

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 717 797**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/00</b>	(2006.01) <b>C07J 71/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/282</b>	(2006.01) <b>C07J 1/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/337</b>	(2006.01) <b>C07J 21/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/4355</b>	(2006.01) <b>C07J 43/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/7068</b>	(2006.01) <b>C07J 5/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 33/24</b>	(2009.01) <b>C07J 65/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 45/06</b>	(2006.01) <b>C07J 7/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01) <b>C07J 9/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 35/02</b>	(2006.01) <b>C07J 69/00</b>	(2006.01)
<b>C07J 63/00</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.12.2008 E 16197797 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.02.2019 EP 3190121**

54 Título: **Métodos para reducción estereoselectiva de derivados de 4-en-3-ona de ciclopamina**

30 Prioridad:

**27.12.2007 US 17162 P**  
**27.12.2007 US 965688**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.06.2019**

73 Titular/es:

**INFINITY PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)**  
**780 Memorial Drive**  
**Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**AUSTAD, BRIAN C.;**  
**LESCARBEAU, ANDRE y**  
**YU, LIN-CHEN**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 717 797 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 reducción estereoselectiva de derivados de 4-en-3-ona de ciclopamina

Antecedentes

5 Los compuestos policíclicos tales como compuestos esteroidales tienen una amplia variedad de usos, por ejemplo, como agentes farmacéuticos. En compuestos esteroidales que contienen grupos enona, a veces es deseable reducir estereoselectivamente el doble enlace C=C para producir preferentemente el compuesto β-reducido o el compuesto α-reducido. En cualquier caso, es útil reducir el doble enlace C=C estereoselectivamente con el fin de obviar purificaciones cromatográficas complejas.

10 Tetrahedron Vol 23 (41) pp 1591-1612 (1967) divulga una reacción de este tipo, que es la hidrogenación de la enona de ciclopamina en etanol como disolvente utilizando un catalizador de Pd/C.

Sumario

15 La invención se refiere a un método para reducir el doble enlace C=C de una enona de un compuesto esteroideal para producir una mezcla de producto de β cetona y producto de α cetona, mediante el tratamiento de una solución o suspensión del compuesto esteroideal en un solvente con gas hidrógeno en presencia de un catalizador y una piridina sustituida. En algunos casos, se produce un exceso del producto β cetona en comparación con el producto α cetona. La invención también se refiere a compuestos hechos por los métodos descritos.

Descripción detallada

20 La invención se refiere a un método para reducir el doble enlace C=C de una enona de un compuesto esteroideal para producir una mezcla de producto β-cetona y producto α-cetona, comprendiendo el método tratar una solución o suspensión del compuesto esteroideal en un solvente con gas hidrógeno en la presencia de un catalizador y una piridina sustituida. La relación del producto de β cetona al producto de α cetona es de al menos aproximadamente :1, 5:1, 10:1, 20:1, 25:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1, 70:1, 80:1, 90:1, 95:1, o mayor que 99:1.

La piridina sustituida 3-picolina,

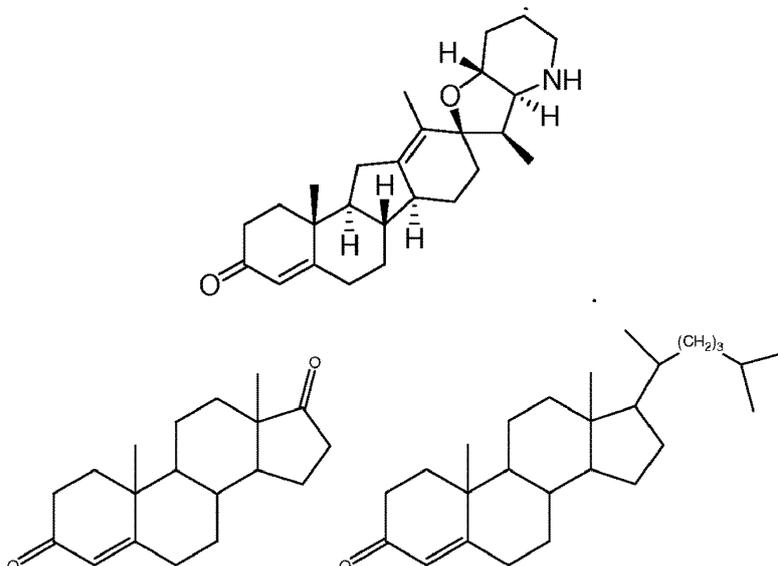
De acuerdo con la invención, la piridina sustituida es el solvente de la reacción.

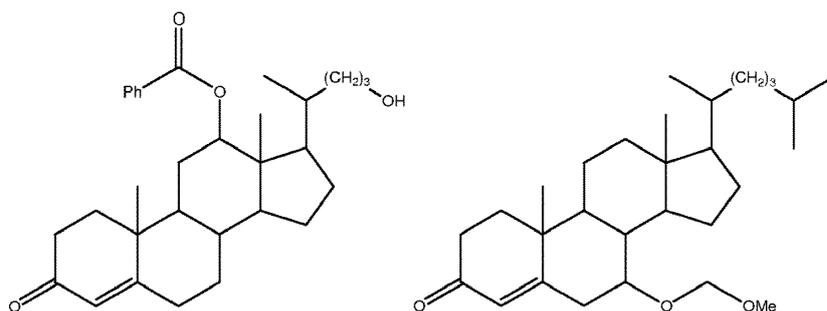
25 El catalizador de hidrogenación es paladio sobre carbono (por ejemplo, 5% o 10% de Pd/C). Se pueden obtener catalizadores de hidrogenación adecuados de fuentes comerciales (por ejemplo, Johnson Matthey).

En algunas realizaciones, el hidrógeno se aplica a la reacción a o cerca de la presión atmosférica (es decir, a 1 atm.), por ejemplo, bajo presión de balón. En otras realizaciones, el hidrógeno se aplica a la reacción a presión incrementada (por ejemplo, 1 a 5 atm o más), por ejemplo, usando un agitador Parr o un aparato similar.

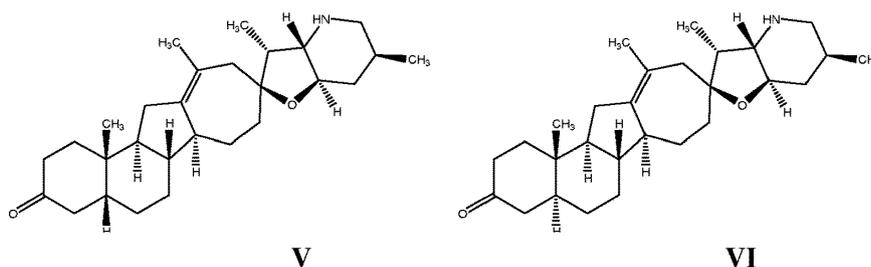
30 El método de la invención proporciona la hidrogenación estereoselectiva de un doble enlace de enona presente en un compuesto esteroideal.

La enona es la enona de ciclopamina como se muestra a continuación:



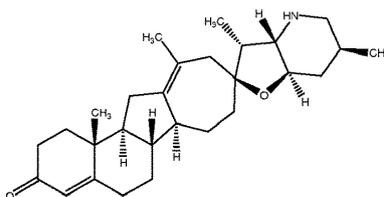


La invención proporciona un método para hacer una mezcla de los compuestos V y VI:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, comprendiendo el método tratar una solución o suspensión de compuesto VII:

5



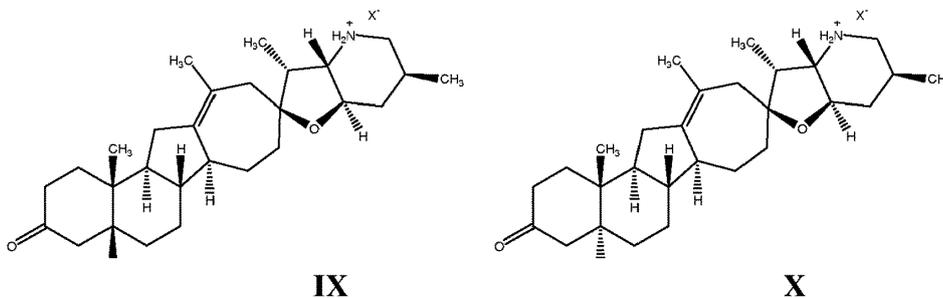
**VII**

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en un solvente (3-picolina) con gas hidrógeno en presencia de un catalizador de paladio (paladio sobre carbono -Pd/C). De acuerdo con la invención, se produce un exceso del compuesto de fórmula V en comparación con el compuesto de fórmula VI (es decir, la relación del compuesto de fórmula V al compuesto de fórmula VI es de al menos 3:1, 5:1, 10:1, 20:1, 25:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1, 70:1, 80:1, 90:1, 95:1, o mayor que 99:1). La piridina sustituida es 3-picolina. El catalizador es paladio sobre carbono. El método puede incluir los pasos adicionales de agregar una solución acuosa de un ácido (por ejemplo, HCl, HBr, HI, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido benzenosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido oxálico, ácido trifluoroacético o ácido tartárico) y el aislamiento de la sal de los compuestos V y/o VI. En algunas realizaciones, las sales de ácido cítrico de los compuestos V y/o VI se preparan y se aíslan.

10

15

En otro aspecto, el método proporciona compuestos de fórmulas IX y X:



y mezclas de los mismos, en donde X<sup>-</sup> es la base conjugada de un ácido farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, cloruro, bromuro, sulfato, metanosulfonato o citrato). En algunas realizaciones, X<sup>-</sup> es citrato. Cuando los compuestos de fórmulas IX y X están presentes en una mezcla, un exceso de compuesto IX está presente en comparación con el compuesto X. La relación del compuesto de fórmula IX al compuesto de fórmula X es de al menos 3:1, 5:1, 10:1, 20:1, 25:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1, 70:1, 80:1, 90:1, 95:1, o mayor que 99:1.

20

## ES 2 717 797 T3

### Ejemplos

En experimentos donde los productos de reducción eran activos en UV, se identificaron los productos y se determinó la relación  $\beta/\alpha$  usando HPLC. Los métodos generales de HPLC son los siguientes:

Columna: Symmetry C1S 5  $\mu$ m columna, 4,6 x 150 mm

5 Solvente A: ácido trifluoroacético acuoso al 0,1%

Solvente B: ácido trifluoroacético al 0,1% en acetonitrilo

#### Método 1

Tiempo (min)%	Solvente A%	Solvente B %
0.00	90.0	10.0
2.00	90.0	10.0
20.00	40.0	60.0
22.0	5.0	95.0
23.0	5.0	95.0
24.0	90.0	10.0
30.0	90.0	10.0
Señal: 215 nm		

#### Método 2

Tiempo (min)%	Solvente A%	Solvente B %
0.00	70.0	30.0
2.00	70.0	30.0
12.00	5.0	95.0
13.0	5.0	95.0
13.10	70.0	30.0
15.0	70.0	30.0
0.00	70.0	30.0
Señal: 290 nm		

10

Ejemplo 1: Reducción de enonas esteroideas

Método general:

Se cargó la enona esteroideal (100 mg) y paladio al 5% sobre carbono (Johnson Matthey tipo A503023-5, 20 mg) en un recipiente de reacción y se añadió 1 mL de solvente (3-picolina, piridina o THF).

15 La mezcla de reacción se agitó y se desgasificó alternativamente bajo vacío y se cargó con hidrógeno tres veces. La mezcla de reacción se agitó bajo hidrógeno a presión de globo hasta que la HPLC indicó que la reacción estaba completa. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se analizó mediante LCMS y HPLC. En los casos en que los

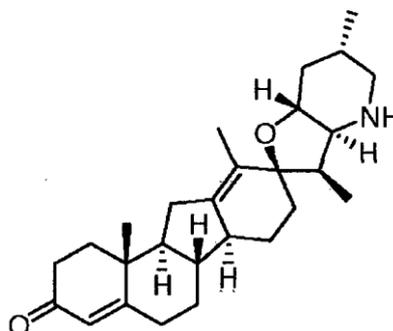
productos de reducción eran activos a UV, se determinó la relación  $\beta/\alpha$  comparando el área bajo la curva de HPLC para cada producto (los tiempos de retención de cada producto de reacción se compararon con estándares conocidos). Cuando los productos de reducción no eran activos a UV (por ejemplo, los productos de testosterona reducidos), se determinó la relación  $\beta/\alpha$  integrando los picos de LCMS. Los resultados se resumen en la Tabla 1 a continuación.

5

Tabla 1

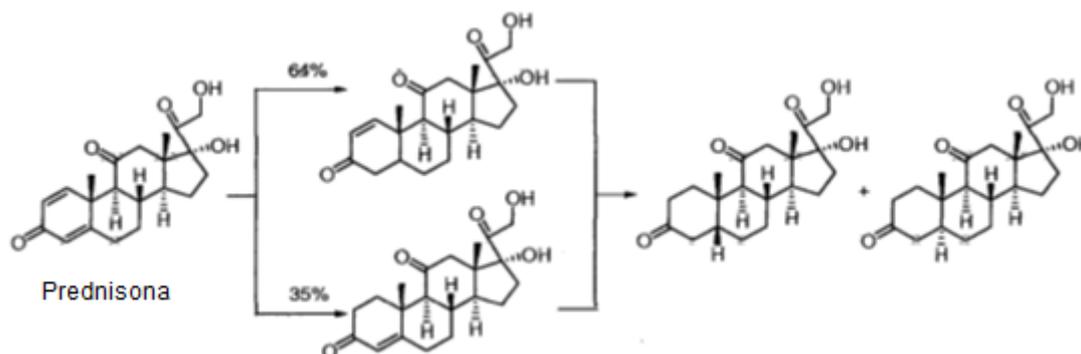
Esteroides enona	Relación $\beta/\alpha$ en THF	Relación $\beta/\alpha$ en piridina	Relación $\beta/\alpha$ en 3-picolina
Ciclopamina enona*	5:1	10:1	24:1
4-androsteno-3,17-diona	3:1	16:1	25:1
Testosterona **	13:1	100:1	100:1
Cortisona	0.7:1	4:1	8:1
Progesterona	3:1	29:1	48:1
Adrenosterona	0.8:1	1:1	1.2:1
Prednisona	1.7:1	1.9:1	1.2:1

\*La ciclopamina enona tiene la siguiente estructura:



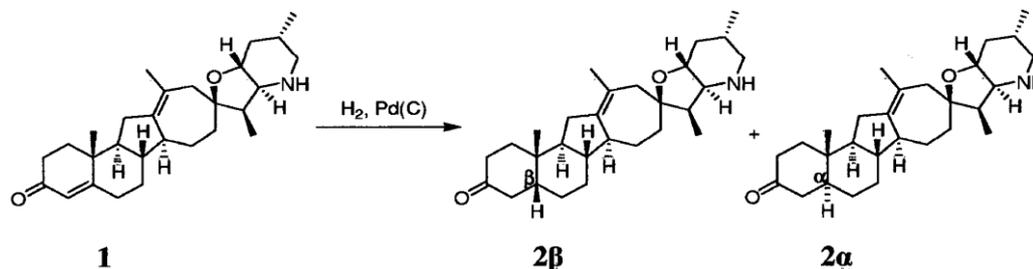
\*\* La relación  $\beta/\alpha$  para los productos de reducción de la testosterona se determinó mediante LCMS.

10 Estos resultados indican que la reducción catalítica de compuestos esteroidales el uso del solvente de 3-piridina, 3-picolina, generalmente aumenta la relación de productos de reducción  $\beta/\alpha$ . Se observa que el aumento en la selectividad no se mostró para la reducción de la prednisona. Se observó que el 1,2-eno de la prednisona se redujo casi dos veces más rápido que el 4,5-eno:



15 Esta diferencia en la velocidad de reducción de enona inicial puede ser responsable de la caída en la selectividad  $\beta/\alpha$  para los productos completamente reducidos (y también la diferencia en la selectividad entre la prednisona y la cortisona).

## Ejemplo 2: Solventes



## Método general:

5 Se cargaron en un recipiente de reacción el Compuesto 1 (~100 mg) y el tipo E101 de Degussa E101 paladio al 10% sobre carbono (~20 mg) y se añadió 1 mL de solvente. La mezcla de reacción se agitó y se desgasificó alternativamente bajo vacío y se cargó con hidrógeno (presión de balón) tres veces. La mezcla de reacción se agitó bajo hidrógeno a presión de globo hasta que HPLC indicó que la reacción estaba completa. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se analizó mediante LCMS y HPLC. La relación  $\beta/\alpha$  se determinó comparando el área bajo la curva de HPLC para cada producto (los tiempos de retención de cada producto de reacción se compararon con estándares conocidos). Los resultados se resumen en la Tabla 2 a continuación.

10

Tabla 2

Solvente	relación $\beta/\alpha$ del producto
Piridina	16:1
2,6-Lutidina	9:1
2-Metoxipiridina	11:1
3-Metoxipiridina	54:1
4-Metoxipiridina	32:1
DMAP	9:1
2-Picolina (2-metilpiridina)	8:1
3-Picolina	53:1
4-Picolina	31:1
3-Acetoxipiridina	27:1
3-isobutilpiridina	15:1
3-Etilpiridina	40:1
Etil-3-piridilacetato	24:1
3,5-Lutidina	27:1
4-terc-Butilpiridina	33:1

15 Estos resultados indican que la reducción del doble enlace enona del compuesto 1 en solventes de piridina sustituidos en 3, (por ejemplo, 3-metoxipiridina, 3-picolina, 3-etilpiridina) en general aumenta la relación  $\beta/\alpha$  de los productos de reducción, particularmente en comparación con piridina no sustituida y solventes de piridina sustituida en 2. Los resultados también muestran que entre los solventes isoméricos de piridina, (por ejemplo, 2-, 3- y 4-picolina y 2-, 3- y 4-metoxipiridina), las piridinas sustituidas en 3 proporcionan la mayor selectividad para el producto de reducción  $\beta$ .

## Ejemplo 3: Catalizadores

20 Los experimentos se llevaron a cabo como se describe en el Ejemplo 2 anterior, usando el compuesto 1 como sustrato y 3-picolina como solvente. Los resultados se resumen en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3

Catalizador	Relación $\beta/\alpha$ del producto
10% Degussa Pd/C	53:1
Pd al 5%/C (tipo JM A401102-5)	35:1
Pd al 5%/C (tipo JM A109047-5)	35:1
Pd al 5%/C (tipo JM A405032-5)	36:1
Pd al 5%/C (tipo JM A405038-5)	32:1
Pd al 5%/C (tipo JM A503023-5)	71:1
Pd al 5%/C (tipo JM A503032-5)	49:1
Pd al 5%/C (tipo JM A503038-5)	40:1
5Pd al 5%/C (tipo JM A102023-5)	63:1
Pd al 5%/C (tipo JM A102038-5)	32:1
Pd al 5%/C (tipo JM A302011-5)	24:1
Pd al 5%/C (tipo JM A302084-5)	28:1
4% de Pd, 1% de Pt sobre carbono (JM tipo E101049-4/1)	33:1

Estos resultados indican que el aumento de la selectividad  $\beta$  obtenida usando el solvente de piridina sustituido se mantiene cuando se emplea una variedad de catalizadores de hidrogenación.

#### 5 Ejemplo comparativo 4: Cosolventes

Los experimentos se llevaron a cabo como se describe en el Ejemplo 2 anterior, utilizando el compuesto 1 como sustrato y diversos catalizadores de paladio en 3-picolina pura o una solución al 10% (v/v) de 3-picolina en THF. Los resultados se resumen en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4

Catalizador	3-Picolina $\beta/\alpha$ proporción del producto	3-Picolina/THF $\beta/\alpha$ relación del producto
10% Degussa Pd/C	53:1	22:1
Pd al 5%/C (tipo JM A401102-5)	35:1	14:1
Pd al 5%/C (tipo JM A109047-5)	35:1	17:1
Pd al 5%/C (tipo JM A503023-5)	71:1	15:1
Pd al 5%/C (tipo JM A503032-5)	49:1	26:1
Pd al 5%/C (tipo JM A503038-5)	40:1	16:1
Pd al 5%/C (tipo JM A102023-5)	63:1	26:1
Pd al 5%/C (tipo JM A102038-5)	32:1	20:1
Pd al 5%/C (tipo JM A302011-5)	24:1	15:1
Pd al 5%/C (tipo JM A302084-5)	28:1	16:1

Se llevaron a cabo experimentos adicionales como se describe en el Ejemplo 2 anterior, usando el compuesto 1 como sustrato y paladio al 10% sobre carbono Degussa tipo E101 o catalizador de Pearlman (hidróxido de paladio sobre carbono) en 4-metoxipiridina pura (4-OMePy) o una solución al 10% (v/v) de 4-metoxipiridina en un cosolvente. Los resultados se resumen en la Tabla 5 a continuación.

5

Tabla 5

Solvente	10% de relación Pd/C $\beta/\alpha$	Relación $\beta/\alpha$ cat. De Pearlman
4-OMePy	32:1	27:1
10% 4-OMePy en THF	20:1	18:1
10% 4-OMePy en EtOAc	14:1	12:1
10% 4-OMePy en Tolueno	11: 1	11: 1
10% 4-OMePy en EtOH	13:1	14:1

10

Estos resultados indican que, aunque el uso de piridina sustituida pura como solvente generalmente produce la relación de producto  $\beta/\alpha$  más alta, el producto de reducción  $\beta$  continúa siendo favorecido cuando la piridina sustituida se usa conjuntamente con un cosolvente. Además, estos resultados indican que el producto de reducción  $\beta$  continúa siendo favorecido cuando se emplea una diversidad de combinaciones de cosolvente y catalizador de hidrogenación.

#### Ejemplo comparativo 5: Cosolventes

Los experimentos se llevaron a cabo como se describe en el Ejemplo 2 anterior, utilizando el compuesto 1 como sustrato y paladio al 10% sobre carbono el tipo Degussa E101 como catalizador en 4-metoxipiridina (4-OMePy) o una solución al 10% (v/v) de 4-metoxipiridina en un cosolvente. Los resultados se resumen en la Tabla 6 a continuación.

15

Tabla 6

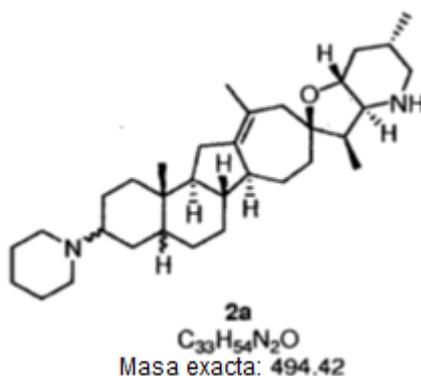
Solvente	Relación $\beta/\alpha$
4-OMePy	32:1
10% 4-OMePy en THF	20: 1
10% 4-OMePy en Dioxano	17:1
10% 4-OMePy en MTBE	16:1
10% 4-OMePy en DME	15:1
10% 4-OMePy en EtOAc	14:1
10% 4-OMePy en Acetona	13:1
10% 4-OMePy en EtOH	13:1
10% 4-OMePy en Tolueno	11:1

Estos resultados indican que, aunque el uso de piridina sustituida pura como solvente generalmente produce la relación de producto  $\beta/\alpha$  más alta, el producto de reducción  $\beta$  continúa siendo favorecido cuando la piridina sustituida se usa conjuntamente con un cosolvente.

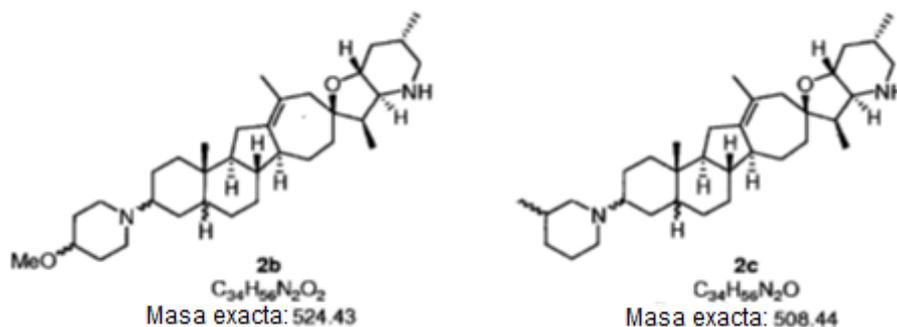
20

#### Ejemplo 6: Productos secundarios

El producto secundario 2a se identificó mediante HPLC y LCMS a partir de la reducción del compuesto 1 con Pd/C en presencia de piridina:



De manera similar, los productos secundarios 2b y 2c se identificaron a partir de la reducción del compuesto 1 con Pd/C en presencia de 4-metoxipiridina y 3-picolina, respectivamente:



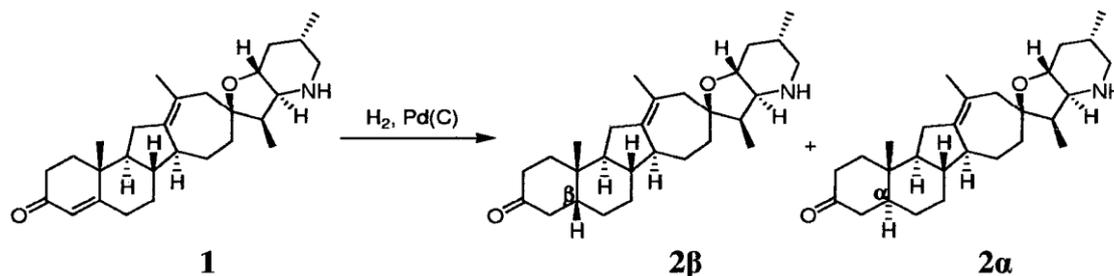
- 5 Con el fin de estudiar la formación de productos secundarios, se llevaron a cabo experimentos como se describe en el Ejemplo 2 anterior, utilizando el compuesto 1 como sustrato y paladio al 10% sobre carbono tipo Degussa E101 como catalizador, variando el solvente y extendiendo el tiempo de reacción. Los resultados se resumen en la Tabla 7 a continuación (porcentajes determinados por HPLC).

Tabla 7

Solvente	% de producto secundario a las 17 h.	% de producto lateral a las 65 h.
3-Picolina	2	12
10% 3-Picolina en THF	6	26
4-OMePy	1	3
Piridina	13	37

10

Ejemplo 7: Reducción del compuesto 1



15 Se cargaron el compuesto 1 (459 mg) y de paladio sobre carbono Johnson-Matthey al 5% (A503023-5, 101 mg) a un recipiente de reacción de bocas múltiples, de tamaño apropiado. El recipiente se purgó con nitrógeno, luego se cargó 3-picolina (2,2 g) como solvente. Se comenzó la agitación y el recipiente se desgasificó primero usando nitrógeno y después se agitó bajo hidrógeno a presión atmosférica durante 8 horas. Al final de la reacción, el catalizador se eliminó

por filtración a través de un medio de 0.2 micras, enjuagando con ACN (1.4 ml). El filtrado y el enjuague se combinaron en un recipiente de reacción limpio equipado con agitación mecánica, una sonda de temperatura interna y una atmósfera de nitrógeno.

5 Se cargó una solución de ácido cítrico (3.7 g) en agua (9.2 ml) en el recipiente de reacción a una temperatura igual o inferior a 30°C, y se dejó que el compuesto reducido cristalizara lentamente a partir de la solución como la sal de citrato a 20°C y después a 0°C. El producto cristalino se recuperó por filtración por succión y se lavó con agua (3.7 ml). Después de secar, la sal de citrato se aisló como un hidrato (3–5% en peso de agua) con un rendimiento del 89.5% (622 mg) con una relación  $\beta/\alpha$  de 90:1. La sal de citrato mantuvo su color blanco durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

#### 10 Ejemplo 8: Reducción alternativa del compuesto 1

El compuesto 1 (20 g) se trató con hidrógeno gaseoso a presión de globo en presencia de paladio sobre carbono Johnson–Matthey al 5% (A503023–5, 4 g) en 3–picolina (200 mL), como se describe en el presente documento. Cuando la reacción se consideró completa después de 7.5 horas, el catalizador se eliminó por filtración y el matraz y los medios de filtración se lavaron con THF (2 x 50 ml). La solución se concentró para eliminar el THF, y se añadió HCl 3N (440 mL) a 5°C. El matraz que contenía el filtrado se enjuagó con una solución de THF (20 mL) y agua (20 mL) y el pH de la mezcla se ajustó a 2.0 con HCl 3N. Se añadió agua (200 mL) y se formó un precipitado blanco. El sólido se transfirió a un vaso de precipitados y se añadió metil t–butil éter (400 mL) y NaHCC $\beta$  acuoso saturado (400 mL). La capa orgánica se recogió y se filtró, y la capa acuosa se extrajo con éter metil t–butílico (2 x 100 mL). La fase orgánica combinada se lavó con agua (2 x 200 mL), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se filtró. El filtrado se concentró para dar el producto de base libre sólido (17.42 g, 87%) con una relación  $\beta/\alpha$  de 76:1.

#### Ejemplo 9: Formación de sal

##### A. Síntesis de producto reducido

25 Se cargaron el compuesto 1 (30.0 g) y paladio sobre carbono Johnson–Matthey al 5% (A503023–5, 6.0 g) en un matraz de fondo redondo de 3000 mL, y se añadió 3–picolina (150 mL). Se inició la agitación y el matraz se desgasificó bajo vacío y se cargó con nitrógeno tres veces. El matraz se mantuvo en atmósfera de hidrógeno a presión de globo con agitación durante 8 h. La HPLC indicó que la reacción no era completa, por lo que se añadieron 0.1 g adicionales de catalizador y la reacción se agitó bajo hidrógeno durante 1.5 h más. El catalizador se separó por filtración y el filtrado (164 g) se dividió en porciones para el estudio de salificación.

##### B. Formación de sales de HCl

30 A 5.5 g del filtrado se añadió acetonitrilo (3.0 g). Se añadió ácido clorhídrico (17 mL de solución acuosa 3N). Se encontró que el pH de la solución era 1.0. Se añadió agua (10 g) y la mezcla se agitó durante 1.5 h. El precipitado sólido se filtró (tiempo de filtración 2 minutos 52 segundos) y se secó para dar 0.95 g (87%) de un sólido blanco. La sal se tornó ligeramente de color rosa durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

##### C. Formación de sales de HBr

35 A 5.5 g del filtrado se añadió acetonitrilo (3.0 g). Se añadió ácido bromhídrico (28 mL de solución acuosa 3N). Se encontró que el pH de la solución era 4.7. La mezcla se agitó durante 1.5 h. El precipitado sólido se filtró (tiempo de filtración de 1 minuto 20 segundos) y se secó para dar 0.97 g (82%) de un sólido blanco. La sal se tornó de color marrón claro a negro cuando se almacenó a temperatura ambiente.

##### D. Formación de sal de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

40 A 5.5 g del filtrado se añadió acetonitrilo (3.0 g). Se añadió ácido sulfúrico (11 mL de solución acuosa 3N). Se encontró que el pH de la solución era 1.5. Se añadieron agua (16 g) y cloruro de sodio (1.0 g) y la mezcla se agitó hasta formar un precipitado sólido. El sólido se filtró (tiempo de filtración 3 minutos 23 segundos) y se secó para dar 1.2 g (97%) de un sólido blanco. La sal se volvió ligeramente rosada durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

##### E. Formación de sales de metanosulfonato

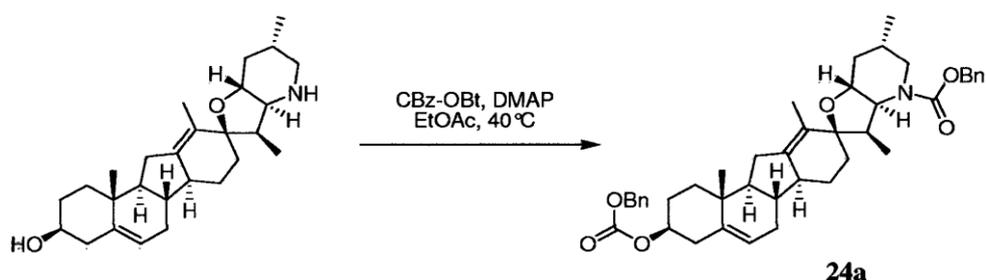
45 A 5.5 g del filtrado se añadió acetonitrilo (3.0 g). Se añadió ácido metanosulfónico (17 mL de solución acuosa 3N). Se encontró que el pH de la solución era 1.5. Se añadieron agua (10 g) y bromuro sódico (1.73 g) y la mezcla se agitó hasta formar un precipitado sólido. El sólido se filtró (tiempo de filtración 2 minutos 35 segundos) y se secó para producir 1.1 g (83%) de un sólido blanco. La sal se tornó ligeramente de color rosa durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

50 Los resultados de los diversos experimentos de producción de sal descritos en los Ejemplos 7 y 9 se resumen en la Tabla 8 a continuación.

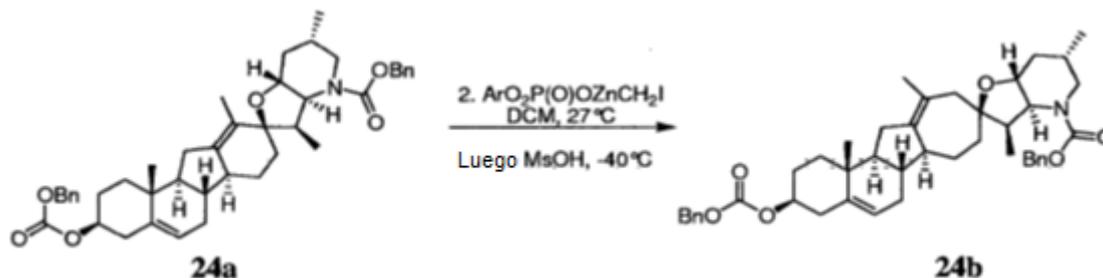
Tabla 8

Sal	% rendimiento	Aspecto después del almacenamiento
Citrato	89.5	Blanco
HCl	87	Rosa
HBr	82	Marrón negro
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	97	Rosa
Metanosulfonato	83	Rosa

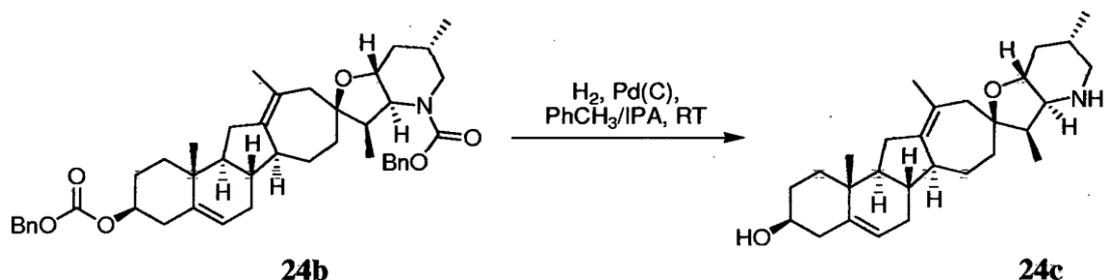
Ejemplo 10: Síntesis del compuesto 42



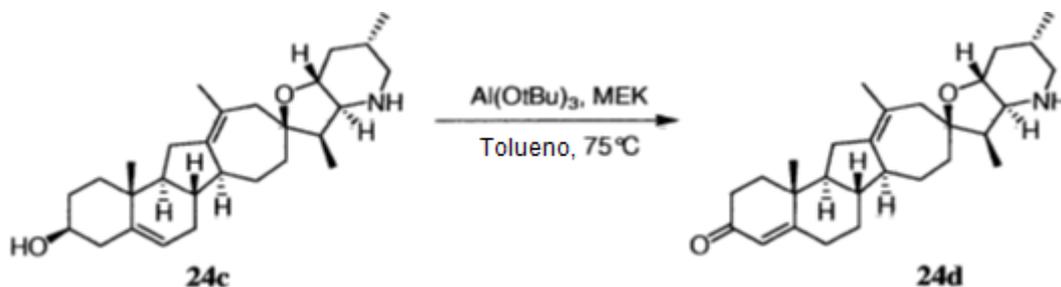
- 5 Se cargó ciclopamina recristalizada (2.07 g) en un recipiente de reacción de tamaño apropiado y se colocó bajo una atmósfera inerte. Se añadieron secuencialmente EtOAc (7.6 g), trietilamina (1.53 g) y DMAP (307 mg). La suspensión se calentó a 40°C. Se añadió Cbz-OBt en tres porciones durante 90 minutos, manteniendo la temperatura interna por debajo de 45°C. La mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 90 minutos. La temperatura se mantuvo mientras se añadía lentamente metanol (26.4 g) a la mezcla de reacción. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante al menos 15 horas. El producto bruto se recogió por filtración y se aclaró con metanol (5 g). El sólido blanco se secó a vacío hasta un peso constante y se recristalizó en heptano (30.3 g) y tolueno (3.2 g) para dar el compuesto 24a (3.0 g).



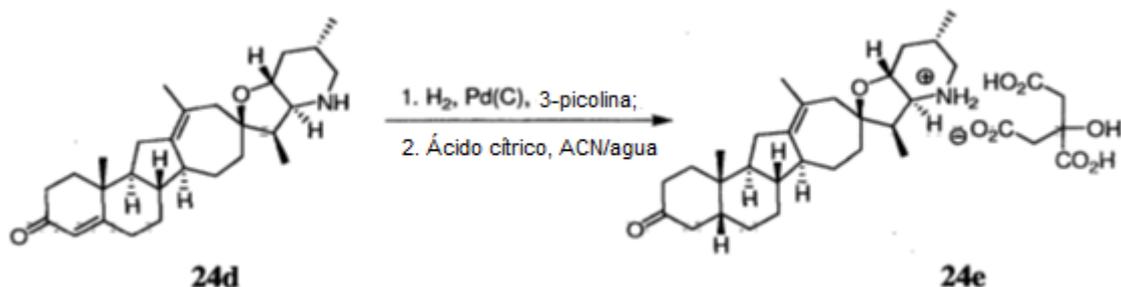
- 15 El bis(2,6-dimetilfenil) hidrogenofosfato sólido y 24a se presecaron y se pusieron bajo una atmósfera de nitrógeno. Se cargó dietil zinc puro (722 mg) en un recipiente de reacción de tamaño apropiado que contenía DCM (9.0 g). Se añadieron secuencialmente soluciones de DCM del fosfato (1.83 g en 17.9 g) e IPI-332690 (1.34 g en 3.6 g) a o por debajo de 25°C. Se cargó diyodometano (1.58 g) y la reacción se agitó a 28°C durante 4-6 horas. La reacción se enfrió a -45°C y se cargó una solución de ácido metanosulfónico en DCM (566 mg en 1.5 g). Después de 15 minutos, se añadió morfolina (1.711 g) y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La capa orgánica se lavó dos veces con HCl 2N (2 x 13.6 g) y después secuencialmente con 4.8% en peso de carbonato de sodio (aq), 4.8% en peso de sulfito sódico (aq) y 4.8% en peso de salmuera (13.6 g cada uno). La capa orgánica se secó, se filtró, se concentró hasta 4 g y se diluyó con isopropanol (4 g). El producto se cristalizó en solución mediante la adición lenta de metanol (9.3 g). La filtración con un enjuague con metanol (2.6 g) y secado proporcionó 1.09 g de 24b (79% de rendimiento aislado).



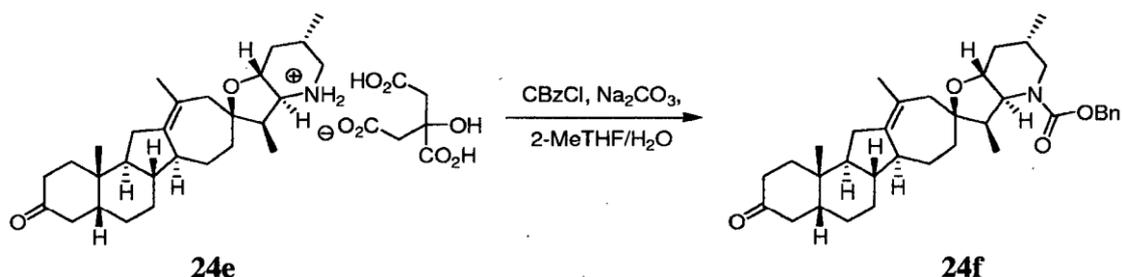
Se cargó el catalizador Johnson Matthey Pd/C A-305038-5 (890 mg) en un recipiente de reacción de tamaño apropiado, seguido de 24b (2.24 g). El recipiente de reacción se purgó con N<sub>2</sub> y se añadieron secuencialmente tolueno (21.8 g) y 2-propanol (6.7 g). El sistema se desgasificó y se colocó bajo una atmósfera de nitrógeno, y el proceso se repitió con hidrógeno. El sistema se agitó vigorosamente y la manta de hidrógeno se mantuvo a una atmósfera durante 4-5 horas. Se cargó etilendiamina (12.9 mg) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. El catalizador se separó por filtración con un enjuague con tolueno:IPA (3:1). El filtrado y los enjuagues se concentraron y el solvente se intercambió por tolueno. El producto se cristalizó en tolueno (19.0 g) y heptano (18.0 g) para dar 24c como un sólido cristalino blanco (1.34 g, 98% de rendimiento).



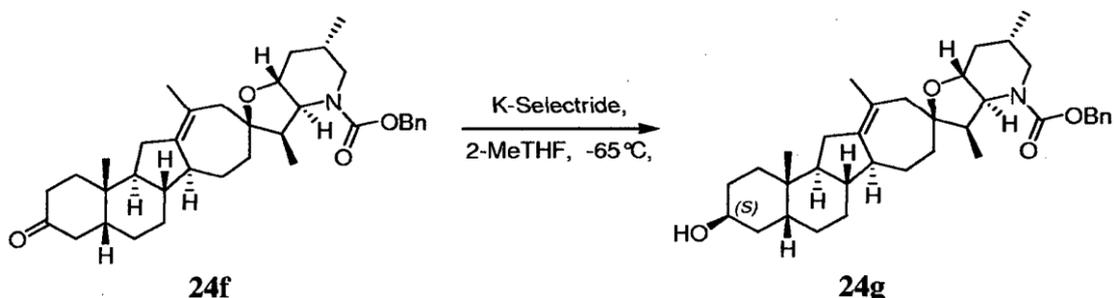
Se cargó 24c (644 mg) en un recipiente de reacción de tamaño apropiado, seguido de t-butoxido de aluminio (525 mg), tolueno (8.34 g, 15 vol) y 2-butanona (7.83 g, 15 vol). El contenido del matraz se desgasificó con ciclos de evacuación/purga de nitrógeno para eliminar el oxígeno y la mezcla de reacción se calentó a 75°C con agitación vigorosa durante 16-18 horas. La reacción se inactivó mediante la adición de una sal de Rochelle acuosa (2.6 g en 10.3 g de agua) y la mezcla se agitó vigorosamente durante una hora a 45°C. Las capas acuosa y orgánica se separaron. La capa acuosa se extrajo de nuevo con una mezcla de tolueno (2.9 g) y EtOAc (2.9 g). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con solución salina fresca de Rochelle (2.6 g en 10.3 g de agua) y luego con agua (12.9 g). La capa orgánica resultante se secó sobre sulfato sódico (1.97 g), se filtró y se concentró al vacío. El producto se cristalizó a través de una carga y el solvente de concentración primero se intercambió con JPA (6.5 g) y después con heptano (7.7 g). La suspensión espesa de heptano (~2.7 g) se agitó durante la noche y los sólidos se recogieron por filtración. El secado al vacío proporcionó 24d (550 mg) con un rendimiento del 85%.



Se cargaron enona 24d (459 mg) y Johnson-Matthey 5% paladio sobre carbono (A503023-5, 101 mg) a un recipiente de reacción bocas múltiples de tamaño apropiado. El recipiente se purgó con nitrógeno y se cargó 3-picolina (2.2 g) como solvente. Se comenzó la agitación y el recipiente se desgasificó primero usando nitrógeno y después se agitó bajo hidrógeno a presión atmosférica durante 8 horas. Al final de la reacción, el catalizador se eliminó por filtración a través de un medio de 0.2 micras, enjuagando con ACN (1.4 ml). El filtrado y el enjuague se combinaron en un recipiente de reacción limpio equipado con agitación mecánica, una sonda de temperatura interna y una atmósfera de nitrógeno. Se cargó una solución de ácido cítrico (3.7 g) en agua (9.2 ml) en el recipiente de reacción a una temperatura igual o inferior a 30°C y se dejó que el producto cristalizara lentamente a partir de la solución como la sal de citrato a 20°C y luego 0°C. El producto cristalino se recuperó por filtración por succión y se lavó con agua (3.7 ml). Después de secar, la sal citrato, 24e, se aisló como un hidrato (3-5% en peso de agua) con un rendimiento del 89,5% (622 mg) con una relación β:α aproximándose a 90:1.



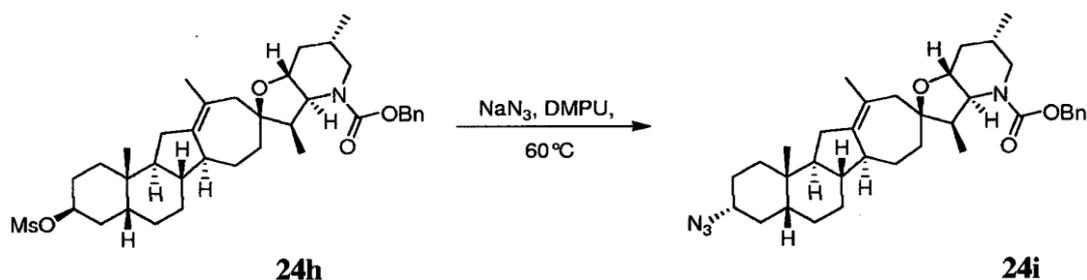
Se cargó 24e (1,50 g) en el reactor de tamaño apropiado junto con 2-metiltetrahidrofurano (7.7 g) y 1 ml de carbonato de sodio (9.0 ml). Se añadió una solución de cloroformiato de bencilo (454 mg) en 2-metiltetrahidrofurano (300 mg) mediante un embudo de adición y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1–2 horas. Cuando se completó la reacción, se detuvo la agitación, se separaron las capas y se lavó la capa orgánica dos veces con agua (2 x 6 g). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico (3 g), se filtró y se concentró. El agua residual se redujo adicionalmente por concentración a partir de 2-metiltetrahidrofurano fresco (6.5 g) y el material se transfirió como solución en 2-metiltetrahidrofurano anhidro a la siguiente reacción.



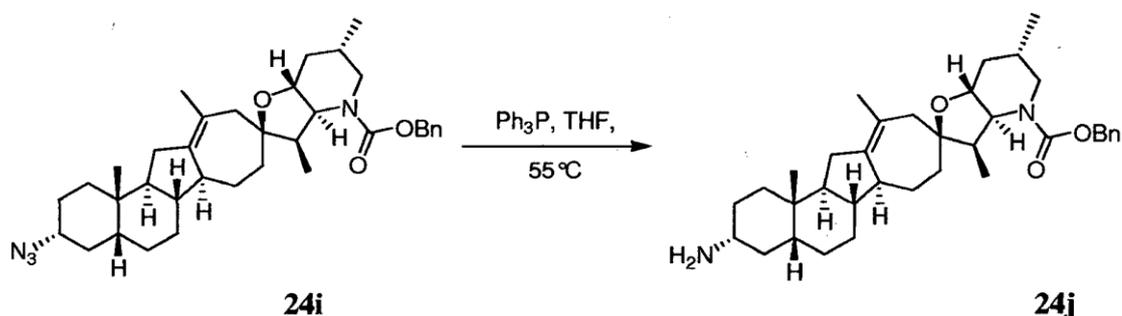
Se cargó K-Selectride® comercial 1M en THF (1.20 g) en un recipiente de reacción seco bajo una atmósfera de nitrógeno, se diluyó con 2-metiltetrahidrofurano anhidro (2.10 g) y se enfrió a  $-65^{\circ}\text{C}$ . La solución de 24f (0.41 g) en 2-metiltetrahidrofurano (1.5 g) se añadió lentamente al recipiente de reacción para controlar la temperatura interna a  $-65 \pm 5^{\circ}\text{C}$ . La reacción se agitó durante 2 horas y se calentó a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante aproximadamente 1 hora y se agitó durante una hora adicional. La reacción se inactivó a baja temperatura con MeOH (0.33 g). El reactivo se destruyó por adición secuencial de NaOH 3M (2.4 g) a  $-20^{\circ}\text{C}$  y peróxido de hidrógeno al 15% en agua (1.04 g) a o por debajo de  $5^{\circ}\text{C}$ , después la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó secuencialmente con NaOH acuoso 1 ml (2 ml), Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> acuoso 0,5 M (2 ml) y agua (2 ml) ajustada a un pH de 3 con HCl. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico (0.82 g), se filtró y se concentró. El producto 24 g (0.457 g) se reconcentró a partir de DCM (0.9 g) y se usó en la siguiente reacción.



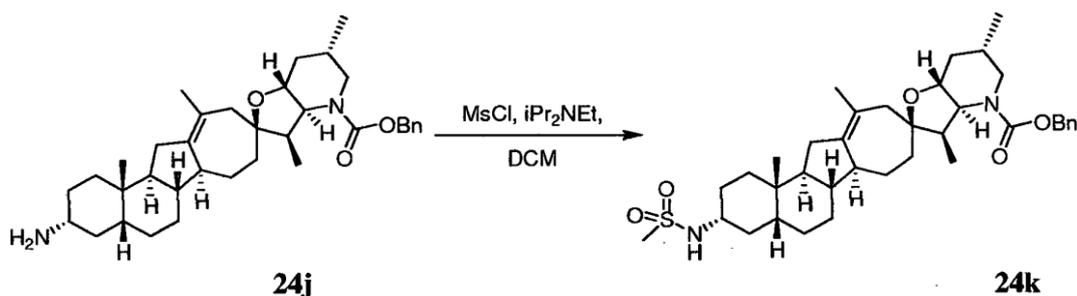
Se cargaron 24 g (1.36 g) con DCM anhidro (18.1 g) a un recipiente de reacción de tamaño apropiado, se colocaron bajo una atmósfera inerte y se enfriaron a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Se cargó trietilamina (0.61 mg) seguido por la adición lenta de cloruro de metanosulfonilo (373 mg) en DCM anhidro (300 mg). La reacción se agitó durante 1 hora a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Cuando se completó, la reacción se inactivó con agua (13.6 g) y se dejó calentar. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con 2.5% en peso de bicarbonato de sodio (13.8 g) y después con agua (10.9 g). La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico (4 g), se filtró y se concentró. La disolución del producto se intercambió con solvente a través de carga y concentración a *t*-butil metil éter (10.9 ml) y después 1,3-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidinona (DMPU, 4.7 ml). La solución de DMPU se usó directamente en la siguiente reacción.



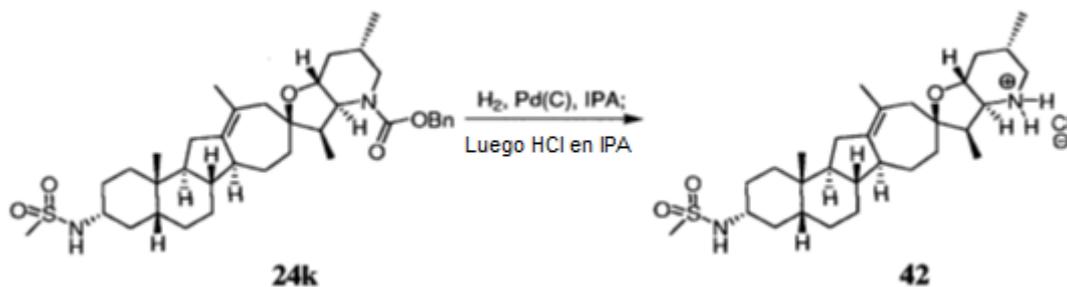
Se cargó azida de sodio (0.74 g) en un recipiente de reacción de tamaño apropiado. La solución de 24 h (1.46 g) en DMSO (5.9 g) se cargó en el recipiente de reacción, enjuagando con DMSO adicional (1.9 g). La suspensión se calentó a 60°C durante 15 horas, manteniendo un barrido con nitrógeno durante toda la reacción. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con MTBE (11.7 g). La solución orgánica se lavó 3 veces con solución salina al 2% (3 x 8 g), se secó sobre sulfato de sodio (4.4 g), se filtró y se concentró. El producto se concentró a partir de THF (6.4 g) y se usó directamente en la siguiente reacción.



Se disolvió el 24i bruto (1.34 g) y se transfirió a un recipiente de reacción de tamaño adecuado con THF (12.6 g). Se cargaron trifenilfosfina (0.70 g) y agua (0.44 g) y la reacción se calentó a 55°C durante 15–24 horas. Una vez completada, la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se secó con sulfato de magnesio (1.4 g), se filtró y se concentró. Los sólidos se disolvieron y se concentraron a partir de tres porciones de DCM (3 x 9 g) y se purificaron por cromatografía en gel de sílice usando gradientes de DCM/MeOH/Et3N para eliminar impurezas basadas en reactivos. Las fracciones reunidas se concentraron hasta sequedad, se disolvieron en DCM (6.8 g) y se concentraron de nuevo a sequedad para dar un sólido amorfo (1.12 g) que se usó en la siguiente reacción.



Se disolvió 24j (1.09 g) y se transfirió a un recipiente de reacción de tamaño apropiado con DCM anhidro (15.8 g) y se colocó bajo una atmósfera de nitrógeno. La solución se enfrió a 0°C. Se cargaron secuencialmente diisopropiletilamina (357 mg) y cloruro de metanosulfonylo puro (0.165 ml) mientras se mantenía la temperatura por debajo de 5°C. La reacción se inactivó con bicarbonato de sodio acuoso 0.4 M (11.4 g) y se calentó a temperatura ambiente. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo de nuevo con DCM (5.8 g). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio (0.55 g), se filtraron y se concentraron. El producto 24k se disolvió y se separó a partir de 2-propanol (4.0 g) para eliminar el DCM residual y se utilizó directamente en la siguiente reacción.

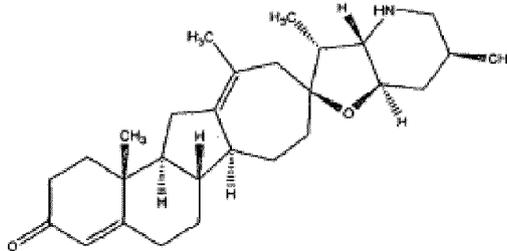


Se cargó Aldrich Degussa tipo E101 NEAV 10% Pd/C (249 mg) en un recipiente de reacción de tamaño apropiado y se colocó bajo una atmósfera de nitrógeno. Se cargó una solución de 2-propanol (9.8 g) de 24k (1.24 g) en el recipiente de reacción. El sistema se desgasificó y se colocó bajo una atmósfera de nitrógeno, y el proceso se repitió con hidrógeno. La reacción se agitó a 1 atm de hidrógeno a temperatura ambiente durante 8 horas. Se aplicó de nuevo una atmósfera inerte al recipiente y se añadió a la reacción una segunda carga de catalizador (125 mg) suspendida en 2-propanol (0.5 g). La mezcla de reacción se desgasificó y se colocó bajo una atmósfera de nitrógeno, y se repitió el proceso con hidrógeno. La reacción se agitó a 1 atm de hidrógeno durante otras 15 horas a temperatura ambiente. Cuando se completó, la reacción se filtró, se trató con carbón activado por vapor de agua (200 mg) y se filtró de nuevo. La solución se secó mediante concentración parcial transferida a un recipiente de reacción y se diluyó con 2-propanol anhidro a 0,09 M basado en el rendimiento teórico. Se cargó una solución de HCl 1.25 M en 2-propanol (1.64 g) durante 20 minutos. La sal clorhidrato se cristalizó lentamente con agitación suave y se aisló por filtración. Los cristales se lavaron con 2-propanol (2.5 g) y se secaron al vacío para proporcionar el compuesto 42 (916 mg, 80% de rendimiento) como un solvato de IPA 1:1.

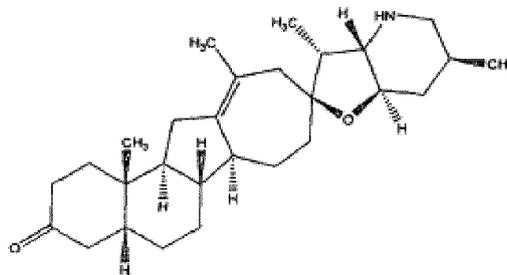
15

REIVINDICACIONES

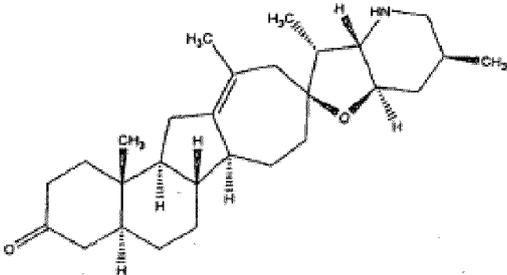
1. Un método para reducir el doble enlace C-C de una enona de un compuesto esteroidal para producir una mezcla de un producto de  $\beta$ -cetona y un producto de  $\alpha$ -cetona, comprendiendo el método tratar una solución o suspensión del compuesto esteroidal en un solvente de 3-picolina con gas hidrógeno en presencia de un catalizador de paladio sobre carbono (Pd(C)) en donde una relación de compuesto  $\beta$ -reducido a compuesto  $\alpha$ -reducido es al menos 3:1, en donde el compuesto esteroidal es



el compuesto  $\beta$ -reducido es



- 10 el compuesto  $\alpha$ -reducido es



2. El método de la reivindicación 1, en donde la relación de compuesto  $\beta$ -reducido a compuesto  $\alpha$ -reducido es de al menos 10:1, 20:1, 30:1, o 40:1.