VNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

VNIVERSIDAD
DE SALAMANCA

Síntesis de esteroides de alta actividad

José Andrés Marcos Escribano

Marzo de 2010

VNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

Síntesis de esteroides de alta actividad

Trabajo presentado para optar
al título de doctor por:

José Andrés Marcos Escribano

Salamanca, Marzo de 2010

**Visado en Salamanca
Marzo de 2010**

Fdo: Francisco A. Bermejo González

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

D. Francisco A. Bermejo González, Profesor Titular de Química Orgánica de la Universidad de Salamanca,

CERTIFICA:

Que el Licenciado en Química, D. José Andrés Marcos Escribano ha realizado, en el Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Salamanca, el trabajo titulado "Síntesis de esteroides de alta actividad", que presenta para optar al grado de Doctor.

Y para que así conste, firma el presente certificado en Salamanca, Marzo 2010.

Fdo. Dr. D. Francisco A. Bermejo González

Este trabajo ha sido realizado en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Salamanca, bajo la dirección del Dr. D. D. FRANCISCO A. BERMEJO GONZÁLEZ, a quien quiero expresar mi más sincero agradecimiento por la confianza depositada en mi, así como por su ayuda y apoyo constante durante la realización de esta tesis.

Asimismo quisiera hacer extensible mi agradecimiento a las siguientes personas:

A los Dres. Joaquín Rodríguez Morán, por la ayuda técnica y los partidos de frontón en los que podía desconectar, a Rosa Rubio por su ayuda en el laboratorio, a Cruz Caballero por su sonrisa, y en general a todos los profesores del departamento, de los que he aprendido mucho.

Al Dr. César Raposo del servicio de Espectrometría de Masas y a la Dra. Anna Lithgow del servicio de Resonancia Magnética Nuclear, por la ayuda que ambos me han mostrado en todo momento.

A Marisol y M^a José por estar siempre ahí, dispuestas a echar una mano, por los “papeleos” y las charlas.

También agradezco al Grupo Farmacéutico Gadea por la concesión de la beca sin la que este trabajo de investigación no sería posible.

Seré breve:

GRACIAS

No, ahora en serio. Realmente, me gustaría agradecer a todas las personas que he conocido en este tiempo, y que han contribuido a este volumen. Todos ellos me han ayudado de alguna manera, aunque sólo fuera con una sonrisa que me ayudara a elevar mi ánimo. Para todos y cada uno de vosotros tendría unas palabras, pero esto ocuparía demasiado espacio. Espero no olvidarme de nadie. Si me hubieran dicho hace diez años que estaría escribiendo una tesis, no me lo habría creído (como casi no me lo creo ahora).

Gracias en primer lugar a mi familia, a todos ellos, aunque en especial a mis padres y mi hermana. Aunque mi padre no pueda estar aquí, sé que está tan orgulloso de mí como el resto de mi familia. A él es uno a los que dedico específicamente este libro.

Al ya Dr. Muñiz por haberme convencido un día tiempo atrás para empezar una tesina y probar este mundillo que es la investigación, y por su continuo apoyo desde entonces, por sus correcciones y su apoyo en todo momento. A Simón por esas largas conversaciones. A mis compañeros de laboratorio y piso, como Pablo, María (por su ayuda y su aguante cuando era un novato de laboratorio), Lydia, Roberto, Ari, Rodri, Quique, María (cuantas tardes tomando algo a la salida del laboratorio), Soledad, la mami Raquel, David, Belén, Silvia, Ángel, Laura, Ramón. También al resto de compañeros de “Villabajo”, con los que de un par de años a esta parte he tenido mucho más contacto: Pilar (gracias por las publicaciones), Marta, Cheli, Mónica, Ana, Ana, Álvaro, Magda, Patri, Lourdes, Almudena, Alfonso, Isabel, M^a Rosa, M^a Fe.

Y gracias por fin a mis amigos, que han estado ahí presentes aguantándome mientras llevaba a buen término esta tesis.

Y como no, y de manera muy especial a ti, princesa, pues eres el mejor descubrimiento que he hecho durante mi tesis. Gracias por hacerme tan feliz y déjame por favor, seguir haciéndote feliz yo a ti.

"Dando una patada a la sílaba IM de la palabra IMPOSIBLE, cualquier persona
estará seguro de salir adelante."

Robert S. S. Baden-Powell,
fundador del Movimiento Scout Mundial

Índice:

Página

Abreviaturas y Acrónimos.....	5
1. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1. Las hormonas.....	11
1.2. Los esteroides.....	13
1.3. Exemestano, un inhibidor esteroide de aromatasa de importancia clínica.....	23
1.4. Fluorometolona, un corticoide selectivo.....	49
2. OBJETIVOS.....	61
3. MÉTODOS Y RESULTADOS.....	65
3.1. Exemestano.....	67
3.1.1. Síntesis de Exemestano. Estrategia sintética.....	67
3.1.1.1. Reacción de Mannich. Antecedentes.....	67
3.1.1.2. Deshidrogenación de 3-ceto-4-en esteroides. Antecedentes.....	70
3.1.2. Síntesis de Exemestano. Resultados obtenidos.....	81
3.1.2.1. Introducción del metileno en la posición C6.....	81
3.1.2.2. Deshidrogenación en la posición C1-2.....	82
3.1.2.3. Obtención de Exemestano.....	89
3.1.3. Síntesis de posibles impurezas.....	90
3.2. Fluorometolona.....	93
3.2.1. Síntesis de Fluorometolona. Estrategia sintética.....	93
3.2.1.1. Reacción de Mannich.....	93
3.2.1.2. Hidrogenación selectiva. Antecedentes.....	93
3.2.1.3. Deshidrogenación de 3-ceto-4-en esteroides.....	99
3.2.1.4. Epoxidación y formación de halohidrinás. Antecedentes.....	99
3.2.2. Síntesis de Fluorometolona. Resultados obtenidos.....	103
3.2.2.1. Introducción del metileno en la posición C6.....	103
3.2.2.2. Hidrogenación catalítica heterogénea del metileno en C6.....	104
3.2.2.3. Deshidrogenación en C1 con cloranilo.....	107
3.2.2.4. Formación de halohidrina, cierre del epóxido y apertura con ácido fluorhídrico.....	108
3.2.3. Síntesis de posibles impurezas.....	111

4. CONCLUSIONES.....	113
5. PARTE EXPERIMENTAL.....	119
5.1. Instrumentación.....	121
5.2. Exemestano.....	129
5.3. Fluorometolona.....	141
6. TABLAS DE ASIGNACIÓN DE CARBONOS.....	161
6.1. Exemestano.....	163
6.2. Fluorometolona.....	167
7. TABLAS BIDIMENSIONALES.....	175
8. ESPECTROSCOPÍA.....	181
8.1. Exemestano.....	183
8.2. Fluorometolona.....	205
9. RELACIÓN DE COMPUESTOS.....	255

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Abreviaturas y acrónimos.

¹H-RMN: Resonancia magnética de protón.

¹³C-RMN: Resonancia magnética de carbono C13.

¹⁹F-RMN: Resonancia magnética de fluor F19.

Ac: Acetilo.

AcOEt: Acetato de etilo.

AcONa: Acetato sódico.

AD: 4-androsten-3,17-diona.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AI: Abreviatura de *Aromatase inhibitor*. Inhibidor de aromatasa.

ARN: Ácido ribonucleico.

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero.

BSA: N,O-Bis(trimetilsilil)acetamida.

BSTFA: N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida.

BSU: N,N-Bis(trimetilsilil)urea.

Clor.: Cloranilo.

DCM: Diclorometano.

DDH: 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina.

DDQ: 2,3-Dicloro-5,6-dicianobenzoquinona.

DMF: Dimetilformamida.

Δ: Reflujo.

ED₅₀: Dosis efectiva para el 50 % de la población expuesta, o una respuesta del 50 % del sistema biológico expuesto.

h.: horas

HPLC: Abreviatura de “High pressure liquid chromatography”. Cromatografía líquida de alta presión.

HRMS-EI: Abreviatura de *High resolution mass spectrometry-electrospray ionization*. Espectroscopía de masas de alta resolución- ionización de electrospray.

IBX: Ácido 2-iodoxibenzoico.

IC₅₀: Concentración de inhibición al 50 %.

IR: Infrarrojos.

K_i: Constante de inhibición.

λ: Longitud de onda.

LH-RH: Hormona liberadora de gonadotropina.

MeOH: Metanol.

Mn(AcO)₃·2H₂O: Acetato de manganeso (III) dihidratado.

MsCl: Cloruro de mesilo o metilsulfonilo.

Abreviaturas

MW: Abreviatura de *Molecular weight*. Peso molecular.

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato. (Forma oxidada).

NADP⁺: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato. (Forma reducida).

NEt₃: Trietilamina.

nM: Nanomolar.

nm: Nanómetros.

NMA: N-metilanilina.

Ph: Fenilo.

PhCOOH: Ácido benzoico.

PMSG: Gonadotropina procedente del suero de yeguas preñadas.

ppm: Partes por millón.

p-TsOH: Ácido *para*-toluensulfónico.

SET: Abreviatura de *Single electron transfer*. Transferencia de un solo electrón.

ta: temperatura ambiente.

TBDMS: t-Butildimetilsililo.

TFA: Ácido trifluoroacético.

TfOH: Ácido tríflico o trifluorometanosulfónico.

TLC: Abreviatura de *Thin layer chromatography*. Cromatografía de capa fina.

TMSCl: Cloruro de trimetilsilano.

TMSIm: 1-Trimetilsililimidazol.

Tol: Tolueno.

uma: unidad de masa atómica.

UV: Ultravioleta.

INTRODUCCIÓN

1.1. Las hormonas.

Chevreul, un joven químico de la Francia napoleónica, descubrió las llamadas “grasas no saponificables” y en 1812 consiguió detectar una de estas grasas en cálculos biliares. Esta grasa fue denominada “colesterol”. En 1902, Bayliss y Starling demostraron que el ácido clorhídrico mezclado con alimentos parcialmente digeridos, activaba un factor sanguíneo en el duodeno que parecía actuar como “mensajero químico”. Sus investigaciones condujeron a la identificación de este mensajero al que llamaron *secretina*. Este descubrimiento les condujo a proponer la hipótesis de que no sólo la secretina, sino que muchos otros compuestos eran secretados por distintas células del cuerpo y distribuidos por el torrente sanguíneo influyendo en el funcionamiento y la bioquímica de distintos órganos. A estos compuestos los llamaron *hormonas*. Adolf Windaus, en 1932, puso en evidencia la importancia biológica de los esteroides descubriendo la fórmula estructural del colesterol, antes de que su trabajo acerca de la vitamina D le llevara a la obtención del premio Nobel en 1928.

Desde el descubrimiento de la estructura del colesterol, precursor de todos los esteroides, hasta la aplicación del primer esteroide tópico eficaz en 1952 pasaron unos 20 años.

La endocrinología es la rama médica encargada del tratamiento de enfermedades relacionadas con las hormonas y los sistemas hormonodependientes. Las hormonas son vitales para la homeostasis del organismo (la característica de un organismo vivo, mediante la cual se regula el ambiente interno para mantener una condición estable y constante), ya que facilitan el control químico sobre los procesos metabólicos y químicos de todo el cuerpo. El sistema endocrino, que ejerce control sobre estos procesos químicos por vía hormonal, regula la homeostasis en una escala media de tiempo, a diferencia del sistema nervioso cuyo control es llevado a cabo por neurotransmisores (eléctricos o electroquímicos) en una escala de tiempo más rápida y del sistema inmune cuyos inmunomoduladores controlan los procesos celulares en una escala de tiempo más larga.

Los principales órganos productores de hormonas en el organismo son la glándula pituitaria (generan hormonas peptídicas responsables de la conexión sistema nervioso-endocrino), la glándula tiroides (genera tiroxina, una hormona

mensajera), el páncreas (produce glucagón e insulina responsables del metabolismo de proteínas, lípidos y carbohidratos), las glándulas adrenales (secretan glucocorticoides, mineralocorticoides y hormonas sexuales responsables de la conexión sistema inmune-endocrino) y las gónadas (generan hormonas sexuales específicas del género que regulan el funcionamiento del sistema reproductivo) (Figura I-1).

Figura I-1

Dado que las hormonas son mensajeros químicos que regulan funciones específicas en el organismo, su manipulación farmacológica por administración de agonistas/antagonistas o activadores/inhibidores, permite la modulación de un amplio espectro de procesos bioquímicos. Además, dado que las hormonas suelen ser moléculas pequeñas con peso molecular menor de 1000 umas, pueden llevarse a cabo estudios de modelización para facilitar el diseño de medicamentos.

1.2. Los esteroides.

Los esteroides son lípidos no saponificables pertenecientes a la subclase de triterpenoides (compuestos C_{30}), aunque la mayoría de ellos han perdido entre 1 y 13 átomos de carbono. Se caracterizan por un esqueleto esterano, derivado del tetraciclo ciclopentanoperhidrofenantreno y una cadena lateral susceptible de contener un diverso número de átomos de carbono. Los cuatro anillos se nombran A, B, C y D y la numeración del esqueleto es la que se muestra en la figura I-2. La modificación del estado de oxidación de dichos anillos y la presencia de diversos grupos funcionales y cadenas hidrocarbonadas diferencia a estos compuestos entre sí.

La estereoquímica de los esteroides es compleja. La condensación de los anillos A y B de ciclohexano, como ocurre en las decalinas, conduce a dos estereoisómeros, uno de configuración *cis* y otro de configuración *trans*. Aunque las posibilidades de unión interanular *cis-trans* del resto de los anillos son muchas, casi todos los esteroides naturales, se pueden clasificar en sólo dos grandes grupos o series, atendiendo solamente a la unión *cis* o *trans* entre los anillos A y B, ya que las uniones entre los ciclos B, C y D, son prácticamente siempre *trans*. Esto genera dos epímeros, aquellos en los que esta unión puede ser *trans*, y se dice que pertenecen a la serie 5 α , o bien *cis* y se dice que pertenecen a la serie 5 β (figura I-2).

La estructura ciclopentanoperhidrofenantreno o gonano, en función de los metilos sustituyentes y de la cadena lateral presente puede dividirse en distintas estructuras, todas ellos α o β en función de la presencia y dirección del hidrógeno en la posición C5 (Figura I-3).

Figura I-3

Los esteroides son parte integral de las membranas celulares, metabolitos de las grasas, sustancias cardioactivas, hormonas y diferentes modificaciones en su estructura permiten utilizarlos como fármacos terapéuticos.

Clasificación de los esteroides.

Las principales familias de esteroides, según su estructura y su función en el organismo se pueden dividir en:

- a) Esteroles.
- b) Calciferoles o vitaminas D.
- c) Ácidos biliares.
- d) Hormonas esteroideas.
 - ❖ Estrógenos.
 - ❖ Andrógenos.
 - ❖ Progestágenos.
 - ❖ Corticoides (Mineralocorticoides y glucocorticoides).
- e) Otras estructuras con anillo esteroide: Cardenólidos y bufanólidos.

a) Esteroles.

Son los más abundantes. Estructuralmente se consideran derivados del colestano. Presentan un grupo β -OH en C3, lo que les da cierto carácter anfipático y una cadena lateral de 8 átomos de carbono en C17.

El colesterol (I), principal exponente de esta familia, es un componente habitual de la membrana plasmática de todos los seres vivos (excepto las eubacterias), donde su función es la de regular la fluidez en la bicapa lipídica.

Con mucha frecuencia aparece esterificado con ácidos grasos, y es la forma en que normalmente se almacena o se transporta por la sangre. El colesterol es el precursor metabólico de otros esteroides como los calciferoles, las hormonas esteroideas y los ácidos biliares. Una vez sintetizado, el organismo animal es incapaz de romper el sistema de anillos, de modo que es excretado como tal. Por este motivo, al ser poco soluble, el colesterol tiende a precipitar en el endotelio de los vasos sanguíneos, formando las placas de ateroma que dan lugar a la aterosclerosis, una de las causas de mortalidad más frecuentes en los países desarrollados.

Los esteroides más abundantes en las plantas superiores son el β -sitosterol (II) y el estigmasterol (III), mientras que en levaduras y otros microorganismos eucariotas se encuentra el ergosterol (IV) (Figura I-4).

Figura I-4

b) Calciferoles o vitaminas D.

Los calciferoles (vitaminas D) son esteroides implicados en la absorción de calcio por parte del intestino de los animales superiores. Su presencia en la dieta no es esencial ya que las necesidades diarias pueden cubrirse si la piel (lugar donde se produce colecalciferol (VI) a partir del colesterol (I)) se expone a una cantidad suficiente de luz solar o radiación ultravioleta artificial. Su función principal es la regulación y el equilibrio del metabolismo del calcio y el

fósforo, y la formación normal de hueso. Su deficiencia provoca el raquitismo, una enfermedad en la cual el calcio ingerido en la dieta no es absorbido por el intestino, lo que provoca que los huesos liberen calcio al plasma sanguíneo, alterando el proceso normal de osificación.

La forma activa de la vitamina D₃ es el 1,25-dihidroxicolecalciferol (también llamado calcitriol, **VII**) (Figura I-5).

Figura I-5

c) Ácidos biliares.

Se consideran como derivados estructurales del colano, y se caracterizan por tener en el C17 una cadena alifática ramificada de 5 átomos de carbono, un grupo carboxilo en C24 y entre uno y tres grupos hidroxilo en su núcleo. Cabe destacar la unión *cis* entre los anillos A y B (serie 5 β) poco habitual en los esteroides naturales. Son muy abundantes en la bilis. Los más característicos son el ácido cólico (**VIII**), el desoxicólico (**IX**) y el litocólico (**X**) (Figura I-6). Con gran frecuencia aparecen formando amidas con aminoácidos como glicina y derivados de ellos como taurina (derivado de la cisteína). Así, por ejemplo, el ácido cólico forma los ácidos taurocólico (**XI**) y glicocólico (**XII**). Las sales biliares no son las sales de los ácidos biliares, sino las sales sódicas o potásicas de los ácidos taurocólicos o glicocólicos.

Figura I-6

Las sales biliares son moléculas fuertemente anfipáticas que el organismo utiliza como emulsionantes de los lípidos que llegan al intestino, para favorecer su digestión y absorción.

d) Hormonas esteroideas.

Son sustancias producidas por las glándulas endocrinas, que se distribuyen por el torrente sanguíneo y ejercen funciones de regulación metabólica en tejidos específicos. Se distinguen 4 familias de hormonas esteroideas:

1.- Los **estrógenos** son derivados del esqueleto estrano, de 18 átomos de carbono y su anillo A es aromático. Son hormonas propias de la primera mitad del ciclo sexual femenino. Se producen en los ovarios y, en menor medida, en las glándulas adrenales. Inducen fenómenos de proliferación celular sobre los órganos diana, principalmente endometrio, mama y ovario. Son causantes del crecimiento de los órganos sexuales femeninos y de la mayor parte de los caracteres sexuales secundarios.

El primer estrógeno aislado fue la estrona, procedente de la orina de una mujer embarazada y su aislamiento en 1929 fue debido a Doisy, Butenandt y Laqueur. Los estrógenos naturales más importantes son el 17β -estradiol (**XIII**), la estrona (**XIV**) y el estriol (**XV**) (Figura I-7). Se ha llegado a afirmar que la hormona propiamente dicha es el 17β -estradiol (80% de la potencia estrogénica), mientras que los otros dos son productos de su metabolismo. Los ovarios, segregan también andrógenos, como la 4-androstendiona (**XIX**) (Figura I-8).

Debe destacarse un derivado sintético, el etinilestradiol (**XVI**) que, en combinación con distintos progestágenos, es el principal componente de los anticonceptivos orales.

Figura I-7

2.- Los **andrógenos** se consideran derivados del androstano, de 19 átomos de carbono. Son las hormonas sexuales masculinas. Originan el desarrollo de los órganos sexuales masculinos y de la mayor parte de los caracteres sexuales secundarios (por ejemplo la cresta de los gallos). Se producen en los testículos, siendo el principal andrógeno la testosterona (**XVII**) y cuyos principales productos de metabolismo son androsterona (**XVIII**) y 4-androstendiona (**XIX**) (Figura I-8). En los testículos se producen también estrógenos (un 20 % de los que se producen en los ovarios), probablemente a partir de testosterona. La biosíntesis de testosterona se produce a partir de colesterol (**I**), y una vez segregada, circula por la sangre de 15 a 30 minutos, fijándose por los tejidos o desdoblándose en productos de excreción. La testosterona y otros derivados sintéticos como la nandrolona (19-nor-testosterona, **XX**) tienen efecto anabolizante (favorece el crecimiento de los tejidos), siendo sustancias habitualmente implicadas en los casos de dopaje deportivo.

Figura I-8

3.- Los **gestágenos** o progestágenos derivan del esqueleto pregnano, de 21 átomos de carbono. Son hormonas femeninas implicadas en el ciclo menstrual, y que adquieren especial importancia durante el embarazo. Preparan la matriz para la implantación del óvulo fecundado, y una vez producida la fecundación, mantiene el embarazo y la lactancia. El único progestágeno natural es la progesterona (**XXI**) (Figura I-9). este compuesto, tiene propiedades antiestrogénicas (es decir, revierten los efectos de los estrógenos del cuerpo) y antigonadotrópicas (es decir, inhiben la producción de esteroides sexuales en las gónadas). Entre los progestágenos sintéticos, se encuentra levonorgestrel (13 β -Etil-17 α -etinil-17 β -hidroxi-4-gonen-3-ona, **XXII**), anticonceptivo de emergencia conocido como “píldora del día después”.

XXI: Progesterona

XXII: Levonorgestrel

Figura I-9

4.- Los **corticoides** también derivan del pregnano, y difieren de los progestágenos porque tienen un hidroxilo en C21. Son hormonas segregadas por la corteza suprarrenal. Estos compuestos se abordarán con más detalle posteriormente en la sección 1.4.

e) Otras estructuras con anillo esteroide: **Cardenólidos** y **bufanólidos**.

Los glicósidos cardiotónicos son sustancias constituidas por un anillo esteroide, una cadena glicosídica (generalmente unida al 3 β -OH) y un anillo de γ -lactona α,β -insaturada (cardenólidos), o δ -lactona α,β -insaturada (bufanólidos).

Estos compuestos se encuentran principalmente en las hojas de plantas tropicales, principalmente de las familias *Scrophulariaceae*, *Apocynaceae*, *Liliaceae*, *Ranunculaceae* y *Moraceae*. Los bufanólidos se han encontrado también en secreciones de la piel de ranas y sapos tropicales del género *Bufus*, y en las alas de mariposas monarca. Los extractos de plantas y ranas apropiados han sido utilizados como venenos de flecha por cazadores nativos tropicales, pero en bajas concentraciones, estos glicósidos actúan como estimulantes

cardíacos y han sido utilizados tanto en medicina tradicional como, últimamente, en medicina contemporánea. También han sido considerados de interés por su potencial anticancerígeno.¹ Un ejemplo de cardenólidos es la digitonina, con su esqueleto esteroide digitogenina (**XXIII**) o la digitoxina, con su esqueleto digitoxigenina (**XXIV**), mientras que del grupo de los bufadienólidos (menos abundante) puede tomarse como ejemplo la bufotalina (**XXV**).

Figura I-10

Mecanismo de acción.

A nivel molecular todos los esteroides muestran un modelo de acción común. Son moléculas hidrofóbicas capaces de atravesar las membranas celulares por difusión simple. Intracelularmente, el esteroide se une de forma reversible a un receptor proteico específico. En función del esteroide, éste puede unirse a un receptor citoplasmático, lo que ocasiona en el receptor una modificación alostérica de su configuración incrementando su capacidad de migrar a través de los poros nucleares, o bien atravesar los poros nucleares por sí mismo y unirse a un receptor presente en el núcleo celular. El complejo esteroide-receptor proteico tiene gran afinidad para unirse al ADN y ocasiona una acumulación de los complejos hormona-receptor en el núcleo celular.

Algunos de los receptores de la hormona activados, se unen al ADN nuclear y son capaces de modular la transcripción genética. Este es el proceso a través del cual las moléculas de ARN abandonan el núcleo y como moléculas ARNm dan lugar a la síntesis de nuevas proteínas en el citoplasma (Figura I-11).²

¹ Pettit, G.R., *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59(8), 812-821.

² Avendano, C.; Menendez, J.C., *"Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs"*, Elsevier, Amsterdam, **2008**, pp 50-55.

Figura I-11

1.3. Exemestano, un inhibidor esteroide de aromatasa de importancia clínica.

El cáncer de mama es una de las causas principales de mortandad en mujeres, con un millón de nuevos casos cada año en el mundo y con una tasa superior a 56 decesos por cada 100.000 habitantes en Europa occidental.³ Se conoce que al menos un tercio de los tumores de mama son hormonalmente dependientes⁴ y se dispone de una amplia y contrastada evidencia acerca de que los estrógenos son las hormonas más significativamente involucradas en el crecimiento de este tipo de tumores.⁵ Hace más de un siglo, se contrastó que la administración o supresión de hormonas interfería en el crecimiento de algunos tumores. La regresión de carcinomas de mama metastáticos pudo confirmarse mediante ovariectomía⁶ y se obtuvieron avances importantes en terapia endocrina para cánceres de mama con la práctica de adrenalectomías en los años cincuenta e hipofisectomías en los años sesenta como métodos de reducción de la biosíntesis de estrógenos.

El desarrollo de protocolos clínicos de medición de receptores hormonales⁷ que permitieran la identificación de pacientes predispuestos a responder a terapias hormonales (60% de mujeres postmenopáusicas), proporcionó un vigoroso impulso a la búsqueda y desarrollo de antiestrógenos, progestágenos, antagonistas LH-RH (hormona liberadora de la gonadotropina) e inhibidores de la biosíntesis de estrógenos, con el fin de contrarrestar la acción de los estrógenos.

El uso de agentes bloqueantes de la biosíntesis de estrógenos como medio de reducción de los niveles de estrógenos en circulación, puso de manifiesto la importancia del enzima aromatasa como objetivo primordial para el tratamiento selectivo y efectivo de algunas pacientes postmenopáusicas con tipos de cáncer de mama hormonalmente dependientes.^{8,9}

³ McPherson, K.; Steel, C.M.; Dixon, J.M., *Br. Med. J.*, **2000**, 321, 624.

⁴ Henderson, I. C.; Canellos, G.P., *N. Engl. J. Med.*, **1980**, 302, 17.

⁵ Segaloff, A., "Hormones and mammary carcinogens.", In: McGuire, W.L., (Ed.) *Advances in Research and Treatment, Experimental Biology*, Plenum, New York, **1978**, pp. 1-22.

⁶ Beatson, G.T., *Lancet*, **1986**, 2, 104.

⁷ Jensen, E. V., Greene, G. L., Closs, L. E. DeSombre, E. R., *Rec. Prog. Horm. Res.*, **1982**, 38, 1.

⁸ Santen, R. J., *Steroids*, **1977**, 50, 575.

⁹ Various authors, *Cancer Res.*, **1982**, 42S.

La aromatasa cataliza el último paso de la biosíntesis de estrógenos (Esquema I-1), que convierte andrógenos en estrógenos en ambos tipos de pacientes: pre y postmenopáusicas.¹⁰ Mientras que la principal fuente de estrógenos (principalmente estradiol) es el ovario en mujeres premenopáusicas, la principal fuente de estrógenos en mujeres postmenopáusicas es la aromatización de andrógenos (androstenediona y testosterona) de origen suprarrenal y ovárico a estrógenos (estrona y estradiol) mediante la enzima aromatasa en tejidos periféricos (músculo y tejido adiposo).

a. Desmolasa; b. 3 β -Deshidrogenasa; c. 17 α -Hidroxilasa; d. 17,20-Liasa; e. Aromatasa.

Esquema I-1

La testolactona, comercializada con el nombre de TESLAC[®] (XXVI, Figura I-13), y la aminoglutetimida comercializada bajo el nombre ORIMETEN[®] (XXXI), pueden considerarse como fármacos pioneros de este tipo. El primero ha sido utilizado en tratamiento clínico durante 20 años para el tratamiento del cáncer postmenopáusico de mama con efectos moderados y más tarde resultó ser un inhibidor irreversible de aromatasa de baja potencia;¹¹ el segundo, un inhibidor de aromatasa no esteroide, no específico, reversible y competitivo, demostró sus propiedades endocrinas en forma aleatoria después de su utilización clínica como anticonvulsivo.¹²

Puesto que estos fármacos han demostrado ser útiles para el tratamiento del cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas con moderada eficacia y

¹⁰ Thompson Jr., E.A.; Siiteri, P.K., *J. Biol. Chem.*, **1974**, 249, 5373.

¹¹ Barone, R. M.; Shamonki, I. M.; Siiteri, P. K.; Judd, H. L., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **1979**, 49, 672.

¹² Griffiths, C.T.; Hall, T.C.; Saba, Z.; Barlow, J.J.; Nevinny, H.B., *Cancer*, **1973**, 32, 31.

tolerabilidad, la búsqueda y desarrollo de nuevos inhibidores de aromatasa, más potentes, específicos, y seguros, se constituyó pronto en una opción atractiva, compartida y bien fundada en el comienzo de los ochenta. Los esfuerzos de numerosos grupos de investigación en todo el mundo obtuvieron finalmente una selección de inhibidores de aromatasa, que están actualmente en uso clínico o en protocolos clínicos avanzados,^{13,14,15,16,17} (Figuras I-12 e I-13) colocando a estos fármacos en los principales puestos de la terapia endocrina para el tratamiento del cáncer de mama.^{18,19,20,21,22,23}

Inhibidores no esteroideos

Figura I-12

¹³ Lombardi, P., *Curr. Pharm. Des.*, **1995**, 1, 23.

¹⁴ Combs, D.W., *Expert Opin. Ther. Pat.*, **1995**, 5, 529.

¹⁵ Brodie, A.M.H.; Njar, V.C.O., *Semin. Oncol.*, **1996**, 23, 10.

¹⁶ Harvey, H.A., *Semin. Oncol.*, **1996**, 23, 33.

¹⁷ Miller, W.R., *Endocr.-Relat. Cancer*, **1996**, 3, 65.

¹⁸ Buzdar, A.U., *Endocr.-Relat. Cancer*, **1999**, 6, 219.

¹⁹ De Jong, P.C.; Blijham, G.H., *Neth. J. Med.*, **1999**, 55, 50.

²⁰ Santen, R.J.; Harvey, H.A., *Endocr.-Relat. Cancer*, **1999**, 6, 75.

²¹ Coombes, R.C.; Harper-Wynne, C.; Dowsett, M., *Endocr.-Relat. Cancer*, **1999**, 6, 259.

²² (a) Brodie, A.M.; Njar, V.C., *Steroids*, **2000**, 65, 171.; (b) Johnston, S.R., *Hosp. Med.*, **2000**, 61, 650.

²³ Goss, P.E.; Strasser, K., *J. Clin. Oncol.*, **2001**, 19, 881.

Inhibidores esteroideos

Figura I-13

La enzima aromatasa y sus inhibidores.

La aromatización de esteroides androgénicos (C19) para la obtención de esteroides estrogénicos (C18) se lleva a cabo mediante el complejo enzimático aromatasa (estrógeno sintetasa). El complejo está formado por una flavoproteína, el fosfato reducido del dinucleótido de nicotinamida adenina (NADPH)-citocromo P-450 reductasa, que transfiere electrones del NADPH al enzima terminal, y una forma específica del citocromo P-450, conocido como aromatasa citocromo P-450, que es la proteína responsable del reconocimiento específico del enlace con los sustratos esteroides C19. Esta última cataliza la degradación oxidativa del carbono C-19 en tres etapas, culminando en la ruptura del metilo angular C-19 y en la aromatización del anillo A, con formación de agua y ácido fórmico (Esquema I-2).²⁴ El proceso se lleva a cabo debido a la habilidad del grupo prostético (complejo hemo-Fe porfirina) de la aromatasa para activar el dioxígeno y facilitar la inserción de éste en los enlaces C-H. A lo largo de estos últimos años se han propuesto un numeroso grupo de mecanismos para la explicación del tercer paso oxidativo así como para el desenlace estereoquímico de la eliminación de los hidrógenos 1 y 2 y todavía hoy tales cuestiones son objeto de debate.^{25,26,27,28,29,30,31,32,33,34}

²⁴ Skinner, S.J.M.; Akhtar, M., *Biochem. J.*, **1969**, 114, 75.

²⁵ Fishman, J., *Cancer Res.*, **1982**, 42S, 3277.

²⁶ Covey, D.F.; Hood, W.F., *Cancer Res.*, **1982**, 42S, 3327.

²⁷ Watanabe, Y.; Ishimura, Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 8047.

Esquema I-2

Actualmente se cree que la aromatasa lleva a cabo tres pasos consecutivos de oxidación de los andrógenos. Los dos primeros pasos conducen a los 19-hidroxi y a los 19-oxo derivados; sin embargo, el sitio de incorporación del tercer grupo hidroxilo no está establecido de forma definitiva. Presumiblemente, la tercera hidroxilación tiene lugar en C2 y de esta forma se produce la aromatización del anillo A de androst-4-en-3,17-diona (AD). La pérdida del metilo angular en C19 y la eliminación *cis* de los átomos de hidrógeno de las posiciones C1 y C2 conducen a la formación de estrona y ácido fórmico.

²⁸ Cole, P.A.; Robinson, C.H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 8130.

²⁹ Caspi, E.; Dharmaratne, H.R.W.; Roitman, E.; Shackleton, C., *J. Chem. Soc., Perkin Trans., I*, **1993**, 1191.

³⁰ Akhtar, M.; Njar, V.C.O.; Wright, J.N., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **1993**, 44, 375.

³¹ Robinson, C.H.; Oh, S.S., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **1993**, 44, 389.

³² Oh, S.S.; Robinson, C.H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans., I*, **1994**, 2237.

³³ Ahmed, S., *Drug Des. Discov.*, **1998**, 15, 239.

³⁴ Kao, Y.C.; Korzekwa, K.R.; Laughton, C.A.; Chen, S., *Eur. J. Biochem.*, **2001**, 268, 243.

Según el mecanismo de acción, los inhibidores de aromatasa se clasifican en reversibles o competitivos e irreversibles. Los compuestos que, como los sustratos androgénicos usuales, se unen al centro activo de la aromatasa de forma reversible y competitiva respecto a la AD para formar un complejo que no experimenta fácilmente una disociación rápida, son inhibidores de aromatasa (AI) competitivos, capaces de unirse al átomo de Fe del citocromo P-450 hemo y manifestar su actividad inhibidora tanto *in vivo* como *in vitro*.

Un numeroso grupo de esteroides AI son irreversibles. La inhibición irreversible del enzima implica la conversión del sustrato esteroide en un complejo activo que puede unirse irreversiblemente al enzima. Estos compuestos se denominan también “inhibidores suicidas”. Estos últimos tienen un número de ventajas sobresalientes sobre los AI reversibles competitivos debido a su alta especificidad y habilidad para la inhibición irreversible. Por tanto, los AI irreversibles producen una activación de larga duración de la aromatasa *in vivo*.

Inhibidores de aromatasa no esteroides (Figura I-13).

a) Heterocíclicos.

a₁) Inhibidores de primera y segunda generación: Este tipo de inhibidores de aromatasa no esteroides poseen un heteroátomo como singularidad química el cual interfiere en las hidroxilaciones de esteroides mediante el enlace de este heteroátomo con el átomo de Fe del citocromo P-450. Los inhibidores no esteroides iniciales fueron poco específicos e inhibieron, en diversos grados, otras hidroxilaciones de la biogénesis de esteroides mediatizadas por el citocromo P-450. La aminogluteimida (**XXXI**) fue el prototipo de inhibidor de aromatasa no esteroide.³⁵ La aminogluteimida fue originalmente un agente antiepiléptico que fue retirado del mercado debido a efectos secundarios graves; más tarde se demostró su carácter inhibidor de los citocromos P450_{SCC} y P450_{arom}. La mezcla racémica (*dl*-aminogluteimida inhibe la aromatasa con un valor K_i aparente de 700 nM. El estereoisómero *d*-aminogluteimida resultó ser 20 veces más potente que su imagen especular, la *l*-aminogluteimida.

³⁵ Cocconi, G., *Breast Cancer Res. Treat.*, **1994**, 30, 57.

Debido a que la aminogluteimida fue el primer inhibidor de aromatasa estudiado en pacientes, se le considera inhibidor de aromatasa de primera generación. Su uso clínico ha mostrado algún éxito en el tratamiento de pacientes con cáncer de mama avanzado, pero debe ser suministrado con corticoides debido al efecto inhibidor que ejerce sobre la biosíntesis de cortisol y aldosterona.³⁶ Aunque resultó ser efectivo al disminuir la aromatización de esteroides, también inhibió un determinado número de enzimas esteroideogénicas CYP-450, por lo que resultó ser tóxico. El derivado imidazólico fadrozol (**XXXIII**) es un potente inhibidor de aromatasa competitivo tanto *in vitro* como *in vivo*.³⁷ El fadrozol es un inhibidor de segunda generación más selectivo que la aminogluteimida y su actividad inhibidora, es 700 veces más potente. Estudios clínicos han demostrado que es efectivo en el tratamiento de algunas mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama avanzado. Se han obtenidos respuestas parciales y completas mediante el tratamiento con fadrozol. Sin embargo, este compuesto posee todavía algún tipo de actividad inhibidora no selectiva respecto a la biosíntesis de aldosterona, progesterona y corticosterona. El valor K_i aparente del fadrozol racémico en microsomas de placenta humana es de 1.6 nM, y el isómero (-)-S es equipotente respecto al racemato, mientras que el isómero (+)-R despliega una actividad inhibidora con un K_i aparente de 39 nM.³⁸

a₂) Inhibidores de tercera generación: Hasta el momento se han desarrollado con éxito numerosos inhibidores de aromatasa con anillo de triazol. El vorozol (**XXXVI**) inhibe potentemente la aromatasa en numerosos sistemas *in vitro*, con valores K_i aparentes de 1.3 nM en microsomas de placenta humana.³⁹ El racemato ha sido estudiado concienzudamente, pero se sabe que el isómero (+)-S es 36 veces más potente que el isómero (-)-R.⁴⁰ La regresión de tumores en un modelo de tumor hormonodependiente en ratas ha sido demostrada con diversas dosis de vorozol. Otro triazol análogo es el anastrozol (**XXXV**), que es un

³⁶ Hoffken, K., *Cancer Treat. Rev.*, **1993**, 19(Suppl B), 37.

³⁷ Trunet P.F.; Vreeland, F.; Royce, C.; Chaudri, H.A.; Cooper, J.; Bhatnagar, A.S., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **1997**, 61, 241.

³⁸ Furet, P.; Batzl, C.; Bhatnagar, A.; Francotte, E.; Rihs, G.; Lang, M., *J. Med. Chem.*, **1993**, 36, 1393.

³⁹ Vanden Bossche, H.; Willemsens, G.; Roels, I.; Bellens, D.; Noereels, H.; Coene, M.C.; Le Jeune, L.; Lauwers, W.; Janssen, P.A., *Biochem. Pharmacol.*, **1990**, 40, 1707.

⁴⁰ Wouters, W.; Snoeck, E.; De Coster, R., *Breast Cancer Res. Treat.*, **1994**, 30, 89.

derivado triazol aquiral.⁴¹ El anastrozol es un inhibidor de aromatasa que ha exhibido un valor IC_{50} de 15 nM en microsomas de placenta humana. *In vitro*, el anastrozol no actúa sobre otros enzimas P450 como el P450_{SCC}, 11 β -hidroxilasa, 18-hidroxilasa, 17 α -hidroxilasa y lanosterol-14 α -desmetilasa. Estudios *In vivo* efectuados en monos, demostraron que el anastrozol a dosis menores que 0.2 mg/kg·día redujeron la actividad de aromatasa periférica en un 50-60%. El tercer derivado triazol, letrozol (**XXXIV**) es un potente inhibidor de aromatasa con un valor IC_{50} de 11.5 nM en microsomas de placenta humana.⁴² En estudios *in vitro*, el letrozol no tuvo efecto en sobre la biosíntesis de otros esteroides tales como aldosterona, progesterona, o corticosterona. *In vivo* el letrozol resultó ser activo oralmente y causó la regresión del tumor de rata 7,12-dimetilbenz(a)antraceno hormono-dependiente y exhibió su carácter inhibidor de aromatasa en pacientes.⁴³ En resumen, se ha alcanzado un grado de especificidad más alto con una nueva generación de triazoles (letrozol y anastrozol); estos nuevos agentes son de 100 a 3000 veces más activos que la aminogluteimida y todos inhiben la aromatización en grados superiores al 96%.

Los inhibidores de aromatasa como la aminoglutetimida (**XXXI**), rogletimida (**XXXII**), fadrozol (**XXXIII**), letrozol (**XXXIV**), anastrozol (**XXXV**) y vorozol (**XXXVI**), actúan uniéndose de forma reversible al enzima e interfiriendo con el grupo hemo-Fe del dominio citocromo P-450 del enzima. Debido a su carácter reversible, la carencia de estrógenos depende de la presencia del fármaco, planteando problemas de toxicidad.”

b) Flavonoides.

Los flavonoides son productos naturales presentes en numerosas fuentes de alimentación, incluyendo frutas, vegetales, legumbres y cereales. El grupo de los flavonoides comprende principalmente las flavonas, isoflavonas, flavanonas y flavonoles, todos ellos poseen un sistema anular benzopirano como esqueleto básico. El considerable interés por las flavanonas en el estudio del cáncer de mama ha sido estimulado por la hipótesis de que estos productos naturales, presentes en la harina de soja y de centeno, constituyen factores

⁴¹ Plourde, P. V.; Dyroff, M.; Dukkes, M., *Breast Cancer Res. Treat.*, **1994**, 30, 103.

⁴² Bhatnagar, A.S.; Hausler, A.; Schieweck, K.; Lang, M.M.; Bowman, R., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **1990**, 37, 1021.

⁴³ Demers, L.M., *Breast cancer Res. Treat.*, **1994**, 30, 95.

dietéticos que pueden ser responsables de la baja incidencia del cáncer de mama en mujeres procedentes de ciertas regiones del mundo.^{44,45} Varios flavonoides despliegan actividad inhibidora sobre la enzima aromatasa, reduciendo la biosíntesis y los niveles de estrógenos en circulación (Figura I-14).^{46,47,48,49,50,51} Sin embargo, estos productos naturales poseen numerosas actividades biológicas e interaccionan con numerosos enzimas y sistemas receptores de importancia farmacológica, limitando por tanto, su utilidad terapéutica.

Figura I-14

⁴⁴ Adlercreutz, H., *Environ. Health Perspect.*, **1995**, 103 (Suppl. 7), 103.

⁴⁵ Wang, C.; Makela, T.; Adlercreutz, H.; Kurzer M.S., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **1994**, 50, 205.

⁴⁶ Kellis, Jr., J.T.; Vickery, L.E., *Science*, **1984**, 225, 1032.

⁴⁷ Ibrahim, A.R.; Abul-Hajj, Y.J., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **1990**, 37, 257.

⁴⁸ Le Bail, J.C.; Poget, C.; Laroche, T.; Marre-Fournier, F.; Habrioux, G., *Cancer Lett.*, **1998**, 133, 101.

⁴⁹ Le Bail, J.C.; Pouget, C.; Fagnere, C.; Basly, J.P.; Chulia, A.J.; Habrioux, G., *Life Sci.*, **2001**, 68, 751.

⁵⁰ Kao, Y.C.; Zhou, C.; Sherman, M.; Loughthon, C.A.; Chen, S., *Environ. Health Perspect.*, **1998**, 106, 85.

⁵¹ Pouget, C.; Fagnere, C.; Basly, J.P.; Besson A.E.; Champavier, Y.; Habrioux, G.; Chulia, A.J., *Pharm. Res.*, **2002**, 19, 286.

Pruebas determinantes de la unión de flavonas al sitio activo de la aromatasas pudieron ser obtenidas mediante estudios espectroscópicos de absorción, por desplazamiento del sitio activo de la aromatasas de la AD por la 7,8-benzoflavona e induciendo un espectro consistente con el estado de bajo spin del Fe. La reducción del grupo ceto en C4 resultó ser perjudicial para la inhibición de aromatasas por este tipo de compuestos. Basado en datos obtenidos de estudios de mutagénesis dirigidos y *docking* de ligandos en un modelo homólogo de la proteína aromatasas, se pudo predecir una orientación enlazante en la que los anillos A y C de la flavona mimetizaban los anillos C y D del sustrato esteroide, respectivamente. El sustituyente 2-fenilo se orientaba en una región similar a la ocupada por el anillo A del esteroide. Este análisis coloca a la funcionalidad 4-ceto de la flavona en la misma posición que la correspondiente al grupo metilo angular C19 del esteroide, respecto del grupo hemo-Fe.

Las contribuciones de la química médica al desarrollo de análogos sintéticos de flavonoides, cromonas, y xantonas con actividad inhibidora de la aromatasas acrecentada, han identificado agentes más selectivos y potentes para futuros desarrollos.^{52,53,54} Por lo general, las flavonas y flavanonas, tienen actividades inhibidoras de aromatasas superiores a las isoflavonas (Figura I-13). La flavona crysina (**XXXVII**) tiene un valor IC₅₀ de 0.50 µM; la apigenina (**XXXVIII**), flavona (**XLI**), flavanona (**XLII**) y quercetina (**XL**) resultaron ser menos eficaces inhibidores con valores IC₅₀ de 1.2; 8; 8 y 12 µM, respectivamente. Las isoflavonas son inhibidores significativamente menos potentes. El inhibidor isoflavona más efectivo es la biocanina A (**XXXIX**) con un valor IC₅₀ 113 µM, aproximadamente veinte veces menos que la crysina (**XXXVII**) respecto a valores IC₅₀.⁵⁵ Esta diferencia en potencia es probablemente la razón que explica el por qué del escaso esfuerzo efectuado para desarrollar inhibidores de aromatasas con esqueleto de isoflavona. Por otra parte, se ha considerado que la introducción de grupos funcionales adecuados en el núcleo de isoflavona podría dar lugar a la deseada actividad aromatasas. Como prueba, se introdujo la agrupación 2-(4-piridilmetil)tio en el núcleo de isoflavona, y se comprobó que esta modificación provocó un aumento de potencia 160 veces mayor que la que

⁵² Poget, C.; Fagnere, C.; Basly, J.P.; Habrioux, G.; Chulia, A.J., *Biorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, 12, 2859.

⁵³ Recanatini, M.; Bisi, A.; Cavalli, A.; Belluti, F.; Gobbi, S.; Rampa, A.; Valenti, P.; Palzer, M.; Paluszczak, A.; Hartman, R.W., *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 672.

⁵⁴ Brueggemeier, R.W.; Richards, J.A.; Joomprabutra, S.; Bhat, A.S.; Whetstone, J.L., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **2001**, 79, 75.

⁵⁵ Hodek, P.; Trefil, P.; Stiborova, M., *Chem. Biol. Interact.*, **2002**, 139, 1.

correspondía al producto natural sin modificar, biocanina A (**XXXIX**).⁵⁶ En otros ensayos clínicos con microsomas procedentes de placenta humana, el análogo sintético piridil-isoflavona, (3-fenil-7-(fenilmetoxi)-2-[(4'-piridilmetil)tio]-4H-1-benzopiran-4-ona) (**XLIV**), exhibió un valor IC₅₀ de aproximadamente 210 nM y un presunto valor K_i de 220 nM.

Inhibidores de aromatasa esteroides (Figura I-13).

*Androstanos modificados. Descripción general.*⁵⁷

Desde 1973, más de 100 esteroides han sido estudiados por H. Brodie y A. Brodie por su potencial actividad antiaromatasa^{58,59} Los inhibidores candidatos fueron evaluados *in vitro* mediante comparación del alcance de aromatización de la [1 β ,2 β -³H]androstenediona a estrógeno en incubaciones de microsomas procedentes de tejidos provistos de aromatasa (placenta humana u ovarios de rata estimulados con gonadotropina procedente del suero de yeguas preñadas, PMSG). La actividad sintética encaminada a la preparación de inhibidores de aromatasa por modificación del esqueleto androstano ha permitido la obtención de androstanos sustituidos en C19 (Figura I-14), sustituidos en C4 (Figura I-15), sustituidos en C1 (Figura I-16), sustituidos en C6 (Figura I-17) y disustituidos en C6 y C7 (Figura I-18).

Androstanos sustituidos en C19.

Este tipo de esteroides (Figura I-15) se obtuvo en su mayor parte a partir de derivados con el doble enlace en 5(10) o a partir de 19-hidroxi(oxo)androstanos utilizando diversos métodos de síntesis orgánica para su transformación, como epoxidaciones, aperturas de epóxido, sustitución en C19 de grupos mesiloxi, tosiloxi y grupos halógeno, fluoración, etinilaciones de Wittig, Corey y Mitsunobu y otras aproximaciones más sofisticadas.

⁵⁶ Kim, Y.W.; Hackett, J.C.; Brueggemeier, R.W., *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 4032.

⁵⁷ Levina, I.S., *Russ. Chem. Rev.*, **1998**, 11, 975.

⁵⁸ Schwarzel, W.C.; Kruggel, W.G.; Brodie, H.J., *Endocrinology*, **1973**, 92, 866.

⁵⁹ Brodie, A.M.H.; Schwarzel, W.C.; Brodie, H.J., *J. Steroid Biochem.*, **1976**, 7, 787.

Figura I-15

Androstanos sustituidos en C4.

De todos los androstanos sustituidos, aquellos que lo son en posición C4 como el 4-hidroxiandrost-4-en-3,17-diona, formestano (**XXVII**), es el más popular y el más exhaustivamente estudiado (Figura I-16).

Figura I-16

Androstanos sustituidos en C6 y androstanos sustituidos en C1.

La 6-metilen-androsta-1,4-dien-3,17-diona sintetizada en los ochenta como fármaco antitumoral conocido con el nombre comercial de exemestano (**XXVIII**), es el inhibidor de aromatasa más conocido de la serie de androstanos sustituidos en C6 (Figura I-17). Se trata de un inhibidor irreversible, selectivo, oralmente activo y 2.5 veces más activo que el formestano (**XXVII**). Por otra parte la 1-metil-androsta-1,4-dien-3,17-diona (**XXIX**), es el más conocido AI de la serie de androstanos sustituidos en C1, fue sintetizado en 1983⁶⁰ y patentado bajo el nombre de atamestano en más de una docena de países. El atamestano es un inhibidor irreversible de la biosíntesis de estrógenos *in vitro* e *in vivo*.

Figura I-17

Androstanos sustituidos en C7 y androstanos sustituidos en C6 y C7.

El paso clave en la síntesis de androstano sustituidos en C7 es la adición conjugada de derivados organometálicos a 6-desidro derivados de AD (Figura I-18).

⁶⁰ Kerb, U.; Sauer, G.; Wiechert, R.; Henderson, D.; Nishino, Y.; Beier, S.; **1983** (DE), Patent EP 129500, **1985**. *Chem. Abstr.*, **1985**, 102, 204169.

Figura I-18

Entre los análogos de androstendiona (Figura I-19), los inhibidores de aromatasa con actividad más destacada resultaron ser los ya mencionados formestano (**XXVII**) y exemestano (**XXVIII**), y además, 1,4,6-androstratrien-3,17-diona (**CXXXII**),⁶¹ y 4-androsten-3,6,17-triona (**CXXXIII**).

Todos estos inhibidores exhibieron típicas gráficas Lineweaver-Burk de inhibición competitiva, que tienen lugar en presencia del sustrato (AD) y

⁶¹ Brodie, A.M. H.; Brodie, H.J.; Garrett, W.M.; Hendrickson J.R.; Marsh, D.H.; Tsai-Morris C.H., *Biochem. Pharmacol.*, **1982**, 31, 2017.

el inhibidor, y que también provocan la pérdida de la actividad del enzima dependiendo del tiempo en forma lenta, lo que corresponde a cinéticas de primer orden en microsomas preincubados en ausencia del sustrato, pero en presencia del cofactor NADPH.⁶²

En ausencia del coenzima no tuvo lugar pérdida de actividad alguna. Estos descubrimientos sugirieron que los cuatro compuestos mencionados provocan la inactivación a largo plazo o una inhibición irreversible de la aromatasa, y pueden considerarse como inhibidores suicidas desde el punto de vista mecanístico.

Figura I-19: Análogos de androstenodiona inhibidores de aromatasa.

Exemestano.

Con el fin de superar el metabolismo desfavorable y la pobre disponibilidad oral de la 4-hidroxiandrostenodiona (**XXVII**), varios grupos se involucraron en la síntesis y evaluación farmacológica de inhibidores irreversibles de aromatasa con actividad oral mejorada.

A pesar de la impresionante química de esteroides desarrollada en décadas previas, la estructura de exemestano (**XXVIII**) resultó ser novedosa. El diseño de la molécula fue el resultado de los descubrimientos iniciales de que los inhibidores de aromatasa efectivos recuerdan al sustrato AD estérica y electrónicamente y la inhibición óptima se encontró en derivados que contenían las agrupaciones $\Delta^{1,4,6}$ -3-ona (**CXXXII**), Δ^4 -3,6-diona (**CXXXIII**), o $\Delta^{4,6}$ -3-ona (**CXXXIV**). Las agrupaciones 6-ceto y Δ^6 de estos compuestos amplían la conjugación lineal del sistema Δ^4 -3-ona, y el sistema enzimático parecía unirse bien a estos sistemas π deslocalizados de larga extensión. El exemestano inhibe la aromatasa procedente de la placenta humana con una potencia similar al

⁶² Brodie, A.M.H.; Schwarzel, W.C.; Shaikh, A.A.; Brodie, H.J., *Endocrinology*, **1977**, 100, 1648.

formestano (en experimentos comparativos, IC_{50} = 42 y 44 nM, respectivamente) y en estudios de preincubación, el exemestano produjo la inactivación del enzima dependiente del tiempo (irreversible).^{63,64}

Sin embargo, ambas, la androsta-4,6-dien-3,17-diona (**CXXXIV**) y la 6-metilenandrost-4-en-3,17-diona (**CXXXI**) no son inactivadoras dependiendo del tiempo, y la inhibición de aromatasa irreversible que exhiben el exemestano así como 1,4,6-androstatrien-3,17-diona (**CXXXII**) y 1,4-androstadien-3,17-diona (**CXXXV**) puede deberse a la falta del hidrógeno 1 β .

En el tiempo en que estos compuestos estaban siendo caracterizados, se propuso un mecanismo para la conversión de andrógenos en estrógenos, postulando la formación de un intermedio (**CXXXVI**) unido al enzima (Figura I-20). Este intermedio colapsa hacia un producto aromatizado vía eliminación del hidrógeno 1 β y enolización de la agrupación ceto-dieno resultante que libera el estrógeno y simultáneamente regenera la enzima libre inalterada. En presencia del doble enlace 1,2, el intermedio unido al enzima se aromatizará sin experimentar la reacción de eliminación final. Por tanto, la instauración 1,2 actúa como un grupo alquilante.

Figura I-20

El exemestano experimentó el desarrollo preclínico en 1986 y superó con éxito las pruebas clínicas durante los años 90 para recibir la aprobación FDA el 21 de Octubre de 1999, hace ahora diez años, como fármaco para el tratamiento de cáncer de mama avanzado en mujeres postmenopáusicas cuya enfermedad ha progresado siguiendo terapia con el antiestrógeno tamoxifeno (**CXXXVII**) (Figura I-21). El compuesto, comercializado como AROMASIN[®] (Pharmacia) es el primer inactivador de aromatasa por vía oral.

⁶³ Giudici, D.; Ornati, G.; Briatico, G.; Buzzetti, F.; Lombardi, P.; di Salle, E., *J. Steroid Biochem.*, **1988**, 30, 391.

⁶⁴ di Salle, E.; Giudici, D.; Briatico, G.; Ornati, G., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1990**, 595, 357.

Figura I-21

Síntesis.

Dado que el exemestano es un compuesto químico que se encuentra bajo los derechos de patente, se ha considerado conveniente llevar a cabo un estudio bibliográfico previo de las publicaciones científicas y patentes relacionadas con este fármaco, para proponer un esquema sintético que mejore cuantitativamente los rendimientos de los métodos actuales de obtención industrial. Es prioritario de cara a la explotación industrial del método ideado que dicha síntesis no infrinja ninguna patente actualmente en vigor.

De entre la multitud de patentes que cubren la síntesis total o parcial de exemestano y compuestos derivados o análogos, cabe destacar las siguientes:

- ❖ La patente original GB 2177700,⁶⁵ publicada en 1987 y en vigor hasta 2011, utiliza como material de partida 4-androsten-3,17-diona (AD, XIX), y permite la obtención de exemestano en dos pasos con rendimientos globales en torno al 20% (Esquema 1). Para ello, en primer lugar se introduce en el esqueleto androstano un metileno terminal en la posición C6 por reacción con el dimetil acetal del formaldehído en presencia de oxiclورو de fósforo (POCl₃) según el método descrito en 1982 por Annen y colaboradores.⁶⁶ Este proceso es de bajo rendimiento (45%) y tiene el inconveniente de que es necesario purificar por columna el intermedio CXXXI obtenido, con los

⁶⁵ Di Salle, E.; Barbugian, N.; Lombardi, P.; Buzzetti, F., Patent GB 2177700A, **1987**. *Chem. Abstr.*, **1988**, 108, 221966.

⁶⁶ Annen, K.; Hofmeister, H.; Laurent, H.; Wiechert, R., *Synthesis*, **1982**, 34.

consiguientes problemas que ello conlleva en un proceso a gran escala. Seguidamente se produce la deshidrogenación en el carbono C1 del anillo A. Esta deshidrogenación está descrita tanto por tratamiento con DDQ como con SeO_2 , obteniéndose así exemestano **XXVIII**, con un rendimiento del 40%-50%. En este segundo paso es de nuevo necesaria la purificación del producto en columna cromatográfica.

a. $\text{CH}_2(\text{OMe})_2$, POCl_3 , NaOAc , CHCl_3 , 78°C , b. DDQ, $p\text{-TsOH}$, dioxano, 105°C , c. SeO_2 , $t\text{-BuOH}$, reflujo.

Esquema I-3

Con el fin de superar los inconvenientes y desventajas de este método, concretados en los bajos rendimientos obtenidos, el alto precio de los reactivos y la laboriosa purificación de los productos mediante procedimientos cromatográficos, se desarrollaron otros procesos de fácil escalado en planta.

- ❖ Otra de las patentes publicadas, EP 0307134,⁶⁷ describe una síntesis de exemestano **XXVIII** a partir de 1-en-testosterona (**CXXXVIII**) a través de una reacción de Mannich y una posterior oxidación del hidroxilo del carbono C17 con un rendimiento global del 28% (Esquema I-4).

⁶⁷ Longo, A.; Lombardi, P., Patent EP 0307134, **1988**. *Chem. Abstr.*, **1989**, 111, 134643.

a. Paraformaldehído, NHMe_2 , NaOH , 130°C , b. R. Jones, acetona, -20°C

Esquema I-4

Se ha constatado que la presencia de la conjugación cruzada en el anillo A desactiva la reactividad de dicho carbonilo, siendo ésta una de las causas del bajo rendimiento de la introducción directa del grupo metileno en posición C6 de los 3-oxo-1,4-dieno esteroides (31%). El hidroxilo en C17 del anillo D de **CXXXIXa** debe estar presente inicialmente para evitar la reacción de Mannich competitiva en C16 si el análogo 17-oxo hubiese sido el precursor sintético. La oxidación con el reactivo de Jones, transcurre con elevados rendimientos, lo que la convierte en una reacción muy interesante sintéticamente. La validez de esta patente expira en 2013, pero tiene la ventaja de que sólo cubre el proceso **CXXXVIII** $\rightarrow$ **CXXXIXa** $\rightarrow$ **XXVIII**, es decir, que si se llega a la obtención de **CXXXIXa** por un proceso distinto, se puede utilizar esta oxidación para la obtención de exemestano en nuestro proceso sintético.

- ❖ Patente EP 0307135⁶⁸. Esta patente dejó de tener validez en septiembre de 2008; describe una ruta para la obtención de compuestos de estructura análoga (**CXXXIXb-d**). Los rendimientos de esta ruta no son demasiado buenos, pero sí superiores a las patentes previas (Esquema I-5).

⁶⁸ Villa, V.; Di Salle, E.; Lombardi, P., Patent EP 0307135, **1989**. *Chem. Abstr.*, **1989**, *111*, 115672.

Esquema I-5

- ❖ Patente EP 0326340B1⁶⁹. Esta patente, cuya vigencia ha finalizado en enero de 2009, describe la siguiente síntesis de exemestano **XXVIII** (Esquema I-6):

Esquema I-6

Éste es un proceso mejorado con respecto a la patente original previamente publicada por Lombardi y colaboradores.¹ La

⁶⁹ Longo, A.; Lombardi, P., Patent EP 0326340, **1989**. *Chem. Abstr.*, **1990**, 112, 36257.

metilenización en C6 de **XIX** se lleva a cabo por el proceso industrial aplicado a la síntesis de medroxiprogesterona.^{70,71} De esta forma, se hizo reaccionar la AD con el ortoformiato de trietilo en tetrahidrofurano y etanol (THF-EtOH) a 40°C en presencia del ácido *p*-toluensulfónico (p-TsOH). El etil-3,5-dienoléter (**CXLI**) resultante sin necesidad de aislamiento fue sometido a una reacción de Mannich con N-metilanilina y formaldehído acuoso. El aducto intermedio se descompuso con ácido clorhídrico y el intermedio 6-metilénico resultante (**CXXXI**) se obtuvo con un rendimiento del 73% tras precipitación del crudo de reacción. Esta modificación mejora en un 30% el rendimiento del proceso de obtención de la dicetodienona **CXXXI**. La introducción del doble enlace en C1,2 se llevó a cabo por una estrategia de halogenación/deshalogenación. La bromación de **CXXXI** se produjo con bromo en THF-AcOH a 0°C y una cantidad catalítica de HBr conduciendo al aislamiento del tribromuro (**CXLII**) con un rendimiento del 84% en forma prácticamente pura tras precipitación del crudo de reacción. La deshidrobromación parcial con yoduro sódico en acetona a reflujo permitió al aislamiento el intermedio bromado en C2 (**CXLIII**) que fue deshidrobromado a continuación con LiCl y LiCO₃ en N,N-dimetilformamida (DMF) a 120°C para dar exemestano, (**XXVIII**) por precipitación en agua con un 47% de rendimiento a partir de AD.

- ❖ Patente CN 1491957⁷². Esta patente utiliza un agente deshidrogenante distinto a los anteriormente citados (Esquema I-7).

⁷⁰ Longo, A.; Lombardi, P., Patent US 4990635, **1989**. *Chem. Abstr.*, **1990**, 112, 36257.

⁷¹ Longo, A.; Colombo, M.; Orzi, F.; Lombardi, P.; Buzzetti, F., "Synthesis of novel aromatase inhibitors from bromosteroidal intermediates". In: Desmurs, J.R.; Gerard, B., *Advance in Organobromine Chemistry I. Industrial Chemistry Library vol. 3*, Elsevier, Amsterdam, **1991**, pp. 119–125.

⁷² Zhu, Q.; Pan, J., Patent CN 1491957A, **2004**. *Chem. Abstr.*, **2005**, 143, 26772z.

Esquema I-7

El agente deshidrogenante utilizado es el ácido 2-iodoxibenzoico (IBX). El mismo procedimiento aparece también descrito en la revista química china *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi*,⁷³ pero en este último caso la deshidrogenación se lleva a cabo con DDQ en presencia de un ácido aromático (ácido benzoico). El periodinano IBX, debido a su método de preparación, puede contener trazas de componentes potencialmente explosivos, por lo que queda descartado su uso.

- ❖ Patente WO 2001/04342⁷⁴. En esta patente se reivindica la deshidrogenación de **CXXXI** a **XXVIII** por un proceso enzimático, utilizándose *Arthrobacter simplex* en mezclas de tolueno y agua en presencia de menadiona, como modulador radicalario, y tampón fosfato.
- ❖ Patente WO 2005/070951⁷⁵. Esta patente entró en vigor en 2005 y describe una novedosa manera de obtención de **XXVIII** a partir de **CXXXV** (Esquema I-8) con excelentes rendimientos.

⁷³ Shao, Y.; Li, W.; You, Q., *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi*, **2001**, 32(8), 345. *Chem. Abstr.*, **2002**, 136, 232434.

⁷⁴ Krook, M.; Hewitt, B. D., Patent WO 2001/04342A1, **2001**. *Chem. Abstr.*, **2001**, 134, 99682.

⁷⁵ Kunnen, K.; Stehle, N.W.; Weis, S.W.; Pascone, J.M.; Pariza, R.J.; Van Ornum, S.G., Patent WO 2005/070951A1, **2005**. *Chem. Abstr.*, **2005**, 143, 173027.

La reacción de **CXXXV** con pirrolidina en etanol en presencia de ácido acético, conduce simultáneamente a la adición de la pirrolidina al doble enlace en la posición C1 y a la formación de una enamina en la posición C3 con un rendimiento del 70%. Por condensación de formaldehído con la enamina **CXLIV** en DCM y su posterior tratamiento ácido se obtiene el alcohol primario **CXLV** con un rendimiento del 75 %. Finalmente, la eliminación del grupo hidroxilo se realiza a través de su conversión en un buen grupo saliente por tratamiento con cloruro de mesilo (**CXLVI**) y posterior eliminación en medio básico. Esta síntesis se menciona también en las patentes DD 258820A1⁷⁶ y DD 264220A1.⁷⁷

Biología.

Las propiedades del exemestano fueron comparadas con otros inhibidores de aromatasa; en concreto, formestano (**XXVII**), atamestano, (**XXIX**) y plomestano, (**XXX**). En estudios iniciales de co-incubación con el sustrato, se encontró que el atamestano (**XXIX**), resultó ser el inhibidor más potente con un valor IC_{50} de 20.3 nM; análogamente, el plomestano, exemestano y el formestano presentaron valores de 31.3 nM, 42.5 nM y 43.7, respectivamente. Sin embargo, la diferencia más destacable pudo obtenerse en

⁷⁶ Wagner, H.; Ponsold, K.; Schumann, G., Patent DD 258820A1, **1988**. *Chem. Abstr.*, **1989**, 111, 7672.

⁷⁷ Wagner, H.; Ponsold, K.; Schumann, G., Patent DD 264220A1, **1989**. *Chem. Abstr.*, **1989**, 111, 78502.

estudios *in vivo* en ratas pre-tratadas con PMSG. Comparado con el formestano, plomestano y atamestano, el exemestano resultó ser el compuesto más potente mediante administración subcutánea y oral, proporcionando valores ED₅₀ de 1.8 y 3.7 mg/Kg, respectivamente. El plomestano exhibió la misma potencia que el exemestano sólo por ruta subcutánea (ED₅₀ 1.4 mg/kg) y resultó ser menos efectivo oralmente (ED₅₀ 18 mg/kg).

Eficacia clínica.

En pacientes post-menopáusicas a las que se suministraron dosis orales únicas de exemestano entre 0.5 mg y 800 mg, la dosis mínima efectiva para disminuir los niveles de estrógenos fue de 5 mg y la dosis mínima que produjo el máximo nivel de supresión de estrógenos en plasma, observado al tercer día y persistiendo al quinto, fue de 25 mg. El efecto inhibitor de larga duración del exemestano en la síntesis de estrógenos es muy probablemente debido a la naturaleza irreversible de sus propiedades inhibitoras del enzima, más que a sus propiedades farmacocinéticas. De hecho, el fármaco fue rápidamente absorbido y alcanzó niveles máximos a las 2h. después de la administración oral, desapareciendo después rápidamente.

El exemestano se metaboliza rápidamente en forma completa en todas las especies. Los pasos iniciales son la reducción del grupo ceto en C-17 para dar el esteroide 17β-hidroxi (**CXXXIXa**) y la oxidación del grupo metileno en posición C-6 con la formación posterior de varios metabolitos secundarios (**CXLVII-CLV**), identificados todos ellos por comparación con compuestos sintéticos de referencia (Figura I-22).^{78,79} Todos los metabolitos resultaron ser inactivos como inhibidores de aromatasa o menos potentes que el exemestano, excluyendo por tanto la posible contribución de cualquier metabolito al efecto prolongado exhibido por el fármaco.

⁷⁸ di Salle, E.; Ornati, G.; Paridaens, R.; Coombes, R.C.; Lobelle, J.P.; Zurlo, M.G., "Preclinical and clinical pharmacology of the aromatase inhibitor exemestane (FCE 24304)". In: Motta, M.; Serio, M., *"Sex Hormones and Antihormones in Endocrine Dependent Pathology: Basic and Clinical Aspects"*, Elsevier, Amsterdam, **1994**, pp. 279–286.

⁷⁹ Cocchiara, G.; Allievi, C.; Berardi, A.; Zugnoni, P.; Benedetti, M.S.; Dostert, P., *J. Endocrinol. Invest.*, **1994**, 17 (Suppl. 1-3), 78.

Figura I-22: Metabolitos de exemestano.

Resumiendo lo anteriormente expuesto, a lo largo de las dos décadas pasadas, se han descubierto nuevos inhibidores de aromatasa (AI) que han sido introducidos en la práctica clínica, en base a la observación inicial de que el mecanismo principal de la acción exhibida por la aminoglutetimida (**XXXI**) era la inhibición del enzima aromatasa, reduciendo los niveles de estrógenos en pacientes de cáncer de mama postmenopáusicas.

La segunda generación de fármacos estuvo representada por el formestano (**XXVII**), introducido en el mercado en 1993 con el nombre de LENTARON[®]. Aunque su uso quedó muy limitado debido a la necesidad de ser suministrado parenteralmente, se encontró que era una forma bien tolerada de la terapia endocrina.

La tercera generación de inhibidores incluye al anastrozol (**XXXV**), letrozol (**XXXIV**), vorozol (**XXXVI**) y exemestano (**XXVIII**), los tres primeros son inhibidores competitivos no esteroideos y el último un inhibidor esteroide irreversible. Todos son capaces de inhibir la acción de la aromatasa en un porcentaje superior al 90% comparado al 80% en el caso del formestano.

El exemestano (AROMASIN[®]) (**XXVIII**) es un fármaco de diseño racional, seguro, selectivo, activo oralmente, de efectos de larga duración, que ha demostrado propiedades farmacológicas destacables y propiedades clínicas notables en la mejora del tratamiento de pacientes de cáncer de mama. También ha demostrado un gran potencial para ser más efectivo en el tratamiento en primera línea que otros fármacos utilizados, como antiestrógenos e inhibidores de aromatasa no esteroideos.

1.4. Fluorometolona, un corticoide selectivo.

Los corticosteroides.

Los corticosteroides son drogas muy potentes. En dosis bajas de 5 a 10 mg de prednisona (**CLVI**) o equivalente, son dramáticamente efectivos en aliviar los síntomas constitucionales de enfermedades del tejido conectivo (fiebre, decaimiento, rigidez, anemia, etc.), serositis, síntomas músculo-esqueléticos. En dosis mayores, de 1 mg/kg·día, es el tratamiento más adecuado de las nefritis o de las manifestaciones neuropsiquiátricas en el LEG. Los esteroides cambiaron la excesiva duración de enfermedades como el LEG o vasculitis y han mejorado la calidad de vida de pacientes con artritis crónicas como la AR.

Los corticosteroides se subdividen a su vez en mineralocorticoides y glucocorticoides. Los mineralocorticoides naturales son la aldosterona (que puede encontrarse como aldehído libre (**CLVIIIa**) o bien en su forma hemiacetal (**CLVIIIb**)) y la corticosterona (**CLIX**), responsables de la regulación del equilibrio hidrosalino. Los principales glucocorticoides en el hombre son la cortisona (**CLX**, descubierto en 1948) y el cortisol (o hidrocortisona, **CLXI**), secretado por la corteza suprarrenal y que controlan el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas (Figura I-23). Los niveles normales de cortisol en el plasma son de 5 - 25 µg/ml que se logran mantener por un mecanismo de control a nivel hipotálamo-hipófisis-suprarrenal.

Figura I-23

Los glucocorticosteroides se diferencian de otras hormonas esteroideas en que pueden producir efectos en la mayoría de tejidos y tipos celulares. Todos ellos presentan una estructura de 21 átomos de carbono. Los que poseen un carbonilo en C11 como la cortisona o la prednisona son inactivos hasta que este carbonilo es transformado en hidroxilo en el hígado para convertirse en cortisol o a prednisolona respectivamente. Los esteroides no hidroxilados no se pueden usar en terapia tópica o intraarticular; están especialmente indicados en el embarazo para tratamiento materno ya que el hígado fetal inmaduro no los puede hidroxilar.⁸⁰

La biosíntesis de los corticosteroides naturales tiene lugar a partir de colesterol, y se metabolizan en el hígado, excretándose por el riñón.

Mecanismo de acción.

Los corticosteroides de uso tópico ejercen actividad antiinflamatoria contra agentes de naturaleza mecánica, química o inmunológica. El mecanismo de la reacción no se conoce con exactitud.

Los glucocorticoides acoplándose con un receptor de membrana citoplasmática específico entran a las células objetivo. Este complejo receptor-corticoide es transferido al núcleo donde se une a la cromatina y aumenta o inhibe la regulación de genes que son inducidos específicamente por corticoides, y así los corticoides modulan la síntesis de proteínas. Se cree que los corticosteroides actúan por inducción de las proteínas inhibidoras de la fosfolipasa A2, llamadas genéricamente lipocortinas. Se ha postulado que estas lipocortinas controlan la biosíntesis de los mediadores de la inflamación, especialmente prostaglandinas y leucotrienos, por inhibición de la liberación del precursor de la molécula de ácido araquidónico y bloqueando la producción de ciclooxigenasa y lipoxigenasa disminuyendo así la síntesis de estas sustancias proinflamatorias (Figura I-24).

⁸⁰ Giménez Arnau, A.M., *Act. Dermatolog.*, **1997**, 495.

Figura I-24

En medicina ocular, se cree que estas acciones inhiben edemas, dilatación capilar, migración de leucocitos, la deposición de fibrina y colágenos y la formación de cicatrices asociadas a la inflamación.⁸¹ La aplicación ocular de corticosteroides también potencia la acción vasoconstrictora de la epinefrina, la disminución del movimiento macrófago, y la estabilización de la membrana lisosomal. El descenso en la vascularización y la cicatrización convierten a estos compuestos en herramientas útiles para la limitación de daños en los tejidos por exposición química o térmica.

El ojo.

El ojo, como otras partes del sistema nervioso central, tiene capacidad de regeneración limitada. Además, muchas enfermedades y daños oculares son difíciles de tratar. Las degeneraciones de la córnea, por ejemplo, aparecen en la madurez o más tarde con lesiones que son secundarias a manifestaciones primarias por la edad, inflamación, traumatismo y enfermedad sistémica.

El ojo es también particularmente vulnerable a las infecciones. Las infecciones bacterianas más frecuentes son la queratitis, conjuntivitis y blefaritis bacterianas. Las infecciones virales más significativas son causadas por

⁸¹ Avery, M.A.; Wolffrey, J.R., "Antiinflammatory steroids". In: Wolfm M.E., "Therapeutic Agents. Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery Vol. 5", John Wiley&sons, New York, NY, 1997, pp. 281-376.

la familia de los herpes (VHS-1, VHS-2, virus varicela-zóster, citomegalovirus y virus de Epstein-Barr). Algunos tejidos oculares (por ejemplo, córnea, cristalino y vítreo) son muy susceptibles a infección. El tejido ocular ya comprometido debido al daño degenerativo (por ejemplo, lesiones) o traumatismo físico (por ejemplo, desgarro) permite la entrada fácil a bacterias y virus.

Ciertos agentes terapéuticos usados para tratar daños y/o infecciones oculares suprimen también el mecanismo de defensa inmunológico del huésped, haciendo además al ojo susceptible a otros tipos de infecciones. Aunque hay varios agentes que pueden provocar una respuesta inflamatoria, la infección microbiana (bacteriana, vírica o fúngica) y diferentes dolencias inmunológicas (por ejemplo, hipersensibilidad, alergia y autoinmunidad) son las causas más comunes de inflamación ocular. La inflamación asociada a daño químico y térmico puede tener un resultado muy destructor en el ojo y especialmente en la córnea. El traumatismo físico en la córnea puede estar acompañado por inflamación intraocular, adherencias que llevan a glaucoma y formación de membrana secundaria.

Figura I-25

El colágeno es la principal proteína estructural de la córnea. La respuesta normal del huésped a la inflamación produce leucocitos polimorfonucleares (PMN) o fibroblastos corneales que liberan enzimas que destruyen la matriz (por ejemplo, colagenasas), que llevan a la destrucción del colágeno y otras macromoléculas tales como proteoglicanos y otras glucoproteínas.

La neovascularización es una secuela de la mayoría de las respuestas inflamatorias oculares. La producción aumentada de colágeno por fibroblastos del tejido corneal y conjuntival se potencia por la presencia de células inflamatorias. La cicatrización perturba la ordenación y espaciamiento de las fibrillas de colágeno que son necesarias para prevenir la dispersión de la luz y provoca una pérdida de transparencia. La respuesta inflamatoria es un aspecto dominante de la ulceración de la córnea que tiene diversas causas, principalmente víricas, bacterianas o químicas (por ejemplo, quemaduras con ácidos o bases). Puede conducir a la perforación de la córnea, formación de tejido de cicatrización opaco e invasión vascular, con ceguera final.

Procedimientos quirúrgicos de refracción dirigidos a alterar la curvatura corneal para el tratamiento de miopía y astigmatismo, por ejemplo, dan como resultado una rotura de diferentes componentes de la córnea, tales como células epiteliales y sus estructuras de adhesión, la capa de Bowman y el estroma anterior. Procedimientos de incisión con instrumentos cortantes siempre dañan muchas capas de células adyacentes a la incisión y afectan de esa manera a la capacidad de curar heridas sin la formación de cicatriz. El uso de láseres de emisión tanto UV como no UV en cirugía ocular ha evolucionado para minimizar la extensión de la rotura de células durante los procedimientos de escisión y para mejorar la capacidad de curar heridas de la zona quirúrgica. Sin embargo, a pesar de las mejoras de los láseres en los instrumentos de corte, uno de los principales inconvenientes de los procedimientos correctores por láser es el desarrollo del “halo corneal”, o nubosidad, que lleva a la dispersión de la luz. Aunque se han postulado muchas razones por las que se desarrolla el halo, la teoría principal es que el halo es una cicatriz que resulta al curar la herida de manera incorrecta. La reparación y/o alineamiento incorrecto del colágeno, inflamación y recubrimiento de células epiteliales incorrecto de la córnea, se cree que juegan un papel en la formación de la cicatriz.

Se han desarrollado numerosas terapias y agentes terapéuticos durante años para tratar las secuelas de la degeneración ocular, daño ocular por traumatismo físico o químico e inflamación ocular. Aunque se ha comprobado que muchos de éstos son útiles y proporcionan un nivel aceptable de terapia y reparación del tejido del ojo dañado, otros tienen efectos secundarios inaceptables que predisponen al ojo ya afectado/dañado a mayor vulnerabilidad (por ejemplo toxicidad). Por ejemplo, se han usado muchos

antibióticos (β -lactamasas y ciertas fluoroquinolonas) pero no son bien tolerados, dando lugar a aumento de la toxicidad, o son de eficacia moderada.

Aún sin tratarse de una lista completa y exhaustiva de agentes que se han probado como beneficiosos en el tratamiento de secuelas primarias y secundarias de degeneración ocular, daño, traumatismo quirúrgico e inflamación acompañante, se dispone de distintos tipos representativos de compuestos que incluyen antibacterianos (por ejemplo, antibióticos de amplio espectro), antivirales, agentes antiinflamatorios no esteroideos, esteroides, inhibidores de la colagenasa, colinérgicos, ciclopléjicos y moduladores de la curación de heridas.⁸²

Fluorometolona.

A partir del esteroide natural cortisol (**CLXI**) se han obtenido numerosos derivados sintéticos que mantienen algunas de sus propiedades y mejoran otras. Se busca principalmente aumentar la potencia, disminuir las propiedades corticosteroides y aumentar las glucocorticoides. Las estructuras fundamentales para mantener o incrementar las propiedades más características han demostrado ser:

- a) en el anillo A la cetona en C3, el doble enlace entre C4 y C5 y el doble enlace entre C1 y C2.
- b) en el anillo B, la metilación en C6 y la fluoración en C9.
- c) en el anillo C, la función oxígeno en C11.
- d) en el anillo D, la hidroxilación en C17 y/o C21.

La hidroxilación o la metilación en C16 también reducen la actividad mineralocorticoide.

La ampliación natural de la investigación sobre corticoides introdujo el examen de compuestos que incluyeran en su estructura un grupo fluoro en posición 9α y un doble enlace en posición C1,2. La mayor parte de los análogos fluorados como son la triamcinolona (9α -fluoro, 11β , 16α , 17α , 21 -tetrahidroxi-pregna-1,4-dien-3,20-diona, descubierto en 1960) (**CLXII**), la dexametasona (9α -fluoro, 11β , 17α , 21 -trihidroxi- 16α -metilpregna-1,4-dien-3-ona, descubierta en 1962) (**CLXIII**), la betametasona (9α -fluoro, 11β , 17α , 21 -trihidroxi- 16β -metilpregna-1,4-dien-3,20-diona (**CLXIV**), y la fluocinolona (6α , 9α -

⁸² Lyons, R.T., Patent WO 2002/089815A2, **2002**. *Chem. Abstr.*, **2002**, 137, 358163.

difluoro,11 β ,16 α ,17 α ,21-tetrahidroxipregna-1,4-dien-3,20-diona (**CLXV**), son potentes agentes anti-inflamatorios (Figura I-26).⁸³

CLXII: Triamcinolona X=H; Y=OH; Z= H **CLXVI:** Fluorometolona: R= H
CLXIII: Dexametasona X= H; Y= CH₃; Z= H **CLXVII:** Acetato de fluorometolona
CLXIV: Betametasona X= CH₃; Y= H; Z= H R= COCH₃
CLXV: Fluocinolona X=H, Y= OH; Z= F

Figura I-26

Es conocido que el grupo 9 α -fluoro incrementa la potencia antiinflamatoria, pero también acrecienta la potencia mineralocorticoide. La fluorometolona (**CLXVI**) y su acetato (**CLXVII**), descubiertos ambos en 1959, son corticoides utilizados en oftalmología por su actividad glucocorticoide en el tratamiento de las condiciones alérgicas e inflamatorias del ojo.

La fluorometolona (**CLXVI**) es un corticosteroide sintético fluorado, con estructura similar a progesterona y 40 veces más poderoso como antiinflamatorio que el cortisol (**CLXI**). Está indicado para el tratamiento de enfermedades dependientes de esteroides, tales como inflamaciones y alergias de la conjuntiva palpebral (relativo al párpado) y bulbar, de la cornea y del segmento anterior del globo ocular. Su vía habitual de administración es en forma de gotas oculares o pomada al 0.1 %.

Muchos corticosteroides, son compuestos hidrófobos que tienen poca solubilidad en solución acuosa en valores de pH aproximadamente neutro, por lo que su formulación habitual es una suspensión o emulsión.

Como contrapartida a su poder antiinflamatorio, los corticosteroides producen un aumento en la presión intraocular. La fluorometolona es el corticosteroide preferido para tratamientos de larga duración debido a su menor capacidad de aumentar la presión intraocular en comparación con otros corticoides. Estudios clínicos con dexametasona (**CLXIII**) y fluorometolona han demostrado que la fluorometolona produce un menor aumento en la presión intraocular, aumentando también significativamente el tiempo en producirse dicho aumento. Además, el uso continuado de corticosteroides puede producir

⁸³ Brueggemeier, R.W.; Miller, D.D.; Witiak, D.T., In: Foye, W.O.; Lemke, T.L.; Williams, D.A., "Principles of Medicinal Chemistry", Baltimore, MD, **1995**, pp. 444–498.

glaucoma en numerosos pacientes, provocando deterioro en el nervio óptico, defectos en la agudeza visual y en el campo de visión y posterior formación subcapsular de cataratas. En comparación con otros corticoides, la fluorometolona se degrada más rápidamente en los tejidos y por tanto, tiene menos efecto en la presión intraocular. Principalmente por esta razón, la fluorometolona es el fármaco de elección para el tratamiento antiinflamatorio oftálmico prolongado.^{84,85,86,87}

La estructura de la fluorometolona (**CLXVI**) fue confirmada por rayos X en 1992.⁸⁸

Preparación industrial. Antecedentes.

- ❖ La síntesis de fluorometolona **CLXVI** se describió por primera vez en las patentes estadounidenses US 2867637⁸⁹ y US 2867638⁹⁰ con fecha de 1959 y sin vigencia en la actualidad. En estas patentes se describe un método de síntesis de dicho compuesto a partir de 11 β ,17-dihidroxi-6 α -metil-1,4-pregnadien-3,20-diona⁹¹ **CLXVIII** (Esquema I-29), por transformación del hidroxilo de C21 en un buen grupo saliente con MsCl en piridina (**CLXIX**). Este mesilato se sustituye seguidamente con yoduro sódico en acetona para obtener el compuesto 21-yodado (**CLXX**), que se reduce a continuación con Zn en medio acético (**CLXXI**). Como último paso de la síntesis se realiza la deshidrogenación microbiológica con *Septomyxa affinis* (**CLXVI**).

⁸⁴ Cahn, M.M.; Levy, E., *J. Clin. Med.*, **1963**, 70, 571.

⁸⁵ Noojin, R.O.; Osment, L.A.; Douglass, H. J., *Clin. Med.*, **1963**, 70, 747.

⁸⁶ Rostenberg, A., *J. New Drugs*, **1961**, 1, 118.

⁸⁷ Cahn, M.M.; Levy, E.J., *J. New Drugs*, **1961**, 1, 262.

⁸⁸ Park, Y.J., Lee, M.Y., Cho, S.I., *J. Korean Chem. Soc.*, **1992**, 36(6), 812.

⁸⁹ Lincoln, F.H., Jr., Schneider, W.P., Spero, G.B., Patent US 2867637, **1959**. *Chem. Abstr.*, **1959**, 53, 62791.

⁹⁰ Lincoln, F.H., Jr., Schneider, W.P., Spero, G.B., Patent US 2867638, **1959**. *Chem. Abstr.*, **1959**, 53, 51316.

⁹¹ Spero, G.B.; Thompson, J.L.; Lincoln, F.H.; Schneider, W.P.; Hogg, J.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 1515.

Esquema I-29

- ❖ En la Patente FR 1430053,⁹² además de otros compuestos 11-hidroxilados, se describe la pérdida del hidroxilo en posición C-21, para obtener fluorometolona en tres pasos. Dicho proceso sintético consiste en la conversión del hidroxilo terminal perteneciente a **CLXXII** en un buen grupo saliente por formación del mesilderivado, la sustitución de este grupo por yodo y posterior deshalogenación en medio ácido. Dicha ruta sintética tiene rendimientos inferiores al 60 % (Esquema I-30).

Esquema I-30

⁹² Lincoln, F.H., Jr., Schneider, W.P., Sebek, O.K., Patent FR 1430053, **1966**. *Chem. Abstr.*, **1966**, 65, 57023.

- ❖ En la patente GB 792224⁹³ no se describe una síntesis de fluorometolona **CLXVI**, pero partiendo de la dienona **CLXXIII**, utilizan un proceso sintéticamente interesante de epoxidación y posterior apertura con ácido fluorhídrico para la obtención de halohidrinas (Esquema I-31).

Esquema I-31

- ❖ En la patente FR 1330110,⁹⁴ la síntesis que se describe de fluorometolona, parte de 6 α -metil-17 α -hidroxiprogesterona **CLXXVII** que es hidroxilado por métodos biológicos (microorganismos de la familia *Rhizopus*) y posteriormente transformado en el compuesto $\Delta^{9(11)}$ derivado **CLXXX**. A partir de este compuesto, utiliza el proceso descrito previamente en la patente GB 792224. Obtenida la halohidrina **CLXXXI** según se ha descrito anteriormente, esta es deshidrogenada por métodos biológicos para la obtención de fluorometolona **CLXVI** (Esquema I-32).

⁹³ Olin Mathieson Chemical Corp., Patent GB 792224, **1958**. *Chem. Abstr.*, **1959**, 53, 17498.

⁹⁴ Lincoln, F.H., Jr., Spero, G.B., Schneider, W.P., Patent FR 1330110, **1963**. *Chem. Abstr.* **1964**, 61, 40631.

Esquema I-32

- ❖ En la patente FR 2223364⁹⁵ la síntesis que se describe utiliza la fluorohidrina de 17-hidroxiprogesterona **CLXXVI** como material de partida, que por condiciones de Vilsmeier con DMF se transforma en el 6-carboxaldehído **CLXXXIV**. Posteriormente, dicho aldehído es hidrogenado catalíticamente con Pd/C en presencia de ciclohexeno. La deshidrogenación en la posición C1 se lleva a cabo por métodos biológicos (Esquema I-33).

⁹⁵ FARMILA-Farmaceutici Milano S.p.A, Patent FR 2223364, **1974**. *Chem. Abstr.* **1975**, 82, 156581.

Esquema I-33

OBJETIVOS

2. Objetivos.

El objetivo de la presente Tesis es el estudio sintético para la obtención de dos principios esteroides de alta actividad: **exemestano** y **fluorometolona**. Dichas rutas sintéticas deben cumplir los siguientes requisitos:

- No infringir ninguna patente actualmente en vigor.
- Asequible económicamente.
- Escalable a nivel industrial.
- Patentable.

Estos objetivos principales conducen a los siguientes puntos de interés:

a. Síntesis de exemestano:

- a₁. Definición del material de partida idóneo y la estrategia sintética del proceso.
- a₂. Estudio y optimización de las etapas clave.
- a₃. Obtención de exemestano.
- a₄. Preparación de posibles impurezas derivadas del proceso sintético, para su posible detección y evaluación de cara a la explotación industrial de la ruta propuesta.

b. Síntesis de fluorometolona:

- b₁. Definición del material de partida idóneo y la estrategia sintética del proceso.
- b₂. Estudio y optimización de las etapas clave.
- b₃. Obtención de fluorometolona.
- b₄. Preparación de posibles impurezas derivadas del proceso sintético, para su posible detección y evaluación de cara a la explotación industrial de la ruta propuesta.

MÉTODOS Y RESULTADOS

3.1. Exemestano

3.1.1. Síntesis de Exemestano. Estrategia sintética.

El estudio bibliográfico llevado previamente a cabo nos indujo a proponer el siguiente esquema sintético (Esquema M-1), en el que se utiliza como material de partida testosterona, esteroide asequible y económico:

Dicho esquema sintético se divide en tres bloques principales, como son la introducción del metileno en la posición C6, la deshidrogenación del esqueleto esteroide en la posición C1 y finalmente la obtención de exemestano por oxidación del hidroxilo en C17.

3.1.1.1. Reacción de Mannich. Antecedentes.

Existen numerosos ejemplos en los que la funcionalización en la posición C6 del esqueleto esteroide, ha demostrado en general, o bien un aumento en la actividad biológica, o bien un descenso en los efectos secundarios comparados con el esteroide no funcionalizado.⁹⁶

Uno de los métodos utilizados para la γ -metilación de Δ^4 -3-cetoesteroides requiere la formación del dienol éter correspondiente **E-II**, que posteriormente se somete a las condiciones de Vilsmeier (oxicloruro de

⁹⁶ Lednicer, D. Mitscher, L.A., "The organic chemistry of drug synthesis, Vol. 1 and 2", John Wiley&sons, New York, NY, **1977** and **1980**.

fósforo/DMF) para la obtención de la sal de iminio **E-IV**. Tras su hidrólisis (**E-V**), reducción (**E-VI**) y posterior deshidratación se aísla el 6-metilendervado (**E-VII**), que puede, a su vez, ser hidrogenado y epimerizado para la obtención de los compuestos 6 α -metil derivados (**E-VIII**) (Esquema M-2).⁹⁷

Esquema M-2

También existen precedentes bibliográficos debidos a Danishefsky y colaboradores⁹⁸ sobre la transformación de 3,5-dienol sililéteres (**E-IX**) en 6-metildimetilamino compuestos por reacción con la sal de Eschenmosser que, por cuaternización (**E-X**) y posterior eliminación (**E-XI**) permiten obtener los 6-metilendervados (Figura M-1).

Figura M-1

K. Annen y colaboradores⁶⁶ han desarrollado un método “one pot” (Esquema M-3) en el que la introducción del metileno terminal se lleva a cabo

⁹⁷ (a) Burn, D.; Cooley, G.; Davies, M. T.; Ducker, J. W.; Ellis, B.; Feather, P.; Hiscock, A. K.; Kirk, D. N.; Leftwick, A. P.; Petrow, V.; Williamson, D. M., *Tetrahedron*, **1964**, 20, 597; (b) Burn, D.; Kirk, D. N.; Petrow, V., *Tetrahedron*, **1965**, 21, 1619; (c) Burn, D.; Yardley, J. P.; Petrow, V., *Tetrahedron*, **1969**, 25, 1155; (d) Burn, D., *Chem. Ind. (London)*, **1973**, 870.

⁹⁸ Danishefsky, S., Prysilla, M., Lipisko, B.; *Tetrahedron Lett.*, **1980**, 21, 805.

con formaldehído dimetilacetal y oxiclórico de fósforo en presencia de acetato sódico.

Esquema M-3

Otra de las posibilidades sintéticas para introducir la funcionalización requerida en C6 es la reacción de Mannich clásica sobre enoles o enoléteres.⁹⁹ Dicha reacción consiste en una condensación multicomponente de un aldehído no enolizable, una amina secundaria y un carbonilo enolizable.

Esta reacción transcurre a través de la formación de una base de Schiff (imina generada a partir del aldehído no enolizable con la amina primaria o secundaria), y su posterior reacción con el carbono en posición α a un carbonilo, o en posición γ en carbonilos α,β -insaturados.

El mecanismo de dicha reacción (Esquema M-4) comienza por la formación del ión iminio (base de Schiff) entre la amina secundaria y formaldehído. Esta reacción tiene lugar en medio ácido y por tanto, se accede al equilibrio tautomérico entre el carbonilo y el enol correspondiente, el cual puede atacar el ión iminio dando lugar a la formación de una amina terciaria (**E-XIII**). La cuaternización de la amina (**E-XIV**) y su posterior eliminación se lleva a cabo en medio ácido fuerte generándose, a su vez, el metileno objetivo. Ya se comentó previamente en la patente EP 0326340B1,⁶⁹ que la formación previa a la reacción de un enoléter aumenta los rendimientos de la reacción de Mannich en la posición C6.

⁹⁹ Caputo, R.; Ferreri, C.; Mastroianni, D.; Palumbo, G.; Wenkert, E., *Synth. Commun.* **1992**, 22(16), 2305.

El elevado rendimiento de esta reacción, unido a la elevada regioquímica del proceso, permite el uso del mismo disolvente para llevar a cabo dicha reacción en un único paso.

Por último, existe una modificación sintética en la patente EP 0326340A2⁶⁹ en la que el enoléter se forma por reacción con ortoformiato de etilo, y reacciona posteriormente con la base de Schiff formada por formaldehído acuoso con N-metilanilina. Esta aportación será objeto de comentarios posteriores debido a su significativa transcendencia.

3.1.1.2. Deshidrogenación de 3-ceto-4-en esteroides. Antecedentes.

La deshidrogenación de distintas clases de esteroides (principalmente de 3-ceto derivados) ha recibido una notable atención debido al descubrimiento de actividades biológicas deseables presentes en gran parte de los derivados insaturados obtenidos mediante este tipo de transformación. Además, dichos compuestos han probado ser intermedios de interés en la síntesis de otros esteroides más complejos.

Los métodos enzimáticos y fermentativos¹⁰⁰ han sido utilizados con éxito para dicha deshidrogenación. Las enzimas oxidorreductasas, encargadas de estas reacciones, poseen las ventajas de su versatilidad, eficiencia y en general selectividad, ya que son capaces de discriminar entre los distintos

¹⁰⁰ Trost, B.M.; Fleming, I.; Ley, S.V., "Comprehensive Organic Synthesis, Vol.7", Elsevier, Amsterdam, **1991**, pp. 145-149.

enantiómeros de una mezcla racémica, generando así productos quirales con elevados excesos enantioméricos. Uno de los usos más valorados de los microorganismos en la química de esteroides ha sido la introducción de dobles enlaces en el anillo A de dichos compuestos.

Las deshidrogenaciones microbiológicas se han llevado a cabo principalmente mediante *Bacillus sphaericus*^{101,102,103,104,105} y *Arthrobacter simplex*¹⁰⁶, aunque otros microorganismos como *Corynebacterium simplex*¹⁰⁷, *Curvularia simplex* o *Septomyxa affinis* también han sido utilizados con notable éxito.

Como ejemplo típico cabe citar la oxidación de androstan-3,17-diona con *Bacillus sphaericus* para obtener 1-androsten-3,17-diona a través de una eliminación (1 α ,2 β) trans diaxial” (Figura M-2).

Figura M-2

Los principales inconvenientes del uso de microorganismos para estas deshidrogenaciones residen en la necesidad de llevarlas a cabo en grandes diluciones, con los consecuentes problemas que se generan en el trabajo de reacción. Esto, unido además al elevado coste del equipamiento necesario hacen de los métodos químicos de deshidrogenación los métodos preferidos.

Respecto a los métodos químicos directos utilizados en las deshidrogenaciones sobre el esqueleto esteroide en el anillo A, cabe citar los óxidos de selenio, como el anhídrido selénico (SeO₃) aplicado con éxito a

¹⁰¹ Brodie, H.J.; Hayano, M.; Gut, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, *84*, 3766.

¹⁰² (a) E. Merck Akt.-Ges., Patent BE 618731, **1962**. *Chem. Abstr.*, **1963**, *59*, 62721; (b) E. Merck Akt.-Ges., Patent BE 623277, **1963**. *Chem. Abstr.*, **1964**, *60*, 61167; (c) E. Merck Akt.-Ges., Patent BE 624886, **1963**. *Chem. Abstr.*, **1964**, *60*, 83094; (d) E. Merck Akt.-Ges., Patent BE 625215, **1963**. *Chem. Abstr.*, **1964**, *60*, 68450; (e) E. Merck Akt.-Ges., Patent NL 295201, **1965**. *Chem. Abstr.*, **1965**, *63*, 72309.

¹⁰³ Ringold, H.J.; Gut, M.; Hayano, M.; Turner, A., *Tetrahedron Lett.*, **1962**, *3*(18), 835.

¹⁰⁴ Ringold, H.J.; Hayano, M.; Stefanovic, V., *J. Biol. Chem.*, **1963**, *238*, 1960.

¹⁰⁵ Werder, F. von; Brueckner, K.; Bork, K.H.; Metz, H., Patent US 3118814, **1964**. *Chem. Abstr.*, **1964**, *61*, 25668.

¹⁰⁶ Obester, A.E.; Beyler, R.E.; Sarett, L.H., Patent US 3211725, **1965**. *Chem. Abstr.*, **1965**, *63*, 98733.

¹⁰⁷ E. Merck Akt.-Ges., Belgian Patent 624885, **1963**. *Chem. Abstr.*, **1964**, *60*, 61185.

derivados de androstano¹⁰⁸ o el dióxido de selenio (SeO₂) aplicado a la deshidrogenación en C1-2 de testosterona.¹⁰⁹ El tetraacetato de plomo en ácido acético¹¹⁰ es otra de las posibles formas de llevar a cabo la transformación, aunque los rendimientos son bajos. La eliminación de sulfóxidos¹¹¹ constituye un procedimiento genérico utilizado para la deshidrogenación de esteroides. Sin embargo, estas reacciones dan rendimientos pobres y además, en el caso de los catalizadores de selenio, el proceso es especialmente caro y tóxico, y proporciona con facilidad subproductos indeseados debido a su gran tendencia a adicionarse al esqueleto esteroide.¹¹²

La transformación de Δ^4 -3-cetoesteroides en sus derivados $\Delta^{4,6}$ con dióxido de manganeso (a pesar de su elevado potencial de reducción) ha resultado ser insatisfactoria.¹¹³

Otros métodos indirectos incluyen la introducción de grupos salientes en la posición C2 del esteroide, como bromo o yodo, y su posterior eliminación en medio básico⁶⁹. Desgraciadamente, en estos casos, la introducción del grupo saliente no suele ser fácil de dirigir y da lugar a la funcionalización en otras posiciones del esteroide, generando la aparición de numerosos subproductos.

Por último, hay que destacar que desde mediados de los años 50 se ha aplicado con éxito la capacidad de deshidrogenación de esteroides mediante la utilización de quinonas. Tanto es así que éste se ha convertido en el método principal de deshidrogenación. Las quinonas más utilizadas son, principalmente, la 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ)¹¹⁴ o la 2,3,5,6-tetracloro-1,4-benzoquinona (cloranilo)¹¹⁵ (Figura M-3). Ambos reactivos, debido a sus elevados potenciales de reducción ($E_0 = 1000$ mV y 742 mV para DDQ y cloranilo, respectivamente) son idóneos para las reacciones de deshidrogenación debido a su capacidad de abstracción de hidruros.

¹⁰⁸ Abilgaard, K, Patent FR 1555454, **1969**. *Chem. Abstr.*, **1970**, 72, 32150.

¹⁰⁹ Ringold, H. J.; Rosenkranz, G.; Sondheimer, F.; *J. Org. Chem.*, **1956**, 21(2), 239.

¹¹⁰ Clarke, R.L.; Dobriner, K.; Mooradian, A.; Martini, C.M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77(3), 661.

¹¹¹ Trost, B.M.; Fleming, I. "*Comprehensive Organic Synthesis, Vol.6*", Elsevier, Amsterdam, **1991**, pp. 1011-1039.

¹¹² (a) Baran, J.S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 1687; (b) Florey, K.; Restivo, A.R., *J. Org. Chem.*, **1957**, 22, 406; (c) Rona, P.; *J. Chem. Soc.*, **1962**, 3629.

¹¹³ Sondheimer, F.; Amendolla, C.; Rosenkranz, G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, 75, 5932.

¹¹⁴ (a) Walker, D.; Hiebert, J.D.; *Chem. Rev.*, **1967**, 67, 153; (b) Paquette, L. A., "*Encyclopedia of reagents for Organic Synthesis, Vol.3*", John Wiley&sons, New York, NY, **1995**, pp. 1699-1704.

¹¹⁵ Paquette, L. A., "*Encyclopedia of reagents for Organic Synthesis, Vol.2*", John Wiley&sons, New York, NY, **1995**, pp. 1056-1057.

Figura M-3

Los estudios acerca del mecanismo de deshidrogenación de quinonas, llevados a cabo principalmente por Braude, Jackman y Linstead¹¹⁶ han permitido establecer ciertas consideraciones que afectan al mecanismo de dicha reacción:

1. Es esencialmente bimolecular.
2. La velocidad de la reacción se incrementa en disolventes polares.
3. La velocidad de la reacción no se ve afectada por agentes generadores de radicales.
4. Existe una influencia directa del potencial de reducción de la quinona empleada sobre la velocidad de deshidrogenación; dicho potencial depende a su vez de los sustituyentes presentes en la molécula, viéndose aumentado por sustituyentes sustractores de carga como son los cloruros (cloranilo) o en mayor medida, los grupos ciano (DDQ).
5. Está catalizado por especies donadoras de protones.

Así pues, el mecanismo generalmente aceptado para dicha deshidrogenación es un mecanismo heterolítico de dos etapas. En primer lugar se produce la abstracción del ión hidruro correspondiente, siendo éste un proceso lento y que limita la velocidad de la reacción. La segunda etapa, más rápida, es la pérdida del protón, que conduce a la obtención del alqueno correspondiente.

La presencia de un ácido^{73,,117} (generalmente ácido benzoico) cataliza la reacción, ya que genera el ácido conjugado de la quinona, cuyo poder de abstracción de hidruros es muy superior al de la quinona de partida.

¹¹⁶ Braude, E.A.; Jackman, L.M.; Linstead, R.P., *J. Chem. Soc.*, **1954**, 3548 and 3564.

¹¹⁷ Zinczuk, J.; Bacigaluppo, J.A.; Colombo, M.I.; Cravero, R.M.; González-Sierra, M.; Rúveda, E.A., *J. Braz. Chem. Soc.*, **2003**, 14(4), 970.

Se sabe que el intermedio RH^+ o el par iónico $RH^+ \cdot QH^-$ forma un complejo de transferencia de carga,^{118,119} (Esquema M-5) que puede experimentar diferentes tipos de transformaciones. El más habitual es la eliminación de un protón para dar lugar a la olefina correspondiente, pero en algunos casos, se pueden producir reordenamientos tipo Wagner-Meerwein.¹²⁰

En el esquema M-5 se representa la deshidrogenación de 3-ceto-4-androsten derivados promovida por DDQ. El consumo de uno o de dos equivalentes de DDQ permite la obtención de la dienona (**E-XV**) o la trienona (**E-XVI**), respectivamente.

Esquema M-5

Existen otras teorías mediante las cuales se sugiere que el esqueleto esteroide puede sufrir la adición Michael de la quinona. En el proceso de deshidrogenación de $\Delta^{3,5}$ -enol éteres en acetona anhidra, la molécula de DDQ

¹¹⁸ Jackman, L.M., *Advan. Org. Chem.*, **1960**, 2, 329.

¹¹⁹ Pradhan, S.K.; Ringold, H.J.; *J. Org. Chem.*, **1964**, 29, 601.

¹²⁰ (a) Braude, E.A.; Jackman, L.M.; Linstead, R.P.; Lowe, G.J., *J. Chem. Soc.*, **1960**, 3123; (b) House, H.O.; Bashe, R.W., *J. Org. Chem.*, **1965**, 30, 2942.

se incorpora al esqueleto esteroide en la posición C1 dando lugar a la formación del intermedio **E-XVII** (Esquema M-6).¹²¹

Esquema M-6

Estudios de la deshidrogenación con DDQ llevados a cabo con 3-ceto esteroides saturados conducen a la obtención de compuestos Δ^1 -, Δ^4 - y $\Delta^{1,4}$ -3-ceto esteroides. En las condiciones adecuadas para la obtención de un compuesto monoinsaturado la regioquímica de la deshidrogenación depende enormemente de la geometría inicial del material de partida, que determina frecuentemente cual es el hidrógeno abstraído de la molécula. Así, las series 5α -H-3-ceto esteroides (**E-XVIII**) generalmente conducen a la obtención mayoritaria de compuestos Δ^1 -insaturados (**E-XX**), mientras que la serie 5β -H (**E-XIX**), conduce mayoritariamente a la obtención de productos Δ^4 -insaturados (**E-XXI**). (Esquema M-7).

Esquema M-7

Estudios llevados a cabo con compuestos 1-metilados confirman la abstracción estereoespecífica del hidrógeno en la posición 1α . La deshidrogenación de 17β -hidroxi-1-metil- 5α -androstano-3-ona con DDQ sólo tiene lugar cuando el metilo en C1 se encuentra en posición 1β , mientras que el isómero 1α permanece inerte. La completa falta de reactividad en el anillo A en

¹²¹ De Ruggieri, P.; Gandolfi, G.; Guzzi, U.; *Farmaco (Pavia) Ed. Sci.*, **1965**, 20, 358.

dichas condiciones es muy interesante, dado que el metilo 1α no sólo bloquea la deshidrogenación 1,2, sino que evita, a su vez, la introducción de un doble enlace en la posición 4,5. Parece pues que el impedimento estérico en el proceso de eliminación del hidrógeno 5α es la causa de esta falta de reactividad por encima de otros posibles efectos debidos a la enolización¹²² (Esquema M-8). Por otra parte, la posición 1β del metilo disminuye la energía necesaria para abstraer el hidruro de la posición 1α lo suficiente como para que esta reacción pueda ser llevada a cabo también con cloranilo.

Esquema M-8

La enolización de Δ^4 -3-ceto esteroides, tanto las catalizadas por ácidos como las no catalizadas, da lugar a dos posibles enoles, el enol cinético $\Delta^{2,4}$ y el termodinámico, $\Delta^{3,5}$ (Esquema M-9). La naturaleza de los productos de deshidrogenación depende de factores cinéticos y principalmente, de la proporción de los dos posibles enoles y sus velocidades relativas de reacción con ambas quinonas.

En ausencia de catalizador, el enol cinético es el $\Delta^{2,4}$ -enol.¹²³ El DDQ puede abstraer el hidruro alílico en la posición C1, y dado que la velocidad de formación de este enol es menor que la velocidad de abstracción del hidruro por parte del DDQ, la dienona resultante es la $\Delta^{1,4}$. Dado que el cloranilo no tiene suficiente potencial redox para abstraer dicho hidruro (cloranilo $E^0 = 0.7$ v; DDQ $E^0 = 1.0$ v), el enol $\Delta^{2,4}$ revierte en el termodinámico $\Delta^{3,5}$ cuyo átomo de hidrógeno en la posición C7 sí puede ser abstraído por el cloranilo, para dar la dienona $\Delta^{4,6}$.

Cuando la reacción tiene lugar en presencia de HCl anhidro que actúa como catalizador¹²⁴, la formación del enol termodinámico $\Delta^{3,5}$ se ve acelerada, y la reacción con DDQ también conduce a la formación de $\Delta^{4,6}$ -3-ceto esteroides, como se muestra en el esquema M-9:

¹²² Turner, A.B.; Ringold, H. J.; *J. Chem. Soc. (C)*, **1967**, 1720.

¹²³ (a) Ringold, H. J.; Hayano; Stefanovic, V., *J. Biol. Chem.*, **1963**, 238, 1960; (b) Ringold, H. J.; Turner, A.; *Chem. Ind. (London)*, **1962**, 211.

¹²⁴ Ringold, H. J.; Gut, M.; Hayano, M.; Turner, A., *Tetrahedron Lett.*, **1962**, 3(18), 835.

Esquema M-9

En ambos casos es el átomo de hidrógeno axial o pseudoaxial (C1 o C7 respectivamente) el preferentemente abstraído por la quinona, ya que esto permite la superposición del carbanión alineado con el sistema π de la quinona (Figura M-4).

Figura M-4

En la deshidrogenación de AD con quinonas, el principal producto obtenido es el producto $\Delta^{1,4}$; aunque se obtienen además cantidades variables de los derivados $\Delta^{4,6}$ y de $\Delta^{1,4,6}$, en función de las condiciones de reacción utilizadas.

La formación de sililenoléteres es un procedimiento versátil para solucionar posibles problemas en la dirección de la deshidrogenación, particularmente cuando la hidroquinona ácida formada es neutralizada mediante la adición de BSTFA (N,O-Bis(Trimetilsilil)trifluoroacetamida) u otra base impedida.

Esta posibilidad sintética, ha sido utilizada en la síntesis de Finasteride (**E-XXII**),^{125,126,127} para llevar a cabo la deshidrogenación con DDQ en medio fuertemente ácido. Para ello se utiliza BSTFA, DDQ y TfOH catalítico. El paso clave del proceso implica la termólisis de un aducto intermedio, **E-XXIII** (Esquema M-10). Esta reacción tiene lugar mediante la formación de un aducto DDQ-sustrato del que no existen precedentes bibliográficos, seguido de una reacción termoinducida que permite la formación del nuevo doble enlace.

En el primer paso del mecanismo de reacción, el trimetilsililenoléter se forma rápidamente a temperatura ambiente. Este intermediario O-sililado reacciona lentamente con DDQ para formar un aducto en la posición C2 (**E-XXIII**). La formación de este aducto puede explicarse o bien a través de la formación de un enlace carbono-carbono por un mecanismo SET (*"single electron transfer"*) entre el DDQ y el imidato O-sililado, o bien a través del ataque nucleofílico del tautómero O-sililado sobre DDQ (Esquema M-10).

La posterior resililación del compuesto **E-XXIII** (Esquema M-11) permite la pérdida de la hidroquinona a través de un proceso de termólisis a reflujo del disolvente (tolueno), no observándose formación de producto **E-XXV** a temperatura ambiente.

¹²⁵ Bhattacharya, A.; DiMichele, L.M.; Dolling, U.-H.; Douglas, A.W.; Grabowski, J.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 3318.

¹²⁶ Williams, J. M.; Marchesini, G.; Reamer, R. A.; Dolling, U.-H.; Grabowski, E. J. J., *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 5337.

¹²⁷ Jiang, Z.-X.; Ye, J.-Q.; Jiang, L.; Zhao, Y.-S.; *Steroids*, **2005**, 70, 690.

Esquema M-11

La formación de los aductos diastereoméricos quinona-esteroide arroja una importante luz sobre el mecanismo de estas oxidaciones por medio de quinonas de intermedios sililados, que tradicionalmente han sido explicadas mediante transferencia de hidruros.

3.1.2. Síntesis de Exemestano. Resultados obtenidos.

3.1.2.1. Introducción del metileno en la posición C6.

En un primer momento, con el fin de funcionalizar la posición C6, se decidió la transformación del carbonilo α,β -insaturado en el sililenoléter correspondiente¹²⁸. Desafortunadamente, dicha formación ha presentado dificultades en el aislamiento y manipulación de los productos.

La desprotonación del carbonilo α,β -insaturado de AD **1** con trietilamina y su posterior reacción con cloruro de trimetilsilano y yoduro sódico no fue satisfactoria (Esquema M-12), debido a las dificultades que introduce la posible competencia del grupo carbonilo en C17.

Esquema M-12

Se decidió cambiar de estrategia y llevar a cabo una reacción de Mannich.¹²⁹ La reactividad sobre el carbono C6 se vio favorecida mediante la formación de los dienoléteres **2** y **3**.

La reacción de Mannich sobre la molécula de testosterona se llevó a cabo siguiendo un proceso *one pot*. En primer lugar se produce la enolización del carbonilo α,β -insaturado de la testosterona **4** para dar el etildienoléter por reacción con ortoformiato de etilo en medio ácido. La base de Schiff fue generada *in situ* por reacción de formaldehído acuoso con N-metil anilina. Dicha base reaccionó con el etilenoléter dando lugar a la amina secundaria. La adición de ácido clorhídrico concentrado condujo a la cuaternización de la

¹²⁸ Duhamel, P.; Hennequin, L.; Poirier, J.M.; Tavel, G.; Vottero, C., *Tetrahedron*, **1986**, 42(17), 4777.

¹²⁹ Caputo, R.; Ferreri, C.; Mastroianni, D.; Palumbo, G.; Wenkert, E., *Synth. Commun.* **1992**, 22(16), 2305.

amina, produciéndose la eliminación de NMA, y provocando la aparición del grupo metileno en la posición C6 (Esquema M-13).

Esta reacción conduce a la exclusiva formación del producto deseado **5** (Figuras E-1 a E-4 págs. 183-184) con rendimientos del 89 %.

El espectro ^1H -RMN del producto obtenido **5** muestra la aparición de dos singletes contiguos, a $\delta = 4.92$ ppm y $\delta = 5.05$ ppm respectivamente, correspondientes al grupo metileno generado, confirmándose también su presencia mediante la aparición de una señal triplete a $\delta = 114.0$ ppm en su espectro ^{13}C -RMN. (Figuras E-1 y E-2).

Esquema M-13

3.1.2.2. Deshidrogenación en la posición C1-2.

El estudio bibliográfico llevado a cabo previamente, resultó decisivo en la elección de quinonas para la deshidrogenación de ambos esteroides en la posición C1-2. Se decidió excluir métodos basados en la química del azufre y del selenio debido a la alta toxicidad de estos reactivos.

Aún así, se llevaron a cabo pruebas con otro oxidante como el acetato de manganeso ($\text{Mn}(\text{AcO})_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)¹³⁰ (Esquema M-14).

Esquema M-14

La reacción no condujo a la obtención del producto deseado, ni por reacción directa en ácido acético ni cuando se intentó favorecer la formación del sililenoléter intermedio en C2 por adición de BSTFA en medio ácido. Se desestimó, por tanto, esta vía sintética.

¹³⁰ Ketcha, D.M.; *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29(18), 2151.

Para optimizar la deshidrogenación en C1, se utilizaron distintas condiciones de reacción sobre un grupo numeroso de esteroides (Figura M-5, Tabla M-1):

Figura M-5

Tabla M-1: Deshidrogenación en C1

Entr.	Mat.	Quinona	Sililante	Ácido	Dte.	T ^a	Tiempo	Prod.	Rdto.
1	1	1.1 DDQ	-	-	Tolueno	Reflujo	3 días	10	56 %
2	9	1.0 DDQ	-	-	Benceno	Reflujo	50 h.	-	-
3	9	2.2 DDQ	-	-	Benceno	Reflujo	7 días	-	-
4	5	1.5 DDQ	-	-	Benceno	Reflujo	18 h.	-	-
5	5	1.4 DDQ	-	-	Dioxano	Reflujo	17 h.	-	-
6	4	1.6 DDQ	-	1.9 PhCO ₂ H.	Benceno	Reflujo	22 h.	11	60 %
7	5	1.5 DDQ	-	1.9 PhCO ₂ H.	Benceno	Reflujo	5 h.	8	14 %
8	5	1.1 DDQ	4.2 BSTFA	0.05 <i>p</i> -TsOH	Tolueno	60°C	41 h.	8	11 %
9	5	1.1 Clor.	4.2 BSTFA	0.05 <i>p</i> -TsOH	Tolueno	Reflujo	4 días	8	62 %
10	5	1.1 Clor.	4.2 BSTFA	-	Tolueno	Reflujo	4 días	8	^b
11	5	1.6 DDQ	3.0 BSTFA	-	Tolueno	ta.	20 h.	-	-
12	6	1.1 Clor.	4.2 BSTFA	-	Tolueno	Reflujo	11 días	7	^c
13	5	1.1 Clor.	-	0.1 <i>p</i> -TsOH	Tolueno	Reflujo	10 días	-	-
14	5	1.1 Clor.	4.2 BSTFA	0.1 <i>p</i> -TsOH	Tolueno	Reflujo	3.5 días	8	57 %
15	5	1.1 Clor.	4.2 BSTFA	0.01 TfOH	Tolueno	Reflujo	4 h.	8	68 %
16	6	1.1 Clor.	3.2 BSTFA	0.1 <i>p</i> -TsOH	Tolueno	Reflujo	5.5 días	7	66 %
17	6	1.1 Clor.	4.2 BSTFA	0.1 TfOH	Tolueno	Reflujo	18 h.	7	85 %
18	6	1.1 Clor.	4.2 BSTFA	0.1 TfOH	Tolueno	Reflujo	3 h.	7	90 % ^a
19	6	1.1 Clor.	2.2 BSTFA	0.1 TfOH	Tolueno	Reflujo	6 h.	7	85 % ^d

^a rendimiento HPLC. ^b Proporción **5:8** = 4:3. ^c Proporción **6:7** = 1.1:1. ^d Detección y caracterización de impureza.

En una primera prueba, se reprodujeron las condiciones de deshidrogenación de 4-androsten-3,17-diona **1** utilizadas por Turner y colaboradores (Tabla M-1, entrada 1). Obteniéndose **10** (Figuras E-21 a E-24

págs. 193-194) con un 56 % de rendimiento (Esquema M-15). (Posteriormente se comentarán las propiedades espectroscópicas de este compuesto).

Cuando se intentaron trasladar dichas condiciones de reacción tanto al sustrato **5** como al sustrato **9** (Esquema M-15), ambos con la posición C6 bloqueada por un metileno, sólo pudo aislarse material de partida sin reaccionar. Se realizaron sucesivas pruebas aumentando el número de equivalentes de DDQ, el tiempo de reacción (Tabla M-1, entradas 2-4), y efectuando el cambio de disolvente (1,4-dioxano)⁶⁸ (Tabla M-1, entrada 5). Todas estas pruebas resultaron infructuosas.

Esquema M-15

En vista de los resultados obtenidos al ser ésta una reacción catalizada por ácidos, se decidió añadir ácido benzoico a la reacción. Se probó la deshidrogenación de **4** con 1.6 equivalentes de DDQ y 1.9 de ácido benzoico, pudiéndose así aislar y caracterizar el dieno **11** con un rendimiento del 60 % (Figuras E-25 a E-28, págs. 195-196). Las mismas condiciones de reacción aplicadas a **5** sólo permitieron el aislamiento de **8** (Figuras E-13 a E-16, págs. 189-190) con un rendimiento del 14 % (Tabla M-1, entradas 6,7). Se observan ambos singletes correspondientes al metileno terminal centrados a $\delta = 4.99$ y $\delta = 5.00$ ppm en el espectro ¹H-RMN (Figura E-13), así como el sistema AB de la olefina generada a $\delta = 6.24$ ppm y $\delta = 7.08$ ppm. En el espectro ¹³C-RMN del

compuesto, aparecen los dobletes a $\delta = 127.5$ ppm y $\delta = 154.6$ ppm correspondientes al doble enlace generado, además de una señal triplete a $\delta = 111.8$ ppm relativa al metileno terminal (Figura E-14).

Dado que los resultados utilizando DDQ y ácido benzoico no resultaron satisfactorios, se decidió utilizar las condiciones de reacción ya comentadas previamente en la síntesis de Finasteride.^{131,132,133}

La sililación con BSTFA y posterior formación del aducto con la quinona permitió la deshidrogenación de la molécula en la posición C2 en medio fuertemente ácido por pérdida de la hidroquinona correspondiente a través de un proceso de termólisis.

La 6-metilen testosterona **5**, al no disponer de protones en la posición C6, tiene impedida la formación del enolato termodinámico, dado que para ello la olefina *exo*-metilénica tendría que isomerizarse al interior del ciclo para ampliar la conjugación. La formación del sililenoléter tiene lugar, por tanto, invariablemente hacia la posición C2. Dicho intermediario sililado se transforma posteriormente en el aducto entre la quinona y el esteroide. La aplicación de las condiciones de reacción de la síntesis de Finasteride a nuestro caso **5** (Tabla M-1, entrada 8) permitió aislar y caracterizar **8** con un 11 % de rendimiento. Este escaso rendimiento se puede atribuir a la excesiva reactividad del DDQ, que puede dar lugar a reacciones secundarias como procesos de sobreoxidación, o incluso a otras reacciones no deseadas en otros grupos funcionales del esteroide, como el hidroxilo en C17.

Como la fuerza deshidrogenante de cloranilo es inferior a la del DDQ, se decidió cambiar la quinona utilizada. Ya existen referencias bibliográficas acerca de este cambio de quinona¹³⁴ cuando existen problemas de reacciones secundarias con DDQ.

La deshidrogenación llevada a cabo sobre **5** con cloranilo, BSTFA y ácido *p*-TsOH catalítico a reflujo de tolueno durante 4.5 días permitió aislar **8** con un rendimiento superior al 60 %, siendo además éste el único producto esteroide (Tabla M-1, entrada 9) aislado del bruto de reacción. Se propone el siguiente mecanismo para esta reacción (Esquema M-16):

¹³¹ Bhattacharya, A.; DiMichele, L.M.; Dolling, U.-H.; Douglas, A.W.; Grabowski, J.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 3318.

¹³² Williams, J. M.; Marchesini, G.; Reamer, R. A.; Dolling, U.-H.; Grabowski, E. J. J., *J. Org. Chem.*, **1995**, 5337.

¹³³ Jiang, Z.-X.; Ye, J.-Q.; Jiang, L.; Zhao, Y.-S.; *Steroids*, **2005**, *70*, 690.

¹³⁴ Crabbe, P., Patent US 3102126, **1963**. *Chem. Abstr.*, **1964**, *61*, 25631.

Para confirmar dicho mecanismo y la importancia relativa de de cada reactivo, se llevaron a cabo distintas pruebas. En ausencia de ácido, la deshidrogenación de **5** y de acetato de 6-metilen testosterona **6** (Tabla M-1, entradas 10,12) con clorano se producía a velocidad muy reducida. Tras 11 días de reacción (Tabla M-1, entrada 12), se detectó por HPLC prácticamente un 50 % de **6** sin reaccionar. Cuando se utilizó en cambio DDQ a temperatura ambiente (Tabla M-1, entrada 11), no se detectó transformación alguna.

La reacción llevada a cabo en ausencia de sililante no permitió la detección de ningún producto de deshidrogenación (Tabla M-1, entrada 13).

El uso de TfOH en lugar de ácido p-TsOH incrementa drásticamente la velocidad de reacción, tanto así que la reacción que previamente tardaba del orden de 4-5 días usando ácido p-TsOH (pK_a ca.-2.3), tardó en completarse 3-4 horas con TfOH (pK_a ca.-13) (Tabla M-1, entrada 15).

Con el fin de evitar posibles reacciones secundarias del hidroxilo en C17 que puedan interferir en el rendimiento de la reacción, se decidió proteger dicho hidroxilo como acetato (Esquema M-17). La acetilación de **5** se llevó a cabo con anhídrido acético en piridina y DCM a temperatura ambiente durante 24 horas, lo que permitió el aislamiento de **6** con rendimientos prácticamente cuantitativos (Figuras E-5 a E-8, págs. 185-186).¹³⁵ Se confirma su estructura a través del nuevo singlete a $\delta = 2.04$ ppm que se observa en su espectro ^1H -RMN (Figura E-5) y las señales de su espectro ^{13}C -RMN (Figura E-6) correspondientes a un éster a $\delta = 171.3$ ppm y a un metilo sobre un carbono éster a $\delta = 20.9$ ppm.

¹³⁵ Kirk, D.N.; Petrow, V., Patent GB 944050, **1963**. *Chem. Abstr.*, **1964**, 61, 32742.

También se obtuvo así **14** a partir de **4** con rendimientos cuantitativos (Figuras E-33 a E-36, págs. 199-200).

Esquema M-17

La deshidrogenación de **6** en las condiciones óptimas (1.1 equivalentes de cloranilo, 4.21 equivalentes de BSTFA, 0.1 equivalentes de TfOH a reflujo de tolueno durante 3 horas) permitió aumentar el rendimiento de **7** hasta valores superiores al 85 %, a la vez que disminuir el tiempo de reacción (Tabla M-1, entradas 17-18).

Tabla M-2. Utilización de distintos agentes sililantes en la reacción de deshidrogenación.

Entr.	Mat.	Quinona	Sililante	Ácido	Dte.	T ^a	Tiempo	Prod.	Rdto.
1	6	1.1 clor.	4.2 TMSCl	0.1 TfOH	Tolueno	Reflujo	32 h.	12*	70 % ^a
2	6	1.1 clor.	4.2 BSA	0.1 TfOH	Tolueno	Reflujo	4.0 días	-	-
3	6	1.1 clor.	4.2 BSU	0.1 TfOH	Tolueno	Reflujo	3.0 días	7	16 % ^a
4	6	1.1 clor.	4.2 TMSIm	0.1 TfOH	Tolueno	Reflujo	2.5 días	7	4.4 % ^a
5	6	1.1 clor.	4.2 TMSIm	0.1 TfOH	Tolueno	50°C	3.5 días	7	3.4 % ^a

^a rendimiento HPLC

También se llevaron a cabo pruebas con otros agentes sililantes distintos a la BSTFA (Tabla M-2). El uso de TMSCl permitió detectar solamente **12** (Esquema M-18), el producto de isomerización del metileno en C6 al interior del anillo B (Tabla M-2, entrada 1). Esta isomerización se pudo detectar al observar que en el cromatograma HPLC la absorción máxima en el UV del producto en lugar de ser de $\lambda = 250$ nm que era el valor esperado, pasó a ser $\lambda = 290$ nm, lo que es fácilmente asignable a un sistema $\Delta^{4,6}$.

No se pudo detectar ningún producto al utilizar como sililante BSA (Tabla M-2, entrada 2). Cuando el sililante utilizado fue BSU o TMSIm la reacción tuvo lugar, aunque con rendimientos muy bajos (Tabla M-2, entrada 3-4). La repetición de la reacción con TMSIm se llevó a cabo a 50°C, ya que la elevada temperatura empleada en el caso de la BSTFA podría haber provocado la descomposición del sililante. Aún así, no se detectó aumento alguno en el rendimiento obtenido para la reacción en estas condiciones (Tabla M-2, entrada 5).

Tabla M-3. Utilización de ácidos y quinonas en la reacción de deshidrogenación.

Entr.	Mat. Partida	Quinona	Sililante	Ácido	Dte.	T ^a	Tiempo	Prod.	Rdto.
1	6	1.1 clor.	4.2 BSTFA	0.2 TFA 0.5	Tolueno	Reflujo	48 h.	7	82 % ^a
2	6	1.1 clor.	3.2 BSTFA	H ₂ SO ₄	Tolueno	Reflujo	15 h.	7	83 %
3	6	1.1 DDQ	4.2 BSTFA	0.2 TFA	Tolueno	60°	32 h.	7	49 % ^a
4	6	1.1 DDQ	4.2 BSTFA	0.1 TfOH	Tolueno	ta.	48 h.	7	50 % ^a

^a rendimiento HPLC

El uso de TFA (pK_a = -0.25) reduce el tiempo de reacción a un nivel intermedio (t= 32 horas) entre las 3 horas que dura la reacción con TfOH y los 4.5 días que dura la reacción con *p*-TsOH. Aun así, el manejo de TFA es mucho menos delicado a gran escala, ya que no es tan sensible al aire como lo es TfOH (Tabla M-3, entrada 1). El uso de H₂SO₄ (pK_a = -4) es el ideal para el trabajo a gran escala, dado el tiempo de reacción intermedio (t= 15 horas) entre *p*-TsOH y TfOH, siendo este inferior al de TFA (Tabla M-3, entrada 2). El cambio de

quinona de cloranilo a DDQ reduce el rendimiento a niveles cercanos al 50 % (Tabla M-3, entradas 3,4).

3.1.2.3. Obtención de Exemestano.

La saponificación del grupo acetato, tanto del derivado hidrogenado **6** como del deshidrogenado **7**, se llevó a cabo por tratamiento a temperatura ambiente en MeOH con una disolución acuosa 1M NaOH durante 4 horas. Los rendimientos obtenidos en la saponificación fueron superiores al 95 % (Esquema M-19).

Esquema M-19

La oxidación⁶⁷ del hidroxilo en C17 de **8** se llevó a cabo con el *Reactivo de Jones* a 20°C y transcurrió con rendimientos cuantitativos (Esquema M-20). Se obtuvo así un producto **13**, cuyas propiedades espectroscópicas (Figuras E-29 a E-31, págs. 197-198) son idénticas a las obtenidas para el exemestano.

Esquema M-20

3.1.3. Síntesis de posibles impurezas.

De cara al aprovechamiento industrial de esta ruta sintética, se consideró aconsejable llevar a cabo la síntesis de varias impurezas potenciales, para conocer y controlar la presencia de productos secundarios indeseados en el proceso de escalado.

El intento de extrapolación de estas condiciones de deshidrogenación ácida (1.1 equivalentes de clorano, 4.21 equivalentes de BSTFA, 0.1 equivalentes de TfOH a reflujo de tolueno durante 3 horas) a compuestos de esqueleto androstano carentes de funcionalización en la posición C6 no condujo a la obtención del producto esperado con la pureza deseada. La reacción de deshidrogenación del acetato de testosterona **14** condujo a la formación de tres productos **15**, **16** y **17** en proporción 2:2:1 (Esquema M-21).

Esquema M-21

La masa y los máximos de absorción en el espectro ultravioleta concuerdan con los esperados para el producto **15** doblemente deshidrogenado $\Delta^{1,4,6}$ (MW: 327.1, M+H, $\lambda = 223, 258 \text{ y } 303 \text{ nm}$), y los productos **16** y **17**, $\Delta^{1,4}$ (MW: 329.1, M+H, $\lambda = 246 \text{ nm}$) y $\Delta^{4,6}$ (MW: 329.1, M+H, $\lambda = 286 \text{ nm}$), respectivamente.

a. Síntesis de **9**

Esquema M-22

La aplicación de las condiciones de reacción utilizadas en la síntesis de **5**, a la síntesis de la potencial impureza **9** a partir de AD (**1**), (Esquema M-22) permitió el aislamiento y caracterización de dicho producto con excelentes rendimientos. Se observa claramente la aparición en el espectro ^1H -RMN de dos señales singlete centradas a $\delta = 4.96$ y $\delta = 5.07$ ppm correspondientes a ambos protones olefínicos, corroborándose además mediante la aparición de una señal a $\delta = 113.6$ ppm en su espectro ^{13}C -RMN correspondiente al carbono olefínico terminal (Figuras E-17 a E-20, págs. 191-192).

b. Síntesis de **10**

Esquema M-23

Como se comentó anteriormente, la reproducción de las condiciones de deshidrogenación de 4-androsten-3,17-diona **1** utilizadas por Turner y colaboradores¹²³ (Tabla M-1, entrada 1) permitió, tras tres días a reflujo de tolueno y en presencia de 1.1 equivalentes de DDQ, el aislamiento y caracterización de **10**, con un 56 % de rendimiento. En el espectro ^1H -RMN (Figuras E-21 a E-24, págs. 193-194) se observa la presencia de un sistema AX cuyos dobletes están centrados a $\delta = 6.07$ y $\delta = 6.95$ ppm respectivamente. También son características las dos señales doblete generadas a $\delta = 126.7$ y $\delta = 154.6$ ppm correspondientes a ambos carbonos. El máximo de absorción en el UV de **10** aparece a $\lambda = 245$ nm, valor que corrobora además la presencia de la olefina en la posición C1-2. (Esquema M-23).

c. Síntesis de **11**

Esquema M-24

La deshidrogenación de **4** se llevó a cabo con 1.6 equivalentes de DDQ y 1.9 de ácido benzoico, pudiendo así aislar y caracterizar **11** con un rendimiento del 60 % (Esquema M-24). En el espectro ^1H -RMN correspondiente (Figuras E-25 a E-28, págs. 195-197) se observa el mismo sistema AX que ya se detectó en la caracterización de **10** (Tabla M-1, entrada 5), pero dicho sistema en esta ocasión se encuentra ligeramente más desapantallado, centrados ambos dobletes a $\delta = 6.18$ ppm y $\delta = 7.02$ ppm.

d. Síntesis de 18

Para la obtención del compuesto de isomerización al interior del anillo B del metileno en C6 con buenos rendimientos, se decidió utilizar Pd/C (0.15 g/g, 10 % húmedo) y ciclohexeno (0.1 equivalentes) como fuente de hidrógeno, en presencia de $\text{AcONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ a reflujo de tolueno. Estas condiciones aplicadas a **9** permitieron la obtención de **18** con un 93 % de rendimiento. El espectro ^1H -RMN del compuesto presenta un singlete de tres protones centrado a $\delta = 1.8$ ppm, correspondiente al metilo sobre doble enlace en C6'. En su espectro ^{13}C -RMN cabe comentar la presencia de dos señales CH centradas a $\delta = 120$ y $\delta = 136$ ppm respectivamente, correspondientes ambas a carbonos olefínicos (Figuras E-38 a E-41, págs. 201-203).

3.2. Fluorometolona.

3.2.1. Síntesis de Fluorometolona. Estrategia sintética.

El estudio bibliográfico del producto y las reacciones implicadas nos sugirió utilizar el compuesto 17 α -hidroxi-4,9(11)-pregnadien-3,20-diona **19**, como material de partida. La estrategia sintética empleada, ha de dar cuenta de las siguientes transformaciones: Introducción del metileno en C6 a través de una reacción de Mannich, la hidrogenación catalítica de dicho metileno, las deshidrogenación en la posición C1 del anillo A de esteroide y finalmente, la obtención de fluorometolona a través de un esquema formación de halohidrina, cierre a epóxido y reapertura con ácido fluorhídrico.

3.2.1.1. Reacción de Mannich.

El estudio de la introducción de un metileno terminal en la posición C6 ya ha sido abordado previamente en la síntesis de exemestano (Sección 3.1.1.1.).

3.2.1.2. Hidrogenación selectiva. Antecedentes.

La hidrogenación catalítica ha sido ampliamente utilizada en la química de los esteroides, y ha demostrado ser un método de gran utilidad para la

reducción selectiva y estereoespecífica de varios grupos funcionales (Figura M-6).

El mecanismo originalmente propuesto por Horiuti y Polanyi,¹³⁷ aceptado actualmente es el siguiente:

Figura M-6

Este mecanismo da una explicación clara a la estereoquímica de los isómeros generados y al intercambio protón-deuterio en la mayoría de los casos de hidrogenación de olefinas.¹³⁸

La adsorción de hidrógeno por el doble enlace tiene lugar en dos etapas claras, y son estas etapas (la adsorción inicial de la olefina sobre la superficie del catalizador (Etapa 2), o bien reducción del estado parcialmente hidrogenado (Etapa 4)) las que controlan la estereoquímica de los productos obtenidos.¹³⁹

Dentro de los principales factores que influyen en la estereoquímica de los productos de hidrogenación cabe destacar:

A. Disponibilidad de hidrógeno sobre el catalizador.

En condiciones de alta disponibilidad de hidrógeno sobre la superficie del catalizador (altas presiones o rápida agitación), la estereoquímica del producto

¹³⁷ Horiuti, I., Polanyi, M., *Trans. Faraday Soc.*, **1934**, 30, 1164.

¹³⁸ (a) Sauvage, J.F., Baker, R.H., Hussey, A.S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83, 3874; (b) Siegel, S., Dunkel, M., Smith, G.V., Halpern, W., Cozort, J., *J. Org. Chem.*, **1966**, 31, 2802; (c) Siegel, S., Smith, G.V., *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 6082; (d) Siegel, S., Smith, G.V., *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 6087; (e) Smith, G.V., Burwell Jr., R.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, 84, 925.

¹³⁹ Siegel, S., *Adv. Catalysis*, **1966**, 16, 124.

de reacción está determinada por factores estéricos que influyen en la olefina doblemente adsorbida (Etapa 2, Figura M-6). Se obtienen, por tanto, preferentemente los productos procedentes de la adsorción en el catalizador por el lado menos impedido de la molécula.

En condiciones de baja disponibilidad de hidrógeno por parte del catalizador, se establece un equilibrio entre las etapas 1 y 2 (Figura M-6). esto puede conducir a la isomerización de la olefina así como a un cambio en la dirección de adsorción. La composición del producto depende de la estabilidad relativa de los distintos estados posibles parcialmente hidrogenados (Etapa 3, figura M-6). A efectos comparativos, el estado parcialmente hidrogenado puede considerarse como un derivado organometálico con el átomo de carbono adsorbido con disposición tetraédrica. Estas especies organometálicas en el carbono menos sustituido son las que tienen menor energía.¹⁴⁰ La epimerización previa a la segunda etapa de hidrogenación es la responsable de la formación de los llamados “productos de *trans*-hidrogenación” que se dan en algunas olefinas.

Las condiciones habituales de hidrogenación (presión atmosférica de hidrógeno y agitación magnética) conducen a una baja disponibilidad de hidrógeno para el catalizador. En contraste con esto, el uso de autoclaves tipo Parr de baja presión (3-5 atmósferas) generalmente producen condiciones de alta disponibilidad de hidrógeno.

La concentración de hidrógeno en la superficie del catalizador puede a su vez ser modificada disminuyendo la cantidad de catalizador, lo que incrementa la concentración de hidrógeno por sitio activo de catalizador.

B. El catalizador.

El principal factor que interviene en la estereoquímica del producto de hidrogenación es el catalizador utilizado.^{141,142} Por ejemplo el uso de paladio conduce al producto más estable termodinámicamente en mayor cuantía que el resto de los catalizadores. Este efecto ha sido atribuido al aumento de la proporción de la epimerización correspondiente al proceso de hidrogenación.¹³⁹ Consecuentemente, el paladio no es un catalizador adecuado para la hidrogenación de dobles enlaces fácilmente isomerizables como Δ^7 - o

¹⁴⁰ Wilson, J.N., Otvos, J.W., Stevenson, D.P., Wagner, C.D., *Ind. Eng. Chem.*, **1953**, 45, 1480.

¹⁴¹ Augustine, R.L., *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 152.

¹⁴² Augustine, R.L., Van Peppen, J., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1969**, 158, Art. 2., 482.

Δ^8 -esteroides.¹⁴³ La presencia de ciertos grupos funcionales puede influir en gran medida en la dirección de adsorción en la superficie del catalizador (Figura M-7). Un ejemplo importante es el grupo hidroxilo. La hidrogenación de alcoholes bencílicos ópticamente activos tiene lugar con inversión de la configuración sobre paladio, pero con retención de la configuración sobre Níquel-Raney.^{144,145} Estos resultados sugieren que la molécula es adsorbida sobre el átomo de carbono del carbinol en el caso del paladio, mientras que es el grupo hidroxilo el que es preferiblemente adsorbido sobre el níquel. Estos y otros resultados¹⁴⁶ sugieren que un grupo hidroxilo axial tiene mayor influencia que uno ecuatorial, conociéndose esto como “efecto del grupo hidroxilo”.

Figura M-7

C. El medio de reacción.

Generalmente, la estereoquímica de los productos de hidrogenación de dobles enlaces aislados no se ve afectada por la naturaleza del disolvente.

En el caso de dobles enlaces polarizados como los Δ^4 -3-cetoesteroides, la estereoquímica de los productos sí se encuentra marcadamente influida por el disolvente empleado,^{147,148} variando los puntos de anclaje de la molécula sobre la superficie del catalizador.

En disolventes apróticos poco polares como dietiléter o tolueno, la vía de adsorción 1,2 (Figura M-8) es predominante, mientras que la adsorción 1,4 está

¹⁴³ Augustine, R.L., *Catalytic Hydrogenation, Techniques and Applications in Organic Synthesis*, M. Dekker, Inc., New York, NY, **1965**.

¹⁴⁴ Bonner, W.A., Zderic, J.A., Casaletto, G.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, *74*, 5086.

¹⁴⁵ (a) Mitsui, S., Imaizumi, S., *Bull. Chem. Soc. Japan*, **1961**, *34*, 774; (b) Mitsui, S., Kudo, Y., *Chem. Ind. (London)*, **1965**, 381; (c) Mitsui, S., Senda, Y., Konno, K., *Chem. Ind. (London)*, **1963**, 1354.

¹⁴⁶ Brewster, J.H., Braden Jr., W.E., *Chem. Ind. (London)*, **1964**, 1759.

¹⁴⁷ Augustine, R.L., Migliorini, D., Foscante, R., Sodano, C., *J. Org. Chem.*, **1969**, *34*, 1075.

¹⁴⁸ Augustine, R.L., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1967**, *145*, Art. 1, 19;

mayoritariamente favorecida en disolventes apróticos muy polares como 1,4-dioxano o N,N-dimetilformamida.

La vía de adsorción 1,2 conduce habitualmente a mezclas prácticamente equimoleculares de ambos posibles productos de hidrogenación **E-XXX** y **E-XXXI**, mientras que la adsorción 1,4 conduce mayoritariamente al producto de unión *cis* entre los anillos A y B del esteroide (**E-XXXI**).

En el caso de disolventes próticos muy polares, como agua o metanol, la adsorción 1,4 se encuentra impedida debido a la solvatación¹⁴⁹ del grupo carbonilo o a su posible hemiacetalización, por lo que los productos se obtienen exclusivamente vía adsorción 1,2. Al disminuir el grado de polaridad del disolvente, disminuye su capacidad de solvatación del carbonilo, volviéndose a producir la hidrogenación a través de la vía 1,2.

Figura M-8

La hidrogenación de estos dobles enlaces polarizados (Δ^4 -3-cetoesteroides) conducen a la obtención casi exclusiva del isómero 5 β en medio básico, mientras que se obtienen mezclas de distintas proporciones 5 α /5 β en medios neutros, aumentando la cantidad de 5 β al aumentar la acidez del medio.¹⁵⁰

En medio básico fuerte (Figura M-9), lo primero que tiene lugar es la protonación del enolato $\Delta^{3,5}$ formado (**E-XXXIII** y **E-XXXIV**), que sufre una adsorción irreversible sobre la superficie del catalizador a través de su oxígeno. La adición de hidruro procedente del catalizador transforma el producto adsorbido en el dianión correspondiente (**E-XXXV**, **E-XXXVII** y **E-XXXIX**). En este

¹⁴⁹ McQuillin, F.J., Ord, W.O., Simpson, P.L., *J. Chem. Soc.*, **1963**, 5996.

¹⁵⁰ Nishimura, S., Shimahara, M., Shiota, M., *Chem. Ind. (London)*, **1966**, 1796.

punto la reacción está concluida, y la estereoquímica del producto resultante viene determinada por la protonación de dichas especies con protones procedentes del medio de reacción, previa a la desorción por parte del catalizador. Con el enolato heteroanular (**E-XXXIII**), ambas adsorciones *cis* (**E-XXXV**) y *trans* (**E-XXXVII**) pueden ocurrir con aproximadamente la misma facilidad. Pero en presencia de un metilo angular (**E-XXXIV**), este dirige la adsorción hacia los productos de *trans*-adsorción. La protonación de esta especie por el medio de reacción explica la casi exclusiva obtención del producto *cis* (**E-XL**).¹⁵¹

Figura M-9

Ya en bibliografía aparecen ejemplos de que cuando la base añadida es una base nitrogenada como trietilamina a la hidrogenación catalítica heterogénea con Pd/C, ésta actúa como un veneno débil del catalizador.¹⁵²

¹⁵¹ Malhotra, S.K., Ringold, H.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, 86, 1997.

¹⁵² (a) Pizey, J. S., *"Synthetic reagents, Vol. II"*; Malsted, New York, NY, **1974**, pp 180–193. (b) El efecto depresor de la combinación catalizador Pd/C y trietilamina ha sido aplicado con éxito en hidrogenaciones quimioselectivas. Ver: Sajiki, H.; Hirota, K., *Tetrahedron*, **1998**, 54, 13981 y las referencias allí citadas.

3.2.1.3. Deshidrogenación de 3-ceto-4-en esteroides.

La deshidrogenación de esteroides en la posición C1-2 ya ha sido abordada previamente en el estudio bibliográfico de la síntesis de exemestano (Sección 3.1.1.2).

3.2.1.4. Epoxidación y formación de halohidrinas. Antecedentes.

Dado el alto grado de estereoselección asociado con la mayoría de los métodos de obtención y la reactividad de los oxiranos, éstos han sido ampliamente utilizados en la síntesis de esteroides. Las reacciones más utilizadas para la obtención de epóxidos son la utilización de perácidos, el uso de peróxido de hidrógeno en medio alcalino y la formación y posterior apertura de halohidrinas intermedias.

El método principal de obtención de epóxidos es por reacción de un alqueno con un perácido como puede ser el ácido perbenzoico o más comúnmente *m*-cloroperbenzoico. El mecanismo (Figura M-10) general de adición electrofílica de la reacción peróxido-olefina se cree que puede ser o bien a través de un espirano intramolecular¹⁵³ o bien a través de un aducto 1,3-dipolar de un óxido carbonílico.¹⁵⁴ Es además una reacción sensible a los impedimentos estéricos.

Figura M-10

En general, la epoxidación de esteroides con fusión de anillos tipo *trans*-*anti-trans* lleva a la formación exclusiva de α -oxiranos.¹⁵⁵ En el caso concreto de $\Delta^{9(11)}$ alquenos,¹⁵⁶ el ataque preferente del reactivo tiene lugar por la cara α del esqueleto esteroide, siendo atribuible este mecanismo al blindaje que ejercen

¹⁵³ (a) Bartlett, P.D., *Rec. Chem. Progr.*, **1950**, 11, 47; (b) Henbest, H.B., *Chem. Soc. (London) Spec. Publ.*, **1964**, 19, 83.

¹⁵⁴ Kwart, H., Hoffman, D.M., *J. Org. Chem.*, **1966**, 31, 419.

¹⁵⁵ Djerassi, C., *"Steroid Reactions"*, Holden-Day, Inc., San Francisco, CA, **1963**.

¹⁵⁶ Sih, C.J., *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 4716.

los dos metilos angulares en la cara β . Este hecho nos hace abandonar esta idea sintética dado que el producto que nosotros deseamos obtener es el β -epóxido.

La epoxidación de alquenos por reacción con peróxido de hidrógeno en medio alcalino es una reacción específica para compuestos α,β -insaturados y por tanto no es interesante sintéticamente en nuestro caso.

Finalmente, es posible obtener oxiranos en la cara β más impedida estéricamente vía formación de *trans*-halohidrininas, que permiten la obtención de oxiranos por tratamiento en medio básico. Las *cis*-halohidrininas en cambio, conducen a la formación de cetonas por exposición a medios alcalinos. Existen dos métodos generales conducentes a la obtención de *trans*-halohidrininas: por reducción de α -halocetonas o bien por adición de ácidos hipohalogenosos a olefinas.

La formación de la bromohidrina vía adición de ácido hipobromoso a olefinas ilustra la ruta anteriormente mencionada. Este reactivo se adiciona al doble enlace de forma *trans*-diaxial; la adición se inicia por el ataque de un ión bromonio positivo por la cara menos impedida (generalmente la cara α del esteroide) al igual que ocurre cuando el ataque es llevado a cabo por perácidos. La reacción de esta especie con el doble enlace $\Delta^{9(11)}$ genera el ión bromonio (Esquema M-27). Esta especie es fuertemente electrofílica y su apertura en medio básico tiene lugar en forma *trans*-diaxial.

El tratamiento básico de la bromohidrina generada (**E-XLIII**) promueve la oxociclación para la obtención del oxirano correspondiente (**E-XLIV**) eliminándose HBr y generándose así, a diferencia de los epóxidos generados por perácidos, el epóxido por la cara β del esqueleto esteroide.

Los principales reactivos generadores de bromo utilizados son N-bromo bencenosulfonamida, NBS (N-bromosuccinimida) y DBH (1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina).

Uno de los métodos más ampliamente utilizados es el método desarrollado por Fried y Sabo¹⁵⁷ para la preparación *in situ* de ácido hipobromoso a partir de un compuesto bromado (N-bromoacetamida, N-bromosuccinimida o, en general, cualquier compuesto capaz de generar bromo positivo en el medio) en un disolvente como 1,4-dioxano o acetona que contiene ácido perclórico. La adición transcurre más suavemente con esteroides altamente funcionalizados (más polares).¹⁵⁸

Las condiciones de polaridad de la reacción plantean problemas de solubilidad para algunos esteroides lipofílicos tanto de esqueletos androstano,¹⁵⁹ como de colestano¹⁶⁰ y pregnano.¹⁶¹ Los rendimientos de dicha reacción aumentan con el uso de DBH¹⁶² como fuente de bromo positivo, superiores incluso a los obtenidos con NBS. Esto unido al alto porcentaje de bromo de la molécula, su reducido coste y fácil manipulación lo convierten en el reactivo de elección para la formación de halohidrinas.

Disoluciones alcohólicas de hidróxido potásico o sódico son utilizados normalmente para la conversión de halohidrinas en oxiranos. Bases más débiles también han sido utilizadas, como acetato potásico o carbonato potásico, con excelentes resultados. El uso de bases más débiles puede conducir a una disminución de rendimiento debido a problemas de solvólisis.

¹⁵⁷ Fried, J., Sabo, E.F., *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 1130.

¹⁵⁸ Heller, M., Stolar, S.M., Bernstein, S., *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 5044 y las referencias allí citadas.

¹⁵⁹ Klimstra, P.D., Counsell, R.E., *J. Med. Chem.*, **1965**, 8, 48.

¹⁶⁰ (a) Nakano, T., Hasegawa, M., Djerassi, C., *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **1963**, 11, 465; (b) Rezabova, B., Hora, J., Landa, V., Cerny, V., Sorm, F., *Steroids*, **1968**, 11, 475.

¹⁶¹ Löken, B., Kaufmann, S., Rosenkranz, G., Sondheimer, F., *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, 78, 1738.

¹⁶² Wren, D.L., Siddall, J.B., Edwards, J.A., *Labelled Compounds*, **1967**, 3, 104.

3.2.2. Síntesis de Fluorometolona. Resultados obtenidos.

3.2.2.1. Introducción del metileno en la posición C6.

La reacción de Mannich sobre distintos sustratos se llevó a cabo en las condiciones previamente optimizadas en la síntesis de exemestano.¹⁶³ Bajo dichas condiciones, se ha podido obtener el trieno **20** a partir del dieno base **19** con rendimientos superiores al 80 % (Figuras E-42 y E-45, págs. 205-206). Esta reacción se ha escalado a nivel de laboratorio de hasta 60 gramos de esteroide con rendimientos superiores al 80 % (Esquema M-28).

Esta reacción se ha generalizado a otros sustratos con distintas funcionalizaciones en los anillos C y D del esteroide. Mediante este método, han podido obtenerse **23** a partir de **21** (rendimiento 83 %, Figuras E-54 a E-57, págs. 211-212), **24** a partir de **22** (80 %, Figuras E-58 a E-61, págs. 213-214) y **26** a partir de **25** (77 %, Figuras E-66 a E-69, págs. 217-218), (esquemas M-29 y M-30). En todos estos casos se ha escalado con éxito la reacción en el laboratorio hasta 10 gramos de esteroide. La estructura de los compuestos en la reacción de Mannich se confirma por la aparición de dos señales singlete centradas aproximadamente a $\delta = 5.1$ y $\delta = 5.3$ ppm en sus espectros ^1H -RMN correspondientes al metileno terminal en C6 y la aparición de una señal triplete centrada a $\delta = 114\text{-}117$ ppm en el espectro ^{13}C -RMN correspondiente también a dicho metileno (Figuras E-54-55, E-58-59 y E-66-67).

¹⁶³ Esquema M-13, pág. 82.

Esquema M-29

Cabe destacar como caso particular, que en la síntesis de **26** a partir de **25**, el empleo de ácido clorhídrico concentrado provoca simultáneamente la apertura del epóxido (esquema M-30).

Esquema M-30

3.2.2.2. Hidrogenación catalítica heterogénea del metileno en C6.

Se han llevado a cabo distintas pruebas de hidrogenación catalíticas selectiva los sustratos **20**, **26**, **31** y **32**.

La hidrogenación catalítica llevada a cabo sobre el sustrato **20** (Esquema M-31) con Pd/C (10 %) húmedo en etanol a presión de hidrógeno (5 atmósferas) durante 6.5 horas, y posterior isomerización con HCl, condujo exclusivamente al compuesto de doble hidrogenación **27** (70 %, Figuras E-70-77, págs. 219-223). La confirmación de la estructura asignada a **27** se pudo obtener mediante la desaparición de la absorción en el UV correspondiente a **20** ($\lambda_{\text{max}} = 262.4 \text{ nm}$). Sin embargo, se mantiene en el espectro ^1H -RMN la señal doblete centrada a $\delta = 5.42 \text{ ppm}$ correspondiente al protón de C11, habiendo desaparecido tanto los dos singletes del metileno en C6 como el del protón de C4 del material de partida **20**. Ha aparecido también una nueva señal doblete a

$\delta = 1.04$ ppm ($J = 7.28$ Hz) correspondiente al nuevo metilo en C6. La orientación α tanto del metilo en C6 como del protón de C5 queda confirmada por el espectro nOe en el espectro ROESY (Figura E-77). En el espectro ^{13}C -RMN se observa la señal doblete a $\delta = 117$ ppm correspondiente al carbono olefínico en C11. Además, la saturación de los dobles enlaces conjugados con el carbonilo en C3 ha desapantallado la señal del carbonilo hasta $\delta = 212.3$ ppm.

Esquema M-31

La disminución del tiempo de reacción a 1 hora y 45 minutos permitió el aislamiento y caracterización de **28** (Figuras E-78 a E-85, págs. 224-228) con un 34 % de rendimiento, pudiéndose detectar la presencia de **27** y **29** en el bruto de reacción (Esquema M-32).

Esquema M-32

La batería de pruebas llevadas a cabo variando presión de hidrógeno, el tiempo de reacción, la concentración de catalizador y el disolvente utilizado condujo a mezclas en distintas proporciones de material de partida **20**, el producto de monohidrogenación objetivo **28**, el de isomerización del metileno al interior del anillo B (**29**), y el producto doblemente hidrogenado (**27**), no mejorándose en ningún caso el rendimiento previamente obtenido de 34 %.

Existen precedentes en bibliografía que indican que el uso de trietilamina retarda la hidrogenación de dobles enlaces α,β -conjugados con cetonas. La adición de trietilamina (Esquema M-33) a una disolución de **20** en diclorometano en agitación, bajo atmósfera de hidrógeno en presencia de Pd/C (10 %) y su posterior tratamiento con HCl, permitió obtener y caracterizar **28** con rendimientos del 75 %.

Presumiblemente, la hidrogenación tiene lugar sobre el sistema diénico conjugado bajo las condiciones de reacción, transformándose en el compuesto **29**, que seguidamente se isomeriza al producto termodinámicamente controlado **28** en condiciones ácidas. (Esquema M-33).

Con objeto de obtener distintos sustratos con la funcionalidad adecuada con los que optimizar las condiciones de la etapa de deshidrogenación, se sintetizaron y caracterizaron de esta manera los compuestos **30** (rendimiento 45 %, Figuras E-86 a E-89, págs. 229-230) a partir de **26**, **33** a partir de **31** (rendimiento 8 %, Figuras E-98 a E-101, págs. 235-236) y **34** a partir de **32** (rendimiento 14 %, Figuras E-102 a E-105, pág. 237-238) (Esquema M-34).

3.2.2.3. Deshidrogenación en C1 con cloranilo.

La deshidrogenación en la posición C1-2 con DDQ o cloranilo catalizada por ácidos ya ha sido optimizada previamente en la síntesis de exemestano.¹⁶⁴ Los intentos de deshidrogenación sobre los sustratos modelo **20**, **26** y **30** en las condiciones obtenidas para exemestano (cloranilo, BSTFA, ácido triflico a reflujo de tolueno) no permitieron aislar ninguno de los productos objetivo (Esquema M-35).

Esquema M-35

Cuando la deshidrogenación se probó sobre el compuesto **28** en las mismas condiciones pero utilizando ácido trifluoroacético, sí se consiguió aislar el compuesto de deshidrogenación **39**, con rendimiento del 36 %.

El escaso rendimiento de dicha deshidrogenación en medio ácido, nos condujo a buscar la formación del sililenoléter en condiciones básicas. Dicho intermedio se obtuvo por tratamiento de **28** con *tert*-butildimetilsililtrifluorometanosulfonato y diisopropiletilamina en diclorometano. Seguidamente la posterior reacción de deshidrogenación en posición C1-2 se obtuvo por reacción a 15°C durante 16 horas con cloranilo en piridina. En este paso se genera **38** que no se aísla, y en el mismo trabajo de reacción se transforma en **39** (Esquema M-36). El aislamiento y caracterización de la trienona **39** se realizó por fraccionamiento del bruto de reacción sobre sílice-flash, obteniéndose con un rendimiento del 67 % (Figuras E-107 a E-110, págs. 239-241).

¹⁶⁴ Tabla M-1, pág. 83.

Esquema M-36

3.2.2.4. Formación de la halohidrina, cierre del epóxido y apertura con ácido fluorhídrico.

La obtención de la bromohidrina sobre el doble enlace $\Delta^{9(11)}$ tuvo lugar quimiosselectivamente sin afectar a la insaturación Δ^4 α,β -conjugada con la cetona en C3. Dicha reacción transcurrió con excelentes rendimientos en distintos sustratos. Para la generación del ácido hipobromoso en el medio de reacción se ha recurrido a la disolución de un generador de bromo como es el compuesto DBH (1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina) en agua, generándose *in situ* ácido hipobromoso (HBrO). La adición de un medio fuertemente ácido como el ácido perclórico 70 %, favorece en mayor medida la formación de HBrO, que es una fuente de Br^+ . La reacción de esta especie con el doble enlace $\Delta^{9(11)}$ genera el bromonio cíclico ya comentado, que es abierto por el agua por adición en posición *anti*. La reacción aquí utilizada es una modificación de las condiciones presentes en la patente US 4031080.¹⁶⁵

La suspensión del esteroide en una mezcla acetona: agua en proporción 4:1 y la posterior adición de DBH y HClO_4 a temperatura ambiente, permitió el aislamiento de la bromohidrina en la posición 9(11), siempre con excelentes rendimientos. Se pudieron así aislar y caracterizar las bromohidrinan **21** a partir de **19** (rendimiento superior al 90 %, Figuras E-46 a E-49, págs. 207-208) y **22** a partir de **40** (93 %) (Figuras E-50 a E-53, págs. 209-210) (Esquema M-37).

¹⁶⁵ Palladino, G., Patent US 4031080, **1976**; *Chem. Abstr.* **1977**, 86, 29996.

Esquema M-37

Por comparación de los espectros ^1H -RMN de los materiales de partida y de los productos, se observa que las señales singlete centradas a $\delta = 5.7$ ppm correspondientes al protón olefínico en C4 se mantienen sin variaciones, mientras que los dobletes anchos a $\delta = 5.5$ ppm correspondientes a los protones olefínicos en C11 desaparecen. Esto confirma que es el doble enlace aislado el que sufre la reacción y no el conjugado con el carbonilo de C3. Además aparece también una señal singlete a $\delta = 4.7$ ppm correspondiente al protón en C11 geminal al alcohol. La comparación de los espectros ^{13}C -RMN de **40** y de **22** no deja lugar a dudas (Figuras E-112 y E-51, págs. 242 y 209). Se ha producido la transformación de la señal doblete de C11 a $\delta = 118.2$ ppm correspondiente a un carbono olefínico en una señal también doblete a $\delta = 74.1$ ppm correspondiente a carbono unido al alcohol libre, además de la transformación del singlete de C9 a $\delta = 144.2$ ppm correspondiente al doble enlace 9(11) en otro singlete a $\delta = 74.1$ ppm correspondiente al enlace carbono-bromo.

El posterior cierre de la bromohidrina **22** al epóxido **41** se llevó a cabo en medio básico, por agitación durante 5-20 horas en una mezcla de carbonato potásico en acetona: agua 1:1 (Esquema M-38). Se pudo así aislar y caracterizar **41** (Figuras E-115 a E-118, págs. 243-245). Por este mismo procedimiento se pudo aislar también **31** a partir de **23** (Figuras E-90 a E-93, págs. 231-232) y **32** a partir de **24** (Figuras E-94 a E-97, págs. 233-234), siempre con rendimientos superiores a 70 %. La señal en dichos espectros ^1H -RMN correspondiente al protón de C11 a $\delta = 3.5$ ppm es característica del protón de una función epóxido. En el compuesto **41**, es de destacar la desaparición tanto de la señal del protón en C11 ($\delta = 4.74$ ppm), como la debida al protón del grupo hidroxilo en dicha posición C11 ($\delta = 4.64$ ppm) en el espectro correspondiente al material de partida, **22**.

Esquema M-38

La escasa solubilidad de las halohidrinas en la mayoría de disolventes, unido a la posibilidad de llevar a cabo la reacción en el mismo medio y con elevados rendimientos, nos condujeron a probar la epoxidación como un proceso *one pot*. La reacción con DBH se llevó a cabo en la forma anteriormente descrita, pero en el trabajo de la reacción se adicionó K_2CO_3 , dejándolo reaccionar durante varias horas (Esquema M-39). Se pudo aislar así **25** a partir de **19** (rendimiento 90 %, Figuras E-62 a E-65, págs. 215-216).

Esquema M-39

La aplicación de nuevo de esta metodología a la síntesis de **42** a partir de **39**, permitió obtener el compuesto **42** precursor de fluorometolona con rendimientos superiores al 90 % (Figuras E-119 a E-122, págs. 245-247) (Esquema M-40).

Esquema M-40

La apertura del epóxido **42** por el ión fluoruro se produce en la posición C9 y por la cara β , por reacción con HF (70 %) (Esquema M-41). El aislamiento se produce por precipitación en agua obteniéndose **43** (Figuras E-123 a E-131,

página 247-252) con un rendimiento del 80 %. Es claramente visible el acoplamiento en el espectro de ^{13}C -RMN entre el núcleo ^{19}F y los carbonos adyacentes, desdoblándose las señales correspondientes a los carbonos C8, C9, C10 y C11. En el espectro ^{19}F -RMN se observa el acoplamiento entre el átomo de flúor y los protones adyacentes (-160.89 ppm, $J_1 = 32$ Hz, $J_2 = 9$ Hz, Figura E-127, pág. 249).

3.2.3. Síntesis de posibles impurezas.

Al igual que en la síntesis de exemestano, se han obtenido y caracterizado una serie de potenciales impurezas para poder controlar y evitar su aparición en el aprovechamiento industrial a gran escala de esta ruta sintética.

a. Síntesis de **40**.

La acetilación del hidroxilo terciario presente en la posición C17 de **19** se llevó a cabo por reacción a -5°C con Ac_2O en medio perclórico (Esquema M-41). Se obtuvo así **40** (Figuras E-111 a E-114, págs. 241-243) con rendimientos cuantitativos. Cabe destacar la señal en el espectro ^1H -RMN correspondiente al grupo acetato a $\delta = 1.98$ ppm, que a su vez apantalla la señal correspondiente al metilo C21, apareciendo esta última a $\delta = 2.00$ ppm en lugar de a $\delta = 2.3$ ppm

señal correspondiente al grupo acetato. La aparición de una tercera señal cuartete en el espectro ^{13}C -RMN así como una señal singlete a $\delta = 198$ ppm son determinantes a su vez para la confirmación de la estructura propuesta.

b. Síntesis de **44**.

La acetilación del hidroxilo terciario en el sustrato **20** fue repetidamente infructuosa mediante la utilización de métodos generales de acetilación, obteniéndose el compuesto **44** con rendimientos muy inferiores a los esperados (Esquema M-42). La aplicación de las condiciones de reacción utilizadas en la síntesis de **40** a la síntesis de la potencial impureza **44**, permitió el aislamiento y caracterización de dicho producto con rendimientos muy inferiores al original. Es de reseñar, al igual que en la caracterización de **40**, que la señal en el espectro ^1H -RMN de **44**, correspondiente al grupo acetato a $\delta = 2.09$ ppm apantalla la señal correspondiente al metilo C21, apareciendo esta última a $\delta = 2.05$ ppm en lugar de a $\delta = 2.27$ ppm como en el espectro del compuesto **32**. En el espectro ^{13}C -RMN aparecen las señales cuartete a $\delta = 21.1$ ppm y singlete a $\delta = 199.2$ ppm correspondientes al grupo acetato (Figuras E-132 y E-133, pág. 253).

CONCLUSIONES

4. Conclusiones.

- ❖ La funcionalización en C-6 de diferentes androstanos y progestanos ha podido ser llevada a cabo con éxito mediante un proceso *one pot*, a través de la formación de un dienol éter con trietilortoformiato, que se hace reaccionar en el mismo seno de la reacción con una base de Schiff (imida generada a partir de formaldehído acuoso y N-metil anilina). La cuaternización de dicha amina con ácido clorhídrico conduce a su eliminación, generándose el metileno terminal con excelentes rendimientos.

- ❖ La deshidrogenación de 6-metilén androstanos mediante el tratamiento ácido con 1.1 equivalentes de cloranilo, 4.21 equivalentes de BSTFA, 0.1 equivalentes de TfOH a reflujo de tolueno durante 3 horas, ha permitido el aislamiento de los productos de deshidrogenación con excelentes rendimientos.

- ❖ Se han optimizado las condiciones de hidrogenación catalítica selectiva del metileno terminal en C6 de **20**, sin afectar al resto de los dobles enlaces presentes en la molécula. Esto se ha conseguido por adición de trietilamina (0.7 equivalentes) a una solución de **20** en diclorometano en

agitación, bajo atmósfera de hidrógeno en presencia de Pd/C (10%, 0.1 g/g) durante 6 horas. El equilibrado del metilo resultante con HCl, permitió obtener **28** con rendimientos superiores al 75%.

- ❖ La aplicación de las condiciones ácidas de deshidrogenación previamente optimizadas en la síntesis de exemestano a distintos progestanos no ha conducido a la obtención de productos de deshidrogenación esperados. Ha sido por tanto necesario buscar y optimizar otras condiciones de deshidrogenación, a través de la formación del sililenol éter derivado (2.5 equivalentes de TfOTBDMS y 3.2 equivalentes de DIPEA en diclorometano a 10°C durante 3 horas). Seguidamente y sin aislamiento del producto intermedio obtenido, el producto de deshidrogenación se obtuvo por reacción a 15°C durante 16 horas con cloranilo (1.1 equivalentes) en piridina. Se ha obtenido así **39** a partir de **28** con rendimientos superiores al 65%.

- ❖ La epoxidación del doble enlace $\Delta^{9(11)}$ se produce a través de la bromohidrina generada con DDH (0.7 equivalentes) y ácido perclórico (70%, 0.2 equivalentes) en una mezcla acetona:agua durante 4.5 horas a temperatura ambiente. El cierre del epóxido por la cara β se obtiene por tratamiento básico con K₂CO₃ durante 4.5, obteniéndose así epóxidos con rendimientos superiores al 90%. La apertura del epóxido con HF permite la obtención de Fluorometolona con la stereoquímica adecuada, con un 80% de rendimiento.

- ❖ Los elevados rendimientos de las rutas de obtención de Exemestano y Fluorometolona, unidos a su innovación, su escalabilidad y su rentabilidad económica, ha conducido a que ambas rutas hayan sido objeto de publicaciones científicas[‡] y patentes[§].

[‡] (a) "1,2-Dehydrogenation of steroidal 6-methylen derivatives. Synthesis of exemestane". Marcos-Escribano, A.; Bermejo, F.A.; Lorente Bonde-Larsen, A.; Iglesias Retuerto, J.; Herráiz Sierra, I., *Tetrahedron*, **2009**, 65(36), 7587. (b) "Chemoselective hydrogenation of 17 α -hydroxy-6-methylen-pregna-4,9(11)-diene-3,20-dione. Synthesis of fluorometholone". Marcos-Escribano, A.; Bermejo, F.A.; Lorente Bonde-Larsen, A.; Iglesias Retuerto, J., *Tetrahedron*, **2009**, 65(41), 8493.

[§] (a) "Process for obtaining 6-Alkylidenandrost-1,4-diene-3-one". Bermejo González, F.; Marcos Escribano, J.A.; Gutiérrez Fuentes, L.G.; Iglesias Retuerto, J.M.; Lorente Bonde-Larsen, A., Patent EP2070943A1 (WO2009077454A1), **2009**. *Chem. Abstr.*, **2009**, 151, 57041 (57043). (b) "Process for obtaining derivatives of steroids". Lorente Bonde-Larsen, A.; Iglesias Retuerto, J.M.; Bermejo González, F.; Marcos Escribano, J.A.; Gutiérrez Fuentes, L.G., European Patent Application No. 09382055.3-1211, **2009**.

PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Instrumentación.

Rotaciones específicas

Se midieron en un polarímetro digital Perkin-Elmer 241 (Figura 1), en cubetas de 1 dm de paso óptico y en disolución de cloroformo. La concentración a la que se realizó la medida se especifica en cada caso.

Figura 1

Puntos de fusión

Se determinaron en un microscopio de platina caliente (Kofler) (Figura 2) y están sin corregir.

Figura 2

Espectroscopía de IR

Las medidas se han realizado en un espectrofotómetro NICOLET IR100, (Figura 3) con una resolución de 4 cm^{-1} , en película capilar sobre cristales de NaCl.

Figura 3

Espectroscopía de RMN

^1H y ^{13}C

Se han realizado en un espectrofotómetro BRUKER mod.Wp-200-SY (200 MHz ^1H y 50 MHz ^{13}C) (Figura 4), en un VARIAN 200 (200 MHz ^1H y 50 MHz ^{13}C) (Figura 5) y en un espectrómetro BRUKER AVANCE 400 MHz DRX (400 MHz ^1H y 100 MHz ^{13}C) (Figura 6), equipado con una sonda de detección inversa con bobina de gradientes y una sonda $^1\text{H}/^{13}\text{C}$, así como una sonda ^{19}F .

Figura 4

Figura 5

Los espectros se realizaron en CDCl_3 y $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ como disolventes habituales y se referencian con respecto al disolvente residual (7.26 ppm en ^1H y 77.0 ppm en ^{13}C para CHCl_3 , y 2.50 ppm en ^1H y 39.52 ppm para ^{13}C). Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hz.

Figura 6

La multiplicidad de los carbonos se determina utilizando la secuencia de pulsos DEPT (Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer). La secuencia distingue los carbonos protonados CH , CH_2 y CH_3 utilizando pulsos de protón a través del desacoplador a 90° y 135° .

nOe (nuclear Overhauser effect)

La irradiación de una señal de protón causa variaciones a uno o varios protones. Esta variación está relacionada con el recíproco de la sexta potencia de la distancia entre los núcleos $1/r^6$. Se suele irradiar con baja potencia y de manera continua la señal que interesa. Además, se obtiene un espectro irradiado fuera de la zona de resonancia. Se restan ambos y se observa si hay variaciones en la intensidad de la señal. La secuencia utilizada permite irradiar todos los componentes de un multiplete con una potencia mucho menor que si se irradia el centro.

HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence)

Los experimentos de correlación heteronuclear $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ a un enlace se adquieren utilizando la secuencia Bruker inv4gs, con selección de la secuencia de cero cuanto y doble cuanto con una serie de tres pulsos de gradientes sinusoidales. La longitud del pulso de gradiente es de 1.5 ms y los pulsos

guardan una relación de 50:30:40 con respecto a la longitud total del pulso. El intervalo de recuperación del gradiente es de 100 ms.

Un experimento típico adquiere 256 series de uno o dos transientes cada uno. El intervalo de reciclado es de tres segundos y la modulación se sintoniza para $^1J_{H,C} = 145$ Hz, que corresponde a un intervalo de 3.45 ms, y desacoplando con una secuencia garp en ^{13}C en el momento de la adquisición.

La transformada de Fourier (FT) en ambas dimensiones se realiza después de aplicar una función exponencial de 0.3 Hz en F2 (1H) y una función sinusoidal en F1 (^{13}C). Se obtiene un espectro de correlación en magnitud con 1024 puntos en F2 y 512 en F1, que corresponde a una resolución de 4.68 Hz/pt en F2 y 45.2 Hz/pt en F1.

HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Connectivity)

Para las correlaciones a larga distancia, 2 ó 3 enlaces, se utiliza la secuencia inv4gslprnd, que utiliza un filtro de paso largo para la eliminación de la correlación directa en función de la constante de acoplamiento $^1J_{H,C} = 145$ Hz. La secuencia de pulsos de gradientes para la selección de la coherencia es la misma que en el caso anterior y se aplica un nuevo intervalo de evolución [función $^1J_{H,C}$ cuyos valores pueden ser 50 ms (10 Hz), 83 ms (6 Hz) y 110 ms (4.5 Hz)] antes de la selección de la coherencia y no se desacopla durante la adquisición. Un acoplamiento típico se adquiere con 256 series de 4 transientes cada uno.

La transformada de Fourier (FT) en ambas dimensiones se realiza con las mismas funciones que en el caso anterior y se obtiene un espectro de correlación en magnitud con 1024 puntos en F2 y 512 en F1, que corresponde a una resolución de 4.8Hz/pt en 1H y 45.2 Hz/pt en ^{13}C .

COSY (COrrrelation SpectroscopY)

La secuencia básica del COSY tiene dos pulsos de 90° y un tiempo de evolución. Para el procesado se utilizan funciones sinusoidales en ambas direcciones, obteniendo así una matriz simétrica de 512 puntos en ambas dimensiones.

En general se utiliza la secuencia con filtro de doble cuanto, que permite la eliminación o disminución de las señales intensas, ya sea de disolventes o singletes en la diagonal y sus correspondientes artefactos.

HPLC-MS

Los cromatogramas HPLC-MS se realizaron en un cromatógrafo de líquidos WATERS ALLIANCE 2795, con un detector de array de diodos WATERS 2996 conectado a un espectrómetro de masas de cuadrupolo WATERS ZQ4000. Como técnica de ionización en masas se utilizó el electrospray en modo positivo, con un voltaje de 3500 V.

Figura 7

HMRS-EI

Se realizaron en un espectrómetro VG TS-250 de alta resolución capaz de llevar a cabo experimentos de impacto electrónico, ionización química y F.A.B. Dispone de inyección directa y en alta resolución es capaz de determinar una masa exacta con una precisión de 15 ppm (Figura 7).

Figura 7

TÉCNICAS GENERALES CROMATOGRÁFICAS

Cromatografía en capa fina (CCF)

Se realizaron sobre placas de 0.2 mm de espesor de gel de sílice Merck (60 F₂₅₄). Para su revelado se utilizaron disoluciones de anisaldehído en H₂SO₄/AcOH/EtOH, seguido de calentamiento a 120° durante unos segundos, por exposición a los vapores de yodo, con KMnO₄, vainillina y otros reveladores convencionales.

Las sustancias que presentan fluorescencia son visualizadas por iluminación con luz ultravioleta de $\lambda = 254 \text{ nm}$ $\lambda = 336 \text{ nm}$ antes de ser reveladas.

Cromatografía en columna (CC)

Se realizó en columna de vidrio, empaquetando con sílica gel Merck-60. Existen dos tipos de sílice, dependiendo del tamaño de partícula: 0.200-0.063 mm, llamada sílica gel normal y la que tiene un tamaño de partícula de 0.063-0.040 mm, llamada sílica gel flash que necesita la aplicación de presión adicional. La relación usada fue de 60g de sílica gel por gramo de sustancia.

La elución se realiza con disolventes y mezclas de disolventes de polaridad creciente (generalmente mezclas *n*-hexano/AcOEt) y se sigue la composición de las fracciones eluidas por CCF.

PURIFICACIÓN DE REACTIVOS Y DISOLVENTES

Acetato de etilo (AcOEt): Se destila y se almacena con CaCl_2 .

Acetona (Me_2CO): Se somete a ebullición sobre KMnO_4 y se destila.

Benceno (C_6H_6): Se destila sobre Na y benzofenona bajo atmósfera de Ar.

Cloroformo (CHCl_3): Se destila y se almacena con P_2O_5 .

Diclorometano (CH_2Cl_2): Se destila sobre CaH_2 bajo atmósfera de Ar.

Diisopropilamina ($i\text{-Pr}_2\text{NH}$): Se destila y almacena con tamiz molecular (4Å).

N,N-Dimetilformamida (HCONMe_2): Se destila sobre CaH_2 , bajo atmósfera de Ar y a presión reducida. Se almacena con tamiz molecular (4Å).

Dimetilsulfóxido (DMSO): Se calienta a reflujo sobre CaH_2 durante 2 horas, luego se destila en atmósfera anhidra. Se almacena con tamiz molecular (4Å).

Éter (Et_2O): Se somete a ebullición sobre Na y se destila sobre Na y benzofenona.

n-Hexano (C_6H_{12}): Se destila.

Metanol (MeOH): Se destila.

Piridina ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$): Se destila y almacena con BaO.

Tetrahidrofurano ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$): Se somete a ebullición sobre Na y se destila sobre Na y benzofenona.

Trietilamina (Et_3N): Se somete a ebullición sobre CaH_2 y se destila.

Tolueno (C_7H_8): Se destila sobre Na y benzofenona bajo atmósfera de Ar.

5.1. Caracterización de los intermediarios de la síntesis de Exemestano.

6-metilen,17 α -hidroxiandrosta-4-en-3-ona (**5**)

Se suspende **4** (9.99 g, 34.7 mmol) en 70 ml de THF, y se añaden sucesivamente ácido p -toluensulfónico monohidrato (0.26g, 1.39 mmol), etanol (8.4 ml) y trietilortoformiato (7.8 ml, 46.83 mmol) a 37°C . Transcurrida una hora y media, se añade N -metilanilina (4.0 ml, 36.08 mmol) y formaldehído al 35 % (3.0 ml) y se ajusta la temperatura a 42°C . Pasados otros 90 minutos se deja ir a temperatura ambiente, se añade ácido clorhídrico concentrado (20 ml) y se calienta a 42°C durante dos horas. Cuando la reacción está terminada se añade agua (70 ml) y se enfría a 5°C . Se agita 30 minutos, se filtra y se lava con agua. El sólido se resuspende en agua a 15°C , se filtra, y se seca. Las impurezas obtenidas se eliminan por recristalización en una mezcla acetona/hexano, obteniéndose **5** (9.25 g, 89 %) puro.

P.f.: 177°C (lit. 175°C); $[\alpha]_D^{20} = 292.6^\circ$ ($c = 13.658 \text{ mg/ml}$, CHCl_3 , lit. 292°).

^1H -RMN (CD_3Cl) (Figura E-1, pág. 183): δ (ppm) = 0.77 (s, 3H, C19), 1.08 (s, 3H, C18), 1.0-2.6 (m, 18H), 3.63 (t, $J = 10.0 \text{ Hz}$, 1H, C17), 4.92 (t, $J = 2.0 \text{ Hz}$, 1H, C6'), 5.05 (t, $J = 2.0 \text{ Hz}$, 1H, C6'), 5.89 (s, 1H, C4).

^{13}C -RMN (CD_3Cl) (Figura E-2, pág. 183): δ (ppm) = 11.0 (q, C18), 17.1 (q, C19), 20.7 (t, C11), 23.2 (t, C15), 30.4 (t, C16), 33.8 (t, C2), 35.2 (t, C1), 35.8 (d, C8), 36.4 (t, C12), 39.1 (s, C10), 39.6 (t, C7), 42.9 (s, C13), 50.9 (d, C14), 52.7 (d, C9), 81.5 (d, C17), 114.0 (t, C6'), 121.7 (d, C4), 146.0 (s, C6), 169.1 (s, C5), 199.8 (s, C3).

IR (Figura E-3, pág. 184): $\nu = 917, 1060, 1299, 1664, 2942, 3422 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI ($\text{M}+\text{Na}^+$) (Figura E-4, pág. 184): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{Na}$: 323.1981, experimental: 323.1984.

17 α -acetato de 6-metilenandrost-4-en-3-ona (6)

Se suspende el esteroide **5** (4.66 g, 15.5 mmol) en diclorometano (17.5 ml) en atmósfera inerte y posteriormente se añaden piridina (7.5 ml, 93.2 mmol) y anhídrido acético (4.4 ml, 46.6 mmol), dejándose reaccionar la mezcla de reacción durante 30 horas.

Una vez que la reacción ha terminado, se diluye la mezcla de reacción con acetato de etilo y se lava esta fase orgánica sucesivamente con una disolución 1 M en HCl (3 veces), con una disolución saturada de NaHCO₃ (3 veces) y tres veces con una disolución saturada de NaCl. Se obtiene así **6** (5.24 g, 99 %) puro.

P.f.: 143°C (lit. 139-141°C); $[\alpha]_D^{20} = 259.2^\circ$ (c = 16.275 mg/ml, CHCl₃; lit. 266°).

¹H-RMN (CD₃Cl) (Figura E-5, pág. 185): δ (ppm) = 0.82 (s, 3H, C19), 1.08 (s, 3H, C18), 2.04 (s, 3H, OAc), 1.0-2.6 (m, 17H), 4.53 (t, J = 10.0 Hz, 1H, C17), 4.86 (s, 1H, C6'), 4.97 (s, 1H, C6'), 5.90 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) (Figura E-6, pág. 185): δ (ppm) = 11.8 (q, C18), 16.9 (q, C19), 20.4 (t, C11), 20.9 (q, OAc), 23.2 (t, C15), 27.3 (t, C16), 33.6 (t, C2), 34.9 (t, C1), 35.2 (d, C8), 36.3 (t, C12), 38.9 (s, C10), 39.3 (t, C7), 42.3 (q, C13), 50.4 (d, C14), 52.2 (d, C9), 82.1 (d, C17), 113.9 (t, C6'), 121.5 (d, C4), 145.6 (s, C6), 168.5 (s, C5), 171.3 (s, OAc), 199.3 (s, C3).

IR (Figura E-7, pág. 186): ν = 736, 911, 1054, 1249, 1379, 1450, 1671, 1735, 2949 cm⁻¹.

HRMS-EI (M+Na⁺) (Figura E-8, pág. 186): Calculado para C₂₂H₃₀O₃Na: 365.2087, experimental: 365.2086.

17 α -acetato de 6-metilenandroster-1,4-dien-3-ona (7)

Se disuelve el esteroide **6** (0.27 mg, 0.8 mmol) en tolueno (21 ml) bajo argón, y seguidamente se adicionan cloranilo (0.22 g) y una cantidad catalítica de ácido trifluorometanosulfónico (0.08 mmol, 0.007 ml). Se forma una disolución amarilla a la que se le añade lentamente *bis*-trimetilsilil-trifluoroacetamida (BTSFA) (3.37 mmol, 0.9 ml) y se refluxe la reacción durante 3 horas. Terminada la reacción se deja ir a temperatura ambiente, se diluye con AcOEt y se lava sucesivamente la fase orgánica 2 veces con una disolución al 5% de Na₂SO₃, 3 veces con una disolución al 2% de NaOH y 3 veces con una disolución saturada de NaCl. El fraccionamiento del bruto de reacción sobre sílica-gel permite el aislamiento y caracterización de **7** (0.23 g, 85 %) puro.

$[\alpha]_D^{20} = 92.7^\circ$ ($c = 21.35$ mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) (Figura E-9, pág. 187): δ (ppm) = 0.85 (s, 3H, C19), 1.14 (s, 3H, C18), 2.04 (s, 3H, OAc), 1.0-2.6 (m, 13H), 4.62 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, C17), 4.94 (s, 1H, C6'), 5.01 (s, 1H, C6'), 6.14 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, C4), 6.28 (dd, $J_1 = 10.0$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz, 1H, C1), 7.06 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, C2).

¹³C-RMN (CD₃Cl) (Figura E-10, pág. 187): δ (ppm) = 12.0 (q, C18), 19.6 (q, OAc), 21.0 (q, C19), 22.2 (t, C11), 23.4 (t, C15), 27.3 (t, C16), 35.5 (d, C8), 36.4 (t, C12), 39.9 (t, C7), 42.6 (s, C10), 43.6 (s, C13), 49.8 (d, C14), 50.2 (d, C9), 82.1 (d, C17), 111.9 (t, C6'), 122.5 (d, C4), 127.6 (d, C2), 145.7 (s, C6), 154.3 (d, C1), 167.6 (s, C5), 170.9 (s, OAc), 186.3 (s, C3).

IR (Figura E-11, pág. 188): $\nu = 918, 1041, 1255, 1379, 1658, 1735, 2858, 2942$ cm⁻¹.

HRMS-EI (M+Na⁺) (Figura E-12, pág. 188): Calculado para C₂₂H₂₈O₃Na: 363.1931, experimental: 363.1921.

6-metilen-17 α -hidroxiandrost-1,4-dien-3-ona (8**)**

Obtención a partir de **7**

Se suspende el esteroide **7** (0.23 g, 0.7 mmol) en metanol (4 ml) se deja reaccionar con 1.4 ml de una disolución 1 N en NaOH durante 5.5 horas. La mezcla de reacción se vierte sobre una disolución saturada de NaCl a 0°C y se extrae con AcOEt (3 veces). Se obtiene así **8** (0.19 g, 95 %) puro.

Obtención a partir de **5**

La deshidrogenación se lleva a cabo con **5** (0.29 g, 1.00 mmol) en las mismas condiciones que la obtención de **7** a partir de **6** [tolueno (26 ml), cloranilo (0.27 g, 1.10 mmol), BSTFA (1.2 ml, 4.21 mmol), TfOH (0.01 ml, 0.10 mmol) 4 horas a reflujo]. El fraccionamiento del bruto de reacción sobre sílica-gel permitió el aislamiento de **8** (0.19 g, 68 %) puro.

P.f.: 131°C (lit. 130°C); $[\alpha]_D^{20} = 144.9^\circ$ ($c = 14.34$ mg/ml, CHCl_3).

^1H -RMN (CD_3Cl) (Figura E-13, pág. 189): δ (ppm) = 0.81 (s, 3H, C19), 1.14 (s, 3H, C18), 0.8-2.6 (m, 13H), 3.66 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, C17), 4.93 (s, 1H, C6'), 5.00 (s, 1H, C6'), 6.14 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, C4), 6.24 (dd, $J_1 = 10.0$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz, 1H, C1), 7.08 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, C2).

^{13}C -RMN (CD_3Cl) (Figura E-14, pág. 189): δ (ppm) = 11.1 (q, C18), 19.6 (q, C19), 22.4 (t, C11), 23.3 (t, C15), 30.2 (t, C16), 35.7 (d, C8), 36.2 (t, C12), 40.0 (t, C7), 43.0 (s, C10), 43.8 (s, C13), 50.0 (d, C14), 50.4 (d, C9), 81.2 (d, C17), 111.8 (t, C6'), 122.3 (d, C4), 127.5 (d, C2), 145.8 (s, C6), 154.6 (d, C1), 168.0 (s, C5), 186.5 (s, C3).

IR (Figura E-15, pág. 190): $\nu = 860, 1255, 1619, 1722, 1730, 2851, 2923, 3383 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI ($M+Na^+$) (Figura E-16, pág. 190): Calculado para $C_{20}H_{26}O_2Na$: 321.1825, experimental: 321.1843.

6-metilenandrosta-4-en-3,17-diona (9)

La obtención de **9** se lleva a cabo por el método previamente descrito para la obtención de **5**, [(1,03 g, 3.6 mmol) de **1**, THF (7.1 ml), EtOH (0,9 ml), p-TsOH·H₂O (0,3 g, 0,14 mmol), TEOF (0.8 ml, 4.7 mmol), N-metilanilina (0.4 ml, 3.61 mmol), HCHO 35 % (0.4 ml), HCl 35% (2.0 ml)]. Se obtiene **9** (0.98 g, 92 %) puro.

P.f.: 162°C (lit. 163-165°C); $[\alpha]_D^{20} = 390.9^\circ$ (c = 13.40 mg/ml, CHCl₃, lit. 387°).

¹H-RMN (CD₃Cl) (Figura E-17, pág. 191): δ (ppm) = 0.88 (s, 3H, C19), 1.09 (s, 3H, C18), 0.8-2.6 (m, 15H), 4.96 (s, 1H, C6'), 5.07 (s, 1H, C6'), 5.89 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) (Figura E-18, pág. 191): δ (ppm) = 13.0 (q, C18), 16.4 (q, C19), 19.6 (t, C11), 20.9 (t, C15), 30.5 (t, C16), 33.0 (t, C2), 34.3 (t, C1), 34.3 (d, C8), 34.9 (t, C12), 38.0 (t, C7), 38.3 (s, C10), 46.6 (s, C13), 50.2 (d, C14), 51.7 (d, C9), 113.6 (t, C6'), 121.0 (d, C4), 144.8 (s, C6), 167.4 (s, C5), 198.1 (s, C3), 218.6 (s, C17).

IR (Figura E-19, pág. 192): $\nu = 879, 1022, 1223, 1456, 1677, 1742, 2942 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI ($M+H^+$) (Figura E-20, pág. 192): Calculado para $C_{20}H_{27}O_2$: 299.2005, experimental: 299.2019.

androstan-1,4-dien-3,17-diona (10)

Se disuelven el esteroide **1** (4.57 g, 15.96 mmol) y el DDQ (17.56 mmol) en tolueno (225 ml) y se lleva a refluxo durante 3 días. Tras este tiempo, se diluye la mezcla de reacción con DCM y se filtra el sólido en suspensión en placa filtrante. Dicho sólido se lava repetidas veces con DCM y la fase orgánica así obtenida se lava tres veces con NaOH 1% y otras tres con agua. El fraccionamiento sobre sílica-gel del bruto de reacción obtenido, eluido con una mezcla de disolventes Hexano:Acetato de etilo 8:2, permite aislar y caracterizar **10** (2.55 g, 56%).

P.f.: 140-141°C (lit. 141-142°C); $[\alpha]_D^{20} = 118.26^\circ$ (c = 16.20 mg/ml, CHCl₃, lit. 115°).

¹H-RMN (CD₃Cl) (Figura E-21, pág. 193): δ (ppm) = 0.82 (s, 3H, C19), 1.14 (s, 3H, C18), 0.8-2.6 (m, 15H), 5.98 (s, 1H, C4), 6.07 (dd, J1= 10.0 Hz, J2= 2.0 Hz, 1H, C1), 6.95 (d, J= 10.0 Hz, 1H, C2).

¹³C-RMN (CD₃Cl) (Figura E-22, pág. 193): δ (ppm) = 13.0 (q, C18), 18.0 (q, C19), 21.1 (t, C11), 21.3 (t, C15), 30.5 (t, C12), 31.5 (t, C7), 31.7 (t, C6), 34.2 (d, C8), 34.8 (t, C16), 42.6 (s, C10), 46.7 (s, C13), 49.5 (d, C14), 51.5 (d, C9), 123.1 (d, C4), 126.7 (d, C2), 154.6 (d, C1), 167.6 (s, C5), 184.9 (s, C3), 218.5 (s, C17).

IR (Figura E-23, pág. 194): $\nu = 718, 894, 1275, 1453, 1658, 1742, 2939 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M+Na⁺) (Figura E-24, pág. 194): Calculado para C₁₉H₂₄O₂Na: 307.1668, experimental: 307.1666.

17 α -hidroxiandrostan-1,4-dien-3-ona (**11**)

Se disuelven el esteroide **4** (0.31 g, 1.08 mmol), el DDQ (1.73 mmol) y ácido benzoico (2.05 mmol) en benceno (16 ml) y se eleva su temperatura hasta reflujo del disolvente durante 2 días. Tras este tiempo, se diluye la mezcla de reacción con DCM y se filtra el sólido en suspensión en placa filtrante. Dicho sólido se lava repetidas veces con DCM y la fase orgánica así obtenida se lava tres veces con NaOH 1% y otras tres con agua. El fraccionamiento sobre sílica-gel del bruto de reacción obtenido, eluido con una mezcla de disolventes Hexano:Acetato de etilo 3:7, permite aislar y caracterizar **11** (0.18 g, 60%).

P.f.: 173°C (lit. 171°C); $[\alpha]_D^{20} = +25.9^\circ$ (c = 6.37 mg/ml, CHCl₃, lit. 34°).

¹H-RMN (CD₃Cl) (Figura E-25, pág. 195): δ (ppm) = 0.75 (s, 3H, C19), 1.17 (s, 3H, C18), 0.8-2.5 (m, 15H), 2.84 (sa¹, 1H, OH), 3.69 (t, J= 10.0 Hz, 1H, C17), 6.00 (s, 1H, C4), 6.18 (dd, J1= 10.0 Hz, J2= 2.0 Hz, 1H, C1), 7.02 (d, J= 10.0 Hz, 1H, C2).

¹³C-RMN (CD₃Cl) (Figura E-26, pág. 195): δ (ppm) = 11.0 (q, C18), 18.6 (q, C19), 22.4 (t, C11), 23.4 (t, C15), 30.2 (t, C16), 32.7 (t, C7), 33.1 (t, C6), 35.5 (d, C8), 36.3 (t, C12), 43.0 (s, C10), 43.6 (s, C13), 50.1 (d, C14), 52.5 (d, C9), 81.2 (d, C17), 123.7 (d, C4), 127.3 (d, C2), 155.9 (d, C1), 169.3 (s, C5), 188.3 (s, C3).

IR (Figura E-27, pág. 196): $\nu = 733, 1067, 1619, 1651, 2940, 3412 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI(M+Na⁺) (Figura E-28, pág. 196): Calculado para C₁₉H₂₆O₂Na: 309.1825, experimental: 309.1818.

¹ Singlete ancho

6-metilenandro-1,4-dien-3,17-diona (13**)**

Obtención a partir de **8**

Se disuelve el esteroide **8** (0.11 g, 0.4 mmol) en metanol (4.0 ml) a -20°C , y se va añadiendo reactivo de Jones gota a gota tomando la reacción color verde. La reacción termina cuando tras añadir una gota, la disolución cambia a una tonalidad naranja persistente. 10 minutos de reacción después, se diluye la mezcla de reacción con isopropanol hasta que la tonalidad de la reacción vuelva a ser verde y se vierte sobre una disolución de saturada de NaCl a 0°C . El esteroide se extrae con AcOEt y la fase orgánica así obtenida se lava con una disolución saturada de NaHCO_3 . Se obtiene así **13** (0.11 g, 100 %).

Obtención a partir de **9**

La deshidrogenación se lleva a cabo con **9** (1.06 g, 3.54 mmol) en las mismas condiciones [tolueno (81 ml), cloranilo (0.96 g, 3.89 mmol), BSTFA (3.95 ml, 14.90 mmol), TfOH (0.03 ml, 0.35 mmol) 45 minutos a reflujo] que la obtención de **7** a partir de **6**. El fraccionamiento del bruto de reacción sobre sílica-gel por elución con Hexano/AcOEt 1:1 permitió el aislamiento de **13** (0.85 g, 81 %) puro.

P.f.: 196°C (lit. $192\text{-}195^{\circ}\text{C}$); $[\alpha]_D^{20} = 280.6^{\circ}$ ($c = 13.79 \text{ mg/ml}$, CHCl_3).

^1H -RMN (CD_3Cl) (Figura E-29, pág. 197): δ (ppm) = 0.94 (s, 3H, C19), 1.17 (s, 3H, C18), 1.2-2.7 (m, 13H), 5.00 (s, 1H, C6'), 5.06 (s, 1H, C6'), 6.17(d, J = 2.0 Hz, 1H, C4), 6.25 (dd, J_1 = 10.0 Hz, J_2 = 2.0 Hz, 1H, C1), 7.08 (d, J = 10.0 Hz, 1H, C2).

^{13}C -RMN (CD_3Cl) (Figura E-30, pág. 197): δ (ppm) = 13.3 (q, C18), 19.2 (q, C19), 21.4 (t, C11), 21.6 (t, C15), 30.7 (t, C16), 34.9 (d, C8), 35.1 (t, C12), 38.8 (t, C7), 43.2 (s, C10), 47.2 (s, C13), 49.5 (d, C14), 50.3 (d, C9), 112.0 (t, C6'), 122.2 (d, C4), 127.3 (d, C2), 144.8 (s, C6), 153.7 (d, C1), 167.0 (s, C5), 185.9 (s, C3), 219.1 (s, C17).

IR (Figura E-31, pág. 198): ν = 729, 813, 909, 1027, 1277, 1453, 1647, 1734, 2941 cm^{-1} .

HRMS-EI ($\text{M}+\text{Na}^+$) (Figura E-32, pág. 198): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Na}$: 319.1668, experimental: 319.1650.

17 α -acetato de androst-4-en-3-ona (**14**)

Se disuelve en diclorometano (17 ml) el esteroide **4** (4.52 g, 15.71 mmol) bajo atmósfera inerte y se añaden piridina (94.26 mmol) y anhídrido acético (47.13 mmol), dejándose reaccionar la mezcla de reacción durante 3 días.

Una vez que la reacción ha terminado, se diluye con acetato de etilo y se lava la fase orgánica sucesivamente con una disolución 1 M en HCl (3 veces), con una disolución saturada de NaHCO_3 (3 veces) y tres veces más con una disolución saturada de NaCl. Se obtiene así **14** (4.15 g, 80 %) puro.

$[\alpha]_D^{20} = 97.5^\circ$ (c = 16.75 mg/ml, CHCl_3).

^1H -RMN (CD_3Cl) (Figura E-33, pág. 199): δ (ppm) = 0.75 (s, 3H, C19), 1.11 (s, 3H, C18), 1.95 (s, 3H, OAc), 1.0-2.5 (m, 17H), 4.53 (t, J = 8.0 Hz, 1H, C17), 5.63 (s, 1H, C4).

^{13}C -RMN (CD_3Cl) (Figura E-34, pág. 199): δ (ppm) = 12.2 (q, C18), 17.6 (q, C19), 20.7 (t, C11), 21.3 (q, OAc), 23.6 (t, C15), 27.6 (t, C16), 31.7 (t, C7), 32.9 (t, C6), 34.1, (t, C2), 35.5 (d, C1), 35.9 (t, C8), 36.8 (t, C12), 38.8 (s, C10), 42.6 (s, C13), 50.4 (d, C14), 53.9 (d, C9), 82.6 (d, C17), 124.1 (d, C4), 171.0 (s, C5), 171.2 (s, OAc), 199.4 (s, C3).

IR (Figura E-35, pág. 200): ν = 730, 860, 924, 1048, 1255, 1379, 1463, 1664, 1735, 2845, 2949 cm^{-1} .

HRMS-EI ($\text{M}+\text{Na}^+$) (Figura E-36, pág. 200): Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{O}_3$: 331.2267, experimental: 331.2258.

17 α -acetato de 6-metilenandro-1,4-dien-3-ona (16)

Se repite el procedimiento de deshidrogenación con clorano previamente utilizado para la obtención de **7** a partir de **6**.

En este caso, se disuelve el esteroide **14** (0.48 mg, 1.44 mmol) en tolueno (14 ml) bajo argón, y seguidamente se adicionan clorano (0.39 g, 1.58 mmol) y 0.5 equivalentes de H_2SO_4 (0.04 ml). A la disolución formada se le añade lentamente *bis*-trimetilsilil-trifluoroacetamida (BSTFA) (4.32 mmol, 1.15 ml) y se lleva a reflujo de tolueno durante 32 horas. Terminada la reacción se deja ir a temperatura ambiente, se diluye con AcOEt y se lava sucesivamente la fase orgánica 2 veces con una disolución al 5 % de Na_2SO_3 , 3 veces con una disolución al 2 % de NaOH y 3 veces con una disolución saturada de NaCl . El fraccionamiento del bruto de reacción sobre sílica-gel permite el aislamiento y caracterización de **16** (0.47 g, 62 %) puro. Se detectan en el cromatograma HPLC los productos **15** y **17** que no pudieron ser aislados.

Caracterización de **16**:

^1H -RMN (CD_3Cl) (Figura E-37, pág. 201): δ (ppm) = 0.85 (s, 3H, C19), 1.23 (s, 3H, C18), 0.8-2.6 (m, 14H), 2.03 (s, 3H, OAc), 4.58 (t, J = 10.0 Hz, 1H, C17), 6.08 (s, 1H, C4), 6.23 (dd, J_1 = 10.0 Hz, J_2 = 2.0 Hz, 1H, C1), 7.07 (d, J = 10.0 Hz, 1H, C2).

6-metilandrosta-4,6-dien-3,17-diona (**18**)

Se disuelve **9** (4.24 g, 14.22 mmol), el catalizador Pd/C 10% (húmedo al 50%) (0.64 g, 0.15 g/g), AcONa·3H₂O (2.12 g, 15.62 mmol) y ciclohexeno (0.11 ml, 1.14 mmol) en EtOH (85 ml) y se lleva a reflujo de EtOH durante 2 horas. Pasado este tiempo se diluye con DCM, se filtran los restos de catalizador sobre papel de filtro y se lava la fase orgánica así obtenida con una disolución saturada de NaCl. Se obtiene por evaporación de los disolventes **18** (3.94 g, 93 %) puro, que se caracteriza.

P.f.: 163°C (lit. 160-161°C); $[\alpha]_D^{20}$ = + 130.9° (c = 13.68 mg/ml, CHCl_3).

^1H -RMN (CD_3Cl) (Figura E-38, pág. 201): δ (ppm) = 0.95 (s, 3H, C19), 1.10 (s, 3H, C18), 1.86 (s, 3H, C6'), 1.0-2.7 (m, 14H), 5.88 (s, 1H, C4), 6.02 (s, 2H, C7).

^{13}C -RMN (CD_3Cl) (Figura E-39, pág. 202): δ (ppm) = 13.0 (q, C18), 15.7 (q, C6'), 19.2 (q, C19), 19.2 (t, C11), 20.6 (t, C15), 30.6 (t, C16), 32.7 (t, C2), 33.3 (t, C1), 34.9 (t, C12), 35.5 (s, C10), 35.9 (d, C8), 47.4 (s, C13), 48.1 (d, C14), 50.1 (d, C9), 120.5 (d, C4), 130.9 (s, C6), 135.7 (d, C7), 163.0 (s, C5), 198.6 (s, C3), 218.4 (s, C17).

IR (Figura E-40, pág. 202): ν = 729, 879, 1015, 1268, 1463, 1586, 1664, 1742, 2858, 2942 cm^{-1} .

HRMS-EI ($\text{M}+\text{Na}^+$) (Figura E-41, pág. 203): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{Na}$: 321.1825, experimental: 321.1818.

5.2. Caracterización de los intermedios de la síntesis de Fluorometolona.

6-metilen-17 α -hidroxipregnan-4,9(11)-dien-3,20-diona (**20**)

Se disuelven **19** (55.57 g, 169.40 mmol), pTsOH (8.47 mmol), HC(OEt)₃ (228.69 mmol), en 385 ml de THF y 45 ml de EtOH. Se eleva la temperatura de la mezcla de reacción hasta 37°C durante 2 horas y 15 minutos. Luego se adicionan N-metilanilina (176.18 mmol) y HCHO 40 % (15.80 mmol) y se ajusta la temperatura a 42°C, manteniendo la agitación durante 3 horas y media. Posteriormente se añaden 111.3 ml de HCl concentrado al 37% y se deja reaccionar a 42°C durante 3 horas más. Pasado este tiempo se adicionan 385 ml de agua y se disminuye su temperatura hasta 5°C. Se filtra el bruto de reacción y el sólido obtenido se resuspende en agua a 5°C y se vuelve a filtrar. Se aísla así **20** (48.54 g, 84 %) puro.

P.f.: 185-186°C; $[\alpha]_D^{20} = +217.5^\circ$ (c = 12.97 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-42, pág. 205): δ (ppm) = 0.67 (s, 3H, C18), 1.25 (s, 3H, C19), 0.5-3.0 (m, 15H), 2.27 (s, 3H, C21), 5.01 (t, J= 2.0 Hz, 1H, C6'), 5.13 (t, J= 2.0 Hz, 1H, C6'), 5.58 (d, J= 3.0 Hz, 1H, C11), 5.91 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-43, pág. 205): δ (ppm) = 15.2 (q, C18), 24.6 (t, C15), 26.2 (q, C19), 27.5 (q, C21), 32.2 (t, C7), 33.3 (t, C16), 33.7 (t, C2), 34.0 (t, C12), 37.8 (d, C8), 40.0 (t, C1), 41.4 (s, C10), 46.8 (s, C13), 48.0 (d, C14), 89.5 (s, C17), 114.0 (t, C6'), 119.2 (d, C11), 121.7 (d, C4), 143.1 (s, C9), 145.5 (s, C6), 167.4 (s, C5), 199.5 (s, C3), 211.1 (s, C20).

IR (Figura E-44, pág. 206): $\nu = 730, 911, 1227, 1356, 1665, 2951, 3452 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M+H) (Figura E-45, pág. 206): Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{O}_3$: 341.2111, experimental: 341.2112.

9 α -bromo-17 α ,11 β -dihidroxipregnan-4-en-3,20-diona (21)

17 α -acetato de 9 α -bromo-11 β -hidroxipregnan-4-en-3,20-diona (22)

Se disuelve **19** (5.12 g, 15.60 mmol) en 50 ml de una mezcla acetona: agua en proporción 4:1. Posteriormente se adiciona lentamente una disolución al 70% en agua de ácido perclórico (3.12 mmol) controlando que la temperatura no supere los 25°C. Seguidamente se añade de una sola vez DDH (10.97 mmol) controlando de nuevo que la temperatura no suba de 25°C. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 horas 15 minutos. Una vez que la reacción ha finalizado, se diluye la disolución con 200 ml de una mezcla 1:1 de acetona: agua a la que se habían añadido 30 ml de una disolución al 5 % de NaHSO₃ y se continúa la agitación durante 1 hora más para asegurar la desaparición del DDH sin reaccionar. A continuación se adiciona gota a gota ácido acético hasta llevar la disolución a un pH de 6 - 6.5 (si el bruto de reacción se mantiene a pH básico se puede aislar el 9,(11)-epóxido) y se evapora la acetona de la mezcla de reacción. La suspensión resultante se enfría hasta 0 - 5°C, se filtra y el sólido obtenido se lava de nuevo con agua a 0 - 5°C. Se aísla así **21** (6.03 g, 91%) puro.

Se repite el mismo procedimiento para la obtención de **22** (14.76 g, 93 %) a partir de **40** (12.55 g, 33.92 mmol) [ácido perclórico (6.78 mmol), DDH (23.74 mmol)].

Caracterización de 21:

P.f.: 195°C; $[\alpha]_D^{20} = +130.6^\circ$ (c = 3.14 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-46, pág. 207): δ (ppm) = 1.00 (s, 3H, C18), 1.75 (s, 3H, C19), 0.8-3.0 (m, 18H), 2.29 (s, 3H, C21), 4.69 (1H, s, C11), 5.77 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (DMSO-d₆) 50 MHz (Figura E-47, pág. 207): δ (ppm) = 17.1 (q, C18), 22.6 (t, C15), 23.0 (q, C19), 26.7 (q, C21), 28.2 (t, C7), 29.2 (t, C1), 30.8 (t, C6), 31.9 (t, C16), 33.6 (t, C2), 35.2 (d, C8), 35.3 (t, C12), 45.7 (d, C14), 46.0 (s, C10), 46.3 (s, C13), 73.3 (d, C11), 89.0 (s, C9), 96.8 (s, C17), 123.1 (d, C4), 168.9 (s, C5), 197.1 (s, C3), 209.8 (s, C20).

IR (Figura E-48, pág. 208): $\nu = 928, 1118, 1356, 1435, 1466, 1661, 1710, 2931, 3420 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M+Na) (Figura E-49, pág. 208): Calculado para C₂₁H₂₉O₄NaBr: 447.1141, experimental: 447.1132.

Caracterización de 22:

P.f.: 127-129°C; $[\alpha]_D^{20} = +92.6^\circ$ (c = 3.46 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-50, pág. 209): δ (ppm) = 0.87 (s, 3H, C18), 1.72 (s, 3H, C19), 1.2-3.1 (m, 16H), 2.03 (s, 3H, C21), 2.10 (s, 3H, OAc), 4.64 (s, 1H, OH), 4.74 (s, 1H, C11), 5.70 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-51, pág. 209): δ (ppm) = 16.9 (q, C18), 21.1 (q, OAc), 23.1 (t, C15), 23.2 (q, C19), 26.5 (q, C21), 27.9 (t, C7), 29.7 (t, C16), 30.1 (t, C6), 31.3 (t, C1), 33.8 (t, C2), 35.4 (d, C8), 36.3 (s, C10), 36.3 (t, C12), 46.1 (s, C13), 47.0 (d, C14), 74.1 (d, C11), 92.2 (s, C9), 95.9 (s, C17), 123.9 (d, C4), 168.7 (s, C5), 170.6 (s, OAc), 198.4 (s, C3), 203.7 (s, C20).

IR (Figura E-52, pág. 210): $\nu = 918, 1262, 1379, 1671, 1742, 2254, 2947, 3448 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M+Na⁺) (Figura E-53, pág. 210): Calculado para C₂₃H₃₁O₅NaBr: 489.1247, experimental: 489.1244.

6-metilen-9 α -bromo-17 α ,11 β dihidroxipregnan-4-en-3,20-diona (**23**)

17 α -acetato de 6-metilen-9 α -bromo-11 β hidroxipregnan-4-en-3,20-diona (**24**)

Para la obtención de **23** se repite el mismo procedimiento de obtención de **20** a partir de **19**. Se utiliza como material de partida **21** (1.05 g, 2.48 mmol), [pTsOH (0.02 g, 0.1 mmol), HC(OEt)₃ (0.55 ml, 3.35 mmol), en 7.3 ml de THF y 0.9 ml de EtOH. Se eleva la temperatura de la mezcla de reacción hasta 37°C durante 2 horas. Luego se adicionan N-metilanilina (0.28 ml, 2.58 mmol) y HCHO 40 % (0.4 ml) y se ajusta la temperatura a 42°C, manteniendo la agitación durante 2 horas. Posteriormente se añaden 2.1 ml de HCl concentrado al 37% y se deja reaccionar a 42°C durante 3 horas más. Pasado este tiempo se adicionan 7.3 ml de agua, se lleva a 5°C y se filtra]. El sólido obtenido se resuspende en agua a 5°C y se vuelve a filtrar. Se aísla así la bromhidrina **23** (0.90 g, 83 %) pura.

Se disuelve **22** (4.44 g, 9.50 mmol) en THF y se sigue el mismo procedimiento para la obtención de **23** a partir de **21**. Se obtiene así **24** (3.63 g, 80 %) puro.

Caracterización de **23**:

$[\alpha]_D^{20} = +275.0^\circ$ (c = 1.56 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-54, pág. 211): δ (ppm) = 0.94 (s, 3H, C18), 1.60 (s, 3H, C19), 1.0-3.2 (m, 16H), 2.25 (s, 3H, C21), 4.69 (s, 1H, C11), 5.10 (s, 1H, C22), 5.28 (s, 1H, C22), 5.99 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-55, pág. 211): δ (ppm) = 17.9 (q, C18), 22.7 (q, C19), 23.0 (t, C15), 27.6 (q, C21), 29.9 (t, C1), 33.1 (t, C16), 33.5 (t, C2), 35.3 (d, C8), 35.9 (t, C12), 36.6 (t, C7), 45.9 (s, C10), 46.3 (d, C14), 47.4 (s, C13), 74.6

(d, C11), 89.4 (s, C9), 90.8 (s, C17), 117.4 (t, C6'), 121.0 (d, C4), 142.8 (s, C6), 166.4 (s, C5), 199.0 (s, C3), 210.8 (s, C20).

IR (Figura E-56, pág. 212): $\nu = 916, 1215, 1356, 1655, 1704, 2943, 3438 \text{ cm}^{-1}$.

HPLC-MS (Figura E-57, pág. 212): 437 (M (^{79}Br)), 439 (M (^{81}Br)).

Caracterización de **24**:

P.f.: 147°C ; $[\alpha]_D^{20} = +115.4^\circ$ ($c = 2.45 \text{ mg/ml}$, CHCl_3).

^1H -RMN (CD_3Cl) 200 MHz (Figura E-58, pág. 213): δ (ppm) = 0.89 (s, 3H, C19), 1.61 (s, 3H, C18), 2.06 (s, 3H, C21), 2.06 (s, 3H, OAc), 1.2-3.1 (15H, m), 4.73 (s, 1H, C11), 5.12 (s, 1H, C22), 5.34 (s, 1H, C22), 6.02 (s, 1H, C4).

^{13}C -RMN (CD_3Cl) 50 MHz (Figura E-59, pág. 213): δ (ppm) = 16.7 (q, C18), 21.0 (q, OAc), 22.5 (q, C19), 22.8 (t, C15), 26.3 (q, C21), 29.8 (t, C16), 30.0 (t, C1), 33.4 (t, C2), 35.2 (d, C8), 36.0 (t, C7), 36.3 (t, C12), 45.8 (s, C10), 46.1 (s, C13), 47.0 (d, C14), 73.9 (d, C11), 91.0 (s, C9), 95.8 (s, C17), 117.4 (t, C6'), 120.7 (d, C4), 142.5 (s, C6), 166.5 (s, C5), 170.5 (s, OAc), 199.1 (s, C3), 203.6 (s, C20).

IR (Figura E-60, pág. 214): $\nu = 732, 913, 1020, 1206, 1256, 1370, 1658, 1731, 2926, 3442 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M+Na) (Figura E-61, pág. 214): Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{O}_5\text{NaBr}$: 501.1247, experimental: 501.1241.

9(11) β -epoxi-17 α -hidroxipregnan-4-en-3,20-diona (**25**)

En un matraz de fondo redondo se disuelve **19** (5.04 g, 15.37 mmol) en 50 ml de una mezcla acetona: agua en proporción 4:1. Se adiciona lentamente una disolución en agua al 70% de ácido perclórico (3.08 mmol) controlando que

la temperatura no supere los 25°C. Posteriormente se añade de una sola vez DDH (10.76 mmol) controlando de nuevo que la temperatura no suba de 25°C. Se mantiene la agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Pasado este tiempo, se vierte la disolución sobre 200 ml de una mezcla 1:1 de acetona:agua a la que se habían añadido 30 ml de una disolución al 10 % de NaHSO₃ y 9.6 g de K₂CO₃ se continúa la agitación durante 2 horas para asegurar la desaparición del DDH sin reaccionar. Posteriormente se evapora la acetona de la mezcla de reacción. La suspensión resultante se enfría hasta 0-5°C, se filtra y el sólido obtenido se lava de nuevo con agua a 0-5°C. Se aísla así **25** (4.76 g, 90%) puro.

P.f.: 168-170°C; $[\alpha]_D^{20} = -3.4^\circ$ (c = 14.07 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-62, pág. 215): δ (ppm) = 0.92 (s, 3H, C18), 1.43 (s, 3H, C19), 2.27 (s, 3H, C21), 1.1-2.8 (m, 16H), 2.99 (s, 1H, OH), 3.45 (s, 1H, C11), 5.78 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-63, pág. 215): δ (ppm) = 17.8 (q, C18), 23.6 (q, C19), 24.7 (t, C15), 25.9 (t, C7), 27.5 (q, C21), 29.2 (t, C1), 30.2 (t, C6), 31.3 (t, C16), 32.8 (t, C12), 33.9 (t, C2), 35.0 (d, C8), 39.5 (s, C10), 45.8 (d, C14), 46.3 (s, C13), 60.6 (d, C11), 65.6 (s, C9), 89.3 (s, C17), 114.1 (d, C4), 170.2 (s, C5), 198.7 (s, C3), 210.7 (s, C20).

IR (Figura E-64, pág. 216): $\nu = 732, 866, 920, 1092, 1225, 1350, 1426, 1657, 1700, 2948, 3510 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M+Na) (Figura E-65, pág. 216): Calculado para C₂₁H₂₈O₄Na: 367.1879, experimental: 367.1871.

9 α -chloro-6-metilen-11 β ,17 α -dihidroxipregnan-4-en-3,20-diona (26)

Para la obtención de **26** se repite el mismo procedimiento de obtención de **20**, pero sobre el esteroide **19** (4.76 g, 13.85 mmol). El uso de HCl concentrado para la eliminación de la amina cuaternaria da como resultado la apertura del epóxido, obteniéndose la clorhidrina **26** (4.20 g, 77 %) pura.

P.f.: 202-210°C; $[\alpha]_D^{20} = +126.6^\circ$ (c = 1.13 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-66, pág. 217): δ (ppm) = 0.97 (s, 3H, C18), 1.56 (s, 3H, C19), 2.27 (s, 3H, C21), 0.8-3.0 (m, 18H), 4.50 (s, 1H, C11), 5.08 (s, 1H, C6'), 5.26 (s, 1H, C6'), 6.01 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-67, pág. 217): δ (ppm) = 17.8 (q, C18), 22.4 (q, C19), 23.1 (t, C15), 27.7 (q, C21), 28.7 (t, C1), 33.5 (t, C16), 33.5 (t, C2), 34.7 (d, C8), 35.0 (t, C12), 35.8 (t, C7), 45.1 (d, C14), 45.8 (s, C10), 47.3 (s, C13), 74.4 (d, C11), 85.2 (s, C9), 89.4 (s, C17), 117.0 (t, C6'), 121.6 (d, C4), 143.0 (s, C6), 166.3 (s, C5), 199.0 (s, C3), 210.8 (s, C20).

IR (Figura E-68, pág. 218): $\nu = 732, 913, 1205, 1348, 1652, 1703, 2955, 3442 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M + Na) (Figura E-69, pág. 218): Calculado para C₂₂H₂₉O₄NaCl: 415.1646, experimental: 415.1652.

6 α -metil-17 α -hidroxipregnan-9(11)-en-3,20-diona (**27**)

Se suspende **20** (1.07 g, 3.16 mmol) junto con paladio sobre carbón activo Pd/C al 10 % (húmedo al 50%, 0.25 g/g) en EtOH (22.3 ml) y se deja reaccionar durante 6.5 horas bajo atmósfera reductora (5 kg/cm²). Pasado este tiempo, se filtra el catalizador sobre celita y se lava abundantemente con EtOH. La fase orgánica se concentra hasta un volumen aproximado de 25 ml y se adiciona HCl_{conc} (8.53 mmol) dejándose reaccionar a temperatura ambiente durante 20 horas. Pasado este tiempo se adiciona una disolución saturada de

NaHCO₃ (8.53 mmol), se evapora el disolvente y se extrae el esteroide con AcOEt. Dicha fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaCl y se seca sobre sulfato sódico (Na₂SO₄). Se obtiene un bruto de reacción que se recrystaliza con MeOH para obtener **27** (0.81 g, 57 %) puro.

P.f.: 105°C; $[\alpha]_D^{20} = -7.6^\circ$ (c = 15.57 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 400 MHz (Figura E-70, pág. 219): δ (ppm) = 0.68 (s, 3H, C18), 1.04 (d, J = 7.28 Hz, 3H, C6'), 1.21 (s, 3H, C19), 2.26 (s, 3H, C21), 0.5-2.8 (m, 19H), 5.42 (d, J = 6.0 Hz, 1H, C11).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 100 MHz (Figura E-71, pág. 219): δ (ppm) = 14.4 (q, C6'), 15.3 (q, C18), 21.6 (q, C19), 25.0 (t, C15), 27.6 (q, C21), 32.0 (t, C12), 32.2 (d, C6), 32.7 (d, C8), 33.7 (t, C16), 38.2 (s, C10), 38.3 (t, C1), 39.4 (t, C2), 39.8 (t, C7), 43.2 (t, C4), 46.8 (d, C5), 46.9 (s, C13), 47.9 (d, C14), 89.7 (s, C17), 117.0 (d, C11), 145.8 (s, C9), 211.4 (s, C20), 212.3 (s, C3).

IR (Nujol) (Figura E-72, pág. 220): ν = 723, 898, 1378, 1463, 1716, 2728, 2916, 3487 cm⁻¹.

HRMS-EI (M + Na) (Figura E-73, pág. 220): Calculado para C₂₂H₃₂O₃Na: 367.2243, experimental: 367.2241.

6 α -metil-17 α -hidroxipregnan-4,9(11)-dien-3,20-diona (**28**)

En un matraz de fondo redondo, se suspende el esteroide **20** (18.39 g, 54.10 mmol), paladio sobre carbón activo Pd/C al 10 % (húmedo al 50 %, 0.1 g/g) en DCM (350 ml) y se añade trietilamina (5.2 ml, 37.87 mmol), manteniéndose la disolución bajo atmósfera de argón y con agitación intensa durante 6 horas. Seguidamente se filtra la disolución sobre celita para eliminar los restos de Pd/C y se lava la celita 5 veces con DCM para recuperar todo el

bruto de reacción. Se evapora el disolvente y el sólido obtenido se redissuelve en THF (350 ml) y se adiciona HCl 37% (11.27 ml, 135.25 mmol) dejándolo reaccionar bajo agitación durante 12 horas para la completa isomerización del metilo en C6 al isómero β más estable. Posteriormente, se evapora el disolvente y el sólido obtenido se redissuelve en MeOH (30 ml). Cuando esta disolución se adiciona muy lentamente sobre agua (200 ml) a 0°C, se obtiene un precipitado que se filtra y se seca, resultando ser **28** (14.35 g, 77 %) puro.

P.f.: 180-183°C.; $[\alpha]_D^{20} = +38.6^\circ$ (c = 11.36 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 400 MHz (Figura E-78, pág. 224): δ (ppm) = 0.67 (s, 3H, C18), 0.92 (q, J= 12.6 Hz, 1H, C7), 1.09 (d, J= 12.6 Hz, 3H, C6'), 1.32 (s, 3H, C19), 2.26 (s, 3H, C21), 2.82 (s, 1H, OH), 0.5-2.6 (m, 14H), 5.52 (d, J=5.8 Hz, 1H, C11), 5.77 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 100 MHz (Figura E-79, pág. 224): δ (ppm) = 15.3 (q, C18), 18.1 (q, C6'), 24.6 (t, C15), 27.2 (q, C19), 27.5 (q, C21), 32.2 (t, C12), 33.7 (t, C2), 33.8 (d, C6), 34.0 (t, C16), 34.0 (t, C1), 37.2 (d, C8), 41.3 (t, C7), 46.6 (s, C13), 46.8 (s, C10), 47.4 (d, C14), 89.5 (s, C17), 118.4 (d, C11), 121.2 (d, C4), 144.0 (s, C9), 172.8 (s, C5), 199.6 (s, C3), 211.2 (s, C20).

IR (Figura E-80, pág. 225): $\nu = 736, 918, 1242, 1359, 1664, 1709, 2968, 3448 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M+Na) (Figura E-81, pág. 225): Calculado para C₂₂H₃₀O₃Na: 365.2087, experimental: 365.2098.

9 α -cloro-6 α -metil-11 β ,17 α -dihidroxipregnan-4-en-3,20-diona (**30**)

El esteroide **26** (0.23 g, 0.52 mmol) y paladio sobre carbón activo Pd/C al 10 % (húmedo al 50 %, 0.1 g/g) se suspenden en EtOH (4.2 ml) y introducen bajo atmósfera de hidrógeno a una presión de 2 kgf/cm² durante una hora.

Transcurrido este tiempo, se filtra el bruto de reacción sobre celita, lavándose ésta con CHCl_3 (5 x 10 ml). Sobre la disolución así obtenida, se adiciona HCl 37 % (2 ml) y se deja transcurrir la reacción durante 18 horas. Posteriormente, se evaporan los disolventes y el residuo obtenido se redissuelve en 20 ml de CHCl_3 . Esta fase orgánica se lava sucesivamente con agua (3 x 25 ml) y NaCl (3 x 25 ml). El secado (Na_2SO_4) y la evaporación de los disolventes condujo a la obtención de un bruto de reacción, que por fragmentación sobre sílica-gel permitió el aislamiento y caracterización de **30** (0.10 g, 45 %) puro.

P.f.: 117-126°C; $[\alpha]_D^{20} = +51.2^\circ$ (c = 0.34 mg/ml, CHCl_3)

^1H -RMN (CD_3Cl) 200 MHz (Figura E-86, pág. 229): δ (ppm) = 0.93 (s, 3H, C18), 1.06 (d, J = 6.3 Hz, 3H, C6'), 1.66 (s, 3H, C19), 2.23 (s, 3H, C21), 0.8-3.0 (m, 17H), 4.44 (s, 1H, C11), 5.80 (s, 1H, C4).

^{13}C -RMN (CD_3Cl) 50 MHz (Figura E-87, pág. 229): δ (ppm) = 17.8 (s, C18), 23.2 (q, C6'), 24.0 (q, C19), 27.6 (q, C21), 29.6 (t, C15), 30.3 (t, C1), 31.9 (d, C6), 33.5 (t, C16), 33.7 (t, C2), 34.6 (d, C8), 35.6 (t, C12), 35.8 (t, C7), 44.8 (d, C14), 46.2 (s, C10), 47.2 (s, C13), 74.2 (d, C11), 86.7 (s, C9), 89.4 (s, C17), 122.6 (d, C4), 171.3 (s, C5), 199.0 (s, C3), 210.8 (s, C20).

IR (Figura E-88, pág. 230): $\nu = 732, 911, 1112, 1241, 1351, 1655, 1700, 2926, 3438 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M + Na) (Figura E-89, pág. 230): Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{O}_4\text{NaCl}$: 417.1803, experimental: 417.1814.

6-metilen-9(11) β -epoxi-17 α -hidroxipregnan-4-en-3,20-diona (**31**)

17 α -acetato de 6-metilen-9(11) β -epoxi-17 α -hidroxipregnan-4-en-3,20-diona (**32**)

Se disuelve **23** (1.18 g, 2.70 mmol) en 50 ml de una mezcla acetona: agua 1:1 en la que se ha disuelto previamente K_2CO_3 (3.36 mmol). Tras 20 horas de agitación a temperatura ambiente se adiciona AcOH hasta pH 6 - 6.5. Posteriormente se destila la acetona del medio de reacción y se enfría la mezcla de reacción a 5°C. Se obtiene así un sólido en suspensión que se filtra, se lava repetidas veces con agua a 5°C, se seca y se pesa, obteniéndose así **31** (0.96 g, 72%) puro.

Se repite el mismo procedimiento para la obtención de **32** (4.04 g, 88 %) puro a partir de **24** (5.53 g, 11.54 mmol).

Caracterización de **31**:

1H -RMN (CD_3Cl) 200 MHz (Figura E-90, pág. 231): δ (ppm) = 0.81 (s, 3H, C19), 1.50 (s, 3H, C18), 2.20 (s, 3H, C21), 0.5-3.0 (m, 14H), 3.22 (s, 1H, OH), 3.38 (s, 1H, C11), 5.04 (s, 1H, C6'), 5.45 (s, 1H, C6'), 6.08 (s, 1H, C4).

^{13}C -RMN (CD_3Cl) 50 MHz (Figura E-91, pág. 231): δ (ppm) = 17.7 (q, C18), 22.7 (q, C19), 24.2 (t, C15), 27.4 (q, C21), 29.7 (t, C1), 31.4 (t, C16), 32.7 (t, C12), 32.7 (t, C2), 33.4 (t, C7), 35.9 (d, C8), 39.5 (s, C10), 44.4 (d, C14), 46.2 (s, C13), 59.9 (d, C11), 60.0 (s, C9), 89.3 (s, C17), 115.7 (t, C6'), 121.3 (d, C4), 141.4 (s, C6), 164.5 (s, C5), 199.1 (s, C3), 210.5 (s, C20).

IR (Figura E-92, pág. 232) : ν = 736, 930, 1093, 1223, 1353, 1658, 1710, 2942, 3455 cm^{-1} .

HRMS-EI (M + Na) (Figura E-93, pág. 232): Calculado para $C_{22}H_{28}O_4Na$: 379.1879, experimental: 379.1863.

Caracterización de **32**:

P.f.: 208-211°C; $[\alpha]_D^{20} = -6.9^\circ$ (c = 13.09 mg/ml, $CHCl_3$).

1H -RMN (CD_3Cl) 200 MHz (Figura E-94, pág. 233): δ (ppm) = 0.78 (s, 3H, C19), 1.53 (s, 3H, C18), 2.04 (s, 3H, C21), 2.07 (s, 3H, OAc), 1.0-3.1 (m, 14H), 3.44 (s, 1H, C11), 5.09 (s, 1H, C6'), 5.50 (s, 1H, C6'), 6.13 (s, 1H, C4).

^{13}C -RMN (CD_3Cl) 50 MHz (Figura E-95, pág. 233): δ (ppm) = 16.8 (q, C18), 21.1 (q, OAc), 22.8 (q, C19), 24.3 (t, C15), 26.7 (q, C21), 29.4 (t, C16), 30.3 (t, C1), 31.4 (t, C2), 32.8 (t, C7), 33.5 (t, C12), 36.0 (d, C8), 39.5 (s, C10), 45.0 (s, C13),

45.3 (d, C14), 59.6 (d, C11), 65.3 (s, C9), 95.9 (s, C17), 115.5 (t, C6'), 121.6 (d, C4), 141.6 (s, C6), 164.0 (s, C5), 170.2 (s, OAc), 198.8 (s, C3), 203.3 (s, C20).

IR (Figura E-96, pág. 234) : $\nu = 743, 968, 1084, 1252, 1375, 1433, 1665, 1736, 2949 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (Figura E-97, pág. 234)): Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_5\text{Na}$: 421.1985, experimental: 421.1976.

6 α -metil-9(11) β -epoxi-17 α -hidroxipregnan-4-en-3,20-diona (33)

17 α -acetato de 6 α -metil-9(11) β -epoxipregnan-4-en-3,20-diona (34)

Se suspende paladio sobre carbón activo Pd/C al 10 % (húmedo al 50 %, 0.1 g/g) en AcOEt (3 ml) y se introduce bajo atmósfera de hidrógeno a presión atmosférica durante una hora. Seguidamente se adiciona el esteroide **31** (0.23 g, 0.66 mmol) vía cánula disuelto en AcOEt (9 ml) y se deja reaccionar a temperatura ambiente durante 1.5 horas. Terminada la reacción se filtra el bruto de reacción sobre celita, lavándose ésta con AcOEt (5 x 10 ml). Sobre la disolución así obtenida, se adiciona HCl 37 % (2 ml) y se deja transcurrir la reacción durante 16 horas. Posteriormente se lava sucesivamente con agua (3 x 25 ml) y NaCl_{sat} (3 x 25 ml). El secado (Na_2SO_4) y la evaporación de los disolventes condujo a la obtención de un bruto de reacción, que por fragmentación sobre sílica-gel por elución con Hex/AcOEt 1:1 permitió el aislamiento y caracterización de **33** (0.028 g, 8 %) puro.

Se repite el mismo procedimiento usando como material de partida **32** (1.00 g, 2.52 mmol), pero el fraccionamiento del bruto de reacción se lleva a cabo con hex/AcOEt 1:9, obteniéndose **34** (0.138 g, 14 %) puro.

Caracterización de 33:

P.f.: 90°C; $[\alpha]_D^{20} = +12.6^\circ$ (c = 14.48 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-98, pág. 235): δ (ppm) = 0.89 (s, 3H, C19), 1.12 (d, J = 7.3 Hz, 3H, C6'), 1.29 (s, 3H, C18), 2.24 (s, 3H, C21), 0.5-3.3 (m, 16H), 3.51 (s, 1H, C11), 5.79 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-99, pág. 235): 18.0 (q, C18), 18.0 (q, C6'), 24.7 (t, C15), 25.6 (q, C19), 27.8 (q, C21), 30.5 (t, C1), 30.9 (t, C16), 32.7 (d, C6), 33.7 (t, C12), 34.3 (t, C2), 35.3 (d, C8), 40.4 (s, C10), 41.1 (t, C7), 46.7 (s, C13), 49.6 (d, C14), 62.8 (d, C11), 65.9 (s, C9), 89.1 (s, C17), 120.6 (d, C4), 172.6 (s, C5), 199.3 (s, C3), 211.1 (s, C20).

IR (Figura E-100, pág. 236): $\nu = 736, 911, 1093, 1236, 1353, 1385, 1469, 1671, 1703, 2851, 2916, 3416 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M+Na) (Figura E-101, pág. 236): calculado para C₂₂H₃₀O₂: 381.2036, experimental, 381.2036.

Caracterización de 34:

P.f.: 87°C; $[\alpha]_D^{20} = -6.3^\circ$ (c = 1.09 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-102, pág. 237): δ (ppm) = 0.76 (s, 3H, C19), 1.06 (d, J = 6.3 Hz, 3H, C6'), 1.19 (s, 3H, C18), 1.99 (s, 3H, C21), 2.05 (s, 3H, OAc), 0.6-3.0 (m, 15H), 3.48 (s, 1H, C11), 5.81 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-103, pág. 237): δ (ppm) = 16.8 (q, C18), 17.8 (q, C6'), 21.0 (q, OAc), 24.6 (t, C15), 25.3 (q, C19), 26.5 (q, C21), 29.5 (t, C16), 30.9 (t, C1), 31.2 (t, C7), 32.2 (d, C6), 34.2 (t, C12), 35.4 (d, C8), 40.3 (t, C2), 41.1 (s, C10), 45.2 (s, C13), 50.5 (d, C14), 62.3 (d, C11), 65.6 (s, C9), 95.6 (s, C17), 120.7 (d, C4), 170.1 (s, C5), 172.0 (s, OAc), 198.8 (s, C3), 202.9 (s, C20).

IR (Figura E-104, pág. 238): $\nu = 732, 914, 970, 1087, 1255, 1370, 1458, 1669, 1735, 2851, 2923 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-EI (M+Na) (Figura E-105, pág. 238): Calculado para C₂₄H₃₂O₅Na: 423.2142, experimental: 423.2150.

6 α -metil-17 α -terc-butildimetilsililoxipregnan-1,4,9(11)-trien-3,20-diona (38**)**

En uno de los procedimientos de síntesis de **39**, se aísla el intermedio **38**, lo que confirma el mecanismo de dicha reacción.

^1H -RMN (CD_3Cl) 200 MHz (Figura E-106, pág. 239): δ (ppm) = 0.00 (s, 3H, Si-Me), 0.11 (s, 3H, Si-Me), 0.55 (s, 3H, C18), 0.88 (s, 9H, Si-tBu), 1.17 (d, J = 6.4 Hz, 3H, C6'), 1.40 (s, 3H, C19), 2.14 (s, 3H, C21), 0.6-3.0 (m, 12H), 5.53 (d, J =5.4 Hz, 1H, C11), 6.09 (s, 1H, C4), 6.31 (d, J =10.2 Hz, 1H, C1), 7.20 (d, J =10.2 Hz, 1H, C2).

6 α -metil-17 α -hidroxipregnan-1,4,9(11)-trien-3,20-diona (39**)**

Se disuelve el esteroide **28** (0.05 g, 0.14 mmol) en DCM (0.5 ml) y seguidamente se adicionan DIPEA (0.45 mmol) y TfOTBDMS (0.35 mmol),

dejándolo reaccionar a 10 °C durante 3 horas. Pasado este tiempo, se adiciona agua (1 ml) y se continúa la agitación durante una hora más. A la fase orgánica obtenida se añade piridina (0.28 ml) y cloranilo (0.15 mmol) y se deja reaccionar a 15 °C durante 16 horas. Posteriormente se adicionan 1 ml de NaHSO₃ (5%) y se filtra sobre celita, extrayéndose varias veces con DCM. Esta fase orgánica se lava sucesivamente con agua (3 x 15 ml) y NaCl_{sat} (3 x 15 ml). La evaporación de la fase orgánica y posterior fraccionamiento sobre sílica-gel con una mezcla Hexano-Acetato de etilo 1:1 permitió el aislamiento de **39** (0.0353 g, 67 %) puro.

P.f.: 197-205°C; $[\alpha]_D^{20} = +45.7^\circ$ (c = 15.29 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-107, pág. 239): δ (ppm) = 0.70 (s, 3H, C18), 1.14 (d, J= 6.4 Hz, 3H, C6'), 1.40 (s, 3H, C19), 2.26 (s, 3H, C21), 0.5-3.0 (m, 12H), 5.52 (d, J= 5.4 Hz, 1H, C11), 6.06 (s, 1H, C4), 6.27 (d, J= 10.2 Hz, 1H, d, C1), 7.18 (d, J= 10.2 Hz, 1H, C2).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-108, pág. 240): δ (ppm) = 15.2 (q, C18), 17.6 (q, C6'), 24.8 (t, C15), 27.1 (q, C19), 27.5 (q, C21), 32.3 (t, C16), 33.2 (d, C6), 33.7 (t, C12), 36.6 (d, C8), 43.6 (t, C7), 46.1 (s, C10), 46.9 (s, C13), 47.8 (d, C14), 89.4 (s, C17), 120.4 (d, C11), 121.1 (d, C4), 126.9 (d, C2), 142.7 (s, C9), 155.2 (d, C1), 169.7 (s, C5), 186.4 (s, C3), 211.0 (s, C20).

IR (Figura E-109, pág. 240): ν = 743, 924, 1015, 1177, 1385, 1469, 1625, 1664, 1697, 2936, 3474 cm⁻¹.

HRMS-EI (M+Na) (Figura E-110, pág. 241): Calculado para C₂₂H₂₈O₃Na: 363.1931, experimental: 363.1939.

17α-acetato de pregnan-4,9(11)-dien-3,20-diona (**40**)

Se disuelve **19** (11.00 g, 33.55 mmol) en DCM (121 ml) y se enfría la disolución a -5°C. A esta temperatura se adiciona gota a gota Ac₂O (223.11

mmol) sin que la temperatura de la reacción supere los 7°C. Con la reacción reajustada a -5°C, Se adiciona por el mismo procedimiento HClO₄ 70 % (83.88 mmol) y se deja reaccionar durante 22 horas. Posteriormente se adiciona agua (5 ml) y se deja ir la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Se decantan las fases y la fase orgánica se lava sucesivamente tres veces con agua y con una disolución saturada de NaHCO₃ hasta pH neutro de las aguas de lavado y con una disolución saturada de NaCl. La fase orgánica se seca (Na₂SO₄) y se evapora, obteniéndose así **40** puro con rendimientos cuantitativos.

P.f.: 228°C; $[\alpha]_D^{20} = +59.6^\circ$ (c = 14.54 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-111, pág. 241): δ (ppm) = 0.54 (s, 3H, C18), 1.27 (s, 3H, C19), 1.98 (s, 3H, C21), 2.01 (s, 3H, OAc), 0.5-3.0 (m, 16H), 5.47 (d, J= 3.0 Hz, 1H, C11), 5.67 (1H, s, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-112, pág. 242): δ (ppm) = 14.2 (q, C18), 21.0 (q, OAc), 24.5 (t, C16), 26.1 (q, C19), 26.1 (q, C21), 30.1 (t, C15), 32.0 (t, C7), 32.6 (t, C6), 32.8 (t, C2), 33.8 (t, C1), 34.1 (t, C12), 37.4 (d, C8), 40.9 (s, C10), 45.2 (s, C13), 48.2 (d, C14), 96.3 (s, C17), 118.2 (d, C11), 123.9 (d, C4), 144.2 (s, C9), 169.0 (s, C5), 170.3 (s, OAc), 198.6 (s, C3), 203.5 (s, C20).

IR (Figura E-113, pág. 242): ν = 753, 1259, 1370, 1669, 1733, 2933 cm⁻¹.

HRMS-EI (M+Na) (Figura E-114, pág. 243): Calculado para C₂₃H₃₀O₄Na: 393.2036, experimental: 393.2046.

17α-acetato de 9(11)β-epoxipregnan-4-en-3,20-diona (**41**)

Se disuelve **22** (0.48 g, 1.03 mmol) en 20 ml de una mezcla acetona: agua 1:1 en la que se ha disuelto previamente K₂CO₃ (4.64 mmol). Tras 5 horas de agitación a temperatura ambiente se adiciona AcOH hasta pH 6 - 6.5 destilándose luego la acetona del medio de reacción y enfriándose la mezcla de reacción a 5°C. Se obtiene así un sólido en suspensión que se filtra, se lava

repetidas veces con agua a 5°C, se seca y se pesa, obteniéndose **41** (0.34 g, 86%) puro.

P.f.: 205-207°C; $[\alpha]_D^{20} = -36.0^\circ$ (c = 16.03 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-115, pág. 243): δ (ppm) = 0.81 (s, 3H, C19), 1.41 (s, 3H, C18), 2.04 (s, 3H, C21), 2.10 (s, 3H, OAc), 1.2-3.0 (m, 16H), 3.46 (s, 1H, C11), 5.82 (s, 1H, C4).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-116, pág. 244): δ (ppm) = 16.8 (q, C18), 21.1 (q, OAc), 23.6 (q, C19), 24.8 (t, C15), 26.3 (t, C7), 26.7 (q, C21), 29.4 (t, C1), 29.5 (t, C6), 30.8 (t, C16), 31.3 (t, C12), 33.9 (t, C2), 35.1 (d, C8), 39.5 (s, C10), 45.1 (s, C14), 46.9 (d, C13), 60.4 (d, C11), 65.5 (s, C9), 95.9 (s, C17), 124.4 (d, C4), 169.4 (s, C5), 170.2 (s, OAc), 198.4 (s, C3), 203.2 (s, C20).

IR (Figura E-117, pág. 244) : $\nu = 736, 872, 968, 1078, 1265, 1375, 1439, 1671, 1736, 2942 \text{ cm}^{-1}$.

HRMS-El(M+Na⁺) (Figura E-118, pág. 245): Calculado para C₂₃H₃₀O₅Na: 409.1985, experimental: 409.1990.

6 α -metil-9,11 β -epoxi-17 α -hidroxipregnan-1,4-dien-3,20-diona (**42**)

Se disuelve **39** (1.98 g, 5.82 mmol) en 20 ml de una mezcla acetona: agua en proporción 6:1. Se adiciona lentamente una disolución en agua al 70% de ácido perclórico (1.16 mmol) controlando que la temperatura no supere los 25°C. Posteriormente se añade de una sola vez DDH (4.07 mmol) controlando de nuevo que la temperatura no suba de 25°C. Tras 4.5 horas de agitación a temperatura ambiente, se vierte la disolución sobre 200 ml de una mezcla 1:1 de acetona:agua a la que se habían añadido 10 ml de una disolución al 10 % de NaHSO₃ y 3.6 g de K₂CO₃ y se continúa la agitación durante 4 horas para asegurar la desaparición del DDH sin reaccionar. Posteriormente se evapora la acetona de la mezcla de reacción. La suspensión resultante se enfría hasta 0-

5°C, se filtra y el sólido obtenido se lava de nuevo con agua a 0-5°C. Se aisla así **42** (1.90 g, 92 %) puro.

P.f.: 183°C; $[\alpha]_D^{20} = +22.45^\circ$ (c = 0.98 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (CD₃Cl) 200 MHz (Figura E-119, pág. 245): δ (ppm) = 0.85 (s, 3H, C18), 1.13 (d, J=6.4 Hz, 3H, C6'), 1.38 (s, 3H, C19), 2.18 (s, 3H, C21), 3.12 (sa, 1H, OH), 3.29 (s, 1H, C11), 0.5-3.5 (m, 11H), 6.08 (s, 1H, C4), 6.16 (dd, J1=10.2 Hz, J2= 1.7, 1H, C1), 6.55 (d, J= 10.1 Hz, 1H, C2).

¹³C-RMN (CD₃Cl) 50 MHz (Figura E-120, pág. 246): δ (ppm) = 17.4 (q, C18), 17.9 (q, C6'), 24.1 (q, C19), 24.8 (t, C15), 27.3 (q, C21), 30.6 (t, C16), 31.6 (d, C6), 32.8 (t, C12), 34.4 (d, C8), 42.4 (t, C7), 44.2 (s, C10), 46.2 (s, C13), 50.2 (d, C14), 63.4 (d, C11), 67.0 (s, C9), 89.2 (s, C17), 121.6 (d, C4), 127.6 (d, C2), 152.9 (d, C1), 168.4 (s, C5), 186.3 (s, C3), 210.3 (s, C20).

IR (Figura E-121, pág. 246): ν = 730, 918, 1132, 1249, 1372, 1664, 1709, 2929, 3416 cm⁻¹.

HRMS-EI (M+Na) (Figura E-122, pág. 247): Calculado para C₂₂H₂₈O₄Na: 379.1879, experimental: 379.1870.

6 α -metil-9 α -fluoro-,11 β ,17 α -dihidroxipregnan-1,4-dien-3,20-diona (43)

En un matraz de fondo redondo de plástico o teflón (evitar el contacto con el vidrio ya que es corrosivo al vidrio) se agita a -40°C ácido fluorhídrico HF al 70% (2,2 ml, 94.28 mmol) y se adiciona **42** (1.00 g, 2.81 mmol) lentamente y en porciones de manera que la temperatura no suba de -35°C y la reacción se mantenga como una suspensión ligera. Pasadas 4 horas, la disolución se vierte

lentamente sobre hidróxido amónico al 20% (36 ml) previamente enfriado a -10° C. La suspensión se agita a 0° C, se filtra y el sólido obtenido se lava con 10 ml de agua a 0/5° C y se seca. Se obtiene así **43** (0.85 g, 80 %) puro.

Se prepara una disolución de seguridad básica (puede ser amoniacal acuosa, bicarbonato sódico o carbonato sódico) y todo el material en contacto con el ácido se pasa por esa disolución (incluidos guantes), y si hay un derrame se trata con esa disolución. Se tiene a mano una pomada de calcio y pastillas de calcio en caso de quemadura o ingestión.

P.f.: 297°C; $[\alpha]_D^{20} = +50.2^\circ$ (c = 0.42 mg/ml, CHCl₃).

¹H-RMN (DMSO-d₆) 400 MHz (Figura E-123, pág. 247): δ (ppm) = 0.75 (s, 3H, C18), 1.06 (d, J=6.4 Hz, 3H, C6'), 1.48 (s, 3H, C19), 2.07 (s, 3H, C21), 1.2-2.9 (m, 11H), 4.12 (d, J=5.7 Hz, 1H, C11), 5.24 (sa, 1H, C11-OH), 5.27 (s, 1H, C17-OH), 5.90 (s, 1H, C4), 6.23 (dd, J1=10.1 Hz, J2=1.8, 1H, C2), 7.28 (d, J=10.0 Hz, 1H, C1).

¹³C-RMN (DMSO-d₆) 100 MHz (Figura E-124, pág. 248): δ (ppm) = 16.4 (q, C18), 17.3 (q, C6'), 23.0 (t, C15), 23.4 (q, C19), 26.6 (q, C21), 31.7 (d, C6), 31.8 (t, C16), 33.4 (d*, C8), 35.6 (t, C12), 36.3 (t, C7), 44.0 (d, C14), 45.3 (s, C13), 48.1 (s*, C10), 70.5 (d*, C11), 88.9 (s, C17), 101.2 (s*, C9), 121.5 (d, C4), 128.6 (d, C2), 153.3 (d, C1), 169.9 (s, C5), 185.3 (s, C3), 209.7 (s, C20).

IR (KBr) (Figura E-125, pág. 248): ν = 888, 988, 1075, 1201, 1307, 1348, 1447, 1656, 1713, 2879, 2921, 2944, 2971, 3393 cm⁻¹.

HRMS-EI (M+Na) (Figura E-126, pág. 249): Calculado para C₂₂H₂₉O₄FNa: 399.1942, experimental: 399.1955.

¹⁹F-RMN (DMSO-d₆) 188 MHz (Figura E-127, pág. 249): δ (ppm) = -160.89 (dd, J1 = 32 Hz, J2 = 9 Hz, 1F, C9).

* Aparece doblete con F.

17 α -acetato de 6-metilenpregnan-4,9(11)-dien-3,20-diona (**44**)

Para la síntesis de **44** se sigue el mismo procedimiento utilizado previamente para la síntesis de **40** a partir de **19**. Se obtiene así a partir de **20** (2.02g, 5.96 mmol) un bruto de reacción, que previa cromatografía sobre sílice-flash permite aislar y caracterizar **44** (0.47 g, 20 %) puro.

P.f.: 230-233°C; $[\alpha]_D^{20} = +148.2^\circ$ ($c = 11.03$ mg/ml, CHCl_3).

^1H -RMN (CD_3Cl) 200 MHz (Figura E-132, pág. 253): δ (ppm) = 0.60 (s, 3H, C19), 1.25 (s, 3H, C18), 1.0-3.1 (m, 14H), 2.05 (s, 3H, C21), 2.09 (s, 3H, OAc), 5.02 (s, 1H, C6'), 5.14 (s, 1H, C6'), 5.58 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H, C11), 5.91 (s, 1H, C4).

^{13}C -RMN (CD_3Cl) 50 MHz (Figura E-133, pág. 253): δ (ppm) = 14.3 (q, C18), 21.1 (q, OAc), 24.5 (t, C15), 26.2 (q, C19), 26.3 (q, C21), 30.3 (t, C7), 32.9 (t, C16), 33.3 (t, C2), 34.0 (t, C12), 37.7 (d, C8), 39.9 (t, C1), 41.4 (s, C10), 45.4 (s, C13), 48.8 (d, C14), 96.3 (s, C17), 114.2 (t, C6'), 118.8 (d, C11), 121.8 (d, C4), 143.2 (s, C6), 145.2 (s, C9), 167.0 (s, C5), 170.5 (s, OAc), 199.2 (s, C3), 203.7 (s, C20).

IR (Figura E-134, pág. 254): $\nu = 1370, 1670, 1710, 1735, 2898, 2960$ cm^{-1} .

HRMS-EI ($\text{M}+\text{Na}$) (Figura E-135, pág. 254): Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{Na}$: 405.2036, experimental: 405.2038.

TABLAS DE ASIGNACIÓN DE CARBONOS

6. Tablas de asignación de ^{13}C -RMN.

6.1. Exemestano

CARBONO	5	6	7
1	35.2	34.9	154.3
2	33.8	33.6	127.6
3	199.8	199.3	186.5
4	121.7	121.5	122.5
5	169.1	168.5	167.6
6	146.0	145.6	145.7
7	39.6	39.3	39.9
8	35.8	35.2	35.5
9	52.7	52.2	50.2
10	39.1	38.9	42.6
11	20.7	20.4	22.2
12	36.4	36.3	36.4
13	42.9	42.3	43.6
14	50.9	50.4	49.8
15	23.2	23.2	23.4
16	30.4	27.3	27.3
17	81.5	82.1	82.1
18	11.0	11.8	12.0
19	17.1	16.9	21.0
6'	114.0	113.9	111.9
CH ₃ COO	-	20.9	19.6
CH ₃ COO	-	171.3	170.9

CARBONO	8	9	10
1	154.6	34.3	154.6
2	127.5	33.0	126.7
3	186.5	198.1	184.9
4	122.3	121.0	123.1
5	168.0	167.4	167.6
6	145.8	144.8	31.7
7	40.0	38.0	31.5
8	35.7	34.3	34.2
9	50.4	51.7	51.5
10	43.0	38.3	42.6
11	22.4	19.6	21.1
12	36.2	34.9	30.5
13	43.8	46.6	46.7
14	50.0	50.2	49.5
15	23.3	20.9	21.3
16	30.2	30.5	34.8
17	81.2	218.6	218.5
18	11.1	13.0	13.0
19	19.6	16.4	18.0
6'	111.8	113.6	-
CH ₃ COO	-	-	-
CH ₃ COO	-	-	-

CARBONO	11	13	14
1	155.9	153.7	35.5
2	127.3	127.3	34.1
3	188.3	185.9	199.4
4	123.7	122.2	124.1
5	169.3	185.9	171.0
6	33.1	144.8	32.9
7	32.7	38.8	31.7
8	35.5	34.9	35.9
9	52.5	50.3	53.9
10	43.0	43.2	38.8
11	22.4	21.4	20.7
12	36.3	35.1	36.8
13	43.6	47.2	42.6
14	50.1	49.5	50.4
15	23.4	21.6	23.6
16	30.2	30.7	27.6
17	81.2	219.1	82.6
18	11.0	13.3	12.2
19	18.6	19.2	17.6
6'	-	112.0	-
CH ₃ COO	-	-	21.3
CH ₃ COO	-	-	171.2

CARBONO	18
1	33.3
2	32.7
3	198.6
4	120.5
5	163.0
6	130.9
7	135.7
8	35.9
9	50.1
10	35.5
11	19.2
12	34.9
13	47.4
14	48.1
15	20.6
16	30.6
17	218.4
18	13.0
19	19.2
6'	15.7
CH ₃ COO	-
CH ₃ COO	-

6.2. Fluorometolona

CARBONO	20	21	22
1	40.0	29.2	31.3
2	33.7	33.6	33.8
3	199.5	197.1	198.4
4	121.7	123.1	123.9
5	167.4	168.9	168.7
6	145.5	30.8	30.1
7	32.2	28.2	27.9
8	37.8	35.2	35.4
9	143.1	89.0	92.2
10	41.4	46.0	36.3
11	119.2	73.3	74.1
12	34.0	35.3	36.3
13	46.8	46.3	46.1
14	48.0	45.7	47.0
15	24.6	22.6	23.1
16	32.3	31.9	29.7
17	89.5	96.8	95.9
18	15.2	17.1	18.9
19	26.2	23.0	23.2
20	211.1	209.8	203.7
21	27.5	26.7	26.5
6'	114.0	-	-
CH ₃ COO	-	-	21.1
CH ₃ COO	-	-	170.6

CARBONO	23	24	25
1	29.9	30.0	29.2
2	33.5	33.4	33.9
3	199.0	199.1	198.7
4	121.0	120.7	114.4
5	166.4	166.5	170.2
6	142.8	142.5	30.2
7	36.6	36.0	25.9
8	35.3	35.2	35.0
9	89.4	91.0	65.6
10	45.9	45.8	39.5
11	74.6	73.9	60.6
12	35.9	36.3	32.8
13	47.4	46.1	46.3
14	46.3	47.0	45.8
15	23.0	22.8	24.7
16	33.1	29.8	31.3
17	90.8	95.8	89.3
18	17.9	16.7	17.8
19	22.7	22.5	23.6
20	210.8	203.6	210.7
21	27.6	26.3	27.5
6'	117.4	117.4	-
CH ₃ COO	-	21.0	-
CH ₃ COO	-	170.5	-

CARBONO	26	27	28
1	28.7	38.3	34.0
2	33.5	39.4	33.7
3	199.0	212.3	199.6
4	121.6	43.2	121.2
5	166.3	46.8	172.8
6	143.0	32.2	33.8
7	35.8	39.8	41.3
8	34.7	32.7	37.2
9	85.2	145.8	144.0
10	45.8	38.2	46.8
11	74.4	117.0	118.4
12	35.0	32.0	32.2
13	47.3	46.9	46.6
14	45.1	47.9	47.4
15	23.1	25.0	24.6
16	33.5	33.7	34.0
17	89.4	89.7	89.5
18	17.8	15.3	15.3
19	22.4	21.6	27.2
20	210.8	211.4	211.2
21	27.7	27.6	27.5
6'	117.0	14.4	18.1
CH ₃ COO	-	-	-
CH ₃ COO	-	-	-

CARBONO	30	31	32
1	30.3	29.7	30.3
2	33.7	32.7	31.4
3	199.0	199.1	198.8
4	122.6	121.3	121.6
5	171.3	164.5	164.0
6	31.9	141.4	141.6
7	35.8	33.4	32.8
8	34.6	35.9	36.0
9	86.7	60.0	65.3
10	46.2	39.5	39.5
11	74.2	59.9	59.6
12	35.6	32.7	33.5
13	47.2	46.2	45.0
14	44.8	44.4	45.3
15	29.6	24.2	24.3
16	33.5	31.4	29.4
17	89.4	89.3	95.9
18	17.8	17.7	16.8
19	24.0	22.7	22.8
20	210.8	210.5	203.3
21	27.6	27.4	26.7
6'	23.2	115.7	115.5
CH ₃ COO	-	-	21.1
CH ₃ COO	-	-	170.2

CARBONO	33	34	39
1	30.5	30.9	155.2
2	34.3	40.3	126.9
3	199.3	198.8	186.4
4	120.6	120.7	121.1
5	172.6	170.1	169.7
6	32.7	32.2	33.2
7	41.1	31.2	43.6
8	35.3	35.4	36.6
9	65.9	65.6	142.7
10	40.4	41.1	46.1
11	62.8	62.3	120.4
12	33.7	34.2	33.7
13	46.7	45.2	46.9
14	49.6	50.5	47.8
15	24.7	24.6	24.8
16	30.9	29.5	32.3
17	89.1	95.6	89.4
18	18.0	16.8	15.2
19	25.6	25.3	27.1
20	211.1	202.9	211.0
21	27.8	26.5	27.5
6'	18.0	17.8	17.6
CH ₃ COO	-	21.0	-
CH ₃ COO	-	172.0	-

CARBONO	40	41	42
1	33.8	29.4	152.9
2	32.8	33.9	127.6
3	198.6	198.4	186.3
4	123.9	124.4	121.6
5	169.0	169.4	168.4
6	32.6	29.5	31.6
7	32.0	26.3	42.4
8	37.4	35.1	34.4
9	144.2	65.5	67.0
10	40.9	39.5	44.2
11	118.2	60.4	63.4
12	34.1	31.3	32.8
13	45.2	46.9	46.2
14	48.2	45.1	50.2
15	30.1	24.8	24.8
16	24.5	30.8	30.6
17	96.3	95.9	89.2
18	14.2	16.8	17.4
19	26.1	23.6	24.1
20	203.5	203.2	210.3
21	26.1	26.7	27.3
6'	-	-	17.9
CH ₃ COO	21.0	21.1	-
CH ₃ COO	170.3	170.2	-

CARBONO	43	44
1	153.3	39.9
2	128.6	33.3
3	185.3	199.2
4	121.5	121.8
5	169.9	167.0
6	31.7	143.2
7	36.3	30.3
8	33.4 [*]	37.7
9	101.2 [*]	145.2
10	48.1 [*]	41.4
11	70.5 [*]	118.8
12	35.6	34.0
13	45.3	45.4
14	44.0	48.8
15	23.0	24.5
16	31.8	32.9
17	88.9	96.3
18	16.4	14.3
19	23.4	26.2
20	209.7	203.7
21	26.6	26.3
6'	17.3	114.2
CH ₃ COO	-	21.1
CH ₃ COO	-	170.5

* Aparece como doblete con ^{19}F

TABLAS BIDIMENSIONALES

7. Tablas de asignación Bidimensionales.

FLUOROMETOLONA

CARBONO	27	HMQC	HMBC
1	38.3	2.3-2.4 y 2.4-2.6 (m, 1H c/u)	19
2	39.4	1.6-1.7 y 1.9-2.0 (m, 1H c/u)	1
3	212.3	-	1, 2, 4
4	43.2	1.9-2.1 y 2.5-2.7 (m, 1H c/u)	5
5	46.8	1.7-1.9 (m, 1H)	4, 7, 19, 6'
6	32.2	2.1-2.3 (m, 1H)	5, 8, 6'
7	39.8	1.2-1.4 y 1.7-1.9 (m, 1H c/u)	5, 8, 14, 6'
8	32.7	1.7-1.9 (m, 1H)	6'
9	145.8	-	5, 7, 12, 14, 19
10	38.2	-	1, 4, 11, 19
11	117.0	5.42 (d, J= 6.0 Hz, 1H)	12
12	32.0	1.5-1.7 y 2.5-2.7 (m, 1H c/u)	11, 14, 18
13	46.9	-	11, 12, 18
14	47.9	1.7-1.9 (m, 1H)	12, 16, 18
15	25.0	1.9 y 2.2-2.3 (m, 1H c/u)	14
16	33.7	1.5-1.7 y 2.6-2.8 (m, 1H c/u)	
17	89.7	-	12, 16, 18
18	15.3	0.68 (s, 3H)	12, 14
19	21.6	1.21 (s, 3H)	5
20	211.4	-	21
21	27.6	2.26 (s, 3H)	
6'	14.4	1.04 (d, J= 7.28 Hz, 3H)	5, 7

CARBONO	28	HMQC	HMBC
1	34.0	2.0-2.2 y 2.4-2.5 (m, 1H c/u)	2, 4, 19
2	33.7	1.5-1.7 y 2.4-2.5 (m, 1H c/u)	1, 4
3	199.6	-	1, 2
4	121.2	5.77 (s, 1H)	2
5	172.8	-	1, 6, 19, 6'
6	33.8	2.6-2.8 (m, 1H)	4, 7, 6'
7	41.3	0.92 (q, J= 12.6 Hz, 1H) y 1.9-2.1 (m, 1H)	4, 11, 6'
8	37.2	2.2-2.4 (m, 1H)	7, 11, 14
9	144.0	-	1, 7, 12, 19
10	46.8	-	11
11	118.4	5.52 (d, J=5.8 Hz, 1H)	12
12	32.2	1.6-1.7 y 2.5-2.7 (m, 1H c/u)	11, 14, 18
13	46.6	-	11, 12, 14, 18
14	47.4	1.7-1.9 (m, 1H)	12, 18
15	24.6	1.9 y 2.2-2.3 (m, 1H c/u)	14
16	34.0	2.0-2.2 y 2.4-2.5 (m, 1H c/u)	21
17	89.5	-	12, 18
18	15.3	0.67 (s, 3H)	12, 14
19	27.2	1.32 (s, 3H)	1
20	211.2	-	21
21	27.5	2.26 (s, 3H)	16
6'	18.1	1.09 (d, J= 12.6 Hz, 3H)

CARBONO	43	HMQC	HMBC
1	153.3	7.28 (d, J=10.0 Hz, 1H)	19
2	128.6	6.23 (dd, J1=10.1 Hz, J2=1.8, 1H)	4
3	185.3	-	1
4	121.5	5.90 (s, 1H)	2
5	169.9	-	1, 19, 6'
6	31.7	1.3-1.4 (m, 1H)	4, 6'
7	36.3	1.0-1.1 y 1.7-1.9 (m, 1H c/u)	6'
8	33.4d	2.4-2.5 (m, 1H)	
9	101.2d	-	19
10	48.1d	-	1, 2, 4, 19
11	70.5d	4.12 (d, J=5.7 Hz, 1H)	12
12	35.6	1.4-1.6 y 2.1-2.2 (m, 1H c/u)	18
13	45.3	-	14, 15, 18
14	44.0	2.0-2.1 (m, 1H)	15, 18
15	23.0	1.5-1.7 (m, 2H)	
16	31.8	2.5-2.6 (m, 2H)	
17	88.9	-	12, 18, 21
18	16.4	0.75 (s, 3H)	12
19	23.4	1.48 (s, 3H)	1
20	209.7	-	21
21	26.6	2.07 (s, 3H)	
6'	17.3	1.06 (d, J=6.4 Hz, 3H)	6

8.1. Espectroscopía Exemestano

Compuesto 5

Figura E-1

Figura E-2

Figura E-3

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C ₂₀ H ₂₈ O ₂ Na	323.198152	0.24848	0.768814	6.5

Figura E-4

Compuesto 6

Figura E-5

Figura E-6

Figura E-7

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C22 H30 O3 Na	365.208716	-0.11624	-0.318283	7.5

Figura E-8

Compuesto 7

Figura E-9

Figura E-10

Figura E-11

+TOF MS: 0.267 min from Sample 5.
a=3.56112588699938740e-004, t0=-1.02005336467409510e+001 R., subtracted (0.034 to 0... Max. 312.0 counts.

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C22 H28 O3 Na	363.193066	-0.96616	-2.660186	8.5

Figura E-12

Compuesto 8

Figura E-13

Figura E-14

Figura E-15

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C ₂₀ H ₂₆ O ₂ Na	321.182501	1.79856	5.599766	7.5

Figura E-16

Compuesto 9

Figura E-17

Figura E-18

Figura E-19

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C20 H27 O2	299.200557	1.34322	4.489335	7.5

Figura E-20

Compuesto 10

Figura E-21

Figura E-22

Figura E-23

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C ₁₉ H ₂₄ O ₂ Na	307.166851	-0.25136	-0.818317	7.5

Figura E-24

Compuesto 11

Figura E-25

Figura E-26

Figura E-27

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C19 H26 O2 Na	309.182501	-0.70144	-2.268694	6.5

Figura E-28

Compuesto 13 EXEMESTANO

Figura E-29

Figura E-30

Figura E-31

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C ₂₀ H ₂₄ O ₂ Na	319.166851	-1.85136	-5.800626	8.5

Figura E-32

Compuesto 14

Figura E-33

Figura E-34

Figura E-35

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C ₂₁ H ₃₁ O ₃	331.226772	-0.97158	-2.933281	6.5

Figura E-36

Compuesto 16

Figura E-37

Compuesto 18

Figura E-38

Figura E-39

Figura E-40

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C ₂₀ H ₂₆ O ₂ Na	321.182501	-0.70144	-2.183931	7.5

Figura E-41

8.2. Espectroscopía Fluorometolona

Compuesto 20

Figura E-42

Figura E-43

Figura E-44

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C22 H29 O3	341.211122	0.0785	0.230062	8.5

Figura E-45

Compuesto 21

Figura E-46

DMSO - d₆

Figura E-47

Figura E-48

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C21 H29 O4 Na Br	447.114142	-0.94194	-2.106712	6.5

Figura E-49

Compuesto 22

Figura E-50

Figura E-51

Figura E-52

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C23 H31 O5 Na Br	489.124707	-0.30666	-0.626956	7.5

Figura E-53

Compuesto 23

Figura E-54

Figura E-55

Figura E-56

Figura E-57

Compuesto 24

Figura E-58

Figura E-59

Figura E-60

+TOF MS: 0.200 min from Sample 3
a=3.56009498203875900e-004, t0=-1.02726479033190120e+001 R_i, subtracted (0.017 to 0...
Max. 755.0 counts.

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C24 H31 O5 Na Br	501.124707	-0.60666	-1.210597	8.5

Figura E-61

Compuesto 25

Figura E-62

Figura E-63

Figura E-64

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C21 H28 O4 Na	367.187981	-0.8808	-2.398773	7.5

Figura E-65

Compuesto 26

Figura E-66

Figura E-67

Figura E-68

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C22 H29 O4 Na Cl	415.164659	0.541431	1.304132	7.5

Figura E-69

Compuesto 27

Figura E-70

Figura E-71

Figura E-72

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C22 H32 O3 Na	367.224366	-0.26632	-0.725224	6.5

Figura E-73

Figura E-74

Figura E-75

Figura E-76

Figura E-77

Compuesto 28

Figura E-78

Figura E-79

Figura E-80

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C22 H30 O3 Na	365.208716	1.08376	2.967495	7.5

Figura E-81

Figura E-82

Figura E-83

Figura E-84

Figura E-85

Compuesto 30

Figura E-86

Figura E-87

Figura E-88

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C22 H31 O4 Na Cl	417.180309	1.091351	2.616007	6.5

Figura E-89

Compuesto 31

Figura E-90

Figura E-91

Figura E-92

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C ₂₂ H ₂₈ O ₄ Na	379.187981	-1.6808	-4.432643	8.5

Figura E-93

Compuesto 32

Figura E-94

Figura E-95

Figura E-96

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C24 H30 O5 Na	421.198546	-0.94552	-2.244834	9.5

Figura E-97

Compuesto 33

Figura E-98

Figura E-99

Figura E-100

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C22 H30 O4 Na	381.203631	-0.03088	-0.081006	7.5

Figura E-101

Compuesto 34

Figura E-102

Figura E-103

Figura E-104

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C24 H32 O5 Na	423.214196	0.8044	1.900686	8.5

Figura E-105

Compuesto 38

Figura E-106

Compuesto 39

Figura E-107

Figura E-108

Figura E-109

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C ₂₂ H ₂₈ O ₃ Na	363.193066	0.83384	2.29585	8.5

Figura E-110

Compuesto 40

Figura E-111

Figura E-112

Figura E-113

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C ₂₃ H ₃₀ O ₄ Na	393.203631	0.96912	2.464668	8.5

Figura E-114

Compuesto 41

Figura E-115

Figura E-116

Figura E-117

Figura E-118

Compuesto 42

Figura E-119

Figura E-120

Figura E-121

Figura E-122

Compuesto 43 FLUOROMETOLONA

Figura E-123

Figura E-124

Figura E-125

Figura E-126

Figura E-127

Figura E-128

Figura E-129

Figura E-130

Figura E-131

Compuesto 44

Figura E-132

Figura E-133

Figura E-134

Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C ₂₄ H ₃₀ O ₄ Na	405.203631	0.16912	0.41737	9.5

Figura E-135

RELACIÓN DE COMPUESTOS

9. Relación de compuestos.

9.1. Exemestano.

9.2. Fluorometolona.