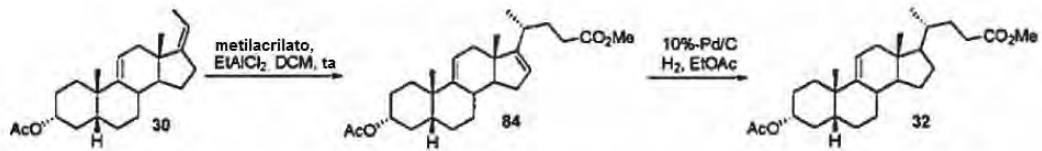
Etapa-II: 5 β -Androst-9(11)-eno 3,17-diona



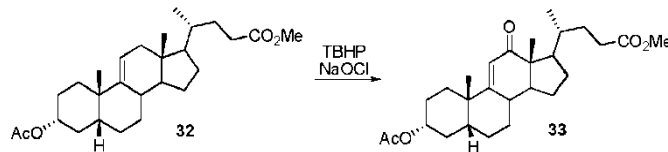
10 Etapa-III: (Z)-3 α -Acetoxi-5 β -pregna-9(11),17(20)-dieno



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

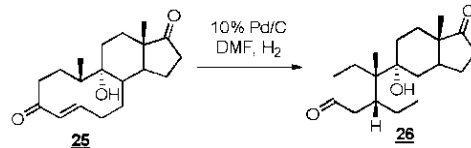


Etapa-V: 3 α -Acetoxi-12-oxo-5 β -col-9(11)-en-24-oato de metilo



5

Etapa-I: 9 α -Hidroxi 5 β -androstano-3,17-diona



Materias primas:

Número de muestra	Materia prima	Cantidad	Unidad	Peso molecular	Mol	Relación Molar
1	9 α -Hidroxiandrostenediona (9-HAD)	100,0	g	302,4	0,330	1,0
2	Pd/C al 10% (húmedo)	8,0	g	-	-	8,0% en peso
3	Acetona	3000	mL	-	-	30,0 V
4	Diclorometano	1200	mL	-	-	12,0 V
5	Celite	20	g	-	-	-

10 Procedimiento experimental:

01. Cargar acetona (2200 mL) en una autoclave limpia y seca.
02. Cargar 9-HAD (100 g) en la misma autoclave.
03. Agitar la mezcla de reacción a 25°C (TA) y añadir lechada de Pd/C (8,0 g) en acetona (200 mL).
04. Después de dejar inerte con nitrógeno, presurizar con gas hidrógeno a 60 psi.

05. Agitar la mezcla de reacción a 25-35°C (TA) y 60 psi durante 4-5 h.
06. Comprobar la terminación por HPLC (EtOAc al 30% en DCM; NMT 0,5% de 25).
07. Diluir la mezcla de reacción con diclorometano (300 mL).
08. Filtrar a través de lecho de Celite® (20 g) y lavar el Celite® con diclorometano (900 mL).
- 5 09. Concentrar el filtrado por medio de destilación al vacío de todo el disolvente a por debajo de 45°C.
- 10 10. Cargar acetona (300 mL) y eliminar completamente el disolvente al vacío por debajo de 65°C.
11. Cargar acetona (200 mL) y enfriar a 0-5°C.
12. Mantener la lechada resultante durante 2 h a 0-5°C, y después filtrar.
13. Lavar la torta húmeda con acetona helada (0-10°C) (100 mL).
14. Secar el sólido blanco resultante en un horno de aire caliente a 45-50°C hasta que la LOD sea NMT 1%.

Peso húmedo: 105 g

Peso seco: 86 g

Rendimiento: 85,4%

LOD < 1,0%

- 15 Intervalo de fusión: 218-219,7°C

SOR: +126,4 (c = 1% en CHCl₃).

Pureza HPLC/RI: 99,0%.

NOTA: Procedimiento alternativo para la hidrogenación.

Materias primas:

Número	Materia prima	Cantidad	Unidad	Peso molecular	Mol	Relación molar
1	9α-Hidroxiandrostenediona (9-HAD)	100,0	g	302	0,331	1,0
2	Pd/C al 10% (seco)	7,0	g	-	-	7,0% en peso
3	<i>N,N</i> -Dimetilformamida	700	mL	-	-	7,0 V
4	Diclorometano	1200	mL	-	-	12,0 V
5	Acetona	600	mL	-	-	6,0 V
6	Celite	20	g	-	-	-

20

Procedimiento experimental:

15. Cargar DMF (500 mL) en una autoclave limpia y seca.
16. Cargar 9-HAD (100 g) en la misma autoclave.
17. Agitar la mezcla de reacción a 25°C (TA) y añadir lechada de Pd/C (7,0 g) en DMF (200 mL).
- 25 18. Después de dejar inerte con nitrógeno, presurizar con gas hidrógeno a 60 psi.
19. Agitar la mezcla de reacción a 25-35°C (TA) y 60 psi durante 3 h.
20. Comprobar la terminación por TLC (EtOAc al 30% en DCM; NMT 2% de 25).
21. Diluir la mezcla de reacción con diclorometano (300 mL).

22. Filtrar a través de lecho de Celite® (20 g) y lavar el Celite® con diclorometano (900 mL).
23. Concentrar el filtrado por medio de destilación al vacío de todo el disolvente a por debajo de 65°C.
24. Cargar acetona (300 mL) y eliminar completamente el disolvente al vacío por debajo de 65°C.
25. Cargar acetona (200 mL) y enfriar a 0-5°C.
- 5 26. Mantener la lechada resultante durante 2 h a 0-5°C, y después filtrar.
27. Lavar la torta húmeda con acetona helada (0-10°C) (100 mL).
28. Secar el sólido blanco resultante en un horno de aire caliente a 45-50°C hasta que la LOD sea NMT 1%.

Peso húmedo: 105 g

Peso seco: 88 g

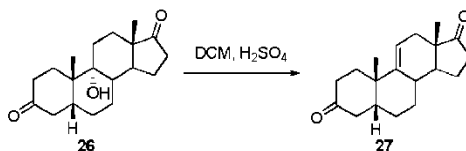
10 Rendimiento: 87,4%

LOD < 1,0%

Intervalo de fusión: 218-219,7°C

SOR: +126,4 (c = 1% en CHCl₃)

Etapa-II: 5β-Androst-9(11)-eno-3,17-diona



15

Materias primas:

Número de muestra	Materia prima	Cantidad	Unidad	Peso Molecular	Mol	Relación Molar
1	Producto de Etapa - I	85,0	g	304	0,279	1,0
2	Ácido sulfúrico	13,5	mL	98	0,251	0,9
3	Diclorometano	1530	mL	-	-	18,0 V
4	Hexanos	340	mL	-	-	4 V
5	Agua	1700	mL	-	-	20,0 V
6	Bicarbonato sódico	425	mL	-	-	5,0 V
7	Disolución de salmuera saturada	425	mL	-	-	5,0 V

Procedimiento experimental:

01. Cargar diclorometano (1275 mL) y el producto de la Etapa-I en un matraz limpio y seco.
- 20 02. Enfriar la mezcla a 10°C y después añadir ácido sulfúrico (13,5 mL) lentamente durante 15 min a 10-15°C.
03. Elevar la temperatura de la disolución de reacción a 25-35°C y agitar durante 2 h a 25-35°C.
04. Comprobar la terminación por TLC (EtOAc al 30% en DCM; NMT 1% del producto de la Etapa-I).
05. Lavar la mezcla de reacción con agua (300 mL).
06. Volver a extraer la fase acuosa con DCM (2 X 212 mL), y después combinar las fases orgánicas.

07. Lavar la fase orgánica con disolución saturada de bicarbonato sódico (425 mL) 08. Lavar la fase orgánica con agua (550 mL) seguido por disolución de salmuera (425 mL).

07. Destilar el disolvente completamente al vacío a menos de 45°C.

08. Añadir hexanos (340 mL) y destilar el disolvente completamente al vacío a menos de 50°C.

5 09. Añadir agua (616 mL), agitar durante 15 min a TA, después filtrar y lavar la torta con agua (255 mL).

10. Secar el sólido blanco en un secador de aire caliente a 55-60°C hasta que el contenido en humedad sea NMT 0,5%.

Peso húmedo: ~190 g.

Peso seco: 76 g

10 Rendimiento: 95%

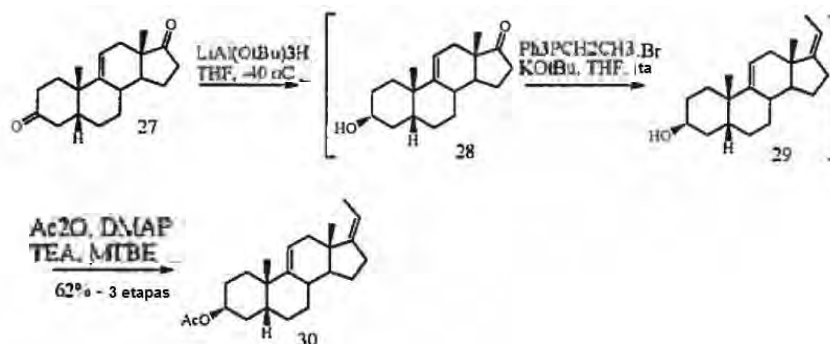
Humedad < 0,5%

Intervalo de fusión: 148,5 - 150,1°C

SOR: +144,4 (c = 1% en CHCl₃).

Pureza HPLC/RI: 96,0%.

15 Etapa-III: (Z)-3α-Acetoxi-5β-preg-9(11),17(20)-dieno (compuesto 30)



Materias primas:

Número de muestra	Materia prima	Cantidad	Unidad	Peso Molecular	Mol	Relación Molar
1	compuesto 27	76	g	286,2	0,265	1,0
2	Hidruro de litio y tri- <i>tert</i> -butoxialuminio	319	mL	254,2	0,489	1,2
3	THF	760	mL	-	-	10 V
4	Diclorometano	380	mL	-	-	6 V
5	Agua	456	mL	-	-	6,0 V
6	HCl 2N	456	mL	-	-	6,0 V
7	Disolución de salmuera	380	mL	-	-	5,0 V
8	THF	532	mL	-	-	8,0 V
9	<i>tert</i> -butóxido de potasio (1,0 M en THF)	768	mL	-	0,797	2,9
10	Bromuro de etiltrifenilfosfonio	295,4	g	371,26	0,795	3,0

ES 2 575 559 T3

11	MTBE	2280	mL	-	-	30 V
12	Agua	760	mL	-	-	10 V
13	Disolución de salmuera	380	mL	-	-	5 V
14	Anhídrido acético	37,6	mL	102	0,398	1,5
15	MTBE	216	mL	-	-	5 V
16	trietilamina	73,9	mL	101	0,530	2,0
17	4-(<i>N,N</i> -Dimetil-amino)piridina (DMAP)	3,23	g	122	0,026	0,1
18	Agua	796	mL	-	-	10 V
19	Disolución de salmuera	380	mL	-	-	5 V
20	Metanol	380	mL	-	-	5 V
21	Metanol acuoso al 2%	380	mL	-	-	5 V

Procedimiento experimental:

01. Cargar THF seco (760 mL) y producto de la Etapa-II (76 g) en nitrógeno en un matraz limpio y seco.
02. Enfriar a -35 a -45°C y después añadir una disolución de hidruro de litio y tri-*terc*-butoxialuminio a - 35
- 5 a -45°C durante 1 h.
03. Agitar la mezcla de reacción durante 2-3 h a -35 a -45°C.
04. Monitorizar la reacción por HPLC (EtOAc al 30% en DCM; NMT 3% del producto de la Etapa-II).
05. Añadir disolución de HCl 2N (474 mL) a la mezcla de reacción, manteniendo la temperatura a <0°C.
06. Separar las fases y volver a extraer la fase acuosa dos veces con diclorometano (2 X 380 mL)
- 10 07. Lavar las fases orgánicas combinadas con agua (380 mL) y después con disolución de salmuera (380 mL).
08. Eliminar completamente los disolventes por destilación atmosférica a menos de 60°C.
09. Comprobar el residuo para el contenido de agua. Si es ≥0,5%, añadir DCM (156 mL) y destilar de forma atmosférica de nuevo a menos de 60°C.
10. Disolver el residuo en THF seco (380 mL), y mantener la disolución en una atmósfera de nitrógeno.
- 15 Este es el producto de la Etapa IIIA.
11. Cargar bromuro de etiltrifenilfosfonio (295 g) y THF seco (250 mL) en un matraz limpio y seco en nitrógeno.
12. Añadir una disolución de *terc*-butóxido de potasio (1M en THF, 769 mL) durante 10 min y después agitar la disolución de color rojo resultante durante 1 h a 25-35°C.
- 20 13. Añadir la disolución de THF de la etapa 10 durante ½ h y después agitar durante unas 3 horas adicionales a 25-35°C.
14. Comprobar la terminación por TLC (EtOAc al 30% en DCM; NMT 1% del producto de la Etapa-III).
15. Añadir agua helada (780 mL) a la mezcla de reacción a 25-35°C (exotérmica por 5-8°C).
16. Separar las fases y volver a extraer la fase acuosa con MTBE (2 X 380 mL).
17. Combinar las fases orgánicas y lavar con agua (380 mL) y después salmuera (380 mL).
- 25 18. Destilar los disolventes completamente al vacío y por debajo de 50°C.
19. Añadir MTBE (264 mL) y destilar completamente al vacío a por debajo de 50°C.

20. Añadir MTBE (380 mL) de nuevo y agitar durante 2 h a 25-35°C.
21. Filtrar las sales indeseadas, lavarlas con MTBE (380 mL) y combinar los filtrados.
22. Destilar los disolventes completamente al vacío y por debajo de 50°C.
23. Añadir MTBE fresco (380 mL) y destilarlo después completamente al vacío.
- 5 24. Añadir MTBE (380 mL) de nuevo y agitar durante 2 h a 25-35°C.
25. Filtrar las sales indeseadas, lavarlas con MTBE (380 mL) y combinar los filtrados destilados al vacío hasta el 20%, añadir MTBE fresco (180 mL).
26. Cargar el filtrado (760 mL) de producto de la Etapa-IIIB en un matraz limpio y seco.
27. Cargar DMAP (3,2 g).
- 10 28. Añadir trietilamina (73,8 mL).
29. Añadir anhídrido acético (37,58 mL) lentamente a 25-35°C durante 15 min.
30. Agitar la mezcla de reacción durante 2-3 h a 25-35°C.
31. Comprobar la terminación por TLC (EtOAc al 10% en hexano; NMT 1% del producto de la Etapa-IIIB).
32. Lavar la mezcla de reacción con agua (760 mL) y después extraer la fase acuosa con MTBE (380 mL) lavar la fase orgánica combinada con disolución de salmuera saturada (380 mL).
- 15 33. Concentrar la fase orgánica por destilación completamente atmosférica por debajo de 50°C.
34. Cargar metanol (152 mL) y eliminar completamente el disolvente al vacío a por debajo de 50°C.
35. Cargar metanol acuoso al 2% (304 mL) y calentar a 60-65°C.
- 20 36. Mantener la disolución clara resultante durante 1 h a 60-65°C, después enfriar lentamente a 15-20°C mantener durante 2 h a la misma temperatura y después filtrar.
37. Lavar la torta húmeda con metanol acuoso al 2% helado (10-15°C) (76 mL).
38. Secar el sólido blanco resultante en un horno de aire caliente a 45-50°C hasta que la LOD sea NMT 1%.

Peso húmedo: -70 g.

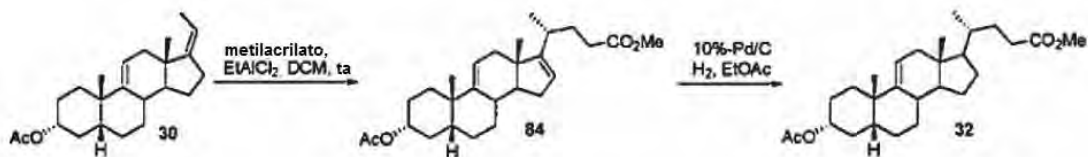
Peso seco: 55 g

25 Rendimiento: 63%

Humedad < 0,5%

Pureza HPLC/RI: 95,0%.

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



30 Materias primas:

Número de muestra	Materia prima	Cantidad	Unidad	Peso molecular	Mol	Relación molar
1	Producto de la Etapa-III	102	g	342	0,298	1,0
2	Acrilato de metilo	61,0	mL	86	0,67	2,38

ES 2 575 559 T3

3	Dicloruro de etilaluminio (1,8 M en tolueno)	496	mL	126,98	0,893	3,0
4	Diclorometano	1500	mL	-	-	15 V
5	Sol de bicarbonato saturado	1000	mL	-	-	10 V
6	Acetato de etilo	1800	mL	-	-	18 V
7	Gel de sílice (núm. 60-120)	300	g	-	-	3,0
8	Hexano	1000	mL	-	-	10,0 V
9	Acetato de etilo al 10% en hexano	3000		-	-	30 V
10	Pd/carbono al 10% (50% en agua de humedad)	12	g	-	-	12% en peso
11	Metanol	600	mL	-	-	6,0 V
12	Metanol acuoso al 3%	400	mL	-	-	4,0 V
13	Agua	3000	mL	-	-	30 V
14	Disolución de salmuera saturada	1000	mL	-	-	10,0 V
15	Celite	30	g	-	-	-

Procedimiento experimental:

01. Cargar diclorometano (1000 mL) y producto de la etapa-III (102 g) enfriar la masa de reacción a 0°C.
02. Añadir acrilato de metilo (61 mL) durante ½ h a 0-5°C.
- 5 03. Agitar durante 1 h a 0-5°C y después añadir una disolución de dicloruro de etilaluminio (1,8 M, en tolueno, 496 mL) durante 1 h a 0-5°C. (Precaución: Este reactivo reacciona violentamente con agua).
04. Agitar durante ½ h a 0-5°C y elevar la temperatura a 25-35°C y agitar durante 16 h.
05. Comprobar la terminación por TLC (EtOAc al 10% en hexano; NMT 5% del producto de la Etapa-III).
06. Verter la masa de reacción lentamente en 10-15 min en agua helada (2000 mL) y separar las fases.
- 10 07. Extraer la fase acuosa con DCM (500 mL).
08. Combinar las fases orgánicas y lavar con agua (1000 mL) seguido por disolución saturada de bicarbonato (1000 mL) y después disolución de salmuera (1000 mL).
09. Concentrar la fase orgánica hasta sequedad al vacío por debajo de 50°C. Este es el Producto de la Etapa IVA.
- 15 10. El residuo disuelto en hexano (1000 mL) pasó a través de un embudo buchner con lecho de sílice, lavar el lecho con acetato de etilo al 10% en hexano (3000 mL).
11. Recoger el filtrado total hasta sequedad al vacío por debajo de 50°C. Este es el Producto de la Etapa IVA.
12. Después de descargar el matraz, enjuagar con metanol al 40% en acetato de etilo (800 mL) y guardar este enjuague para la siguiente etapa.
- 20 13. Cargar el Producto de la Etapa IVA en metanol al 40% en enjuague de acetato de etilo (200 mL) de lo anterior en una autoclave seca.
14. Cargar la lechada de paladio en carbono al 10% (12 g en 200 mL de acetato de etilo).
15. Presurizar con hidrógeno (70 psi) y agitar la mezcla durante 16 h a 25-35°C.
16. Comprobar la terminación por HPLC (NMT 1% de Producto de la Etapa IVA).
17. Filtrar la mezcla de reacción a través de Celite® (30 g) y lavar la torta con acetato de etilo (1000 mL).

18. Concentrar el filtrado hasta sequedad por medio de destilación al vacío por debajo de 60°C.

19. Añadir metanol (200 mL) y concentrar hasta sequedad por medio de destilación al vacío por debajo de 60°C.

20. Añadir metanol acuoso al 3% (300 mL), agitar durante 15 min a 0-5°C, filtrar y lavar la torta con metanol acuoso al 3% (100 mL).

5 21. Secar el sólido blanco en un secador de aire caliente a 50-55°C hasta que el contenido en humedad sea NMT 0,5%.

Peso húmedo: ~80 g

Peso seco: 60 g

Rendimiento: 85%

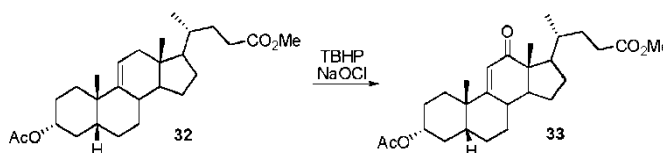
10 Humedad < 0,5%

Intervalo de fusión: 131,7 - 133,1°C

SOR: + 57,4 (c = 1% en CHCl₃).

Pureza HPLC/RI: 93,0%.

Etapa-V: 3 α -Acetoxi-12-oxo-5 β -cola-9(11)-en-24-oato de metilo



15

Materias primas:

Número de muestra	Materia prima	Cantidad	Unidad	Peso molecular	Mol	Relación molar
1	Producto de la Etapa-IV	60	g	430	0,139	1,0
2	TBHP al 70% en agua	610	mL	99,99	5,06	34,0
3	Hipoclorito sódico al 10%	660	mL	74,5	1,036	7,0
4	Clorocromato de piridinio	32,8	g	215	0,1636	1,1
5	Acetato de etilo	900	mL	-	-	15 V
6	metanol acuoso al 20% lote 1 y 2	210	mL	-	-	3,5 V
7	Sulfito sódico al 20%	600	mL	-	-	10 V
8	Lote 1 de metanol	240	mL	-	-	4,0 V
9	Agua	6000	mL	-	-	100 V
10	Disolución de salmuera saturada	300	mL	-	-	5,0 V
11	Lote 2 de metanol	383	mL	-	-	6,4 V
12	Agua	57	mL	-	-	0,95 V
13	Metanol acuoso al 13%	40	mL	-	-	0,66 V

Procedimiento experimental:

01. Cargar acetato de etilo (600 mL) y el producto de la Etapa-IV (60 g) en un matraz limpio y seco.

ES 2 575 559 T3

02. Agitar durante 10 min a 25-35°C.
 03. Añadir TBHP al 70% en agua (610 mL) a 25-35°C y después enfriar a 0-5°C.
 04. Añadir hipoclorito sódico al 10% (660 mL) durante 7 h a 0-5°C.
 05. Agitar la mezcla de reacción durante 3 h a 0-5°C.
 - 5 06. Comprobar la terminación por HPLC-RI (EtOAc al 20% en hexano; NMT 1% del producto de la Etapa IV).
 07. Separar la fase orgánica, extraer la fase acuosa con acetato de etilo (300 mL).
 08. Lavar la fase orgánica combinada con agua (2X600 mL).
 09. Cargar la fase de acetato de etilo y sulfito sódico acuoso al 20% (600 mL) mantener durante 2h a 55°C.
 10. Separar la fase orgánica lavar con agua (2 X 600 mL).
 - 10 11. Cargar la fase orgánica en un matraz R.B. cargar PCC (32,8 g) a 25-30°C.
 12. Agitar la mezcla de reacción durante 6-8 h a 25-30°C.
 13. Comprobar la terminación por HPLC-RI (EtOAc al 20% en hexano; NMT 2% de alcohol alílico).
 14. Cargar agua DM (1200 mL) y agitar durante 15 min, separar la fase orgánica.
 15. Lavar la fase orgánica con agua DM (3 x 600 mL) y disolución de salmuera (300 mL).
 - 15 16. Eliminar completamente el disolvente por destilación al vacío por debajo de 50°C.
 17. Añadir metanol (240 mL) y eliminar completamente el disolvente por medio de destilación al vacío por debajo de 50°C.
 18. Añadir metanol acuoso al 20% (180 mL) y después enfriar a 0-5°C.
 19. Agitar durante 2 h a 0-5°C, filtrar y lavar la torta con metanol acuoso al 20% helado (0-5°C) (30 mL).
 - 20 20. Secar el sólido en un secador de aire caliente a 50-55°C durante 8h, peso en bruto de ~ 38 g.
 21. Cargar los 38 g en bruto del material de la etapa-V en un RBF nuevo y seco.
 22. Cargar metanol 383 mL.
 23. Poner a reflujo la masa de reacción para obtener la disolución limpia.
 24. Añadir agua DFM en gotas 57 mL a reflujo y continuar el reflujo durante 30 min (precipitación de sólidos observada).
 - 25 25. Enfriar la masa de reacción lentamente a 20-25°C, después a 10-15°C y agitar durante 1 h.
 26. Filtrar, secar por succión y lavar con metanol acuoso al 13% (40 mL).
 27. Secar el compuesto en horno de aire caliente a 60-65°C hasta LOD: < 0,5%.
- Peso húmedo: 38 g.
- 30 30. Peso seco: 32 g.
- Rendimiento: 51,6%.
- Intervalo de fusión: 142 - 143,1°C.
- SOR: + 102,4 (c = 1% en Acetona).
- Pureza HPLC/RI: 94,0%.
- 35 05. Lista de materias primas y disolventes

La siguiente lista de materias primas y disolventes se basa en los detalles del procedimiento descrito anteriormente.

Número	Materias primas
01	9 α -Hidroxiandrostenediona (material de partida clave)
02	Pd/C al 10%
03	Ácido sulfúrico
04	Hidruro de litio y tri- <i>terc</i> -butoxialuminio
05	<i>Terc</i> -butóxido de potasio
06	Bromuro de etiltrifenilfosfonio
07	Anhídrido acético
08	trietilamina
09	4-(Dimetilamino)piridina
10	Acrilato de metilo
11	Dicloruro de etilaluminio
12	Hidroperóxido de <i>terc</i> -butilo al 70%
13	Hipoclorito sódico al 10%
14	hidróxido sódico
15	Clorocromato de piridinio
Número	Disolventes
01	Acetona
02	Diclorometano
03	Metanol
04	Metiltercbutiléter
05	Acetato de etilo
06	Tetrahidrofurano
07	Hexano

06. Parámetros críticos

Durante la modificación del procedimiento, las siguientes etapas se identifican como parámetros críticos, lo que puede mostrar afectación significativa en la calidad o rendimiento.

5 Etapa III

Operación: Adición de disolución de hidruro de litio y tri-*terc*-butoxialuminio en una atmósfera de nitrógeno al compuesto a - 40 a - 45°C.

Explicación:

10 El control de la estequiometría del agente reductor, hidruro de litio y tri-*terc*-butoxialuminio, es crítico para un resultado favorable en esta etapa. Si se usa demasiado poco agente reductor, la reacción estará incompleta. Si se usa demasiado, se formará más del sub-producto, compuesto 83.

El control de la estequiometría se vuelve más exigente ya que el agente reductor es sensible a la humedad. Por lo tanto, es importante usar disolventes anhidros y que la reacción se lleve a cabo en una atmósfera de nitrógeno. Si se deja que la humedad contamine la reacción, algo del hidruro de litio y tri-*tert*-butoxialuminio se apagará.

5 Operación: Adición de disolución de *tert*-butóxido de potasio en una atmósfera de nitrógeno al compuesto a 25 a 35°C.

Explicación:

10 Se necesita una base fuerte para esta reacción. El *tert*-butóxido de potasio es una base suficientemente fuerte y funciona bien. Si está expuesta al agua, la base se apaga y en vez de eso se forma hidróxido de potasio, que no es una base suficientemente fuerte para provocar la reacción deseada. Por esta razón, es importante usar disolventes anhidros y llevar a cabo esta reacción en una atmósfera de nitrógeno.

Etapa IV

Operación:

Adición de disolución de dicloruro de etilaluminio en atmósfera de nitrógeno a 0 a 5°C.

Explicación:

15 El dicloruro de etilaluminio es un catalizador bueno únicamente para esta reacción. Se han probado otros catalizadores menos caros, pero la reacción no funciona bien con estos. El agua reaccionará con el dicloruro de etilaluminio y destruye su capacidad para catalizar esta reacción. Por esta razón, es importante usar disolventes anhidros y una atmósfera de nitrógeno para esta reacción. Si la reacción se expone a incluso pequeñas cantidades de agua, no funciona.

20 Etapa V

Operación:

La adición de hipoclorito sódico se necesitaría durante 6-7 h, la temperatura debe controlarse a por debajo de 5°C.

Justificación:

25 Las temperaturas por encima de 5°C dan resultados más pobres en esta reacción, y es posible que la temperatura escale por encima de este límite durante la adición de hipoclorito sódico.

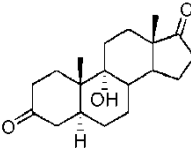
Por lo tanto, es importante añadir el hipoclorito sódico a una velocidad que sea lo suficientemente lenta para que permita aún un buen control de temperatura y tiempo. Puede probarse que esto es un problema incluso mayor a gran escala.

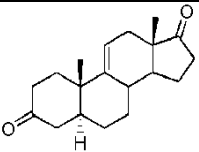
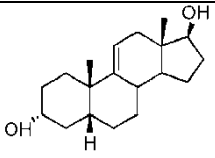
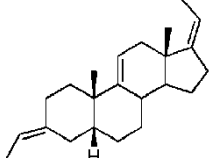
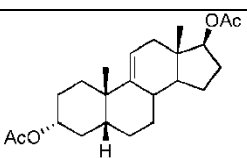
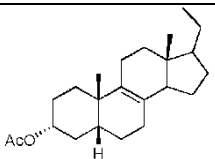
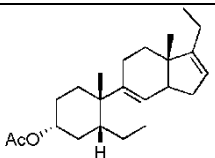
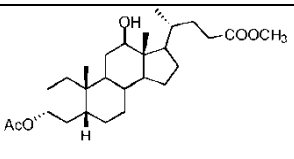
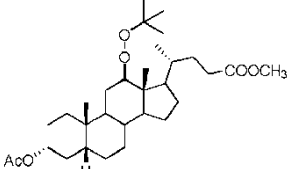
07. Procedimiento de limpieza

30 Se ha llevado a cabo un estudio en intermedios de ácido desoxicólico par establecer el procedimiento de limpieza. Se concluye que, los intermedios de ácido desoxicólico son solubles libremente en diclorometano seguido por agua y metanol.

08. Impurezas en intermedios de DCA:

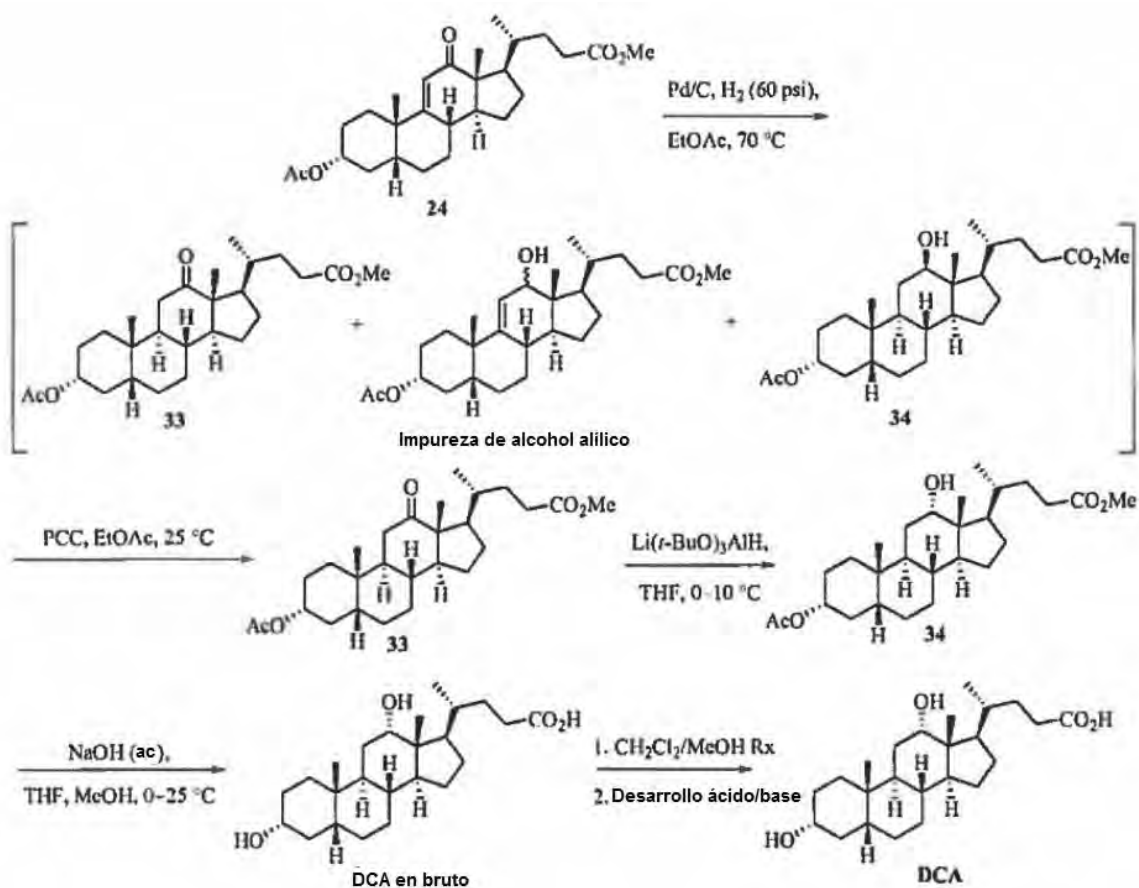
35 Durante el curso del desarrollo del procedimiento, se aislaron e identificaron un número de impurezas, o en algunos casos se sintetizaron independientemente presuntas impurezas. Una lista de dichos compuestos junto con los datos que están disponibles para cada compuesto se da en la tabla posterior.

Número de etapa	Nombre común de la impureza	Estructura de la impureza	Datos disponibles
I	5 α -compuesto-26		1H RMN, Masa, HPLC-RI, MR, SOR

II	5 α -compuesto-27		1H RMN, Masa, HPLC-RI
III	compuesto-83		1H RMN, Masa, HPLC-RI
III	Compuesto di-Wittig		1HRMN, Masa, HPLC-RI
III	Compuesto de di-acetilo		1HRMN, HPLC-RI
IV	8,9-eno 17-etil compuesto		1HRMN, Masa, HPLC-RI
IV	8,9-Eno		1HRMN, Masa, HPLC-RI
V	Alcohol alílico		1HRMN, Masa, HPLC-RI
V	12- <i>terc</i> -butilperoxicompuesto		1HRMN, Masa, HPLC-RI

Ejemplo 12

5 Un procedimiento de fabricación para la síntesis de ácido desoxicólico a partir del compuesto 24 como se muestra en el Esquema 2 se ha adaptado para la producción a gran escala. El procedimiento de fabricación es seguro, económico, respetuoso con el medioambiente y produce producto final de alta calidad que encuentra especificaciones de forma consistente.



Preparación de compuesto 33

La formación de compuesto 33 se llevó a cabo a escala de 40 gramos. A 10,0 g (25% en peso) de paladio en carbono (Pd/C) al 10% seco se añadió compuesto 24 (40,0 g, 90,0 mmoles, 98,2% de AUC por HPLC) seguido por 600 mL de acetato de etilo (EtOAc). La mezcla de reacción se presurizó a 60 psi de hidrógeno (H₂) y se dejó reaccionar a 70 °C. El análisis de HPLC después de 13 horas indicó <1% de AUC por HPLC de compuesto 24 restante, <1% de AUC del alcohol alílico se había formado y 14,5% de AUC del diastereómero del compuesto 24 34 se había formado. La reacción se consideró completa, se enfrió a 30-35 °C y se filtró sobre Celite. La torta de Celite se lavó con EtOAc (400 mL) y el filtrado resultante se concentró a ~25 volúmenes y se siguió adelante sin manipulación adicional.

La oxidación de PCC se realizó usando la muestra del compuesto 33 en EtOAc (25 vol) de antes. A una muestra de compuesto 33 (90,0 mmoles) en EtOAc (25 vol) se añadió PCC (19,4 g, 1,0 equiv, Aldrich lote núm. S37874-058). La mezcla de reacción se mantuvo a 20-25 °C durante 25 horas. El análisis de HPLC indicó 1,1% de AUC del diastereómero del compuesto 34. La mezcla de reacción se consideró completa, se diluyó con agua DI (400 mL) y se filtró sobre Celite. La torta de filtro se lavó con EtOAc (2 x 200 mL). El filtrado resultante se lavó con agua DI (2 x 400 mL) y se trató con DARCO KB-G (8,0 g). La mezcla se calentó a 45-50 °C durante 4 horas y después se enfrió a 20-25 °C. La lechada se filtró sobre Celite y la torta de filtro se lavó con EtOAc (2 x 200 mL). El filtrado de EtOAc se concentró a ~5 volúmenes y se hizo azeótropo con MeOH (2 x 600 L) llevado de nuevo a ~5 volúmenes. La lechada resultante se ensayó por ¹H RMN para indicar 6,4% en moles de EtOAc restante. La lechada se diluyó con agua DI (320 mL) y se mantuvo a 20-25 °C durante 1 hora. La lechada se filtró, se lavó con agua DI (2 x 200 mL) y se secó al vacío a 35-45 °C para dar 27,4 g (68%) de compuesto 33 (97,9% de AUC por HPLC que contenía 0,8% de AUC del diastereómero del compuesto 34). El análisis de KF indicó 0,02% en peso de agua. El rendimiento menor que el esperado se atribuyó lo más preferiblemente al elevado nivel de EtOAc presente durante la precipitación.

Preparación de compuesto 34

Una porción de 10 gramos de la muestra anterior del compuesto 33 se llevó hacia adelante para la formación del compuesto 34 implementando las siguientes condiciones de aislamiento. A una disolución de compuesto 33 (10,0 g, 22,4 mmoles) en 60 mL de tetrahidrofurano (THF) a 4-6 °C se añadieron 33,6 mL (1,5 equiv, Aldrich lote núm. 00419TH) de hidruro de litio y tri-*tert*-butoxialuminio 1 M (Li(*t*-BuO)₃AlH) en THF manteniendo la temperatura por debajo de 6 °C. El análisis de HPLC después de 18 horas indicó <1% de AUC del compuesto 33 restante y se había

- formado 5,5% de AUC del diastereómero del compuesto 34. La reacción se consideró completa y se apagó con HCl 4 M (150 mL) manteniendo la temperatura por debajo de 20°C. La mezcla de reacción se extrajo con heptano (2 x 100 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con HCl 1 M (100 mL) y agua DI (2 x 100 mL). La disolución clara se destiló hasta ~10 volúmenes y se hizo azeótropa con heptano (2 x 100 mL) hasta ~10 volúmenes. Se observó alguna incrustación y la muestra se diluyó con heptano (100 mL) y MTBE (2,5 mL). La muestra se calentó entonces hasta disolución a 70-75°C y se dejó enfriar de forma gradual hasta -52°C durante un periodo de 1 hora cuando los sólidos precipitaron. La lechada fina se dejó a 52°C durante 1 hora, a 48°C durante 1 hora y a 42°C durante 1 hora antes de apagar el calor y la lechada se dejó enfriar lentamente a 20-25°C toda la noche. La lechada se filtró, se lavó con heptano (2 x 25 mL) y se secó al vacío a 35-45°C para proporcionar 6,8 g (68%) de compuesto 34 (96,0% de AUC que contenía 2,8% de AUC del diastereómero del compuesto 34) como sólidos blancos. Se observó algo de incrustación en el matraz después de la filtración. Los sólidos se disolvieron en CH₂Cl₂ y se concentraron para dar 1,3 g (13%) de compuesto 34 (96,5% de AUC que contenía 1,9% de AUC del diastereómero del compuesto 34). Las aguas madres y los lavados se concentraron para proporcionar 1,6 g (16%) de compuesto 34.
- Debido al rendimiento menor del esperado procedente de la precipitación, se repitió el procedimiento usando heptano al 100% en vez de MTBE al 1,25% /heptano. Una muestra de compuesto 34 (10 g, 22,4 mmoles, 93,4% de AUC por HPLC) se diluyó con heptano (200 mL) y se calentó hasta disolución a 80-85°C. La disolución se dejó enfriar lentamente a -65°C durante un periodo de 1 hora cuando los sólidos precipitaron. La lechada fina se dejó a 65°C durante 1 hora y se enfriaron en incrementos de 5°C hasta 30°C durante un periodo de 2 horas. La lechada se filtró a 30°C, se lavó con heptano (2 x 25 mL) y se secó al vacío a 35-45°C para dar 7,5 g (75% de recuperación) de compuesto 34 (95,7% de AUC que contenía 0,1% de AUC del diastereómero del compuesto 34) como sólidos blancos. Se observó algo de incrustación en el matraz después de la filtración. El análisis de HPLC está en curso para el enjuague del reactor y las aguas madres.

Preparación de DCA en bruto

- Una muestra de DCA en bruto acuoso (340 mL) se lavó con 2-MeTHF (2 x 340 mL). La fase acuosa se ensayó por HPLC para indicar 0,1% de AUC de la impureza desconocida con RRT = 1,12. La fase acuosa se diluyó con 2-MeTHF (340 mL) y se ajustó a pH = 1,7-2,0 usando HCl 4M (60 mL). Las fases se separaron y la fase de 2-MeTHF se lavó con agua DI (2 x 400 mL). La fase de 2-MeTHF se concentró a ~5 volúmenes y se hizo azeótropo hasta ~5 volúmenes con heptano (3 x 320 mL). La lechada de 5 volúmenes se ensayó por ¹H RMN para indicar 2,0% en moles de 2-MeTHF restante respecto al heptano. La lechada se diluyó con heptano (320 L) y se dejó a 20-25°C durante 1 hora. La lechada se filtró, se lavó con heptano (2 x 150 mL) y se secó al vacío a 35-45°C para dar 24,2 g (96%) de DCA en bruto (95,7% de AUC que contenía 0,4% de AUC del diastereómero de DCA en bruto, 1,8% de AUC de la impureza desconocida con RRT = 0,5 y 0,04% de AUC de la impureza desconocida con RRT = 1,12).

Preparación de DCA

- Una serie de purificaciones de lechada de DCA en bruto se intentaron en 2,0 g para evaluar la pureza y la recuperación. Las muestras de DCA en bruto (2,0 g, 5,1 mmoles) se diluyeron con 25 volúmenes de MeOH/ CH₂Cl₂ (Véase la Tabla 1) y las lechadas resultantes se dejaron a temperaturas específicas (Véase la Tabla 1) durante 1 hora. Las lechadas se dejaron enfriar a temperaturas específicas (Véase la Tabla 1) y se filtraron. Las tortas de filtro se lavaron con CH₂Cl₂ (2 x 3 vol) y se secaron al vacío a 35-40°C toda la noche para dar DCA (Véase la Tabla 1). Los resultados se resumen en la Tabla 1 posterior.

Tabla 1: Resultados para DCA

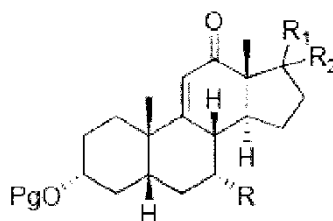
Entrada	% en moles de MeOH respecto a CH ₂ Cl ₂	Temp. de la lechada (°C)	Temp. de filtración (°C)	Resultados de DCA				
				Cantidad, recuperación	Resultados de HPLC (% de AUC)			
					DCA	Diast. de DCA	Impurezas (RRT)	
							0,5	1,12
1	2	35-37	28-30	1,3 g, 65%	99,00	ND	0,87	ND
2	1	35-37	28-30	1,7 g, 85%	98,95	ND	0,92	ND
3	1	20-25	20-25	1,7 g, 85%	99,15	ND	0,74	ND
4	0,5	20-25	20-25	1,8 g, 90%	98,92	ND	0,86	ND

ES 2 575 559 T3

5	0	20-25	20-25	1,7 g, 85%	99,02	ND	0,70	ND
<p>Los resultados de las entradas 1-3 indicaron que realizar la purificación de la lechada a 20-25°C con 1% en moles de MeOH proporcionó mejor recuperación y resultados comparables a realizar la lechada a 35-37°C con 2% en moles de MeOH. Las muestras de DCA se analizaron por ¹H RMN para indicar que <1% en peso de CH₂Cl₂ estaba presente después del secado.</p>								

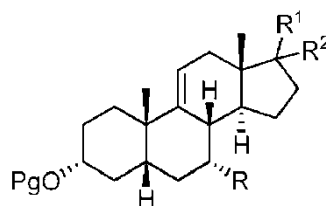
REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para preparar un 12-ceto compuesto 3:



3

a partir de correspondiente Δ -9,11-eno compuesto 4:

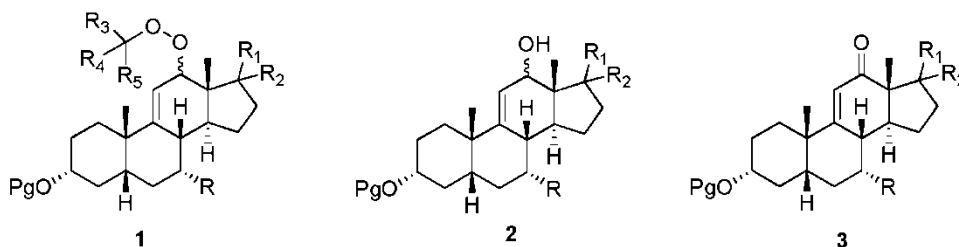


4

donde Pg es un grupo protector de hidroxilo, R es hidrógeno, hidroxilo o -OPg, R¹ es la cadena lateral 17 de un ácido biliar, cuyo ácido biliar se selecciona del grupo que consiste en ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido taurocólico y ácido glicocólico, en donde la funcionalidad carboxilo de dicha cadena lateral está opcionalmente esterificada con un grupo alquilo C₁-C₆, y R² es hidrógeno, o R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo ceto o un grupo protector de ceto;

dicho procedimiento comprende:

efectuar la oxidación alílica en la posición 12 del compuesto 4 por reacción con un alquilhidroperóxido de la fórmula (R³)(R⁴)(R⁵)C-O-OH en presencia de un co-oxidante, en donde cada uno de R³, R⁴ y R⁵ es independientemente alquilo C₁-C₃, en donde el co-oxidante se selecciona del grupo que consiste en hipoclorito sódico acuoso, paladio en carbono, Pd(OCOCF₃)₂, Pd(OAc)₂ y CuI, para proporcionar primero una mezcla de compuestos 1, 2 y 3:

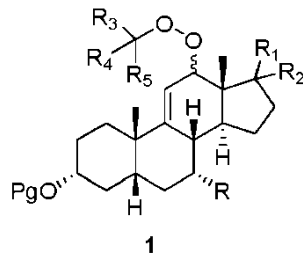


y opcionalmente en donde el compuesto 2 se oxida adicionalmente para proporcionar el Δ -9,11-eno-12-ona compuesto 3.

2. El procedimiento según la reivindicación 1 en donde la oxidación alílica se efectúa por más de un equivalente de hidroperóxido de *tert*-butilo y el co-oxidante es CuI.

3. El procedimiento según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde R es hidrógeno.

4. Un compuesto de fórmula 1:



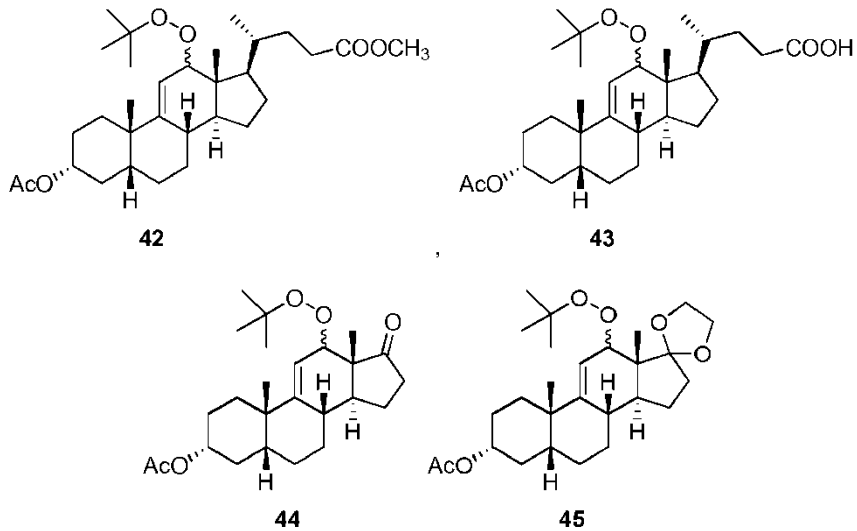
en donde

Pg es un grupo protector de hidroxilo,

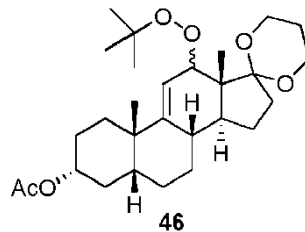
5 R es hidrógeno, hidroxilo o -OPg, R¹ es la cadena lateral 17 de un ácido biliar seleccionado del grupo que consiste en ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido taurocólico y ácido glicocólico, en donde la funcionalidad carboxilo de dicha cadena lateral está opcionalmente esterificada con un grupo alquilo C₁-C₆, y R² es hidrógeno, o R¹ y R² junto con el átomo de carbono unido a ellos forman un grupo ceto o un grupo protector de ceto, y

cada uno de R³, R⁴ y R⁵ es independientemente alquilo C₁-C₃.

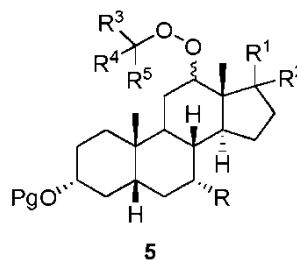
10 5. El compuesto según la reivindicación 4, en donde el compuesto de Fórmula 1 se selecciona del grupo que consiste en los compuestos 42, 43, 44, 45 y 46:



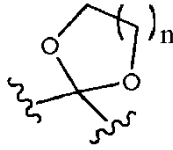
y




15 6. Un compuesto de fórmula 5



10. El compuesto según la reivindicación 4 o reivindicación 6, en donde R^1 y R^2 junto con el átomo de carbono al que están unidos forman:



en donde n es 1, 2 o 3 y la línea ondulada  representa el punto de conexión al resto de la molécula.

5 11. El compuesto según la reivindicación 4 o reivindicación 6, en donde R es hidrógeno.

Fig. 1

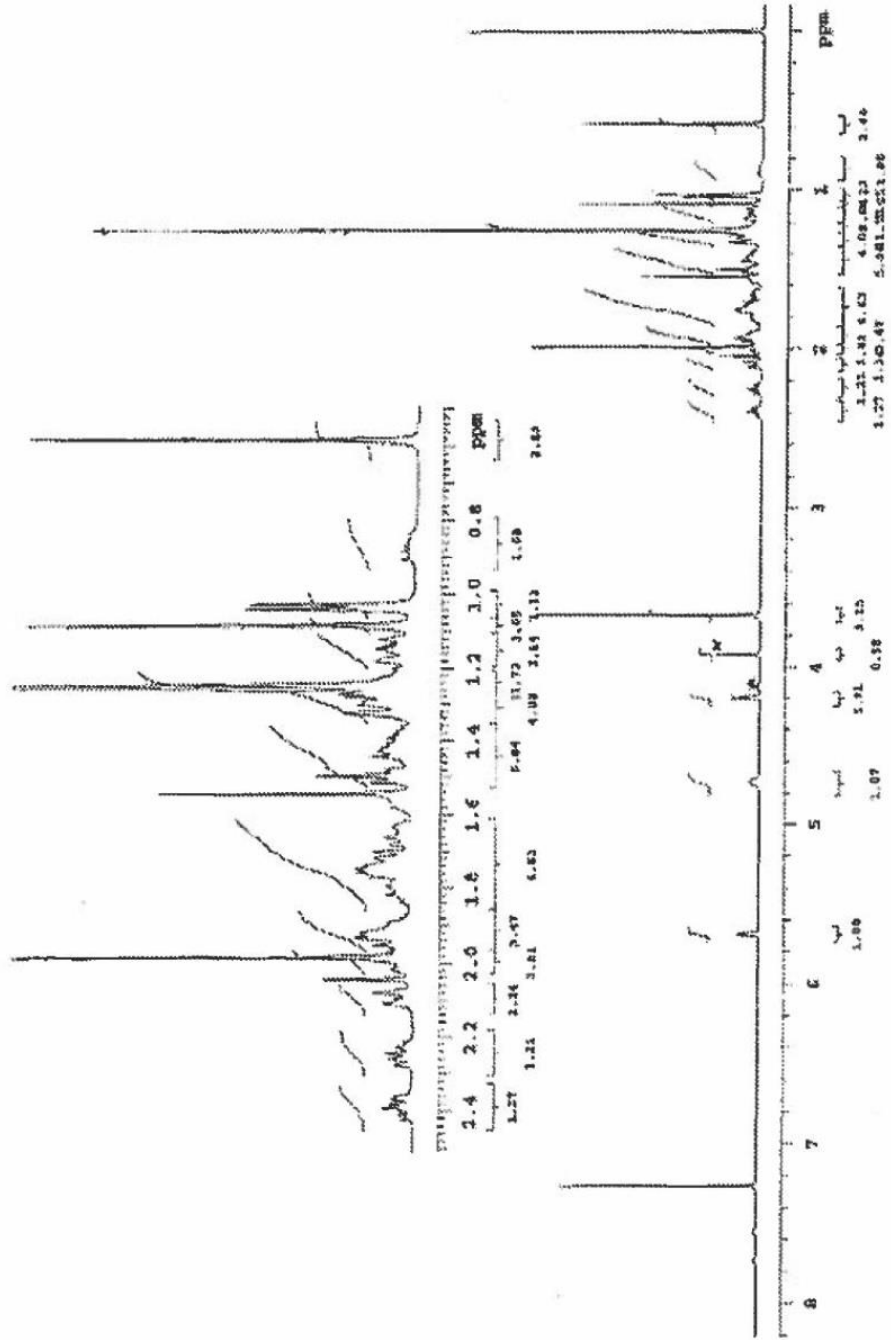


Fig. 2

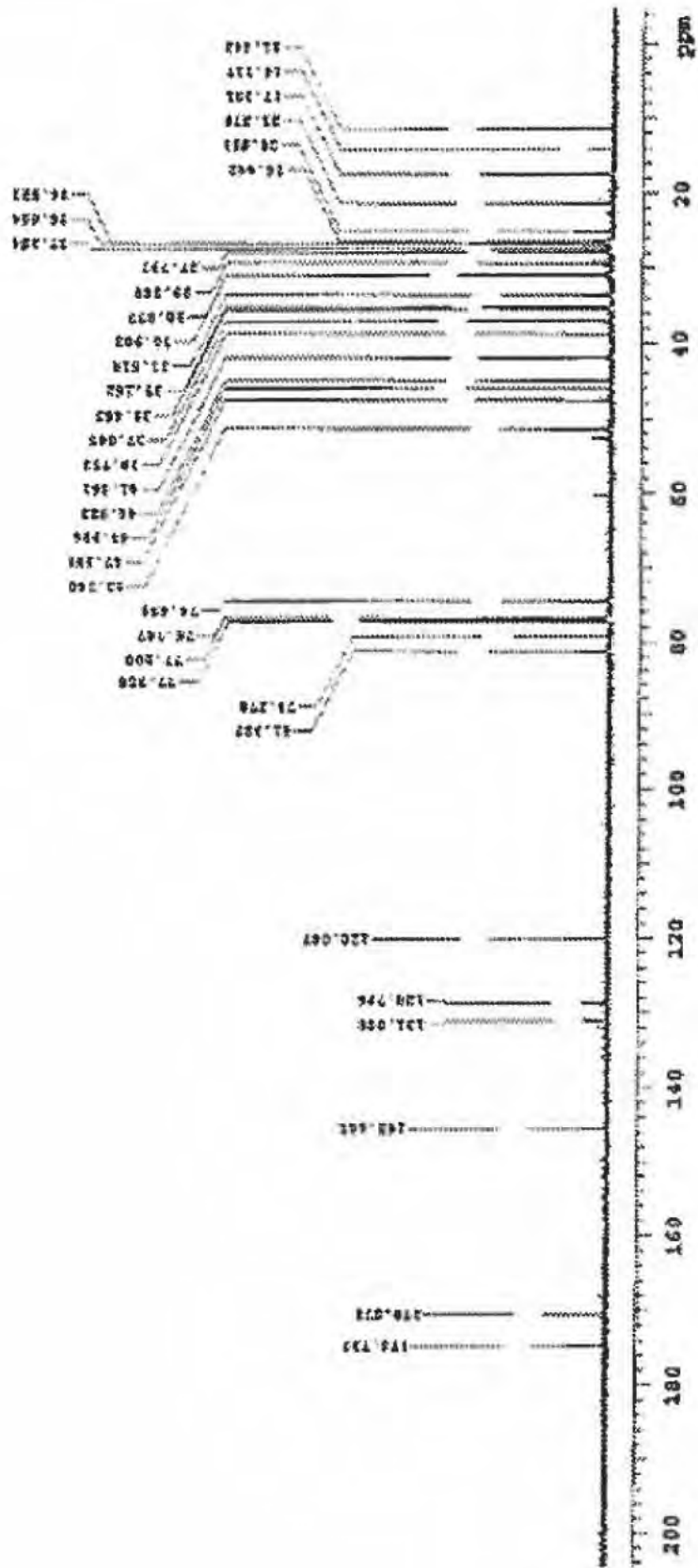


Fig. 3

