



Universidad de Oviedo

FACULTAD DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA E INORGÁNICA

**SÍNTESIS DE PRECURSORES PARA LA
PREPARACIÓN DE DERIVADOS 14-*epi* Y 20-*epi*
DE LA VITAMINA D₃**

LAURA FLORENTINO MADIEDO

Máster Universitario en Química y Desarrollo Sostenible
Trabajo Fin de Máster
Curso 2014-2015

Dña. **Laura Florentino Madiedo**, Graduada en Química, ha realizado la Memoria titulada “SÍNTESIS DE PRECURSORES PARA LA PREPARACIÓN DE DERIVADOS 14-*epi* Y 20-*epi* DE LA VITAMINA D₃” bajo la dirección de los profesores D. Miguel Ferrero Fuertes y Dña. Susana Fernández González, ambos Profesores Titulares de Química Orgánica del Departamento de Química Orgánica e Inorgánica de la Universidad de Oviedo.

Los Directores certifican que la citada Memoria ha sido realizada en el Departamento de Química Orgánica e Inorgánica de la Universidad de Oviedo bajo su dirección, autorizando su presentación para que sea calificada como **Trabajo Fin de Máster** del *Máster Universitario en Síntesis y Reactividad Química* correspondiente al Curso 2014-2015.

Oviedo, Julio 2015

Fdo.: Laura Florentino Madiedo

Fdo.: Prof. Miguel Ferrero

Fdo.: Prof. Susana Fernández

AMP	Adenosín monofosfato
¹³ C-RMN	Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13
DBP	<i>Vitamin D Binding Protein</i> (proteína de transporte de la vitamina D)
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DIBAL-H	Hidruro de diisobutilaluminio
DMAP	<i>N,N</i> -Dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetilsulfóxido
d	Doblete
¹ H-RMN	Resonancia Magnética Nuclear de protón
Hz	Hertzios
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
m	Multiplete
MAP quinasa	<i>Mitogen Activated Protein</i> quinasa
PDC	<i>Pyridinium Dichromate</i>
PKC	<i>Protein Kinase C</i>
PLC	<i>Phospholipase C</i>
PPTS	<i>Pyridinium p-toluensulfonate</i>
q	Cuatriplete
<i>R_f</i>	Factor de retención
RXR	Receptor Retinoíde X
s	Singulete
t	Triplete
TBDMSCl	Cloruro de <i>tert</i> -butildimetilsililo
TBDMSOTf	Triflato de <i>tert</i> -butildimetilsililo
THF	Tetrahidrofurano
UV	Ultravioleta
VDR	<i>Vitamin D Receptor</i> (receptor de la vitamina D)
VDRE	<i>Vitamin D Reponse Element</i> (Elemento de respuesta de la vitamina D)

INTRODUCCIÓN	1
1.1. Terminología: ¿es la vitamina D una vitamina?	3
1.2. Metabolismo de la vitamina D.....	4
1.3. Efectos fisiológicos de la vitamina D ₃ y sus metabolitos	6
1.3.1. Respuestas genómicas.....	7
1.3.2. Respuestas no-genómicas	8
1.4. Estructura conformacional de la 1 α ,25-dihidroxitamina D ₃	9
1.5. Estrategias sintéticas para la preparación de análogos de la vitamina D ₃	11
1.6. Aplicaciones terapéuticas de los análogos de la vitamina D ₃ . Derivados comerciales.	14
ANTECEDENTES	19
2.1. Análogos 14- <i>epi</i> -1 α ,25-dihidroxitamina D ₃	21
2.2. Análogos 20- <i>epi</i> -1 α ,25-dihidroxitamina D ₃	25
2.2.1. Análogos 20- <i>epi</i> -1 α ,25-dihidroxitamina D ₃ con modificaciones en la cadena lateral	26
2.2.2. Análogos 20- <i>epi</i> -1 α ,25-dihidroxitamina D ₃ con modificaciones en el anillo A	28
2.1.3. Análogos 20- <i>epi</i> -1 α ,25-dihidroxitamina D ₃ con múltiples modificaciones.....	30
OBJETIVOS	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37

4.1. Síntesis del precursor 14- <i>epi</i> anillos CD/cadena lateral	39
4.2. Síntesis del precursor 20- <i>epi</i> anillos CD/cadena lateral	43
CONCLUSIONES	51
PARTE EXPERIMENTAL	55
6.1. Procedimientos generales	57
6.2. Técnicas de análisis	57
6.2.1. Cromatografía en gel de sílice	57
6.2.2. Resonancia Magnética Nuclear	58
6.3. Procedimientos sintéticos y datos experimentales	58
PARTE ESPECTRAL	75

INTRODUCCIÓN

1.1. Terminología: ¿es la vitamina D una vitamina?

El término vitamina hace referencia a aquellos compuestos, presentes en los alimentos, cuya ingesta es necesaria para el correcto funcionamiento del cuerpo humano, dado que el organismo no puede sintetizar estas sustancias por sí mismo. Así, por ejemplo, la vitamina A se encontró en la mantequilla, y es capaz de prevenir enfermedades oculares. La vitamina C, presente en la fruta, evita el escorbuto. Y la vitamina D se aísla del hígado de bacalao, siendo capaz de prevenir y curar el raquitismo.

Las dos principales formas de la vitamina D son la vitamina D₂ o ergocalciferol (**2a**, Figura 1), presente en las plantas, que deriva del ergosterol (**1a**), y la vitamina D₃ (**2b**) o colecalciferol, sintetizada por los animales a partir del 7-deshidrocolesterol (**1b**).

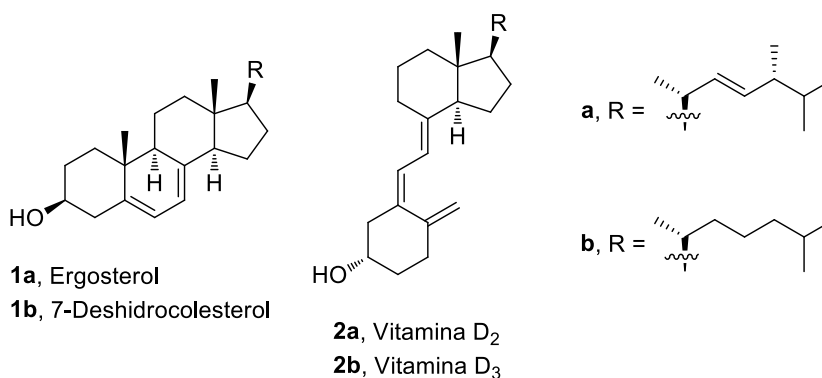


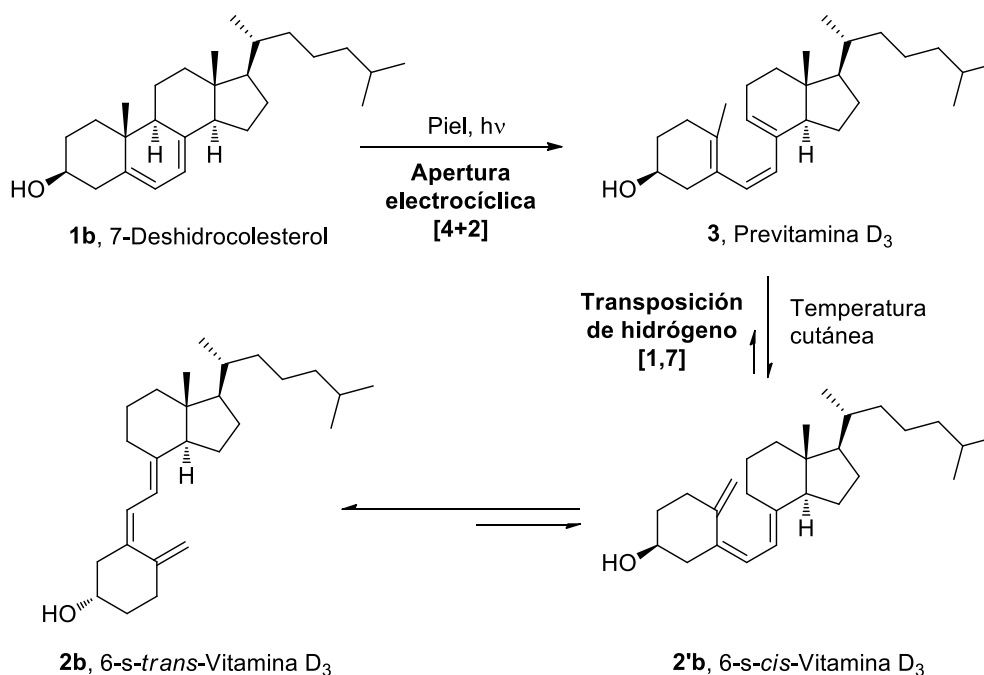
Figura 1. Estructura de las vitaminas D₂ y D₃ y sus precursores.

El 7-deshidrocolesterol está presente en la piel y por acción de la radiación solar se induce su transformación en vitamina D₃. Por este motivo, la vitamina D no puede

considerarse estrictamente una vitamina ya que, además de estar presente en algunos alimentos, puede sintetizarse en el cuerpo humano.

1.2. Metabolismo de la vitamina D

La transformación en la epidermis del 7-deshidrocolesterol a la vitamina D₃ transcurre a través de una apertura electrocíclica [4+2] del anillo B del 7-deshidrocolesterol para generar la previtamina D₃ (**3**, Esquema 1).¹ La segunda etapa es una isomerización térmica espontánea de la previtamina D₃, a través de una transposición sigmatrópica [1,7] de hidrógeno,² dando lugar a la vitamina D₃ en su forma 6-*s-cis* (**2'b**), que rápidamente rota para generar el conformero más estable, 6-*s-trans* (**2b**).³



Esquema 1. Transformación del 7-deshidrocolesterol en vitamina D₃.

¹ M. F. Holick, *J. Invest. Dermatol.* **1981**, 76, 51-58.

² M. F. Holick, H. K. Schnoes, H. F. DeLuca, T. Suda, J. Cousins, *Biochemistry* **1971**, 10, 2799-2804.

³ M. F. Holick, X. Q. Tian, M. Allen, *Prod. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 3142-3146.

Alternativamente a este proceso, cuando la exposición solar ha sido prolongada, la previtamina D₃, en lugar de isomerizarse a la forma vitamina, sufre un nuevo proceso de isomerización fotoquímica, dando lugar a los metabolitos inactivos lumisterol y taquisterol (**4** y **5** respectivamente, Figura 2), lo cual descarta la posibilidad de intoxicación por hipervitaminosis mediante esta vía.⁴

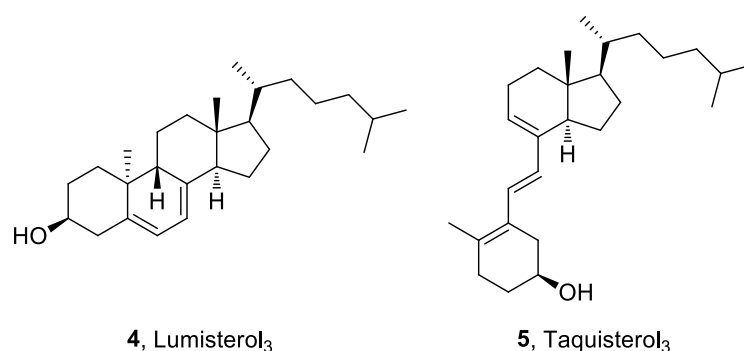


Figura 2. Productos de inactivación fotoquímica de la previtamina D₃.

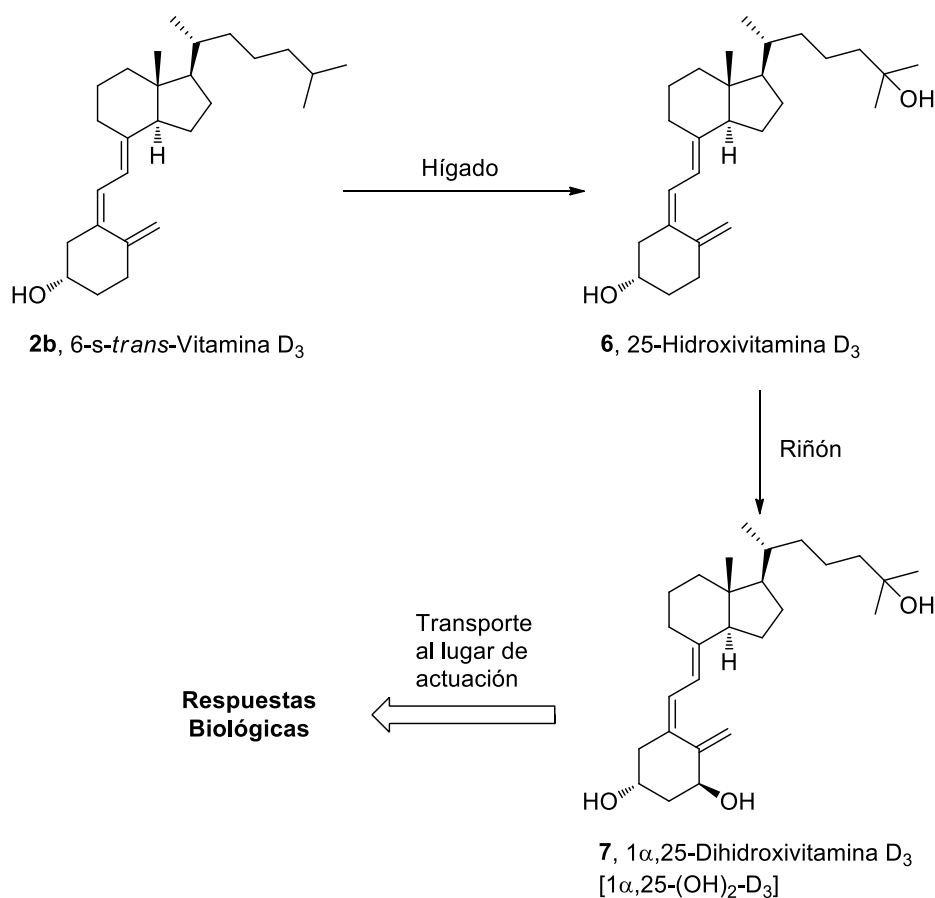
La vitamina D₃ sintetizada en la piel, o incorporada en la dieta (el proceso metabólico es equivalente para la vitamina D₂), puede ser almacenada en los adipocitos para su posterior liberación o puede pasar directamente al torrente sanguíneo, donde, dada su alta lipofilia, se une inmediatamente a su proteína de transporte, la DBP (*Vitamin D Binding Protein*), cuya principal función es transportar los distintos metabolitos de la vitamina D.

La vitamina D no tiene por sí misma actividad biológica, es necesario que el cuerpo humano la metabolice en su forma hormonalmente activa, la 1 α ,25-(OH)₂-D₃. Por eso, la vitamina D es considerada en la actualidad una pro-hormona. Esta transformación transcurre en dos etapas, como se indica en el Esquema 2.

⁴ J. A. MacLaughlin, R. R. Anderson, M. F. Holick, *Science* **1982**, 216, 1001–1003.

En el hígado, la enzima 25-hidroxilasa convierte a la vitamina D₃ en la 25-hidroxitamina D₃ (**6**). Es el metabolito mayoritario de la vitamina D₃ en la sangre y el usado como indicador en la medida del estatus corporal de vitamina D₃.

En el riñón, la 25-hidroxitamina D₃ sirve de sustrato a la 1 α -hidroxilasa, obteniéndose la 1 α ,25-(OH)₂-D₃ (**7**), que es la forma hormonalmente activa.



Esquema 2. Transformación de la vitamina D₃ en la 1 α ,25-(OH)₂-D₃.

1.3. Efectos fisiológicos de la vitamina D₃ y sus metabolitos

Una vez sintetizada la 1 α ,25-(OH)₂-D₃, es transportada por la DBP hasta los distintos tejidos, desencadenando las correspondientes respuestas biológicas a través de su unión a receptores específicos de la vitamina D (*Vitamin D Receptor*, VDRs).

Se pueden originar dos tipos de respuestas: genómicas y no genómicas o rápidas.

1.3.1. Respuestas genómicas

Las respuestas genómicas son desencadenadas por la unión de la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ al VDR presente en el núcleo celular. El VDR se enlaza al ADN mediante un dominio *N*-terminal y a la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ a través de un dominio *C*-terminal.

En primer lugar, se produce la unión de la hormona al VDR, originando la unión de este a un receptor retinoide X (RXR), receptor específico del ácido retinoico. Una vez formado el complejo hormona-VDR-RXR, se une a secuencias específicas del ADN denominadas elementos de respuesta (VDREs). Esta unión está favorecida por un cambio conformacional en la estructura de la proteína en el VDR. Dicho cambio estructural desencadena a su vez la unión de distintos comoduladores (coactivadores o correpresores) al complejo hormona-VDR-RXR-ADN, regulando así la transcripción genética (Figura 3).

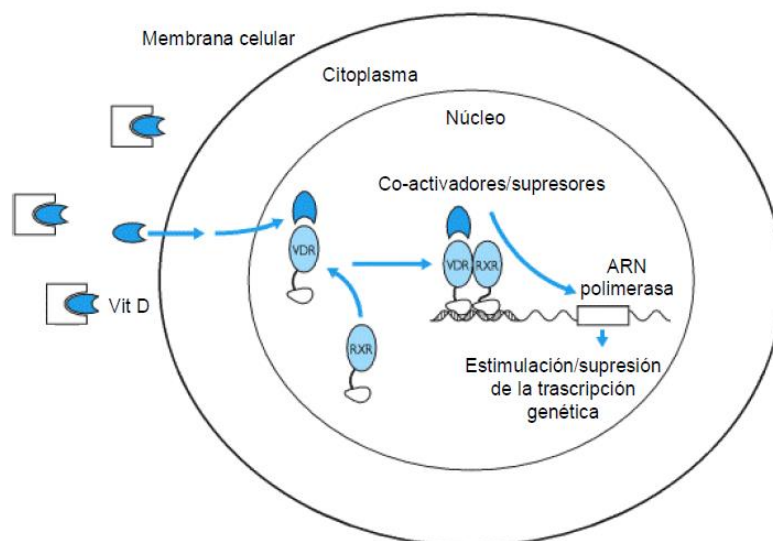


Figura 3. Mecanismo de acción genómica de la hormona $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$.

De esta manera, la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ regula la expresión de genes relacionados con el sistema óseo, el sistema inmune, el ciclo celular (proliferación, diferenciación,

migración y muerte), los procesos de eliminación de xenobióticos y el metabolismo de aminoácidos, lípidos y carbohidratos.⁵

1.3.2. Respuestas no-genómicas

Este tipo de respuestas tienen lugar fuera del núcleo celular, principalmente en la membrana plasmática. Y se hacen efectivas de manera demasiado rápida como para ser explicadas por el mecanismo de regulación genética. Estas respuestas rápidas, dependiendo del sistema, pueden variar desde segundos (abrir canales de iones) a 10-60 minutos (activación de alguna sintasa). En contraste con las respuestas genómicas, que pueden tardar horas e incluso días.

Algunos ejemplos de este tipo de respuestas son la apertura de canales de Cl^- y Ca^{2+} en los osteoblastos, la secreción de insulina en el páncreas o la contracción de las células del miocardio.⁶

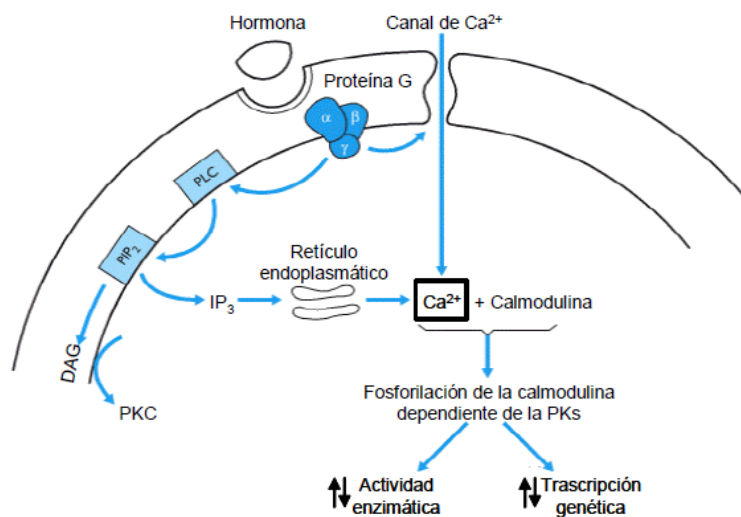


Figura 4. Mecanismo de acción no genómico de la $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$.

⁵ M. R. Haussler, P. W. Jurutka, M. Mizwicki, A. W. Norman, *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **2011**, 25, 543–559.

⁶ M. T. Mizwicki, A. W. Norman. "Vitamin D Sterol/VDR Conformational Dynamics and Nongenomic Actions" en *Vitamin D* (3rd Ed.) D. Feldman, J. W. Pike, J. S. Adams (Eds.); Academic Press: London, 2011.

La $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ regula los canales de Ca^{2+} mediante una ruta que transcurre a través de la estimulación de la proteína G y un mensajero secundario como la MAP quinasa (proteína quinasa activada por mitógenos) o el AMP cíclico (adenosín monofosfato cíclico).⁷ La rápida activación de la PLC (fosfolipasa C) genera diacilglicerol e inositol-1,4,5-trifosfato, promoviendo así la activación de la proteína quinasa C y la rápida liberación del Ca^{2+} (Figura 4).⁸

1.4. Estructura conformacional de la $1\alpha,25\text{-dihidroxitamina D}_3$

La vitamina D_3 y sus metabolitos pertenecen a una familia de lípidos llamados secoesteroides, en los que el anillo B del esqueleto esteroideal (Figura 5a) ha experimentado una apertura por la ruptura del enlace C9-C10. Desde el punto de vista estructural, la vitamina D_3 y sus derivados se componen de cuatro partes bien diferenciadas: el anillo A, la parte triénica, los anillos CD y la cadena lateral (Figura 5b). Se utiliza la misma numeración que en los esteroides.

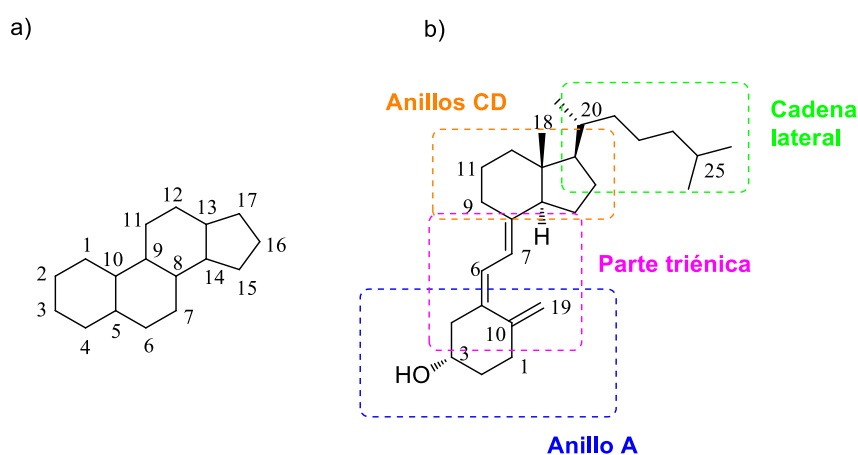


Figura 5. a) Esqueleto del ciclopentanoperhidrofenantreno, base estructural de los esteroides. b) Numeración y partes estructurales de la vitamina D_3 .

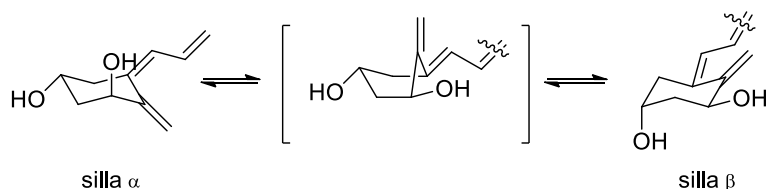
⁷ D. Feldman, J. W. Pike, F. H. Glorieux, (Eds.), *Vitamin D* (2nd Ed.), Academic Press: London, 2005.

⁸ D. A. Capiati, G. Vazquez, M. T. T. Iñon, R. L. Boland, *J. Cell Biochem.* **2000**, 77, 200-212.

La estructura dinámica de esta hormona resulta crucial para determinar su papel biológico, ya que está ligado a la unión selectiva a receptores celulares (VDR), proteínas de transporte (DBP) y diversos enzimas que pertenecen a su ruta metabólica y catabólica.

En comparación con otras hormonas esteroideas, la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ presenta una estructura conformacional inusualmente flexible.⁹ Esta flexibilidad reside en tres regiones de la molécula:

a) El anillo A, donde existe un equilibrio entre dos sillas (Esquema 3), de modo que los hidroxilos en las posiciones 1α y 3β intercambian las posiciones axiales y ecuatoriales, lo que las hace energéticamente similares y por tanto se encuentran presentes en proporciones equimoleculares.¹⁰ La conformación de bote intermedia apenas existe en el equilibrio, siendo únicamente una conformación de paso entre las otras dos mucho más estables.



Esquema 3. Confórmeros de silla del anillo A.

b) El sistema triénico de este compuesto tiene una disposición que, según los estudios electrónicos, presenta solo dos de los tres dobles enlaces conjugados. La conjugación se daría entre los que se encuentran haciendo de puente entre el anillo A y el resto de la molécula, quedando en un plano diferente el que afecta al metileno

⁹ W. H. Okamura, M. M. Midland, M. W. Hammond, N. A. Rahman, M. C. Dormanen, I. Nemere, A. W. Norman, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **1995**, 53, 603-613.

¹⁰ R. M. Wing, W. H. Okamura, A. Rego, M. R. Pirio, A. W. Norman, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4980-4985.

exocíclico del anillo A. El enlace sencillo entre los carbonos 6 y 7 puede girar libremente 360°. Esta característica, fruto de la apertura del anillo B, marca una diferencia muy significativa con respecto a otros esteroides.

c) La cadena lateral está constituida por ocho carbonos y un hidroxilo en la posición 25. Se trata de la unidad estructural más flexible de la hormona. Posee seis enlaces sencillos que pueden rotar libremente y generar un número muy elevado de conformaciones posibles. Estudios de mecánica molecular indican que el conformero de menor energía es aquel en el que la cadena lateral adopta una posición más alejada de los anillos CD y evita así repulsiones.¹¹

Toda esta flexibilidad choca con la rigidez de los anillos CD, que tienen una conformación de silla rígida fusionada. Se puede considerar como el vínculo de unión de las otras partes de la molécula mucho más flexibles.

1.5. Estrategias sintéticas para la preparación de análogos de la vitamina D₃

El elevado potencial terapéutico de la 1 α ,25-(OH)₂-D₃ y sus análogos, ha dado lugar al desarrollo de un gran número de estrategias sintéticas para su preparación.¹² Éstas pueden ser clasificadas en dos grandes grupos: las que realizan modificaciones directas sobre la propia vitamina, sus derivados, o sus precursores esteroideos, y las síntesis convergentes.

Al primer grupo pertenece la síntesis de vitamina D₃ mediante la apertura fotoquímica del 7-deshidrocolesterol u otras provitaminas y constituye el procedimiento

¹¹ W. H. Okamura, J. A. Palenzuela, J. Plumet, M. M. Midland, *J. Cell. Biochem.* **1992**, *49*, 10-18.

¹² a) S. Fernández, A. Hernández-Martín, T. González-García, M. Ferrero, *Curr. Top. Med. Chem.* **2014**, *14*, 2424–2445. b) H. Dai, G. H. Posner, *Synthesis* **1994**, 1383–1398. c) G.-D. Zhu, W. H. Okamura, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1877–1952.

industrial para su preparación.¹³ Otros métodos se basan en la modificación directa de la vitamina D₂ o D₃, o de alguno de sus metabolitos y/o análogos.

Las rutas convergentes consisten en la síntesis por separado del anillo A y del fragmento que comprende los anillos CD y la cadena lateral, generándose en el posterior acoplamiento simultáneamente la parte triénica. En la actualidad, constituyen las estrategias más numerosas y utilizadas para la obtención de análogos de la vitamina D₃.

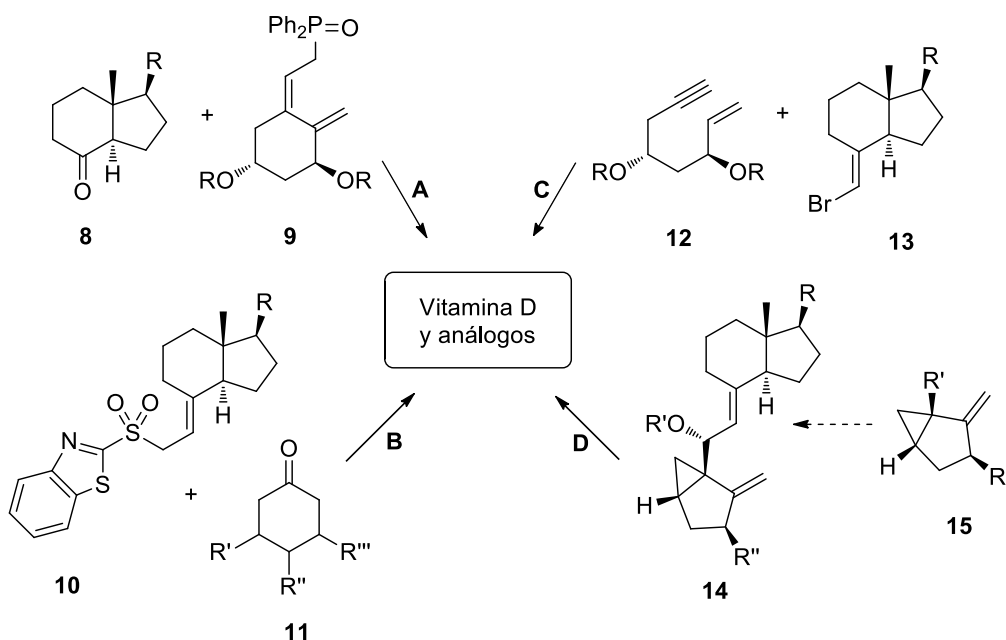


Figura 6. Ejemplos de síntesis convergentes de la vitamina D y sus análogos.

Una de las primeras aproximaciones, desarrollada por Lythgoe¹⁴ (ruta A, Figura 6), consiste en la formación de la parte triénica mediante una reacción de olefinación de tipo Horner-Wittig entre una cetona precursora de los anillos CD/cadena lateral **8** y el correspondiente óxido de fosfina del anillo A **9**. El principal inconveniente de esta ruta

¹³ a) D. H. R. Barton, R. H. Hesse, M. M. Pechet, E. Rizzardo, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1974**, 203–204. b) D. H. R. Barton, R. H. Hesse, M. M. Pechet, E. Rizzardo, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 2748–2749.

¹⁴ a) B. Lythgoe, T. A. Moran, M. E. N. Nambudiry, J. Tideswell, P. W. Wright, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1978**, 590–595. b) B. Lythgoe, T. A. Moran, M. Nambudiry, S. Ruston, J. Tideswell, P. W. Wright, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 16, 3863–3866. c) J. V. Frosch, I. T. Harrison, B. Lythgoe, A. K. Saksena, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1974**, 2005–2009.

ha sido durante años la laboriosa síntesis del precursor **9**, un proceso largo y con bajos rendimientos globales. Sin embargo, hoy en día, este método ha sido mejorado sustancialmente,¹⁵ gozando de gran popularidad.

Una alternativa a este procedimiento consiste en la formación de la parte triénica mediante el acoplamiento de una sulfona derivada de los anillos CD/cadena lateral **10** con una cetona precursora del anillo A **11**, a través de una olefinación de tipo Julia (ruta B, Figura 6).¹⁶ Su aplicación en la preparación de la parte triénica fue descrita por primera vez por Kittaka y col.,¹⁷ suponiendo una reducción en las etapas de reacción con respecto al acoplamiento de Lythgoe y unos rendimientos globales mejorados.

El método C (Figura 6) implica el acoplamiento cruzado, catalizado por paladio, de un precursor acíclico del anillo A **12** con el bromuro vinílico del fragmento anillos CD-cadena lateral **13**, formándose directamente el esqueleto de la vitamina D.¹⁸

Otra de las aproximaciones pioneras fue la desarrollada por Mazur¹⁹ (ruta D, Figura 6), que se basa en la interconversión entre la vitamina D y la 3,5-ciclovitamina D **14**, la cual puede ser modificada fácilmente en posición C1. Esta ruta ha sido posteriormente ampliada gracias a la preparación por separado de distintos derivados del

¹⁵ a) A. R. Daniewski, L. M. Garofalo, S. D. Hutchings, M. M. Kabat, W. Liu, M. Okabe, R. Radinov, G. P. Yiannikouros, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1580–1587. b) A. Mouriño, M. Torneiro, C. Vitale, S. Fernández, J. Pérez-Sestelo, S. Anné, C. Gregorio, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4713–4716. c) J. de Schrijver, P. J. De Clereq, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4369–4372. d) G. H. Posner, C. M. Kinter, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3967–3969. e) E. G. Baggiolini, J. A. Iacobelli, B. M. Hennessy, A. D. Batcho, J. F. Sereno, M. R. Uskokovic, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3098–3108.

¹⁶ J. B. Baudin, G. Hareau, S. A. Julia, O. Ruel, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 1175–1178.

¹⁷ K. Ono, A. Yoshida, N. Saito, T. Fujishima, S. Honzawa, Y. Suhara, S. Kishimoto, T. Sugiura, K. Waku, H. Takayama, A. Kittaka, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7407–7415.

¹⁸ a) B. M. Trost, J. Dumas, M. Villa, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9836–9845. b) K. Nagasawa, Y. Zako, H. Ishihara, I. Shimizu, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 4937–4940.

¹⁹ M. Sheves, Y. Mazur, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 6249–6250.

biciclo[3.1.0]hexano **15** como precursores del anillo A para la síntesis convergente de **14**.²⁰

Existen otros métodos de interés que permiten sintetizar análogos con modificaciones en la parte triénica²¹ y el acceso a una gran variedad de anillos A con notables mejoras en el rendimiento de los procesos.²²

1.6. Aplicaciones terapéuticas de los análogos de la vitamina D₃.

Derivados comerciales

La hormona 1 α ,25-(OH)₂-D₃ ha demostrado gran eficacia en el tratamiento de desórdenes hiperproliferativos (cáncer o psoriasis), endocrinos (hiperparatiroidismo) o de inmunodeficiencia. Sin embargo, las dosis necesarias para el tratamiento de estas enfermedades generan efectos calcémicos adversos, pudiendo producir hipercalcemia e hipercalciúria, lo que limita su uso como fármaco.

Para solventar este problema, se ha realizado un amplio estudio de las posibles modificaciones sobre el esqueleto de la 1 α ,25-(OH)₂-D₃ que pueden mejorar los efectos terapéuticos y disminuir los efectos calcémicos. La Figura 7 muestra las modificaciones más comunes en análogos que han mostrado una alta capacidad de diferenciación celular reduciendo los efectos calcémicos.

²⁰ a) M. M. Kabat, J. Kiegiel, N. Cohen, K. Toth, P. M. Wovkulich, M. R. Uskoković, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 118–124. b) S. R. Wilson, A. M. Venkatesan, C. E. Augelli-Szafran, A. Yasmin, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2339–2342. c) M. Kabat, J. Kiegiel, N. Cohen, K. Toth, P. M. Wovkulich, M. R. Uskoković, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2343–2346.

²¹ W. H. Okamura, J. M. Aurrecoechea, R. A. Gibbs, A. W. Norman, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4072–4083.

²² a) J. L. Mascareñas, L. A. Sarandeses, L. Castedo, A. Mouriño, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 3485–3498. b) S. A. Barrack, R. A. Gibbs, W. H. Okamura, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1790–1796. c) L. Castedo, J. L. Mascareñas, A. Mouriño, L. A. Sarandeses, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 1203–1206.

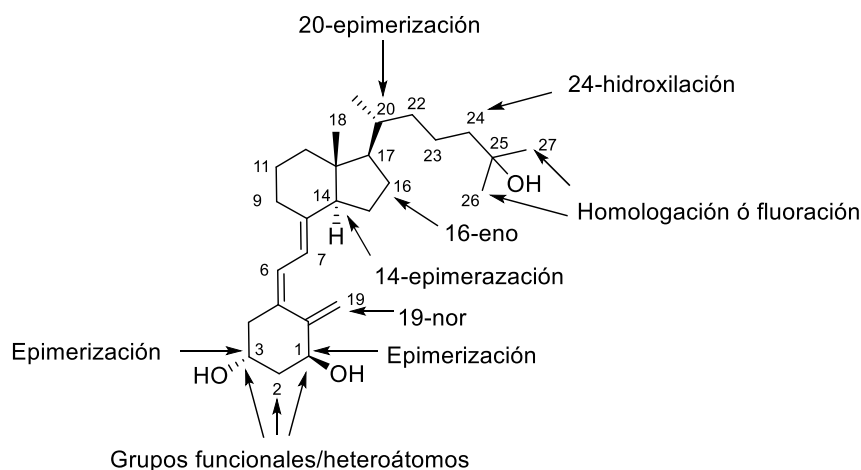


Figura 7. Modificaciones estructurales que han mostrado una disociación de los efectos terapéuticos y los efectos calcémicos.

En el apartado de antecedentes se desarrollará en profundidad la importancia de las modificaciones 14-*epi* y 20-*epi*.

Son numerosos los laboratorios que dirigen su esfuerzo hacia la síntesis de nuevos análogos y el estudio de sus efectos terapéuticos en numerosas enfermedades humanas.²³ Estos esfuerzos llevan al desarrollo de nuevos tratamientos para la psoriasis,²⁴ el hiperparatiroidismo secundario²⁵ y la osteoporosis.²⁶ Además, existen

²³ G. H. Posner, M. Kahraman, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 3889-3895.

²⁴ a) J. M. Camarasa, J. P. Ortonne, L. Dubertret, *J. Dermatolog. Treat.* **2003**, *14*, 8-13. b) P. C. van de Kerkhof, J. Berth-Jones, C. E. Griffiths, P. V. Harrison, H. Honigsmann, R. Marks, R. Roelandts, E. Schopf, C. Trompke, *Br. J. Dermatol.* **2002**, *146*, 414-422. c) K. Kragballe, *Pharmacol. Toxicol.* K. Fogh, K. Kragballe, *Curr. Pharm. Des.* **2000**, *6*, 961-972. d) J. N. Barker, R. E. Ashton, R. Marks, R. I. Harris, J. Berth-Jones, *Br. J. Dermatol.* **1999**, *141*, 274-278. e) H. Gollnick, T. Menke, *Curr. Med. Res. Opin.* **1998**, *14*, 213-218. f) A. Perez, R. Raab. T. C. Chen, A. Turner, M. F. Holick, *Br. J. Dermatol.* **1996**, *134*, 1070-1078. g) K. Kragballe, *Pharmacol. Toxicol.* **1995**, *77*, 241-246. h) C. A. Ramsay, J. Berth-Jones, G. Brundin, W. J. Cunliffe, L. Dubertret, P. C. van de Kerkhof, T. Menne, E. Wegmann, *Dermatology* **1994**, *189*, 260-264.

²⁵ a) F. Llach, G. Keshav, M. V. Goldblat, J. S. Lindberg, R. Sadler, J. Delmez, J. Arruda, A. Lau, E. Slatopolsky, *Am. J. Kidney Dis.* **1998**, *32*, S48-S54. b) E. Slatopolsky, A. J. Brown, *Blood Purif.* **2002**, *20*, 109-112. c) T. Akizawa, M. Suzuki, T. Akiba, Y. Nishizawa, Y. Ohashi, E. Ogata, E. Slatopolsky, K. Kurokawa, *Nephrol. Dial. Transplant.* **2002**, *17*(Suppl.10), 28-36.

análogos que han demostrado cierta eficacia en ensayos clínicos para el tratamiento de enfermedades como el cáncer de próstata,²⁷ la leucemia,²⁸ la artritis,²⁹ el carcinoma hepatocelular³⁰ y el sarcoma de Kaposi.³¹

A continuación, se detalla una lista de los derivados comerciales y los que se encuentran en ensayos clínicos avanzados (Figura 8).³²

²⁶ a) F. Richy, O. Ethgen, O. Bruyere, J. Y. Reginster, *Osteoporos. Int.* **2004**, *15*,301-310. b) N. Kubodera, N. Tsuji, Y. Uchiyama, K. Endo, *J. Cell. Biochem.* **2003**, *88*, 286-289. c) S. Sairanen, M. Karkkainen, R. Tahtela, K. Laitinen, P. Makela, C. Lamberg-Allardt, M. J. Valimaki, *Calcif. Tissue Int.* **2000**, *67*, 122-127. d) B. H. Vickery, Z. Avnur, M. Uskokovic, S. Peleg, *Proc. 11th Int. Vitamin D Workshop*, Nashville, TN, **2000**, p. 221. e) M. W. Tilyard, G. F. Spears, J. Thomson, S. Dovey, *New. Engl. J. Med.* **1992**, *326*, 357-362.

²⁷ a) T. M. Beer, K. M. Eilers, M. Garazotto, M. J. Egorin, B. A. Lowe, W. D. Henner, *J. Clin. Oncol.* **2003**, *198*, 69-75. b) C. Gross, T. Stamey, S. Hancock, D. Feldman, *J. Urol.* **1998**, *159*, 2035-2040.

²⁸ S. Motomura, H. Kanamori, A. Maruta, F. Kodama, T. Ohkubo, *Am. J. Hematol.* **1991**, *38*, 67-68.

²⁹ a) Z. Ansjelkovic, J. Vojinovic, N. Pejnovic, *Clin. Exp. Rheumatol.* **1999**, *17*, 452-456. b) D. Huckins, D. T. Felson, M. Holick, *Arthritis Rheum.* **1990**, *33*, 1723-1727.

³⁰ K. Dalhoff, J. Dancey, L. Astrup, T. Skovsgaard, K. J. Hamberg, F. J. Lofts, O. Rosmorduc, S. Erlinger, J. B. Hansen, W. P. Steward, T. Skov, F. Burcharth, T. R. Evans, *Br. J. Cancer* **2003**, *89*, 252-257.

³¹ R. Masood, S. Nagpal, T. Zheng, J. Cai, A. Tulpule, D. L. Smith, P. S. Gill, *Blood* **2000**, *96*, 3188-3194.

³² a) A. C. Sintov, L. Yarmolinsky, A. Dahan, S. Ben-Shabat, *Drug Discov. Today* **2014**, *19*, 1769-1774. b) G.-D. Zhu, "Vitamin D Analogs Currently on the Market and in Development" en *Vitamin D and your body*. J. R. Wu-Wong (Ed.); Bentham eBooks: Chicago, 2012; Chapter 5, pp 57-82.

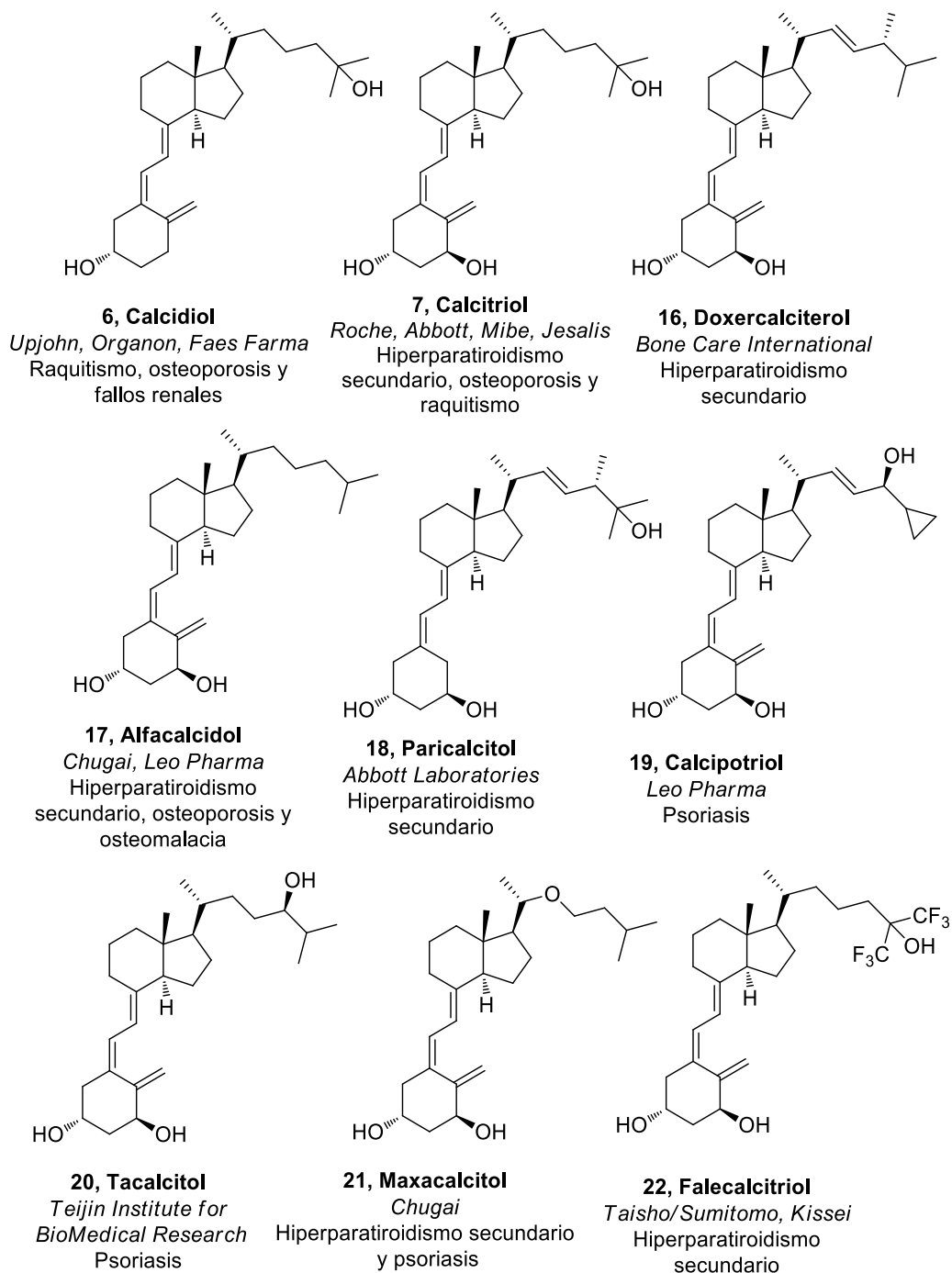
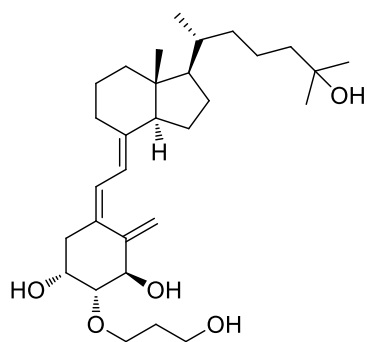
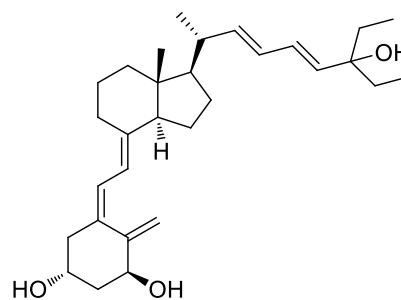


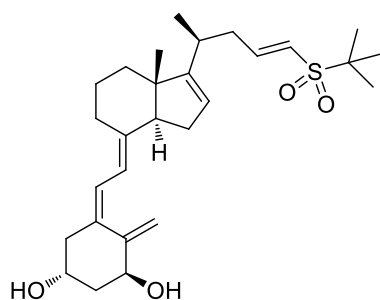
Figura 8. Análogos de la vitamina D comercializados o en ensayos clínicos.



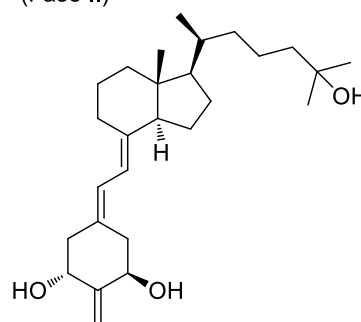
23, ED-71
Chugai
Osteoporosis



24, Seocalcitol
Leo Pharma
Psoriasis, carcinoma hepatocelular
(Fase II)



25, CTA018
Cytochroma
Hiperparatiroidismo secundario
(Fase II)



26, 2MD
Deltanoid
Osteoporosis
(Fase II)

Figura 8 (cont.). Análogos de la vitamina D comercializados o en ensayos clínicos.

ANTECEDENTES

2.1. Análogos 14-*epi*-1 α ,25-dihidroxitamina D₃

El estudio de nuevos análogos en el campo de la vitamina D₃ se ha centrado en la forma 6-*s-trans* en lugar de en la previtamina D₃, ya que esta se transforma al isómero 6-*s-trans*, termodinámicamente más estable, mediante una transposición sigmatrópica de hidrógeno [1,7] (Esquema 4), y es casi imposible aislarla pura.³³

Además, se considera que la previtamina D₃ presenta una baja afinidad por el VDR y una pobre activación genómica.³⁴ Sin embargo, ha sido estudiada como precursor para las respuestas rápidas³⁵ tales como la estimulación de transporte de Ca²⁺ en el intestino,³⁶ y la activación de las quinasas PKC³⁷ y MAP³⁸, entre otras, que se consideran respuestas no genómicas.

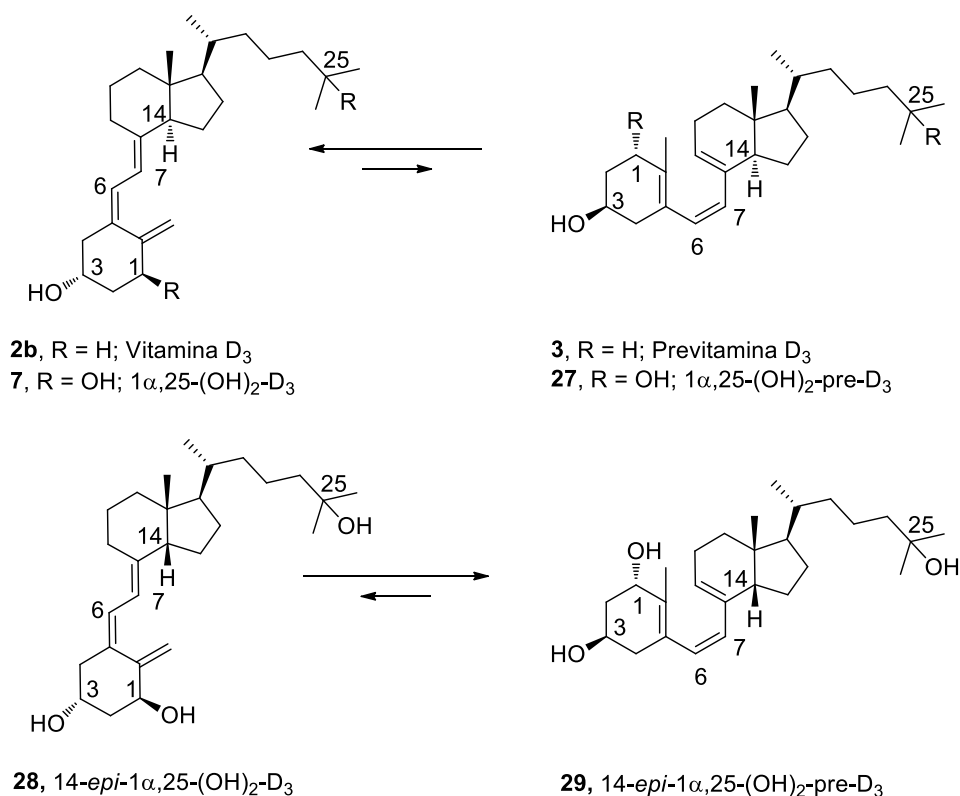
³³ M. L. Curtin, W. H. Okamura, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6958-6966.

³⁴ a) Y. J. Chen, L. J. Gao, I. Murad, A. Verstuyf, L. Verlinden, C. Verboven, R. Bouillon, D. Viterbo, M. Milanesio, D. V. Haver, M. Vandewalle, P. J. De Clercq, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 257-267. b) L. Verlinden, A. Verstuyf, C. Verboven, G. Eelen, C. DeRanter, L. J. Gao, Y. J. Chen, I. Murad, M. Choi, K. Yamamoto, S. Yamada, D. VanHaver, M. Vandewalle, P. J. DeClercq, R. J. Bouillon, *Biol. Chem.* **2003**, *278*, 35476-35482.

³⁵ a) M. T. Mizwicki, D. Keidel, C. M. Bula, J. E. Bishop, L. P. Zanello, J. M. Wurtz, D. Moras, A. W. Norman, *PNAS*, **2004**, *101*, 12876-12881. b) I. Nemere, M. C. Dormanen, M. W. Hammond, W. H. Okamura, A. W. Norman, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 23750-23756. c) A. W. Norman, W. H. Okamura, M. W. Hammond, J. E. Bishop, M. C. Dormanen, R. Bouillon, H. VanBaelen, A. L. Ridall, E. Daane, R. Khoury, M. C. Farach-Carson, *Mol. Endocrinol.* **1997**, *11*, 1518-1531. d) A. W. Norman, *Endocrinology* **2006**, *147*, 5542-5548. e) J. A. Huhtakangas, C. J. Olivera, J. E. Bishop, L. P. Zanello, A. W. Norman, *Mol. Endocrinol.* **2004**, *18*, 2660-2671. f) T. M. Nguyen, M. Lieberherr, J. Fritsch, H. Guillozo, M. L. Alvarez, Z. Fitouri, F. Jehan, M. J. Carabedian, *Biol. Chem.* **2004**, *279*, 7591-7597.

³⁶ a) L. X. Zhou, I. Nemere, A. W. Norman, *J. Bone. Miner. Res.* **1992**, *7*, 457-463. b) A. R. De Boland, A. W. Norman, *Endocrinology* **1990**, *127*, 2475-2480. c) I. Nemere, Y. Yoshimoto, A. W. Norman, *Endocrinology* **1984**, *115*, 1476-1483. d) A. W. Norman, M. T. Mizwicki, D. P. G. Norman, *Nat. Rev. Drug. Discovery* **2004**, *3*, 27-41.

Okamura y col. han demostrado que la proporción del equilibrio entre la forma vitamina D₃ y la previtamina D₃ puede revertirse mediante la epimerización del hidrógeno enlazado al carbono C14,³⁹ es decir, la forma 14-*epi*-1 α ,25-(OH)₂-pre-D₃ (**29**, Esquema 4) se encuentra en mayor proporción que la 14-*epi*-1 α ,25-(OH)₂-D₃ (**28**), lo que permite aislar la previtamina pura.



Esquema 4. Equilibrio vitamina-previtamina.

³⁷ a) J. P. Shumitz, Z. Schwartz, V. L. Sylvia, D. D. Dean, F. Calderon, B. D. Boyan, *J. Cell. Physiol.* **1996**, 168, 570-579. b) S. J. Slater, M. B. Kelly, F. J. Taddeo, J. D. Larkin, M. D. Yeager, J. A. McLane, C. D. Stubbs, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 6639-6643. c) M. Bissonnette, X. Y. Tien, S. M. Niedziela, S. C. Hartmann, B. P. Frawley, H. K. Roy, M. D. Sitrin, R. L. Perlman, T. A. Brasitus, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* **1994**, 267, 465-475.

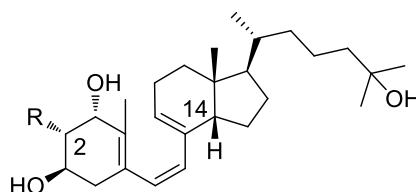
³⁸ a) X. Song, J. E. Bishop, W. H. Okamura, A. W. Norman, *Endocrinology* **1998**, 139, 457-465. b) A. R. De Boland, A. W. Norman, *J. Cell. Biochem.* **1998**, 69, 470-482. c) D. W. A. Beno, L. M. Brady, M. Bissonnette, B. H. Davis, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 3642-3647.

³⁹ D. F. Maynard, W. G. Trankle, A. W. Norman, W. H. Okamura, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 2387-2393.

Además, el interés en la epimerización de la posición C14 de numerosos grupos de investigación radica en que estos análogos son 10 órdenes de magnitud más potentes en la acción antiproliferativa, con una marcada reducción de los efectos calcémicos.

El desarrollo de análogos con la modificación 14-*epi* es bastante reducido. La mayoría de los estudios se centran en combinar esta modificación con la introducción de un grupo en C2^{40,41} o con la eliminación del grupo exometileno en C19.^{42,43}

Los análogos 2 α -sustituidos 14-*epi*-previtamina D₃ con grupos alcohol, alquil, hidroxialquil, aril y éter (**30**, Figura 9) mostraron un incremento de la actividad transcripcional y de la afinidad de unión al VDR respecto a la 14-*epi*-1 α ,25-(OH)₂-pre-D₃.⁴² Entre ellos, destaca el derivado 2 α -metil, que exhibe una afinidad por el VDR 17 veces mayor y una elevada actividad transcripcional.⁴³



30, R = Me, (CH₂)₃OH, O(CH₂)₃OH, Bu, Ph, Bn

Figura 9. Análogos 2 α -sustituidos 14-*epi*-previtamina D₃.

Por otra parte, se observó que los derivados 14-*epi* KS 532 (**31**) y TX 522 (**32**) inducen interesantes actividades fisiológicas y, además, están entre los mejores análogos

⁴⁰ D. Sawada, T. Katayama, Y. Tsukuda, N. Saito, M. Takano, H. Saito, K. Takagi, E. Ochiai, S. Ishizuka, K. Takenouchi, A. Kittaka, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 5397-5400.

⁴¹ D. Sawada, T. Katayama, Y. Tsukuda, N. Saito, H. Saito, K. Takagi, E. Ochiai, S. Ishizuka, K. Takenouchi, A. Kittaka, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 5407-5423.

⁴² a) R. Bouillon, P. De Clercq, P. Pirson, M. Vandewalle, *Novel structural analogues of vitamin D*; patent PCT/EP 93.2020.37.3 priority date 09-07-1993. b) R. Bouillon, P. J. De Clercq, P. Pirson, M. Vandewalle, *Structural analogues of vitamin D*, US patent 6.017.907 date 25-01-2000. c) L. Verlinden, A. Verstuyf, M. Van Camp, S. Marcelis, K. Sabbe, X. Y. Zhao, P. J. De Clercq, M. Vandewalle, R. Bouillon, *Cancer Res.* **2000**, *60*, 2673-2679.

⁴³ Y. Wu, Y. Zhao, H. Tian, P. J. De Clercq, M. Vandewalle, M. Berthier, G. Pellegrino, P. Maillos, J. Pascal, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *2*, 3779-3788.

conocidos en cuanto a disminución de los efectos hipercalcémicos (Figura 10).⁴² El TX 522 se encuentra en fase II de ensayos clínicos como posible fármaco para el tratamiento de la psoriasis. Posteriormente, se describió una estrategia para la preparación a gran escala de estos compuestos, así como de sus derivados 1-*epi* y 3-*epi*.⁴³

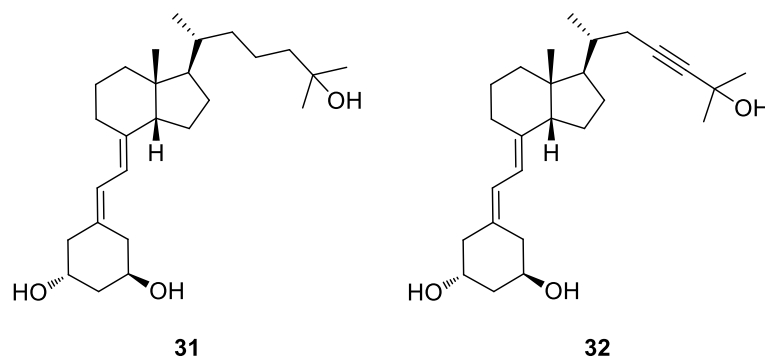
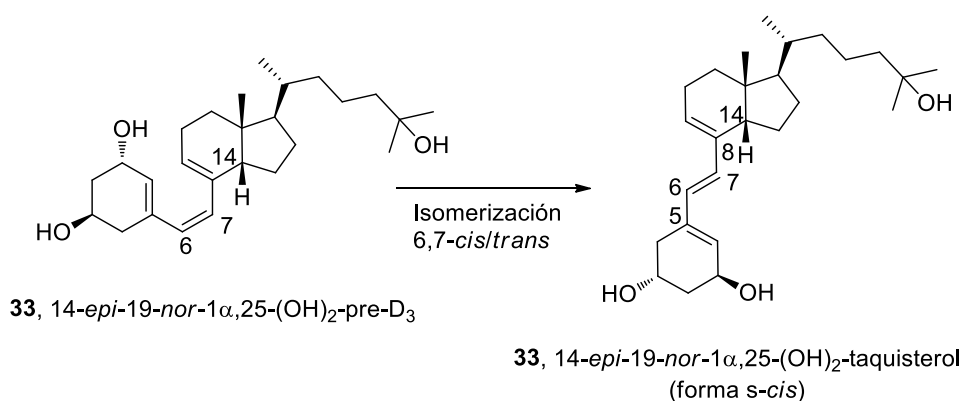


Figura 10. Análogos 14-*epi*: KS 532 (31) y TX 522 (32).

También se han sintetizado derivados 14-*epi*-19-*nor*-taquisterol, que derivan de la isomerización C6,7-*cis/trans* de la 14-*epi*-19-*nor*-previtamina D₃ (Esquema 5). Estos compuestos demostraron una marcada estabilidad y una potente afinidad por el VDR en comparación con otros derivados del 19-*nor*-taquisterol.⁴⁴



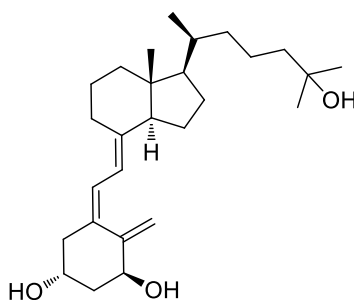
Esquema 5. Isomerización 6,7-*cis/trans* de la 14-*epi*-19-*nor*-previtamina D₃.

⁴⁴ D. Sawada, Y. Tsukuda, H. Saito, S. Kakuda, M. Takimoto-Kamimura, E. Ochiai, K. Takenouchi, A. Kittaka, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7215-7221.

2.2. Análogos 20-*epi*-1 α ,25-dihidroxitamina D₃

De los más de tres mil análogos de la vitamina D sintetizados y evaluados biológicamente, en la actualidad se encuentran comercializados con fines terapéuticos diez análogos, considerando la 1 α ,25-(OH)₂-D₃. Asimismo, otros aun no comercializados, han demostrado cierta eficacia en ensayos clínicos relacionados con el tratamiento del cáncer de próstata, colon, mama o leucemia. Dos de los análogos más relevantes, que se encuentran en fase II de ensayos clínicos, presentan la modificación 20-*epi*. El 2MD (**26**, Figura 8) como posible fármaco para tratar la osteoporosis y el CTA018 (**25**) para el tratamiento del hiperparatiroidismo secundario.

Numerosos estudios han demostrado que el cambio en la configuración de *R* a *S* del carbono 20 de la 1 α ,25-(OH)₂-D₃ genera importantes ventajas;^{45,46} como son: la disminución de la proliferación celular, el aumento de la diferenciación celular, o la disminución de la actividad calcémica



34

Figura 11. Estructura del análogo 20-*epi*-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (**34**).

⁴⁵ L. Binderup, S. Latini, E. Binderup, C. Bretting, S. M. Calverley y K. Hansen, *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *42*, 1569-1575.

⁴⁶ M. Sato, Y. Nakamichi, M. Nakamura, N. Sato, T. Ninomiya, A. Muto, H. Nakamura, H. Ozawa, Y. Iwasaki, E. Kobayashi, M. Shimizu, H. F. DeLuca, N. Takahashi, N. Udagawa, *Bone* **2007**, *40*, 293-304.

Se ha demostrado mediante el empleo de herramientas computacionales que la modificación *20-epi* no origina cambios detectables en la configuración del esqueleto o la topología de los ligandos en la cavidad de unión del receptor VDR con respecto al análogo *20R*, a pesar de que se observa un aumento drástico de la actividad transcripcional, diferenciadora y antiproliferativa. Sin embargo, se encontró que la *20-epi-1 α ,25-(OH)₂-D₃* produce cambios en la conformación de las cadenas de algunos aminoácidos alejados de la zona de unión directa al VDR. Además, se verificó que algunos de los residuos reorientados son importantes en la interacción con co-activadores y en la heterodimerización VDR-RXR.⁴⁷

Podemos clasificar los análogos *20-epi* en función de en qué parte de la molécula se haya llevado a cabo la modificación.

2.2.1. Análogos 20-epi-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ con modificaciones en la cadena lateral

Se ha demostrado que los análogos *20-epi* con modificaciones en la cadena lateral son potentes inhibidores de la proliferación celular de los linfocitos T. Estos derivados son varios órdenes de magnitud más activos que el potente agente inmunosupresor ciclosporina A. Dichos análogos tienen interés en el área de los injertos, previniendo el rechazo, y en el tratamiento de enfermedades como la psoriasis, el cáncer y enfermedades autoinmunes.⁴⁵

Los derivados *20-epi* con un oxígeno insertado en la posición C22 o con modificaciones en las posiciones C26 y C27 muestran una capacidad de inhibición celular superior a la hormona natural. Entre estos análogos cabe destacar el compuesto KH1060 (**35**, Figura 12), el cual inhibe la proliferación celular al 50% con una

⁴⁷ W. Sicinska, P. Rotkiewicz, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2009**, *113*, 253–258.

concentración del orden de 10^{-12} M, siendo 14.000 veces más activo que la $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$. Al mismo tiempo, este derivado induce la diferenciación celular a concentraciones inferiores a 10^{-4} M.⁴⁵

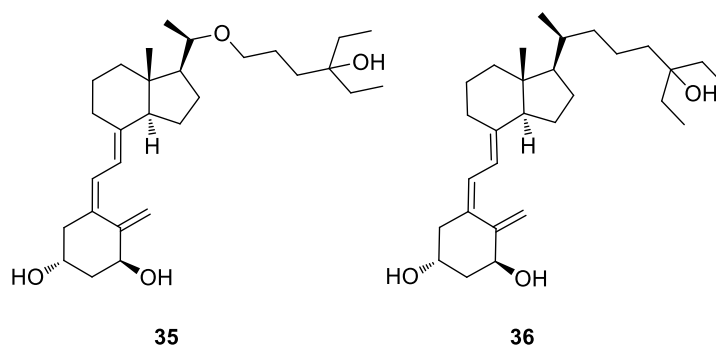


Figura 12. Ejemplos de análogos 20-*epi* con modificaciones en la cadena lateral: KH 1060 (**35**) y MC 1627 (**36**).

Mediante un estudio biológico realizado con el análogo KH 1060 en líneas celulares humanas de neuroblastoma, se observó que ejerce una potente actividad antineoplásica mediante la supresión de la proliferación clonal. Se demostró que la introducción de un átomo de oxígeno en la posición 22 inducía la expresión del receptor retinoide β y el gen p21, sugiriendo que estas proteínas están implicadas en el aumento de los efectos inhibidores.⁴⁸

La 20-*epi*- $1\alpha,25$ -dihidroxitamina D_3 (**34**, Figura 11) y el análogo MC1627 (**36**) también inducen la diferenciación y transcripción del gen p21, clave en el VDR, a concentraciones 100 veces inferiores a la requeridas con la $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$.⁴⁹ Aunque la actividad antiproliferativa de estos compuestos es superior, la actividad calcémica es comparable a la de la $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$.

⁴⁸ K. Gumireddy, G. S. Reddy, N. Ikegaki, L. Binderup, L. N. Sutton, P. C. Phillips, C. D. Reddy, *Cancer Lett.* **2003**, *190*, 51–60.

⁴⁹ W. Yang, L. P. Freedman, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 16838-16845.

2.2.2. Análogos 20-*epi*-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ con modificaciones en el anillo A

DeLuca y col. demostraron que el análogo 2MD (**26**, Figura 8), en el cual el grupo 19-exometileno se transpone a la posición C-2, muestra una habilidad única para inducir la formación del hueso de manera muy eficiente tanto *in vitro* como *in vivo*.^{50,7} Sin embargo, tiene tendencia a causar hipercalcemia debido a su elevada actividad en la movilización del calcio en los huesos.⁵¹ Por este motivo, se realizaron estudios posteriores con modificaciones sobre el 2MD. El análogo 1-desoxi-2MD (**37**, Figura 13) presenta en estudios *in vitro* una afinidad por el VDR similar al 2MD, aunque es menos activo en los ensayos transcripcionales.⁵² Sin embargo, en ensayos *in vivo* exhibe menos actividad calcémica que el 2MD.

Los análogos 20-*epi*-19-*nor*-D₃ con sustituyentes 2 β -hidroxietoxi- (**38**), 2 β -hidroxio-2 α -metil- (**39**) y 2*E*-hidroxietiliden- (**40**) se caracterizan por una elevada potencia en la inducción de la diferenciación de osteoclastos y en la inhibición de la diferenciación y maduración de células dendríticas, exhibiendo una actividad diez veces superior a la de la hormona natural y similar a la del derivado 2MD.⁵³

⁵⁰ L. A. Plum, L. A. Fitzpatrick, X. Ma, N. C. Binkley, J. B. Zella, M. Clagett-Dame, H. F. DeLuca, *Osteoporosis Int.* **2006**, *17*, 704-715.

⁵¹ M. Shimizu, K. Yamamoto, M. Mihori, Y. Iwasaki, D. Morizono, S. Yamada, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2004**, *89-90*, 75-81.

⁵² I. Sibilska, K. M. Baryckaa, R. R. Sicinski, L. A. Plum, H. F. DeLuca, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2010**, *121*, 51-55.

⁵³ M. Shimazaki, Y. Miyamoto, K. Yamamoto, S. Yamada, M. Takami, T. Shinki, N. Udagawa, M. Shimizu, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4645-4656.

Por otra parte, el derivado 2*E*-etilideno (**41**) exhibe una actividad intestinal y una movilización de calcio en los huesos superior a la de la hormona natural.⁵⁴

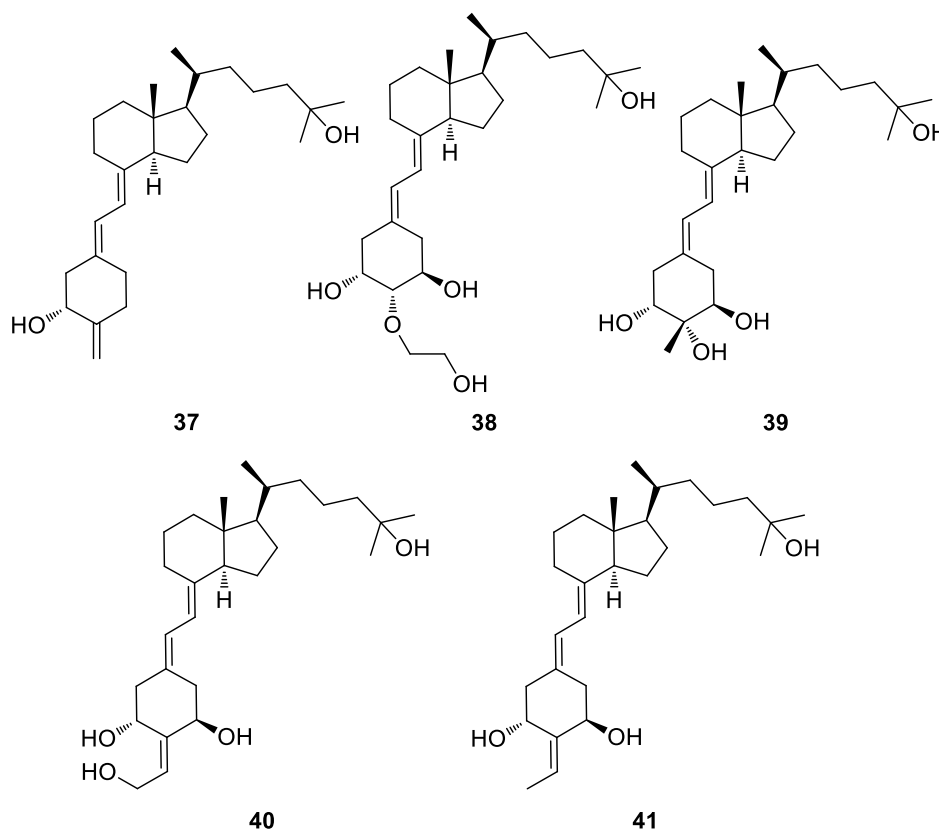


Figura 13. Ejemplos de análogos 20-*epi* con modificaciones en el anillo A.

También se ha detectado que la modificación 2 α -metil combinada con la modificación 20-*epi* tiene un alto potencial, produciendo un aumento de la afinidad por el VDR, así como un incremento de la actividad calcémica y de la diferenciación celular. En el caso del análogo (20*S*)-2 α -metil-1 α ,25-(OH)₂-D₃ (**42**, Figura 14) la afinidad por el VDR es 12 veces superior, es 6 veces más activo en la regulación del

⁵⁴ R. R. Sicinski, P. Rotkiewicz, A. Kolinski, W. Sicinska, J. M. Prahl, C. M. Smith, H. F. DeLuca, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3366-3380.

calcio en ensayos *in vivo* y 590 veces más potente para inducir la diferenciación en células HL-60.⁵⁵

Por otra parte, el correspondiente derivado 19-*nor* (**43**) ha demostrado ser útil en la prevención o supresión de la diabetes de tipo 1 en pacientes genéticamente predispuestos.⁵⁶

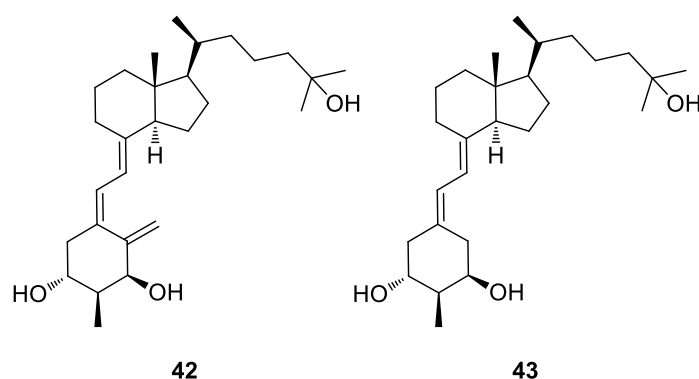


Figura 14. Ejemplos de análogos 20-*epi* con modificaciones en el anillo A.

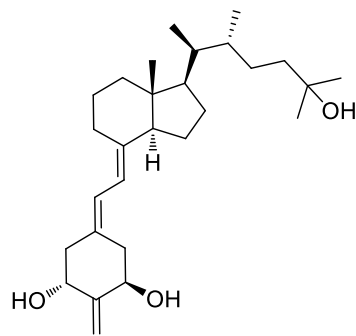
2.1.3. Análogos 20-*epi*-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ con múltiples modificaciones

Un estudio ha demostrado que introduciendo un metilo en C22 con la configuración 20*S*,22*R* (**44**) se origina un aumento de la actividad biológica tanto *in vitro* como *in vivo* (Figura 15).⁵⁷

⁵⁵ T. Fujishima, K. Konno, K. Nakagawa, M. Tanaka, T. Okano, M. Kurihara, N. Miyata, H. Takayama, *Chem. Biol.* **2001**, 8, 1011-1024.

⁵⁶ C. M. Kiekhaefer, B. Weber, M. Huggins, C. Gorichanaz, J. A. Nehring, H. F. DeLuca, *Clin. Exp. Immunol.* **2011**, 166, 1365-2249.

⁵⁷ A. Flores, R. R. Sicinski, P. Grzywacz, J. B. Thoden, L. A. Plum, M. Clagett-Dame, H. F. DeLuca, *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 4352-4366.



44

Figura 15. Análogos 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ con múltiples modificaciones.

OBJETIVOS

Teniendo en cuenta las importantes propiedades biológicas que exhiben la 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ y sus análogos, y el alto potencial como agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades tales como la osteoporosis, la osteodistrofía renal, el hiperparatiroidismo secundario, la psoriasis o el cáncer, entre otras, es el objetivo de esta memoria el desarrollar una estrategia convergente, versátil y eficaz, que nos permita acceder a nuevos derivados 14-*epi* y 20-*epi* de la 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ con modificaciones en el anillo A.

Para ello, se sintetizarán los precursores adecuados 14-*epi* y 20-*epi* anillos CD/cadena lateral, cuyo posterior acoplamiento con el correspondiente fragmento del anillo A daría lugar a los análogos de la vitamina D₃.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

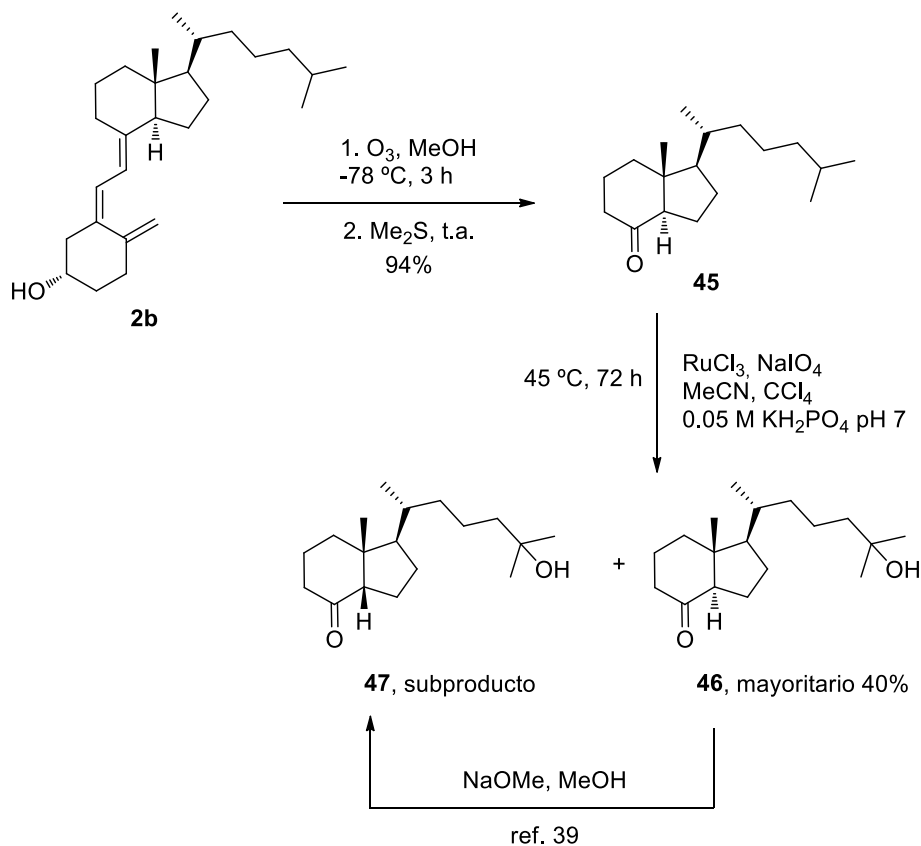
Como se ha puesto de manifiesto en los antecedentes, son numerosas las rutas sintéticas descritas para la preparación de análogos de la 1 α ,25-dihidroxitamina D₃. Uno de los precursores anillos CD/cadena lateral más utilizado en las estrategias convergentes es la cetona de Grudmann (Figura 6), que puede presentar modificaciones en la cadena lateral o en el esqueleto de los anillos CD, en función de los derivados que se desee sintetizar. Para acceder a derivados 19-*nor* de la vitamina D₃, una de las rutas que proporciona mejores resultados para construir la unidad diénica, consiste en el acoplamiento de un precursor del anillo A y la sulfona de los anillos CD/cadena lateral mediante una olefinación de Julia (ruta B, Figura 6).

En esta Memoria se describe la síntesis de los precursores 14-*epi* y 20-*epi* de la 25-hidroxi cetona de Grudmann y de la correspondiente sulfona como fragmentos muy adecuados de los anillos CD/cadena lateral.

4.1. Síntesis del precursor 14-*epi* anillos CD/cadena lateral

Para la síntesis del precursor 14-*epi* anillos CD/cadena lateral se utiliza como sustrato de partida la cetona de Grudmann (**45**, Esquema 6), que se obtiene mediante ozonólisis de la vitamina D₃. La oxidación de **45** con RuCl₃ y NaIO₄ da lugar a la 25-hidroxi cetona de Grudmann (**46**) como producto mayoritario, aunque se obtiene como subproducto la 14-*epi*-25-hidroxi cetona de Grudmann (**47**), consecuencia de la epimerización del hidrógeno en posición C14. En nuestro grupo de investigación se disponía de este compuesto. La síntesis de **47** también puede llevarse a cabo mediante

tratamiento de la 25-hidroxi cetona de Grudmann con NaOMe en MeOH, lo que origina el isómero 14-*epi* con un 66% de rendimiento.³⁹



Esquema 6

La identificación de ambos isómeros se realiza mediante resonancia magnética nuclear de protón. Para la 25-OH cetona de Grudmann (**46**) la señal singlete, correspondiente al metilo 18, aparece a menor desplazamiento químico (0.63 ppm) que la señal doblete (0.95 ppm), correspondiente al metilo 21. En cambio, para el isómero 14-*epi* estas señales aparecen al revés, observándose el singlete del metilo 18 a 0.97 ppm y el doblete del metilo 21 a 0.84 ppm (Figura 16).

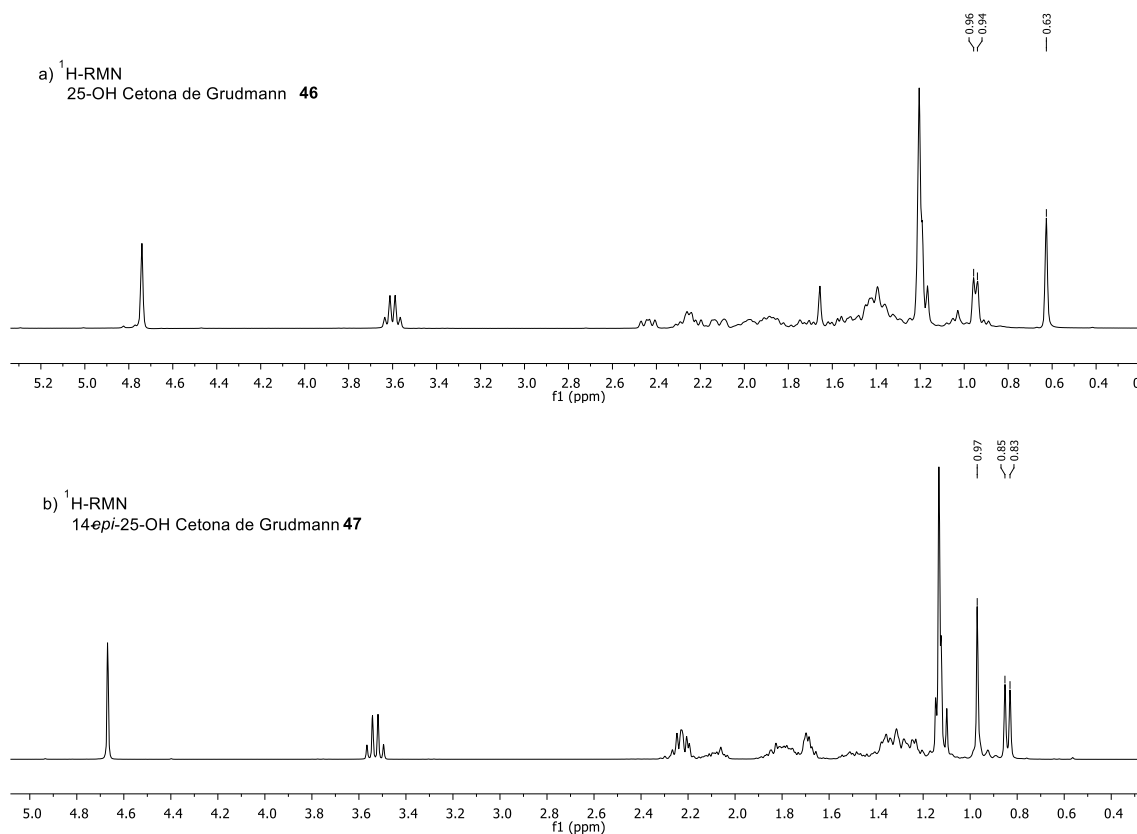


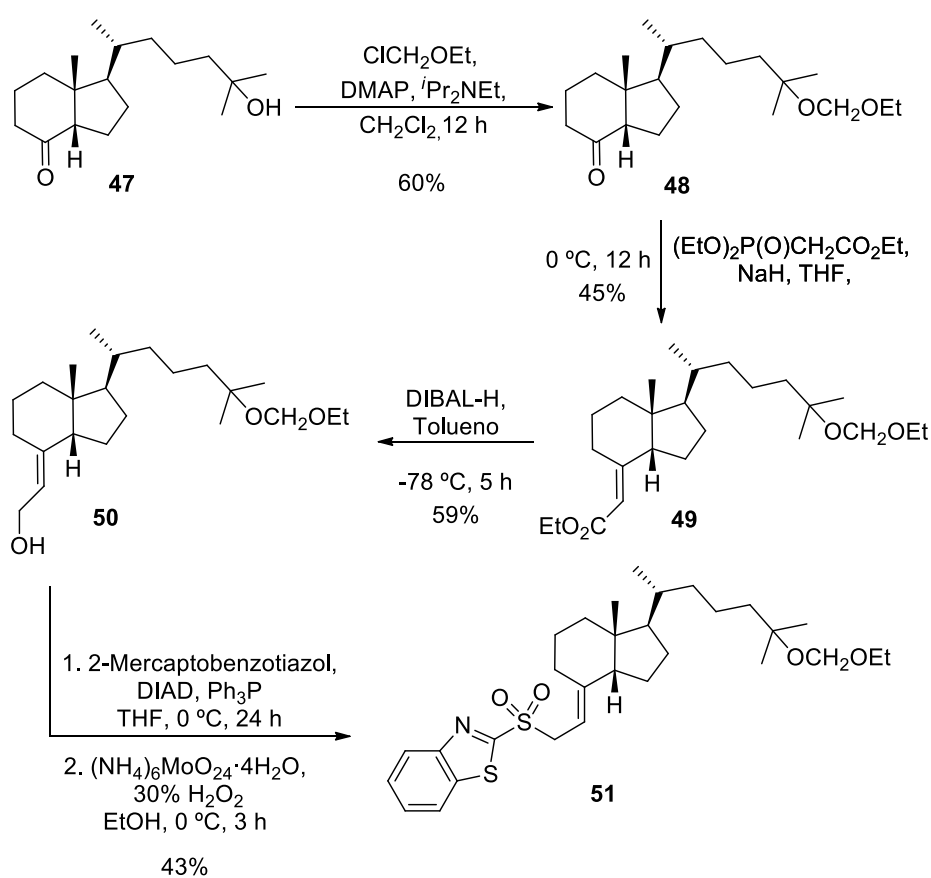
Figura 16. Espectros de ¹H-RMN de: a) la 25-OH cetona de Grudmann (**46**); b) la 14-*epi*-25-OH cetona de Grudmann (**47**).

La transformación de la 14-*epi*-25-hidroxi cetona de Grudmann (**47**) en la sulfona se describe en el Esquema 7. La ruta consta de cuatro etapas, todas realizadas bajo atmósfera de Argón.

La primera etapa consiste en la protección del grupo 25-hidroxi de la cetona **47** con el éter clorometiléflico, en presencia de diisopropiletilamina y DMAP, para dar lugar al compuesto **48** tras 12 h de reacción con un 60% de rendimiento.

A continuación, mediante una reacción de Horner-Wadsworth-Emmons, con fosfonoacetato de trietilo y NaH en THF, se transforma la cetona en el éster α,β -insaturado **49**. La reacción se lleva a cabo a 0 °C para una mayor selectividad. En el espectro de ¹H-RMN se observan dos singuletes a 5.62 y 5.42 ppm correspondientes a los protones vinílicos en una relación 160:1, respectivamente, lo que pone de manifiesto

la excelente diastereoselectividad con que transcurre la reacción. La asignación de la estereoquímica del isómero mayoritario se realiza teniendo en cuenta que según se ha descrito en la bibliografía para sustratos similares, los protones vinílicos del compuesto fusionado *cis* aparecen a campos más bajos para el isómero *E* que para el isómero *Z*.⁵⁸ Por el contrario, para sistemas fusionados *trans*, el protón vinílico que aparece a campos más bajos es el del isómero *Z*.⁵⁹ De esta manera, se identifica la señal a 5.62 ppm con el isómero de configuración *E*.



Esquema 7

La reducción del éster α,β -insaturado con DIBAL-H en tolueno a $-78 \text{ }^\circ\text{C}$ genera el alcohol alílico **50** tras 5 h de reacción. Sobre este alcohol se realiza una reacción de

⁵⁸ Y. Wu, Y. Zhao, H. Tian, P. De Clercq, M. Vandewalle, M. Berthier, G. Pellegrino, P. Maillos, J. Pascal, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2, 3779-3788.

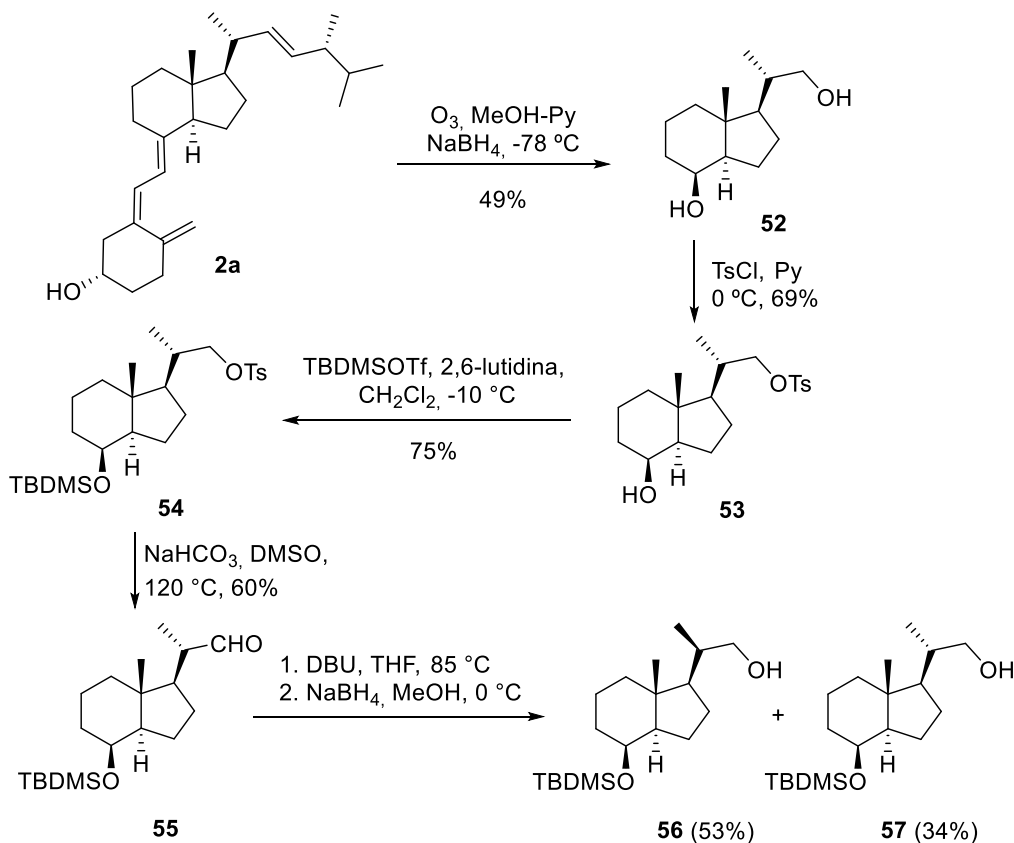
⁵⁹ B. M. Trost, J. Dumas, M. Villa, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 9836-9844.

Mitsunobu de sulfonación con 2-mercaptobenzotiazol, obteniéndose el sulfuro, que se oxida con una disolución de peróxido de hidrógeno y un catalizador de molibdeno, para dar lugar a la sulfona **51**, que es el precursor 14-*epi* de los anillos CD/cadena lateral adecuado para la olefinación de Julia.

Como se aprecia en el Esquema 7 todas las etapas transcurren con rendimientos entre moderados y altos. La síntesis de este precursor se ha realizado a pequeña escala y es posible mejorar el rendimiento del proceso cuando las reacciones se lleven a cabo a una escala mayor.

4.2. Síntesis del precursor 20-*epi* anillos CD/cadena lateral

Para la síntesis del precursor 20-*epi* anillos CD/cadena lateral se propone una estrategia sintética a partir de la vitamina D₂ (Esquema 8).



Esquema 8

La primera etapa consiste en una reacción de ozonólisis de la vitamina D₂ (**2a**) en piridina-MeOH a -78 °C, seguida de una reducción con borohidruro de sodio, para dar el diol de Inhoffen-Lythgoe (**52**). A continuación, se lleva a cabo la transformación del alcohol primario en el tosilato. Para ello, se hace reaccionar el alcohol **52** con cloruro de tosilato en piridina a 0 °C. El estado de este reactivo es determinante para que la reacción tenga lugar. En nuestro caso fue necesario lavar varias veces con NaOH (1 M) el cloruro de tosilato, para eliminar el ácido sulfónico que se va formando con el paso del tiempo, y recristalizarlo en acetato de etilo, con el fin de conseguir una elevada pureza. Posteriormente, se secó a vacío con calentamiento (45 °C) durante un día para eliminar totalmente las trazas de agua. En estas condiciones, se aísla el tosilato **53** con un rendimiento del 69%.

Para realizar las sucesivas transformaciones en la cadena lateral es necesario proteger el grupo hidroxilo secundario. La protección del alcohol se llevó a cabo con cloruro de *tert*-butildimetilsililo (TBDMSCl) e imidazol en CH₂Cl₂ para formar el éter de silicio. Sin embargo, la reacción no evoluciona, ni siquiera añadiendo un catalizador como la DMAP y varios equivalentes de TBDMSCl. Por ello, se decidió utilizar un agente más fuerte, como el triflato de *tert*-butildimetilsililo (TBDMSOTf) en presencia de la base 2,6-lutidina. El proceso tiene lugar en CH₂Cl₂ a -10 °C, obteniéndose el derivado sililado **54** con un 75% de rendimiento.

La síntesis de aldehído **55** a partir del tosilato se llevó a cabo con DMSO en presencia de una base como el bicarbonato de sodio a 120 °C. En primer lugar, se forma un ion alcóxidosulfonio, el cual experimenta una reacción de eliminación para formar el aldehído. El aldehído resultó ser muy inestable y descompone tras 5 días en el frigorífico, dando el correspondiente ácido carboxílico

En la Figura 17 se muestran los espectros de ^{13}C -RMN correspondientes al aldehído (Figura 17a) y al compuesto de descomposición (Figura 17b).

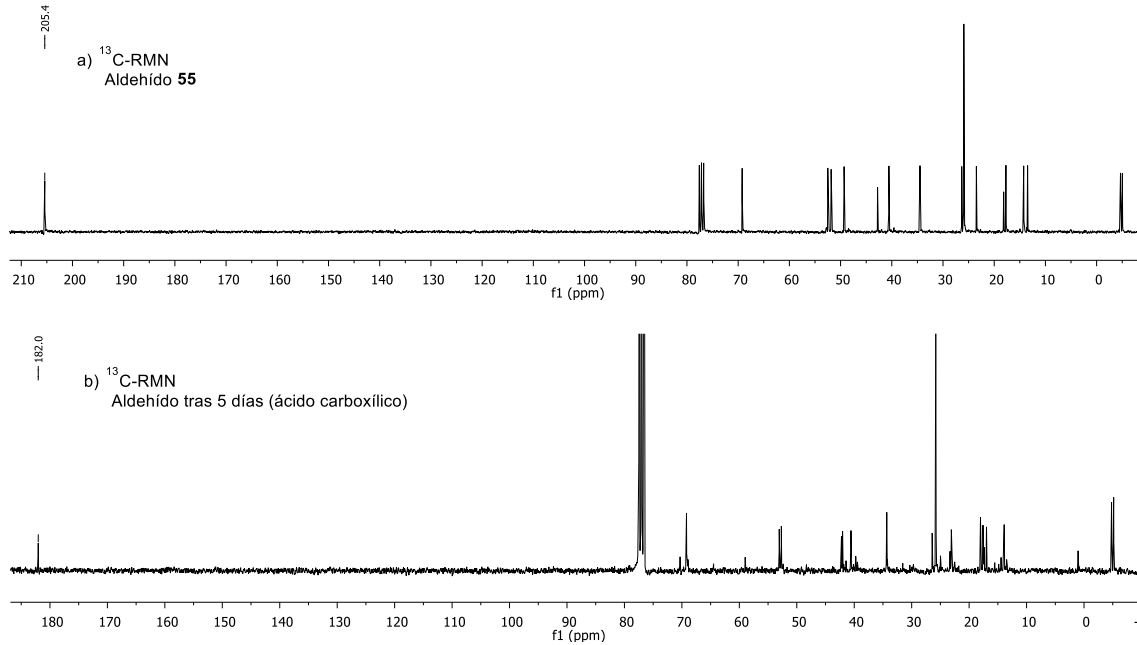


Figura 17. Espectros de ^{13}C -RMN de: a) el aldehído **55**; b) el ácido carboxílico producto de la descomposición del aldehído **55**.

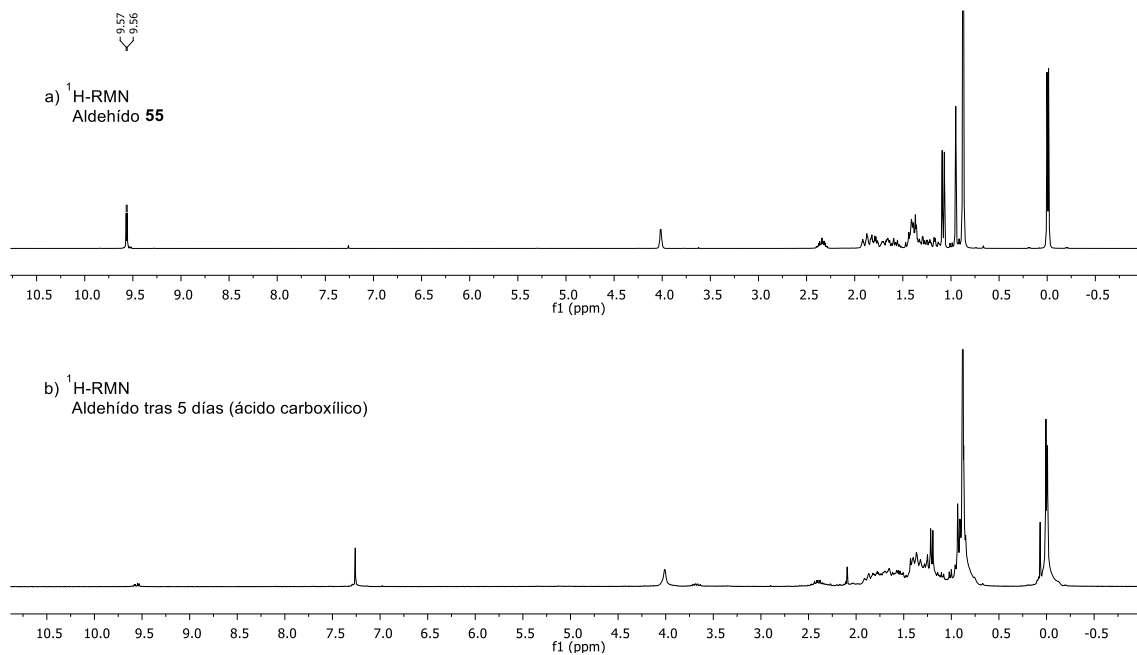


Figura 18. Espectro de ^1H -RMN de: a) el aldehído **55**; b) el ácido carboxílico producto de la descomposición del aldehído **55**.

En el espectro 17a se observa la señal del grupo carbonilo del aldehído a 205.4 ppm. En el espectro 17b, realizado tras 5 días, no se aprecia la señal del aldehído sino una señal a 182.0 ppm, que se identifica como un grupo carbonilo del ácido. En los espectros de ^1H -RMN (Figura 18) también se observa la desaparición del doblete del aldehído a 9.56 ppm.

La epimerización de la posición C20 se lleva a cabo con DBU a reflujo de THF. Tras 12 h de reacción, el espectro de ^1H -RMN del crudo muestra claramente la existencia de dos compuestos (Figura 19), ya que las señales correspondientes al aldehído (d, 9.54 y d, 9.58 ppm), al metilo 18 (s, 0.93 y s, 0.96 ppm) y al metilo 21 (d, 1.01 y d, 1.09 ppm) aparecen por duplicado.

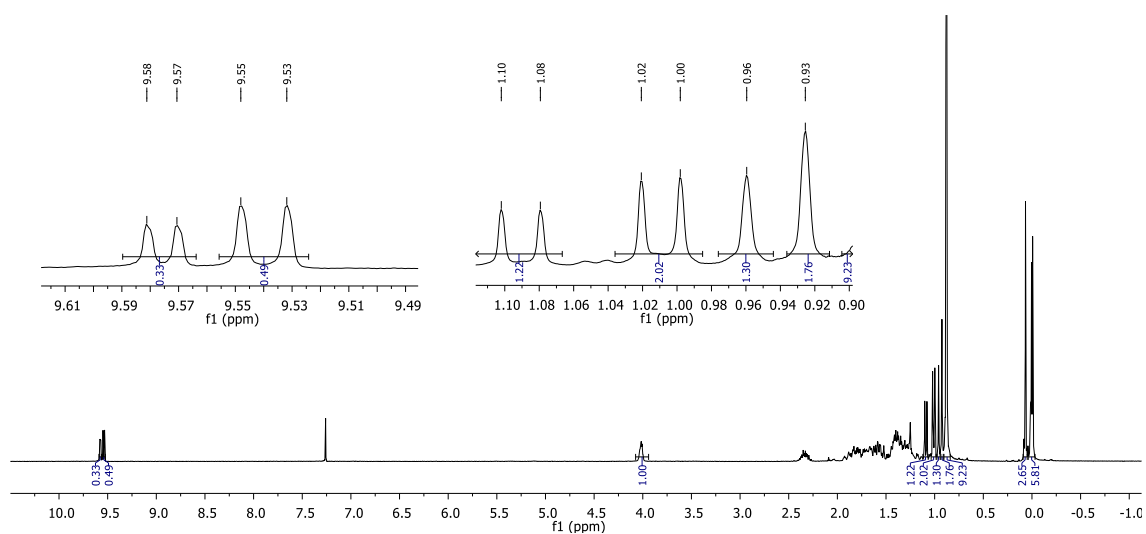


Figura 19. ^1H -RMN del crudo de la reacción entre el aldehído (**55**) y la DBU en THF a 85 °C.

Ambos isómeros se obtienen en relación (1.5:1), siendo el mayoritario el de configuración 20*R* (20-*epi*). Esto se pudo determinar comparando las constantes de acoplamiento de los dos aldehídos con la del compuesto de partida (**55**), de configuración 20*S*, ya que se observa que la *J* (3.2 Hz) del doblete que aparece a 9.58 ppm coincide con la del aldehído precursor. El crudo de reacción es lo suficientemente puro para llevar a cabo la etapa de reducción de la mezcla de aldehídos con NaBH_4 . La

reacción transcurre en tan sólo 30 min y en el espectro de ^1H -RMN del crudo de nuevo se observa la presencia de los dos alcoholes $20S$ y $20R$ (Figura 20), especialmente en las señales correspondientes a los hidrógenos diastereotópicos del C22; cada hidrógeno corresponde a un doble doblete y, por tanto, aparecen cuatro señales.

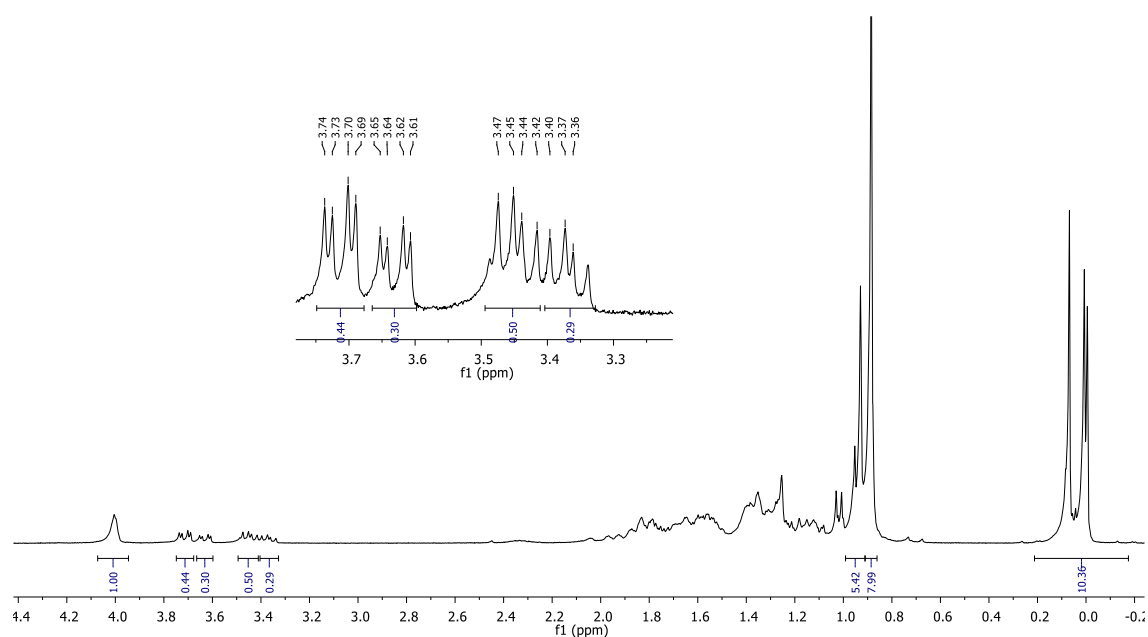


Figura 20. ^1H -RMN del crudo obtenido tras la reducción con NaBH_4 en MeOH de la mezcla de aldehídos.

La mezcla de alcoholes $20R$ y $20S$ (**56** y **57**) se separan mediante cromatografía de columna debido a la diferencia de polaridad entre los dos epímeros, que hace que presenten valores diferentes de R_f , siendo el alcohol 20-epi ($20R$) el menos polar.⁶⁰ La identificación se realizó mediante resonancia magnética nuclear (Figura 21). Los espectros de protón se diferencian en las señales correspondientes al metilo 21 y a los hidrógenos diastereotópicos del C22. El isómero 20-epi presenta el doblete correspondiente al metilo 21 más apantallado y los hidrógenos 22 aparecen a mayores desplazamientos químicos.

⁶⁰ T. Fujishima, K. Konno, K. Nakagawa, M. Kurobe, T. Okano, H. Takayama, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 123-134.

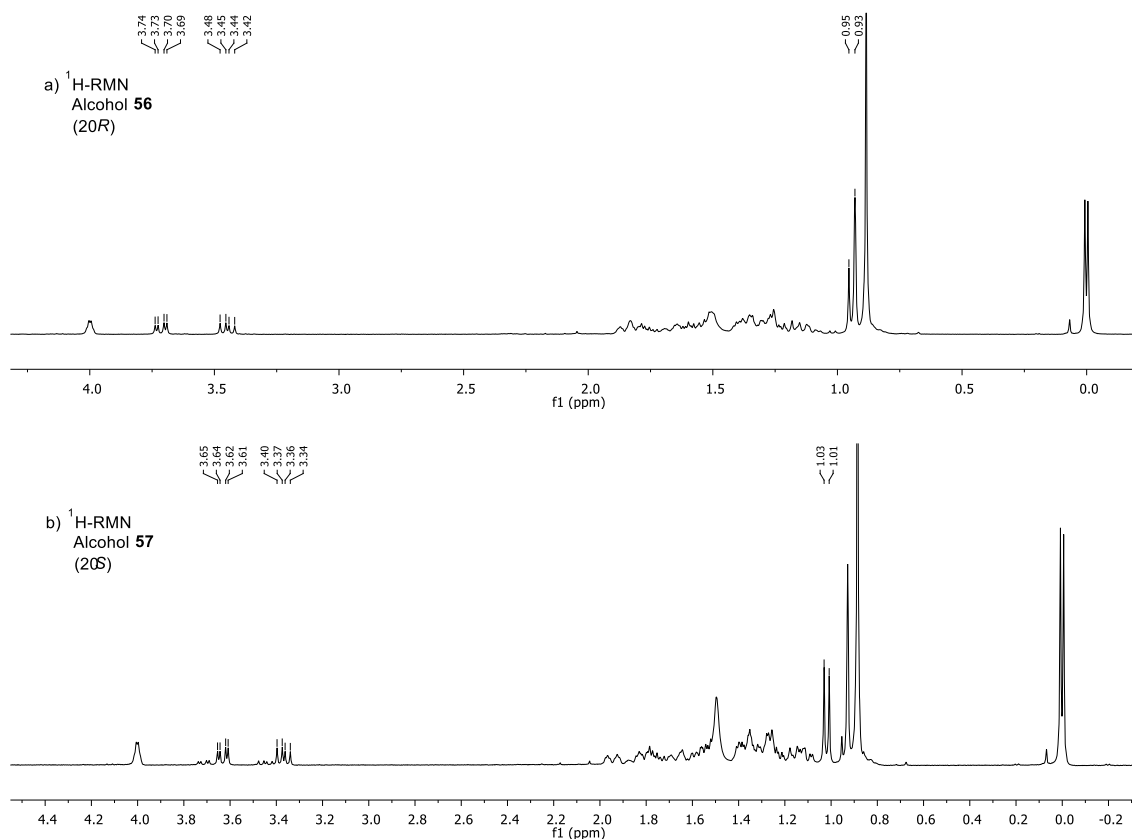
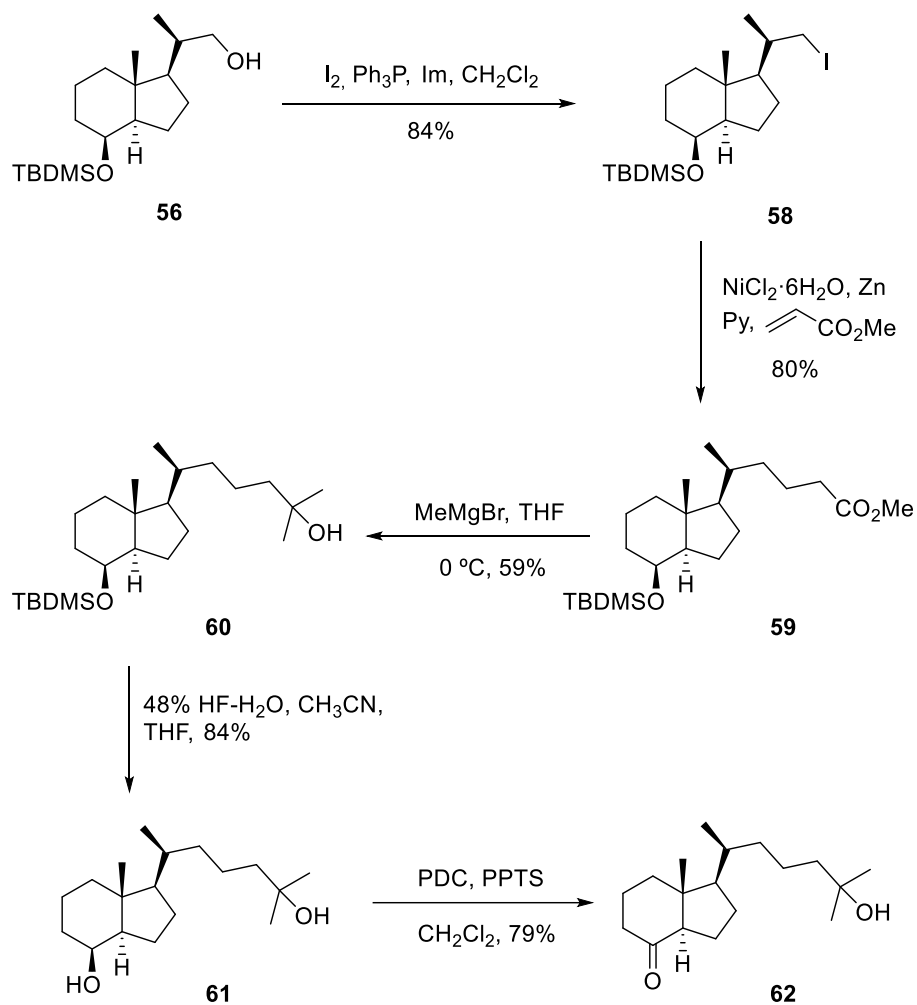


Figura 21. Comparativa de los ¹H-RMN de los alcoholes epímeros **56** y **57**.

Una vez se dispuso del alcohol 20-*epi* se realiza la sustitución nucleófila del alcohol por un yodo. La reacción se realiza con yodo, trifenilfosfina e imidazol en THF. La trifenilfosfina activa el alcohol y el imidazol asiste la sustitución. En estas condiciones, se sintetiza el derivado yodado **58** con un 84% de rendimiento. La transformación de **58** en el éster de metilo **59** tiene lugar con acrilato de metilo en presencia de NiCl₂ y Zn. Tras 4.5 h, se aísla **59** con un 80% de rendimiento. A continuación, se lleva a cabo una alquilación del éster con MeMgBr para dar el alcohol terciario **60**.

Para la obtención de la cetona se desprotege el éter de silicio con HF en una mezcla de THF-MeCN y, posteriormente, se oxida el alcohol resultante **61**. Como agente oxidante se utiliza el dicromato de piridinio (PDC) y como base para asistir a la oxidación el *p*-toluensulfonato de piridinio (PPTS).



Esquema 9

Una vez que se dispone de la 20-*epi*-25-hidroxi cetona de Grudmann se transformará en la correspondiente sulfona siguiendo una metodología análoga a la desarrollada en el Esquema 7 para la preparación del precursor 14-*epi*.

CONCLUSIONES

En esta memoria se ha desarrollado una estrategia para la síntesis del precursor 14-*epi* anillos CD/cadena lateral de análogos de la 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ utilizando como sustrato de partida la vitamina D₃. La ruta consta de siete etapas y cabe destacar la excelente diastereoselectividad con que transcurre la reacción de Horner-Wadsworth-Emmons sobre el derivado de la cetona de Grudmann para generar el éster α,β -insaturado de estereoquímica *E*, intermedio clave en la obtención de la correspondiente sulfona.

Por otra parte, se ha sintetizado el precursor 20-*epi*-25-hidroxi cetona de Grudmann a partir de la vitamina D₂, que mediante una ozonólisis reductiva origina el diol de Inhoffen-Lythgoe. Una etapa clave es la epimerización de la posición C20 en el derivado aldehído utilizando como base la DBU. Se obtiene una mezcla de epímeros, que se separan fácilmente por cromatografía de columna, siendo mayoritario el isómero deseado 20-*epi*.

El acoplamiento de estos precursores con el fragmento del anillo A dará lugar a nuevos derivados 14-*epi* y 20-*epi* de la 1 α ,25-dihidroxitamina D₃, cuyo estudio biológico proporcionará información acerca del modo de acción de esta hormona esteroidea.

PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Procedimientos generales

Todos los disolventes utilizados han sido sometidos previamente a un tratamiento de secado y posteriormente destilados bajo atmósfera inerte de nitrógeno, a excepción del THF que se destila bajo atmósfera de Argón. El THF y el tolueno se refluyen sobre sodio; el metanol, el diclorometano y el DMSO se refluyen sobre hidruro de calcio. La diisopropiltilamina y la piridina se refluyen sobre hidróxido potásico.

Algunos compuestos de partida necesitan un tratamiento previo a su utilización. El *p*-TsCl se lava varias veces con NaOH (1 M) y H₂O, se recristaliza en acetato de etilo, y se seca a vacío con calentamiento (45 °C) en un horno de bolas durante un día, con el fin de eliminar totalmente las trazas de ácido y agua. La 2,6-lutidina se destiló a vacío previamente a su utilización. El NaHCO₃ se mantuvo a vacío durante un 24 h.

Todas las reacciones que requieren atmósfera inerte se llevaron a cabo en atmósfera de Argón.

6.2. Técnicas de análisis

6.2.1. Cromatografía en gel de sílice

El transcurso de las reacciones se siguió por cromatografía de capa fina, que se efectuó en cromatofolios de gel de sílice 60 Å de 0.25 mm de espesor y con un revelador ultravioleta incorporado. Los cromatogramas se visualizaron mediante

exposición a la luz UV (254 nm) o se revelaron por tratamiento con una disolución de agente revelador y posterior calentamiento. Como agentes reveladores se utilizaron el KMnO_4 (1% KMnO_4 , 5% K_2CO_3 y 5% NaOH) o el de Ce/Mo (disolución acuosa de sulfúrico fumante al 5%, 1% sulfato de cerio y 2.5% ácido fosfomolibdico).

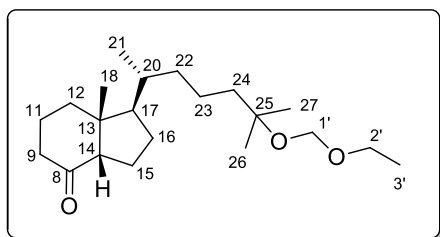
Para la cromatografía de columna se empleó gel de sílice 60 Å (230-240 mesh).

6.2.2. Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de RMN se realizaron en los equipos AV-300 y DPX-300 (^1H , 300.13 MHz; ^{13}C , 75.5 MHz). Como disolvente se utilizó cloroformo deuterado. Los desplazamientos químicos (δ) están expresados en partes por millón (ppm) referidos a la señal residual del disolvente. Las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertzios (Hz). Las abreviaturas empleadas para indicar la multiplicidad de las señales son las siguientes: s, singulete; sa, singulete ancho, d, doblete; t, triplete; q, cuatriplete; m, multiplete.

6.3. Procedimientos sintéticos y datos experimentales

A continuación, se describe de forma detallada el procedimiento seguido para la síntesis de todos los productos que se han obtenido en este capítulo y su caracterización.

des-A,B-25-Etoximetiloxi-14-epi-colestan-8-ona (48)

Aspecto: aceite incoloro

Rendimiento: 60%

Fórmula empírica: C₂₁H₃₈O₃

Peso molecular (g/mol): 338.28

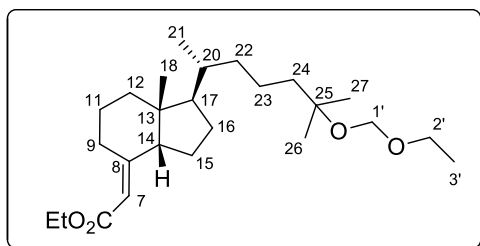
R_f: 0.6 (10%, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 0.84 (d, 3H, *J* 6.4 Hz, Me-21), 0.97 (s, 3H, Me-18), 1.10 (t, 3H, *J* 6 Hz, H-3'), 1.13 (s, 6H, Me-26 + Me-27), 1.16-2.30 (varios m, 19H), 3.5 (q, 2H, *J* 7.0 Hz, H-2'), 4.6 (s, 2H, H-1') ppm.

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): 15.3 (Me), 19.2 (Me), 21.0 (CH₂), 21.4 (CH₂), 23.2 (Me), 26.5 (Me), 26.6 (Me), 27.9 (CH₂), 34.5 (CH), 36.2 (CH₂), 36.6 (CH₂), 40.3 (CH₂), 42.3 (CH₂), 48.8 (C), 50.7 (CH), 53.6 (CH₂), 61.5 (CH), 63.1 (CH₂), 76.3 (C), 89.6 (CH₂), 213.9 (C=O).

Procedimiento: a una disolución de **47** (233 mg, 0.83 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (3.3 mL) se le añade diisopropiletilamina anhidra (0.57 mL, 3.32 mmol) y DMAP (27 mg, 0.22 mmol). La mezcla se enfría a 0 °C y se adiciona gota a gota éter clorometil etílico (307 μL, 3.32 mmol). La reacción se agita a temperatura ambiente durante la noche. A continuación, se añade H₂O y se extrae con CH₂Cl₂. La fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra. El crudo se purifica mediante columna cromatográfica de gel de sílice (10% AcOEt/hexano), obteniéndose el producto **48** (166.5 mg) con un rendimiento del 60%.

des-A,B-25-Etoximetiloxi-14-epi-colestan-8-etilidencarboxilato de etilo (49)



Aspecto: aceite incoloro

Rendimiento: 45%

Fórmula empírica: $C_{25}H_{44}O_4$

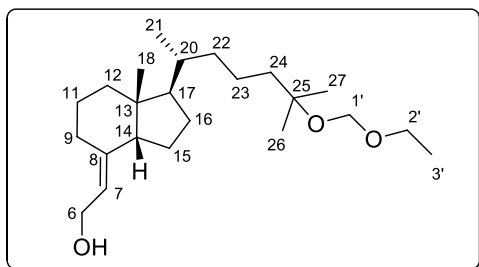
Peso molecular (g/mol): 408.322

R_f : 0.4 (5 %, AcOEt/Hexano)

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): 0.84 (d, 3H, J 6.1 Hz, Me-21), 0.92 (s, 3H, Me-18), 1.17 (t, 3H, J 6 Hz, H-3'), 1.18 (s, 6H, Me-26 + Me-27), 1.24 (t, 3H, J 6 Hz, Me-CO₂Et), 1.30-2.00 (m, 16H), 2.15 (t, 1H, J 8.7 Hz), 2.37 (dt, 1H, J 7.2 y 15.0 Hz), 3.24 (dt, 1H, J 4.4 y 16.0 Hz), 3.57 (q, 2H, J 7.1 Hz, H-2'), 4.09 (q, 2H, J 7.1 Hz, CH₂-CO₂Et), 4.71 (s, 2H, H-1'), 5.61 (s, 1H, H-7) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): 14.4, 15.3, 19.7, 21.5, 22.2, 26.0, 26.4, 26.5, 27.5, 30.0, 34.1, 34.9, 37.5, 42.3, 46.4, 54.4, 58.1, 59.5, 63.0, 76.2, 89.6, 114.7, 165.1, 166.8 ppm.

Procedimiento: sobre una suspensión de NaH (60% suspensión en aceite, 236.16 mg, 5.90 mmol) en THF anhidro (1 mL) a 0 °C se adiciona $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ (1.37 mL, 6.88 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. Al día siguiente se enfría a 0 °C y se adiciona una disolución de **48** (166.5 mg, 0.49 mmol) en THF anhidro (1 mL). La reacción se agita a 0 °C durante 72 h. A continuación, se añade una disolución saturada de NH_4Cl , se deja que alcance temperatura ambiente, y se extrae con AcOEt. La fase orgánica se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se concentra. El crudo se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice (5% AcOEt/hexano), se obtiene el producto **49** (90.1 mg) con un 45% de rendimiento.

des-A,B-25-Etoximetiloxi-14-epi-colestan-8-etiliden-2'-ol (50)

Aspecto: aceite incoloro

Rendimiento: 59%

Fórmula empírica: C₂₃H₄₂O₃

Peso molecular (g/mol): 366.31

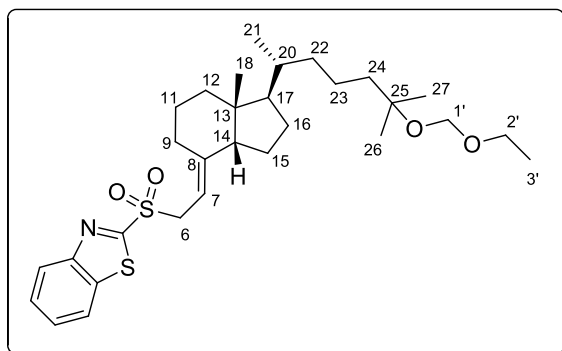
R_f: 0.6 (35 %, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 0.86 (d, 3H, *J* 6.4 Hz, Me-21), 0.92 (s, 3H, Me-18), 1.19 (t, 3H, *J* 6 Hz, H-3'), 1.20 (s, 6H, Me-26 + Me-27), 1.22-2.31 (varios m, 19H), 3.60 (q, 2H, *J* 7.1 Hz, H-2'), 4.14 (dd, 2H, *J* 5.0 y 6.9 Hz, H-6), 4.74 (s, 2H, H-1'), 5.38 (t, 1H, *J* 6.9 Hz, H-7) ppm.

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): 15.3 (Me), 19.9 (Me), 21.7 (CH₂), 21.8 (Me), 22.6 (CH₂), 24.8 (CH₂), 26.5 (Me), 26.6 (Me), 27.1 (CH₂), 29.4 (CH₂), 34.2 (CH), 34.8 (CH₂), 37.8 (CH₂), 42.3 (CH₂), 45.2 (C), 54.4 (CH), 57.1 (CH), 59.0 (CH₂), 63.1 (CH₂), 76.3 (C), 89.6 (CH₂), 122.5 (CH), 144.1 (C) ppm.

Procedimiento: a una disolución de **49** (84 mg, 0.21 mmol) en tolueno anhidro a -78°C, se le añade gota a gota DIBAL-H (1.0 M en tolueno, 514 µL, 0.51 mmol). Tras 5 h de reacción a esta temperatura, se adiciona una disolución saturada de NH₄Cl y se diluye con Et₂O. El residuo gelatinoso formado se filtra sobre celite y se lava con Et₂O. El filtrado se concentra y el crudo obtenido se purifica mediante columna cromatográfica de gel de sílice (20% AcOEt/hexano) obteniendo **50** (44.2 mg) con un rendimiento del 59%.

des-A,B-25-Etoximetiloxi-14-epi-colestan-8-(2-benzotiazol-2'-sulfoniletilideno) (51)



Aspecto: aceite incoloro

Rendimiento: 43%

Fórmula empírica: C₃₀H₄₅NO₄S₂

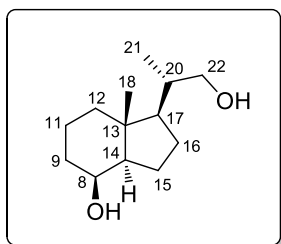
Peso molecular (g/mol): 547.28

R_f: 0.1 (0.1 %, Et₂O /Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 0.65-2.30 (varios m, 19H), 0.72 (s, 3H, Me-18), 0.77 (d, *J* 6.0 Hz, 3H, Me-21), 1.19 (t, 3H, *J* 6.0 Hz, Me-3'), 1.21 (s, 6H, Me-26 + Me-27), 3.60 (q, 2H, *J* 7.1 Hz, H-2'), 4.26 (m, 2H), 4.74 (s, 2H, H-1'), 5.22 (t, 1H, *J* 8.0 Hz, H-7), 7.61 (m, 2H, Ph), 8.00 (d, 1H, *J* 7.7 Hz, Ph), 8.21 (d, 1H, *J* 7.7 Hz, Ph) ppm.

Procedimiento: a una disolución de 2-mercaptobenzotiazol (20.57 mg, 0.12 mmol) y PPh₃ (32.26 mg, 0.12 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (400 μL) a 0 °C, se añade una disolución de **50** (30.0 mg, 0.08 mmol) en CH₂Cl₂ (230 μL) y DIAD (16 μL, 0.08 mmol). La reacción se agita a 0 °C durante 24 h, tras lo cual se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo se purifica por cromatografía de columna con gel de sílice (5% AcOEt/hexano).

El producto purificado de la primera etapa se disuelve en EtOH (471 μL) y se enfría a 0 °C. Posteriormente, se añade H₂O₂ (30%, 47 μL) y (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O (21.26 mg, 0.02 mmol). Tras 3 h de agitación a temperatura ambiente, se añade una disolución saturada de Na₂SO₃ y se extrae con AcOEt. La fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra. El crudo se purifica mediante cromatografía de columna de gel de sílice (gradiente 20-30% Et₂O/hexano).

des-A,B-23,24-Dinorcolan-8 β ,22-diol (52)

Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 49%

Fórmula empírica: C₁₃H₂₄O₂

Peso molecular (g/mol): 212.18

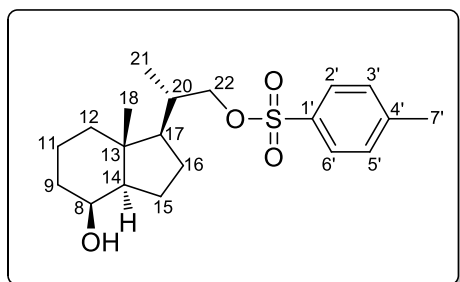
R_f: 0.2 (30%, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.94 (s, 3H, Me-18), 1.01 (d, 3H, *J* 6.6 Hz, Me-21), 1.05-2.1 (varios m, 13H), 3.36 (dd, 1 H, *J* 6.7 y 10.4 Hz, H-22), 3.62 (dd, 1H, *J* 3.2 y 10.5 Hz, H-22), 4.06 (m, 1 H, H-8) ppm.

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 13.7 (Me), 16.8 (Me), 17.5 (CH₂), 22.7 (CH₂), 26.8 (CH₂), 33.7 (CH₂), 38.4 (CH), 40.4 (CH₂), 42.0 (C), 52.5 (CH), 53.1 (CH), 67.9 (CH₂), 69.3 (CH) ppm.

Procedimiento: sobre una disolución de vitamina D₂ (**2a**, 6.0 g, 15.1 mmol) en metanol (505 mL) y piridina (5.22 mL) anhidros a -78 °C, se burbujea una corriente de ozono durante 1 h y 10 min con un flujo de 170 L/h y una potencia de 1.7. A continuación, se añade Me₂S (4.0 mL) para destruir los peróxidos del medio y se deja agitando durante 21 h. Para comprobar que la disolución está libre de peróxidos se realiza un test de KI, que consiste en añadir 2 gotas de la reacción sobre 20 gotas de una disolución acuosa de KI (1.8 M), si la disolución se torna amarilla es que aún quedan peróxidos. Seguidamente, se añade el NaBH₄ (39.3 mmol) en cuatro porciones, las tres primeras (3 x 1.488 g) se añaden a -78 °C y se deja agitando 1h, después de cada adición, con un flujo suave de N₂. Una vez realizadas las tres adiciones se deja a temperatura ambiente agitando toda la noche. Al día siguiente, se añade la cuarta porción de NaBH₄ (0.744 mg) y se mantiene la agitación durante 1h

y 40 min. La disolución resultante se concentra a vacío hasta un pequeño volumen, se filtra sobre gel de sílice y se lava con MeOH. El residuo se purifica por columna cromatográfica de gel de sílice (25% AcOEt/hexano) para dar el alcohol **52** (1.56 g) con un rendimiento del 49%.

des-A,B-22-Tosiloxi-23,24-dinorcolan-8 β -ol (53)

Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 69%

Fórmula empírica: C₂₀H₃₀O₄S

Peso molecular (g/mol): 366.19

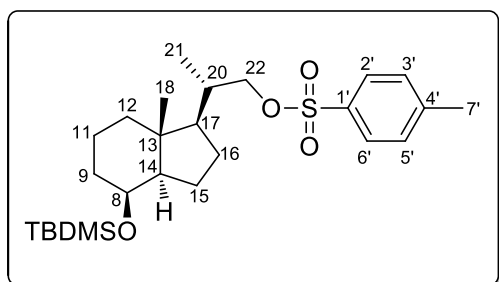
*R*_f: 0.31 (30%, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 0.88 (s, 3H, Me-18), 0.95 (d, 3H, *J* 6.6 Hz, Me-21), 1.0-2.0 (varios m, 13H), 2.44 (s, 3H, Me-7'), 3.80 (dd, 1H, *J* 6.1 y 9.2 Hz, H-22), 3.94 (dd, 1H, *J* 3.0 y 9.2 Hz, H-22), 4.06 (sa, 1H, H-8), 7.34 (d, 2H, *J* 8.0 Hz, H-3' y H-5'), 7.77 (d, 2H, *J* 8.3 Hz, H-2' y H-6') ppm.

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): 13.6 (Me), 16.9 (Me), 17.5 (CH₂), 21.8 (Me), 22.6 (CH₂), 26.5 (CH₂), 33.7 (CH₂), 35.8 (CH), 40.1 (CH₂), 42.0 (C), 52.3 (2CH), 69.2 (CH), 75.7 (CH₂), 128.0 (2CH), 129.9 (2CH), 133.2 (C), 144.7 (C) ppm.

Procedimiento: sobre una disolución del diol **52** (1.56 g, 7.35 mmol) en piridina anhidra (30 mL), enfriada a 0 °C, se añade *p*-TsCl (3.50 g, 18.38 mmol). Se deja que alcance la temperatura ambiente y se agita durante 12 h. Una vez terminada la reacción, se adiciona hielo y una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (18 mL). La disolución resultante se extrae con Et₂O (4x10 mL). Las capas orgánicas se lavan con HCl 1N (2 x 10 mL) y H₂O (10 mL), se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran a vacío. El crudo se purifica por cromatografía de columna (gradiente de eluyente 15-30% AcOEt/hexano), obteniéndose el compuesto **53** (1.85 g) con un rendimiento del 69%.

des-A,B-8β-(tert-Butildimetilsilil)oxi-22-tosiloxi-23,24-dinorcolano (54)



Aspecto: aceite incoloro

Rendimiento: 75%

Fórmula empírica: C₂₆H₄₄O₄SSi

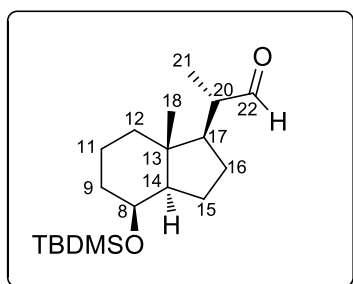
Peso molecular (g/mol): 480,27

R_f: 0.82 (30%, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): -0.03 (s, 3H, SiMe), -0.01 (s, 3H, SiMe), 0.86 (s, 12H, Me-18 y ^tBu), 0.94 (d, 3H, *J* 6.6 Hz, Me-21), 1.0-2.0 (varios m, 13H), 2.44 (s, 3H, Me-7'), 3.79 (dd, 1H, *J* 6.3 y 9.2 Hz, H-22), 3.95 (dd, 1H, *J* 3.0 y 9.3 Hz, H²²), 3.97 (sa, 1H, H-8), 7.33 (d, 2H, *J* 8.0 Hz, H-3' + H-5'), 7.77 (d, 2H, *J* 8.3 Hz, H-2' y H-6').

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): -5.0 (Me), -4.7 (Me), 13.8 (Me), 16.9 (Me), 17.7 (CH₂), 18.1 (C), 21.8 (Me), 23.1 (CH₂), 25.9 (3Me), 26.7 (CH₂), 34.4 (CH₂), 35.9 (CH), 40.5 (CH₂), 42.3 (C), 52.5 (CH), 52.8 (CH), 69.3 (CH), 75.9 (CH₂), 128.0 (2CH), 129.9 (2CH), 133.3 (C), 144.7 (C) ppm.

Procedimiento: sobre una disolución del alcohol **53** (1.85 g, 5.05 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (39 mL) a -78 °C se añade gota a gota una disolución de 2,6-lutidina (2.5 mL, 21.2 mmol) y TBSOTf (2.3 mL, 10.1 mmol) en 7 ml de CH₂Cl₂. La reacción se agita durante 30 min, transcurrido este tiempo se añaden 225 μL de MeOH y se deja que alcance la temperatura ambiente. A continuación, se extrae con 60 mL de CH₂Cl₂, y la fase orgánica se lava con H₂O (24 mL) y brine (24 mL). Se purifica por cromatografía de columna con gel de sílice (5% AcOEt/hexano), obteniéndose el compuesto **54** (1.81 g) con un rendimiento de 75%.

des-A,B-8β-(tert-Butildimetilsilil)oxi-23,24-dinorcolan-22-al (55)

Aspecto: aceite incoloro

Rendimiento: 60%

Fórmula empírica: C₁₉H₃₆O₂Si

Peso molecular (g/mol): 324,25

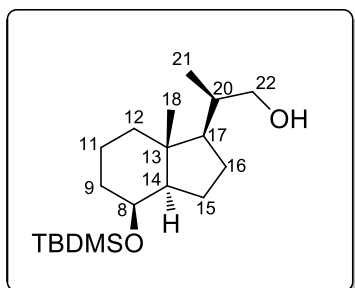
R_f: 0.92 (30%, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): -0.01 (s, 3H, SiMe), 0.00 (s, 3H, SiMe), 0.86 (s, 9H, *t*Bu), 0.95 (s, 3 H, Me-18), 1.08 (d, 3 H, *J* 6.8 Hz, Me-21), 1.0-2.0 (varios m, 12H), 2.33 (m, 1H, H-20), 4.02 (m, 1H, H-8), 9.56 (d, 1H, *J* 3.19 Hz, CHO).

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): -5.0 (Me), -4.7 (Me), 13.5 (Me), 14.2 (Me), 17.7 (CH₂), 18.2 (C), 23.5 (CH₂), 25.9 (3Me), 26.3 (CH₂), 34.5 (CH₂), 40.6 (CH₂), 42.8(C), 49.3 (CH), 51.8 (CH), 52.5 (CH), 69.2 (CH), 205.4 (CHO) ppm.

Procedimiento: se prepara una disolución del tosilato **54** (1.76 g, 3.65 mmol) y NaHCO₃ anhidro (307.2 mg, 3.65 mmol) en DMSO anhidro (60 mL) y se agita durante 5 h a 120 °C. A continuación, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y se añade Et₂O (118 ml) y brine (118 mL). La fase orgánica se lava con agua (2x118 mL). Las fases acuosas se extraen con Et₂O (2x118 mL). Todas las fases orgánicas se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran. El producto se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (1% AcOEt/Hexano), obteniéndose el aldehído **55** (705.3 mg) con 60% de rendimiento.

des-A,B-8 β -(tert-Butildimetilsilil)oxi-20-epi-23,24-dinorcolan-22-ol (56)



Aspecto: aceite incoloro

Rendimiento: 53%

Fórmula empírica: C₁₉H₃₈O₂Si

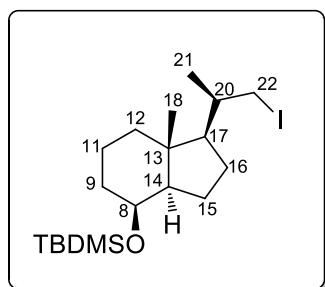
Peso molecular (g/mol): 326.26

R_f: 0.24 (10%, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 0.00 (s, 3H, SiMe), 0.01 (s, 3H, SiMe), 0.88 (s, 9H, tBu), 0.93 (s, 3H, Me-18), 0.94 (d, 3H, J 6 Hz, Me-21), 1.0-2.0 (varios m, 13H), 3.45 (dd, 1H, J 6.9 y 10.6 Hz, H-22), 3.71 (dd, 1H, J 3.5 y 10.6 Hz, H-22), 4.01 (m, 1H, H-8) ppm.

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): -5.0 (Me), -4.6 (Me), 14.2 (Me), 16.8 (Me), 17.8 (CH₂), 18.2 (C), 23.1 (CH₂), 26.0 (3Me), 26.9 (CH₂), 34.6 (CH₂), 37.6 (CH), 40.3 (CH₂), 42.1 (C), 53.1 (CH), 53.2 (CH), 67.0 (CH₂), 69.5 (CH) ppm.

Procedimiento: sobre una disolución del aldehído **55** (705.3 mg, 2.17 mmol) en THF anhidro (6 mL) se añade gota a gota DBU (393.6 μ L, 2.63 mL) y se agita a 85 °C con agitación durante 13 h. A continuación, se diluye con Et₂O (57 mL) y la mezcla se lava con H₂O, HCl 1N y brine. La fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra. El crudo resultante se disuelve en MeOH (6 mL), se enfría a 0 °C y se añade NaBH₄ (87.3 mg, 2.17 mmol). La reacción se agita a 0 °C durante 1 h. A continuación, se añade agua para eliminar el exceso de reactivos. A la mezcla resultante se adiciona brine (6 mL) y se extrae con AcOEt. La fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra. El producto se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (10% AcOEt/hexano), obteniéndose el alcohol deseado **56** (376.3 mg, 53%) y el isómero más polar **57** (146.3 mg, 34%).

des-A,B-8β-(tert-Butildimetilsilil)oxi-22-yodo-20-epi-23,24-dinorcolano (58)

Aspecto: sólido blanco

Rendimiento: 84%

Fórmula empírica: C₁₉H₃₇IOSi

Peso molecular (g/mol): 436.17

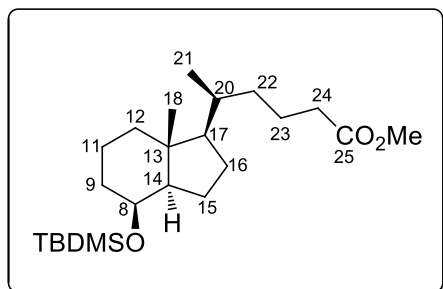
R_f: 0.55 (2%, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): -0.01 (s, 3H, SiMe), 0.01 (s, 3H, SiMe), 0.88 (s, 9H, ^tBu), 0.92 (s, 3H, Me-18), 0.94 (d, 3H, *J* 6.2 Hz, Me-21), 1.10-1.90 (varios m, 12H), 3.18 (dd, 1H, *J* 6.2 y 9.5 Hz, H-22), 3.46 (dd, 1H, *J* 2.9 y 9.5 Hz, H-22), 4.00 (m, 1H, H-8) ppm.

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): -5.0 (Me), -4.6 (Me), 14.3 (Me), 17.8 (CH₂), 18.2 (C), 19.8 (CH₂), 21.6 (Me), 23.0 (CH₂), 26.0 (3Me), 27.1 (CH₂), 34.4 (CH₂), 36.3 (CH), 40.6 (CH₂), 42.1 (C), 52.8 (CH), 55.3 (CH), 69.4 (CH) ppm.

Procedimiento: se prepara una disolución de PPh₃ (160.5 mg, 0.61 mmol) e imidazol (83.3 mg, 1.22 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (5 mL), se enfria a 0 °C, y se adiciona sobre esta otra disolución de yodo (78.1 mg, 0.61 mmol) en 10 mL de CH₂Cl₂. La mezcla se agita a 0 °C durante 30 min. A continuación se adiciona, de nuevo a 0 °C una disolución del alcohol **56** (50.0 mg, 0.15 mmol) en CH₂Cl₂ (1.5 mL), y la mezcla se agita a 0 °C durante 20 min y posteriormente, 21 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se lava con H₂O y la fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra. El crudo se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (gradiente de eluyentes 0-3% AcOEt/hexano) para dar el producto **58** (56.1 mg) con un rendimiento del 84%.

des-A,B-8β-(tert-Butildimetilsilil)oxi-20-epi-24-metoxicarbonilcolano (59)



Aspecto: aceite incoloro

Rendimiento: 80%

Fórmula empírica: C₂₃H₄₄O₃Si

Peso molecular (g/mol): 396.31

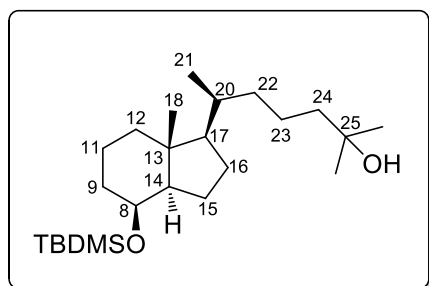
R_f: 0.77 (10%, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): -0.02 (s, 3H, SiMe), 0.00 (s, 3H, SiMe), 0.81 (d, 3H, *J* 6.5 Hz, Me-21), 0.88 (s, 9H, ^tBu), 0.89 (s, 3 H, Me-18), 1.0-2.0 (varios m, 17H), 2.26 (ddd, 2H, *J* 2.34, 6.77 y 8.54 Hz, H-22), 3.66 (s, 3H, Me), 3.98 (m, 1H, H-8) ppm.

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): -5.0 (Me), -4.6 (Me), 14.1 (Me), 17.9 (CH₂), 18.2 (C), 18.6 (Me), 21.9 (CH₂), 23.1 (CH₂), 26.0 (3Me), 27.3 (CH₂), 34.6 (2CH₂), 34.9 (CH₂), 40.8 (CH₂), 42.3 (C), 51.6, 53.2, 56.3, 69.6 (CH), 174.5 (C=O) ppm.

Procedimiento: una disolución de Zn (306.3 mg, 4.68 mmol), acrilato de metilo (503 μL, 5.55 mmol) y NiCl₂·6H₂O (141.50 mg, 0.59 mmol) en piridina (11 mL) se calienta a 65 °C durante 1 h, hasta que la mezcla se torna marrón-rojiza. La reacción se enfría a 0 °C y se adiciona una disolución del compuesto yodado **58** (173.1 mg, 0.39 mmol) en 4 mL de piridina, previamente enfriada a 0 °C. Se deja agitando durante 3 h y 30 min a temperatura ambiente. La mezcla se diluye con AcOEt (15 mL) y se filtra sobre celite. El filtrado se lava con una disolución acuosa al 5% de HCl y la fase acuosa se extrae con EtOAc. Las fases orgánicas se lavan con H₂O y brine, se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran. El crudo se purifica por cromatografía de columna (5% AcOEt/hexano), obteniéndose el éster **59** (125.3 mg) con un rendimiento del 80%.

des-A,B-8β-(tert-Butildimetilsilil)oxi-20-epi-colestan-25-ol (60)



Aspecto: aceite incoloro

Rendimiento: 59%

Fórmula empírica: C₂₄H₄₈O₂Si

Peso molecular (g/mol): 396.34

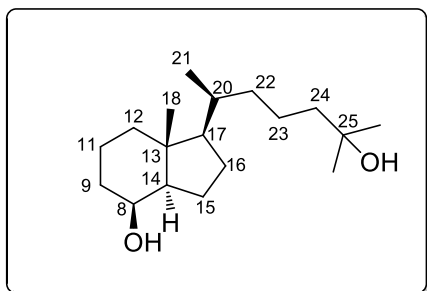
R_f: 0.43 (15%, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): -0.02 (s, 3H, SiMe), 0.00 (s, 3H, SiMe), 0.81 (d, 3H, *J* 6.4 Hz, Me-21), 0.88 (s, 9H, ^tBu), 0.90 (s, 3H, Me-18), 1.01-1.98 (varios m, 21H), 1.20 (s, 6H, Me-26 y Me-27), 3.98 (m, 1H, H-8) ppm.

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): -5.0 (Me), -4.6 (Me), 14.2 (Me), 17.9 (CH₂), 18.2 (C), 18.7 (Me), 21.0 (CH₂), 23.1 (CH₂), 26.0 (3Me), 27.4 (CH₂), 29.3 (Me), 29.4 (Me), 34.6 (CH₂), 34.9 (CH), 35.9 (CH₂), 40.8 (CH₂), 42.3 (C), 44.5 (CH₂), 53.3 (CH), 56.5 (CH), 69.6 (CH), 71.3 (C) ppm.

Procedimiento: sobre una disolución del éster **59** (29 mg, 0.07 mmol) en THF anhidro (1 mL) a 0 °C, se adiciona MeMgBr (3 M en éter, 61 μL, 0.183 mmol) gota a gota y se agita 30 min manteniendo la temperatura. La mezcla de reacción se hidroliza con H₂O y se extrae con AcOEt. El crudo se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (15% AcOEt/hexano), dando el alcohol **60** (17 mg) con un rendimiento del 59%.

des-A,B-20-epi-colestan-8 β ,25-diol (61)



Aspecto: Aceite incoloro

Rendimiento: 84%

Fórmula empírica: C₁₈H₃₄O₂

Peso molecular (g/mol): 282.26

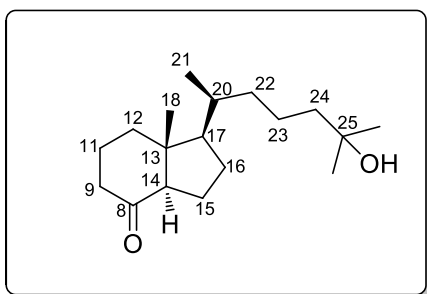
R_f: 0.28 (25%, AcOEt/Hexano)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 0.83 (d, 3H, *J* 6.51 Hz, Me-21), 0.93 (s, 3H, Me-18), 1.06-2.00 (varios m, 19H), 1.21 (s, 6H, Me-26 y Me-27), 4.07 (m, 1H, H-8) ppm.

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): 13.9 (Me), 17.6 (CH₂), 18.7 (Me), 21.0 (CH₂), 22.6 (CH₂), 27.2 (CH₂), 29.36 (Me), 29.45 (Me), 33.7 (CH₂), 34.9 (CH), 35.8 (CH₂), 40.5 (CH₂), 42.1 (C), 44.4 (CH₂), 52.8 (CH), 56.4 (CH), 69.6 (CH), 71.3 (C) ppm.

Procedimiento: sobre una disolución del alcohol **60** (17 mg, 0.04 mmol) en THF (613 μ L) y CH₃CN (613 μ L) se adiciona una disolución de HF (48% disolución acuosa, 40 μ L) en CH₃CN (352 μ L) y se deja agitando durante dos días. A continuación, se adiciona una disolución saturada de NaHCO₃ y se extrae con AcOEt. Las fases orgánicas se lavan con brine, se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran. El residuo se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (25% AcOEt/hexano) para dar el alcohol secundario **61** (10.1 mg) con un rendimiento del 84%.

des-A,B-25-hidroxi-20-epi-colestan-8-ona (62)



Aspecto: Aceite incoloro

Rendimiento: 79%

Fórmula empírica: C₁₈H₃₂O₂

Peso molecular (g/mol): 280.24

R_f: 0.16 (25%, AcOEt/Hexano)

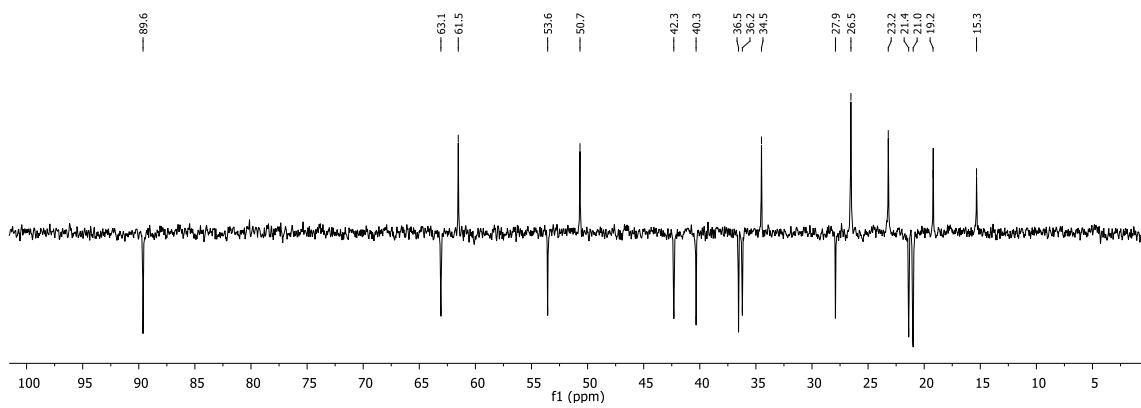
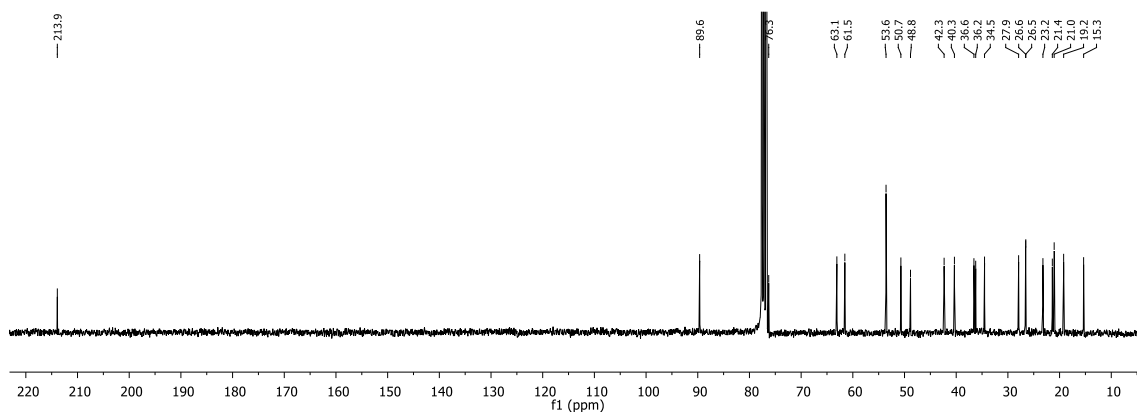
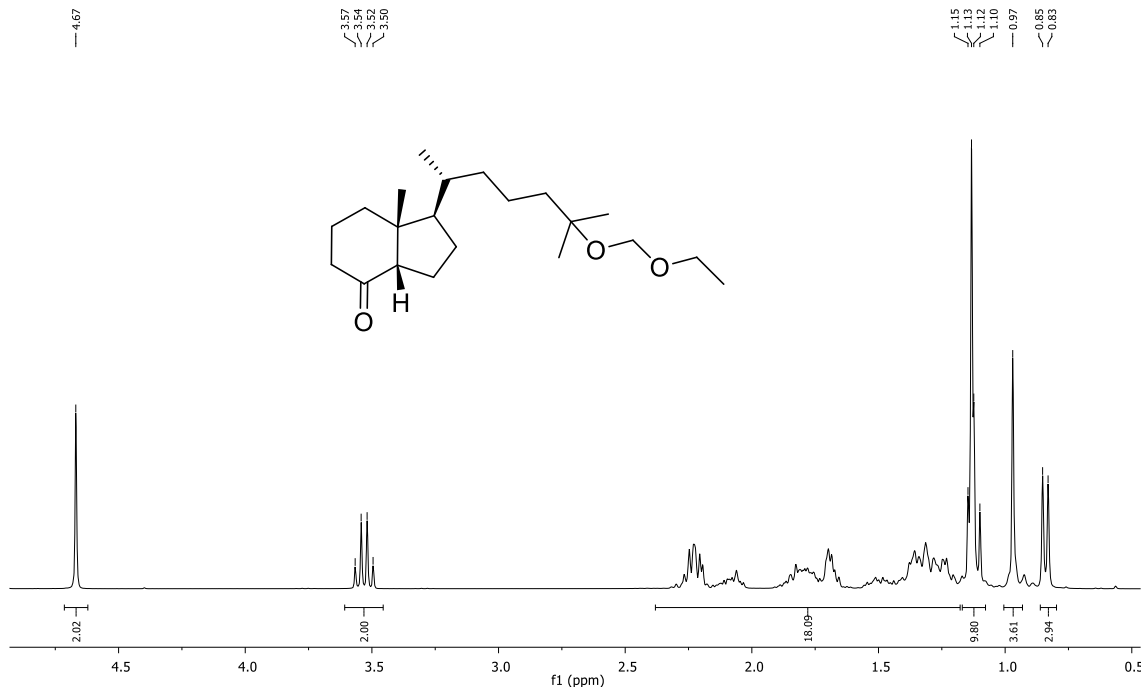
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 0.63 (s, 3H, Me-18), 0.86 (d, 3H, J = 5.3 Hz, Me-21), 1.22 (s, 6H, Me-26 y Me-27), 1.15-2.5 (varios m) ppm.

¹³C-RMN (300 MHz, CDCl₃): 12.7 (Me), 18.5 (Me), 18.9 (CH₂), 20.8 (CH₂), 24.1 (CH₂), 27.2 (CH₂), 29.3 (Me), 29.4 (Me), 34.9 (CH), 35.9 (CH₂), 38.9 (CH₂), 41.0 (CH₂), 44.2 (CH₂), 49.9 (C), 56.2 (CH), 62.0 (CH), 71.0 (C), 212.1 (C=O) ppm.

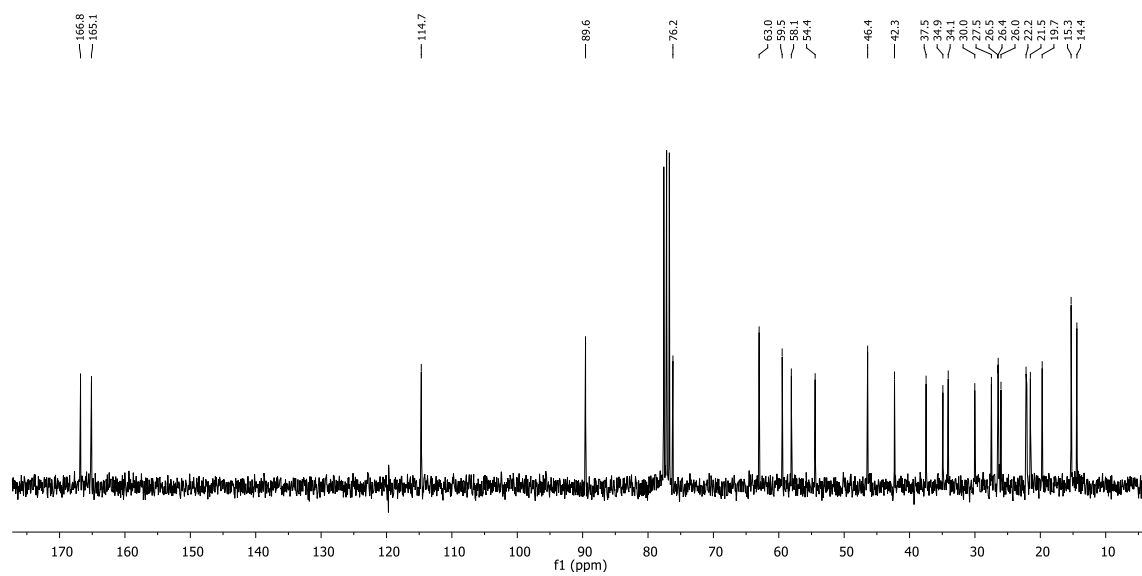
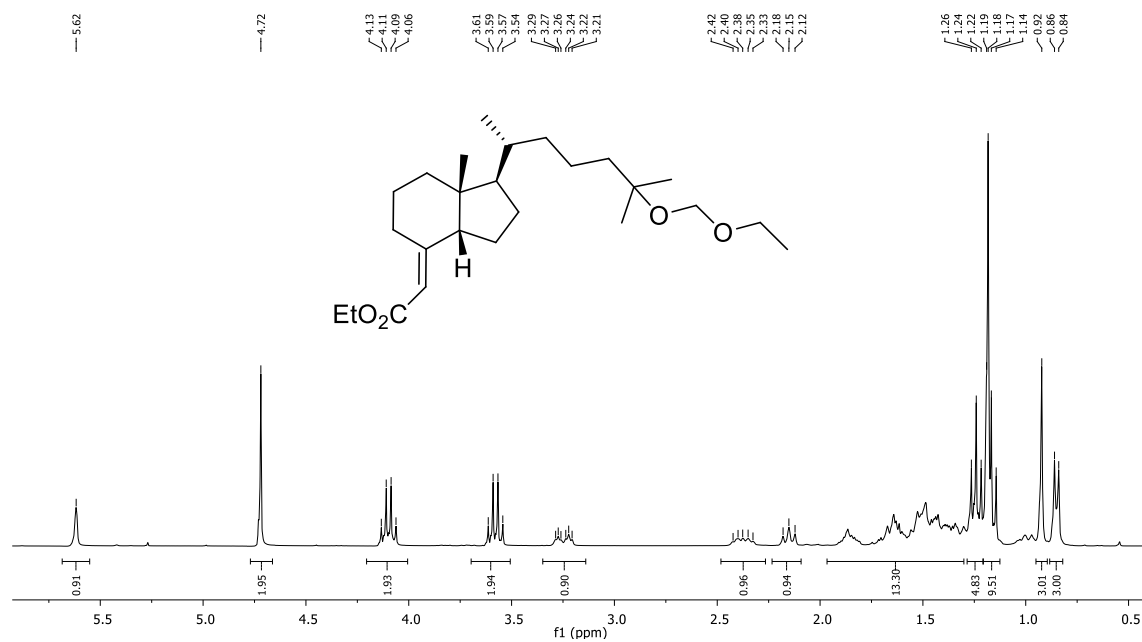
Procedimiento: se adiciona PDC (54.17 mg, 0.14 mmol) sobre una disolución del alcohol **61** (10.1 mg, 0.04 mmol) y PPTS (1.80 mg, 0.01 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (360 µL) y se agita a temperatura ambiente durante 11 h. El crudo se purifica por cromatografía de columna en gel de sílice (25% AcOEt/hexano), dando lugar a la cetona **62** (7.9 mg) con un rendimiento del 79%.

PARTE ESPECTRAL

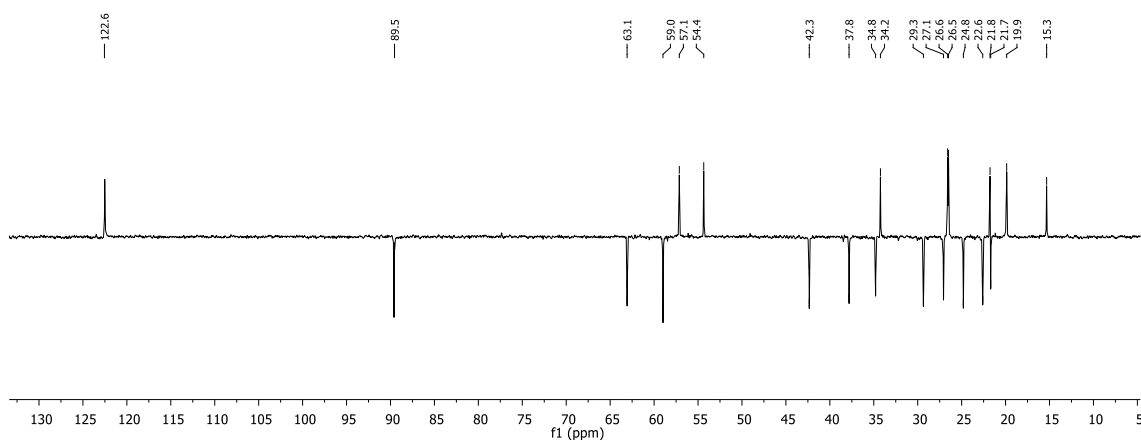
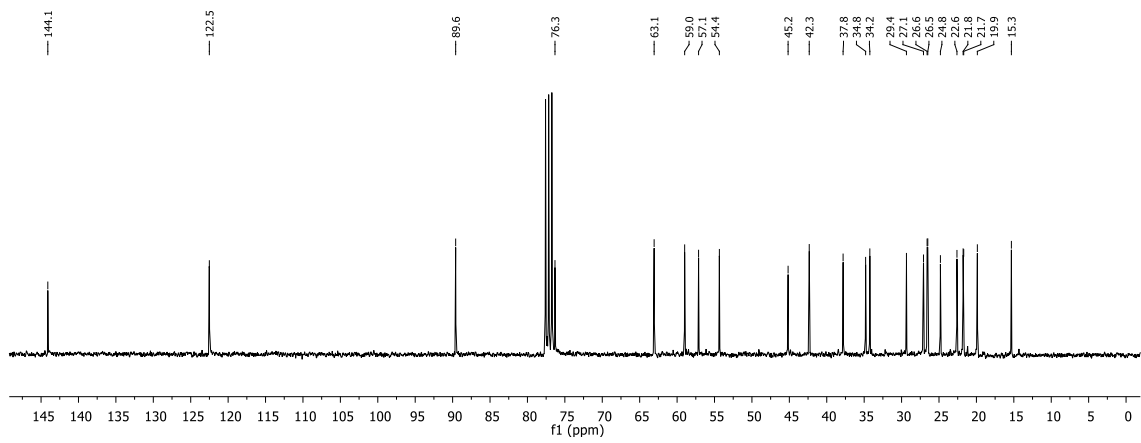
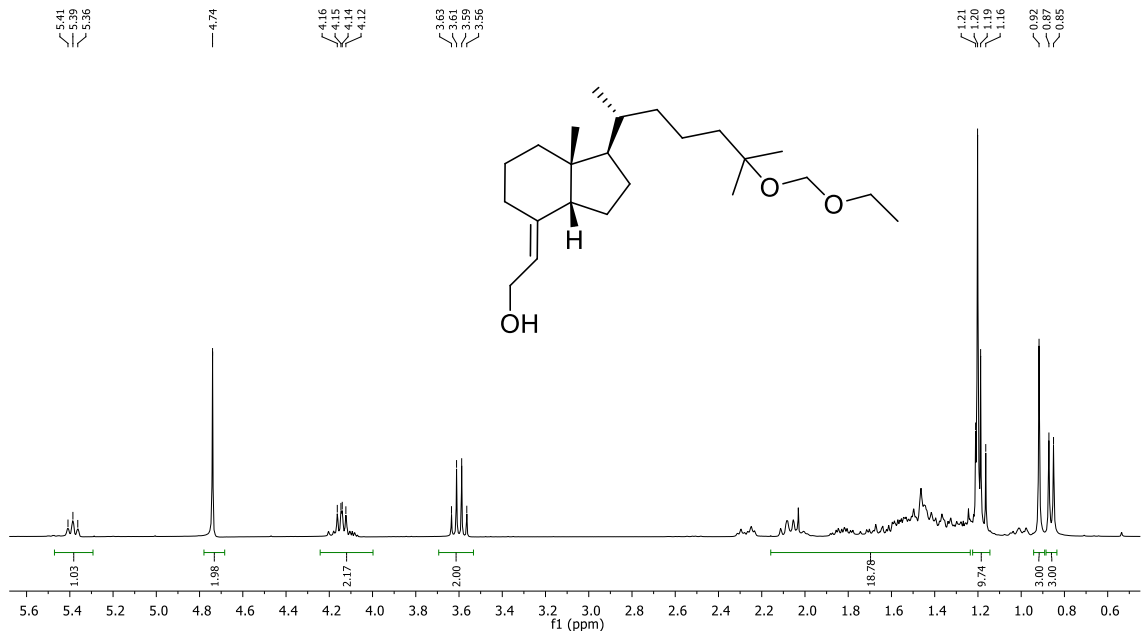
des-A,B-25-Etoximetiloxi-14-epi-colestan-8-ona (48)



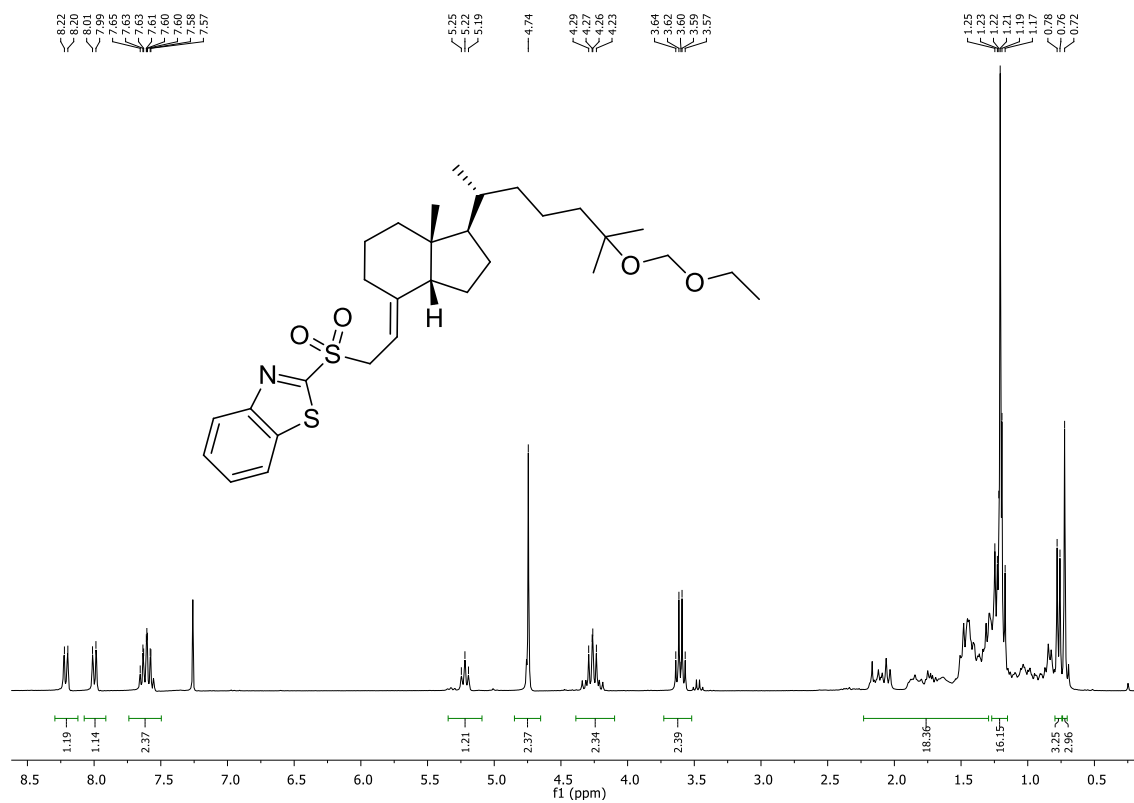
des-A,B-25-Etoximetiloxi-14-*epi*-coleston-8-etilidencarboxilato de etilo (49)



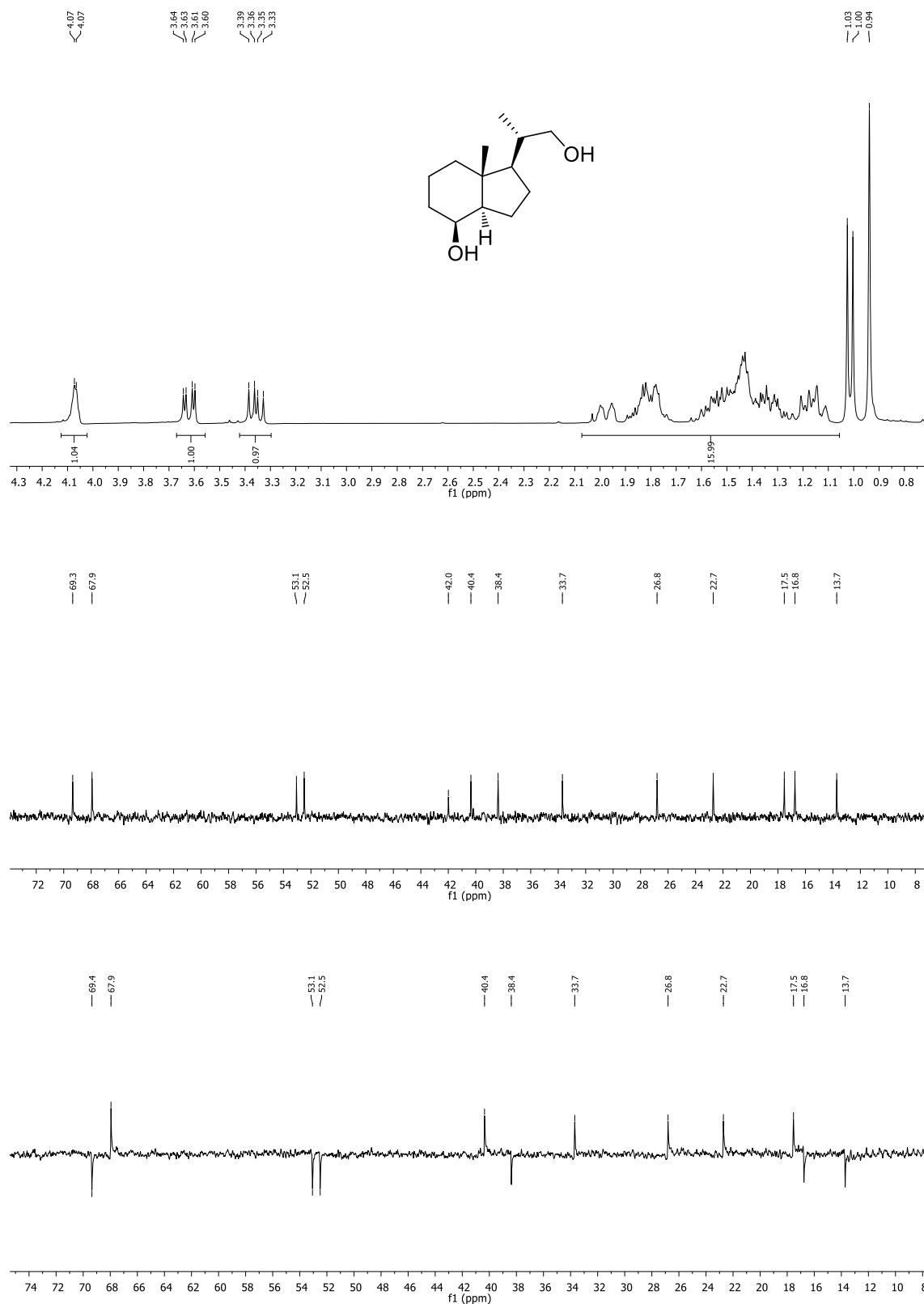
des-A,B-25-Etoximetiloxi-14-epi-colestan-8-etiliden-2'-ol (50)



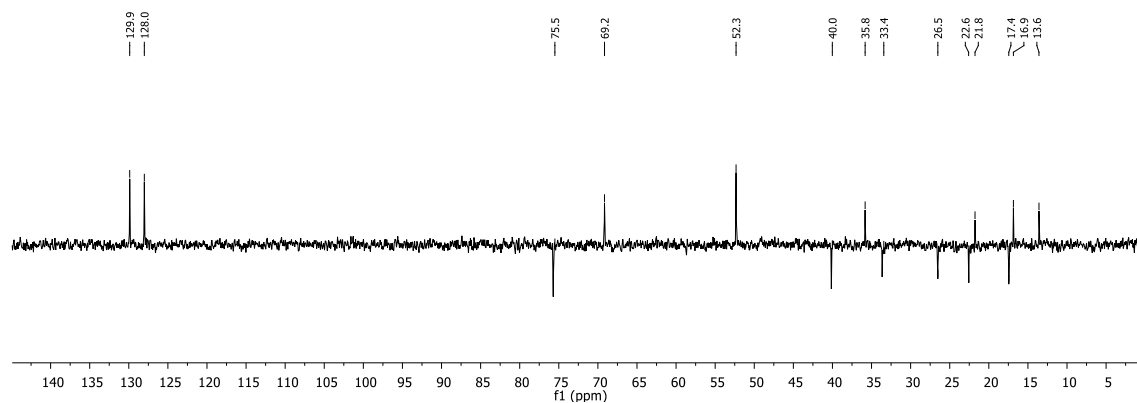
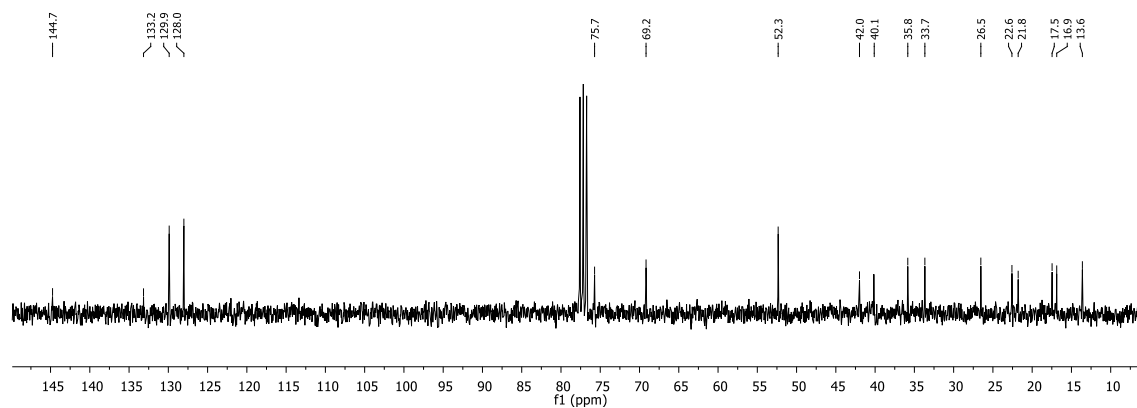
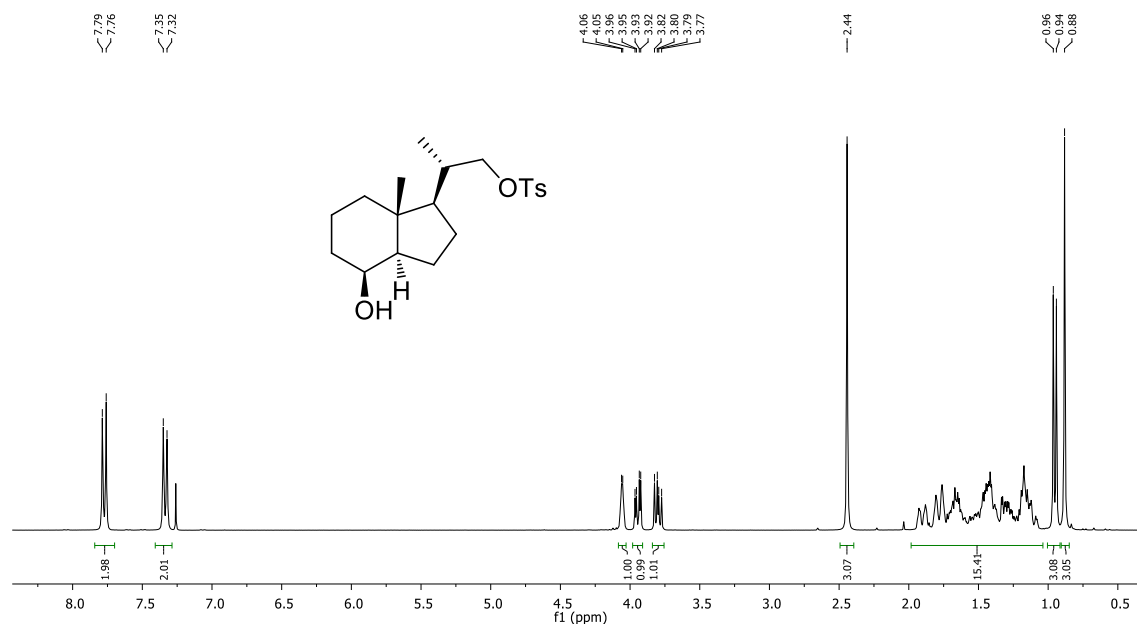
des-A,B-25-Etoximetiloxi-14-epi-colestan-8-(2-benzotiazol-2'-sulfoniletilideno) (51)



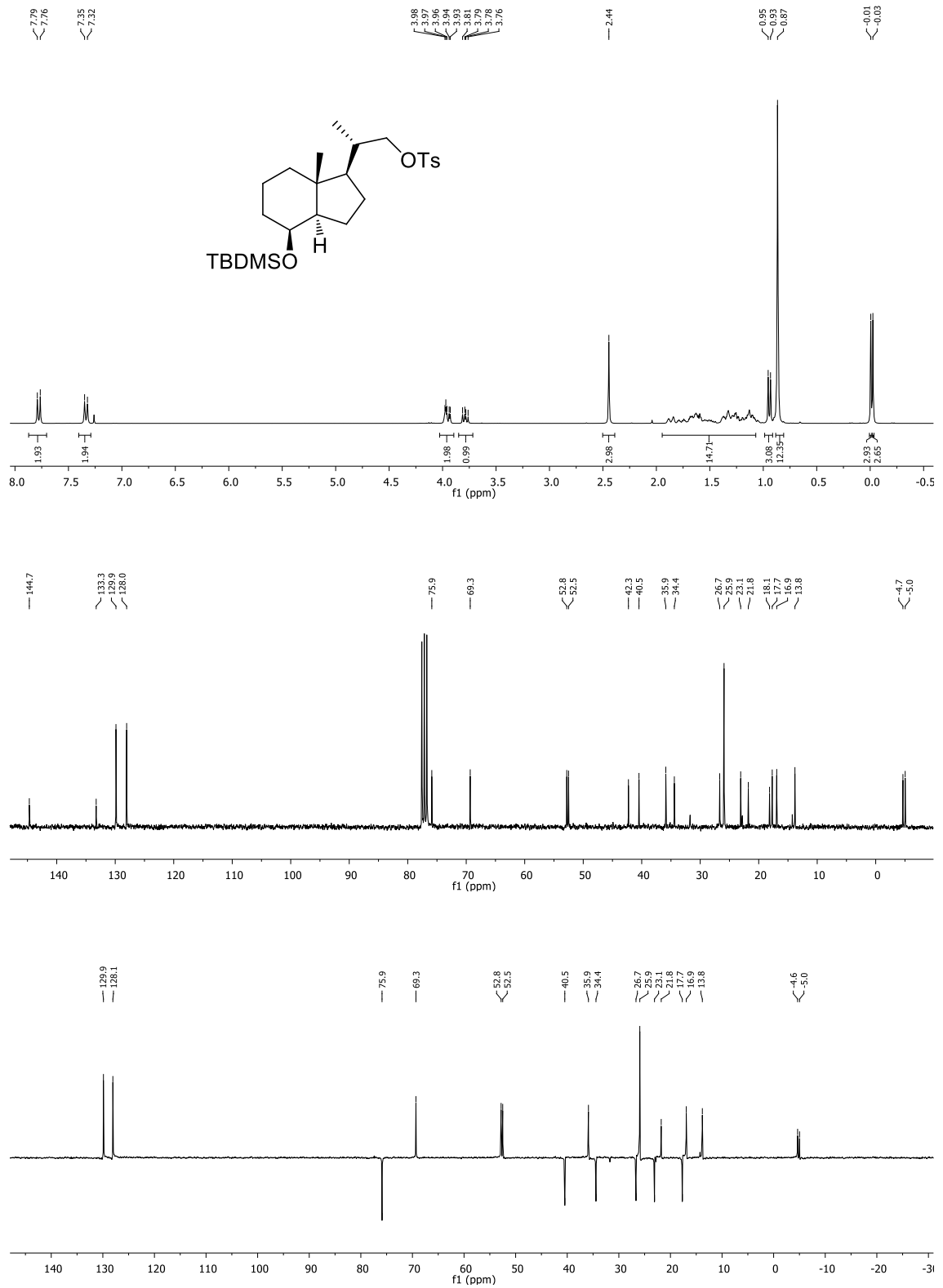
des-A,B-23,24-Dinorcolan-8 β ,22-diol (52)



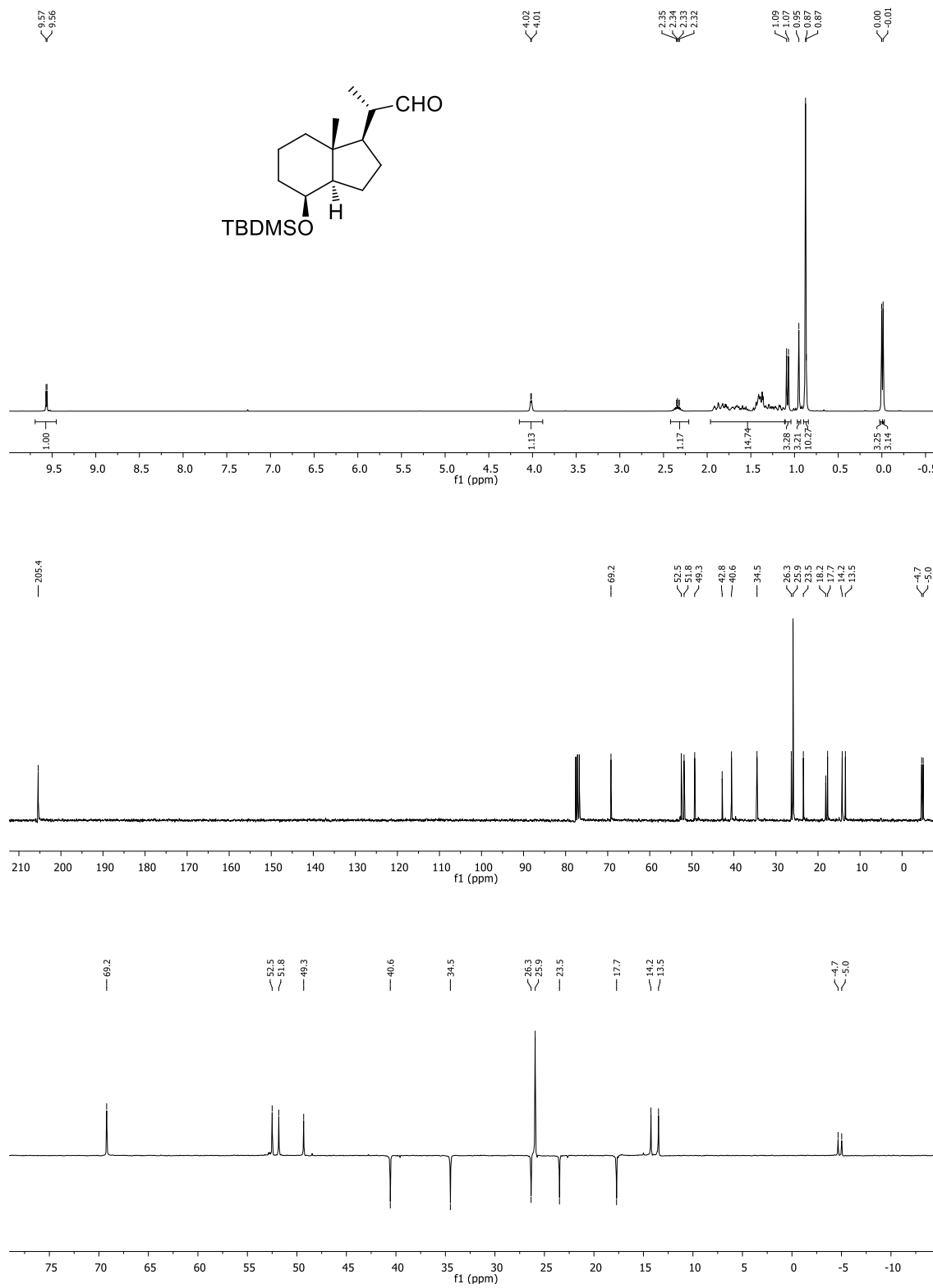
des-A,B-22-Tosiloxi-23,24-dinorcolan-8 β -ol (53)



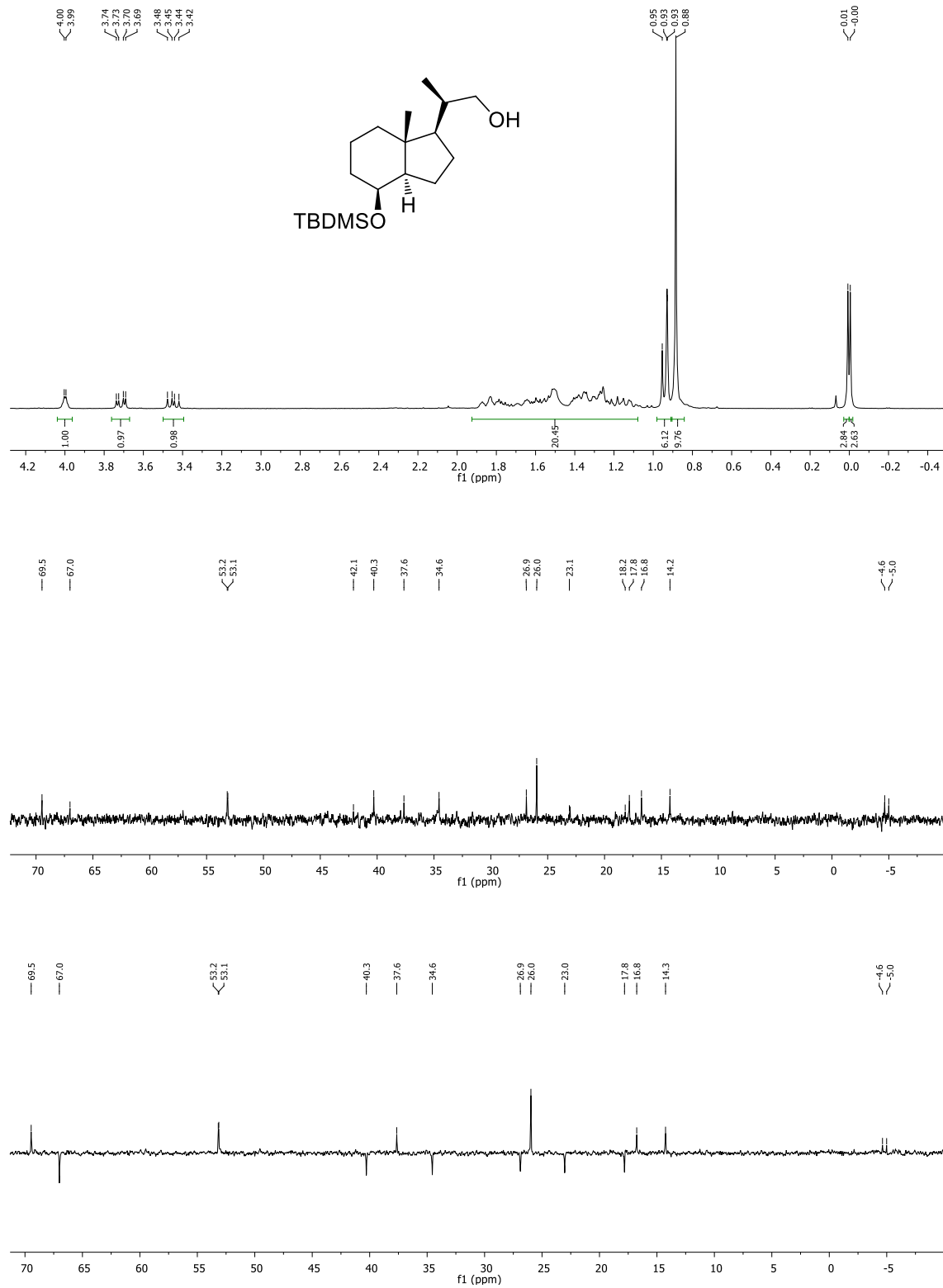
des-A,B-8β-(tert-Butildimetilsilil)oxi-22-tosiloxi-23,24-dinorcolano (54)



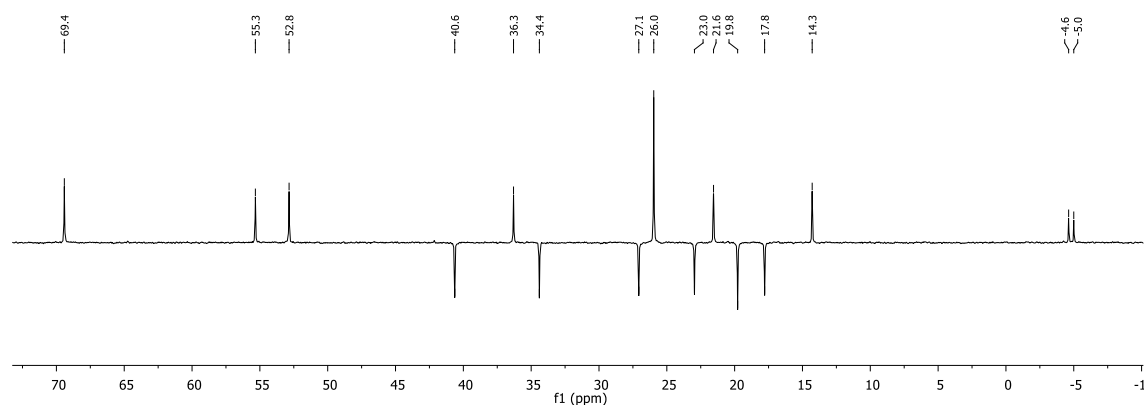
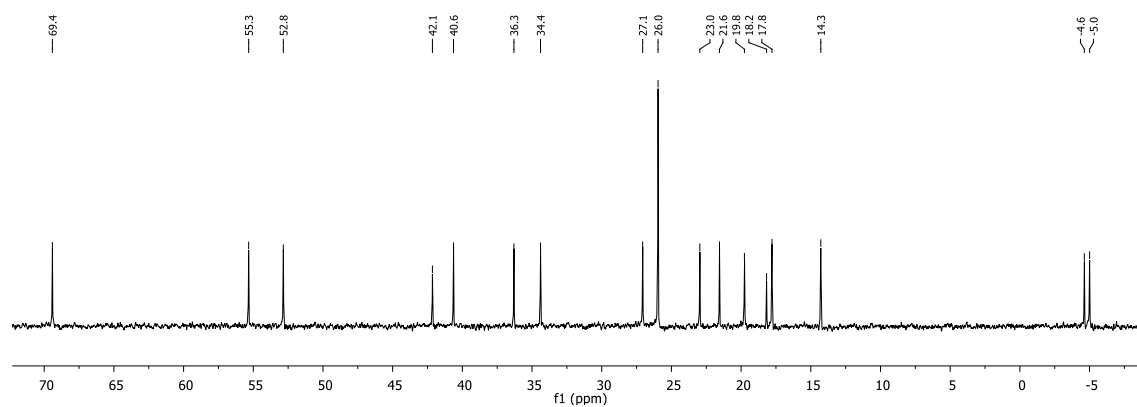
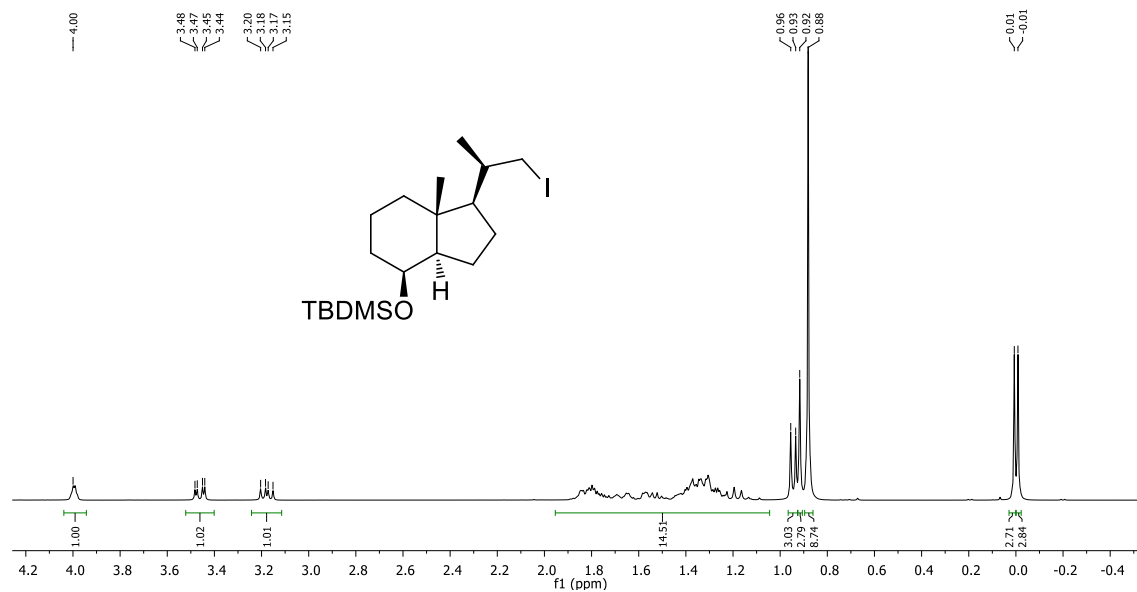
des-A,B-8β-(tert-Butildimetilsilil)oxi-23,24-dinorcolan-22-al (55)



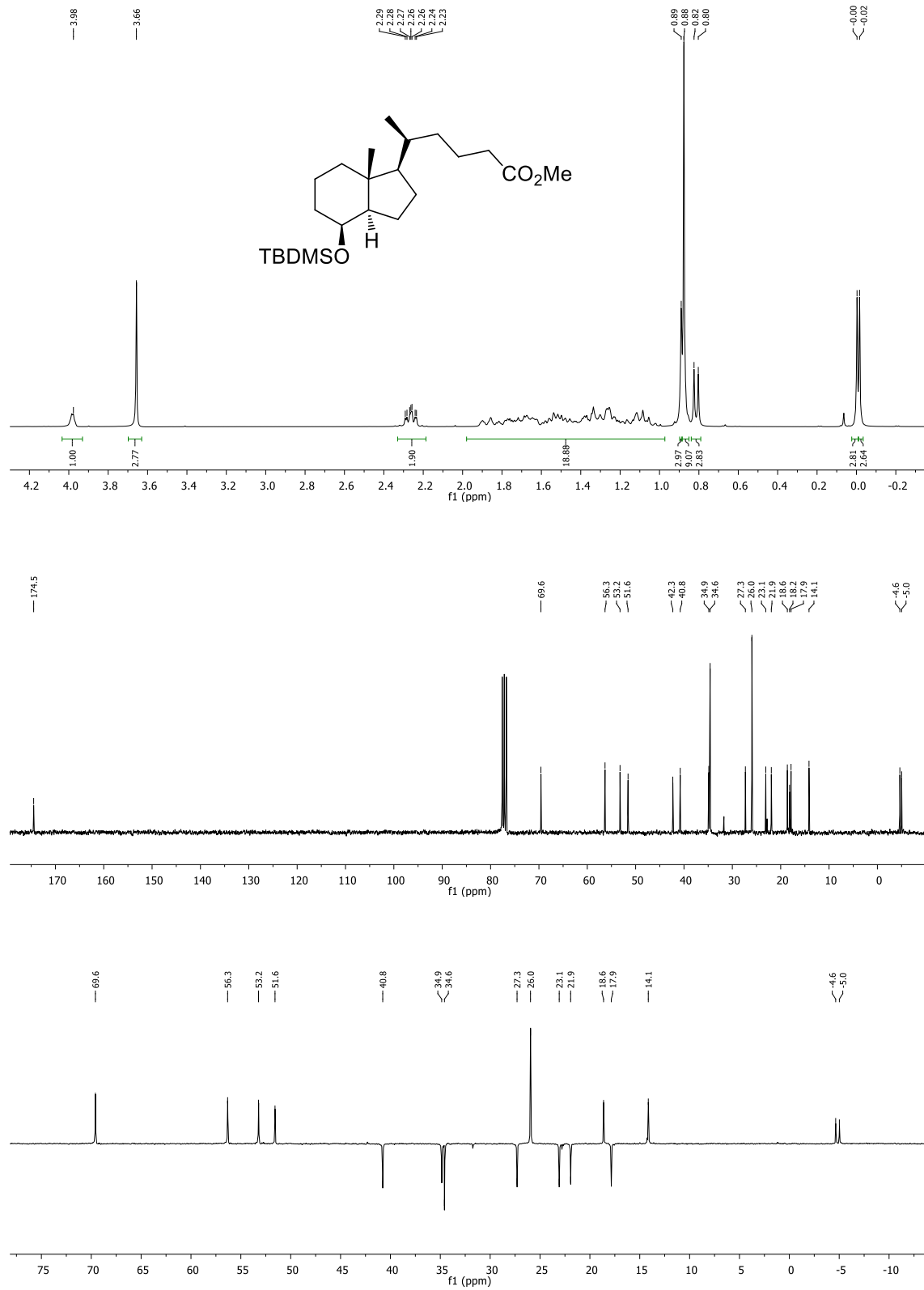
des-A,B-8β-(tert-Butildimetilsilil)oxi-20-epi-23,24-dinorcolan-22-ol (56)



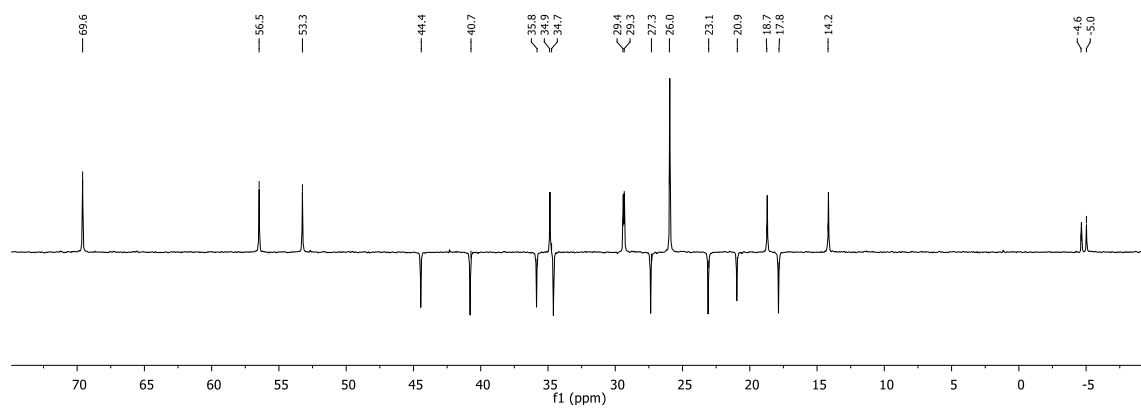
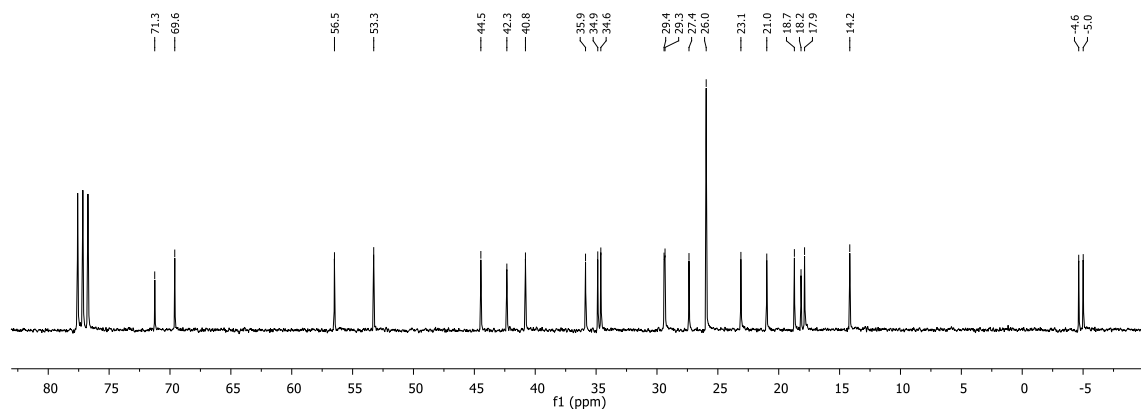
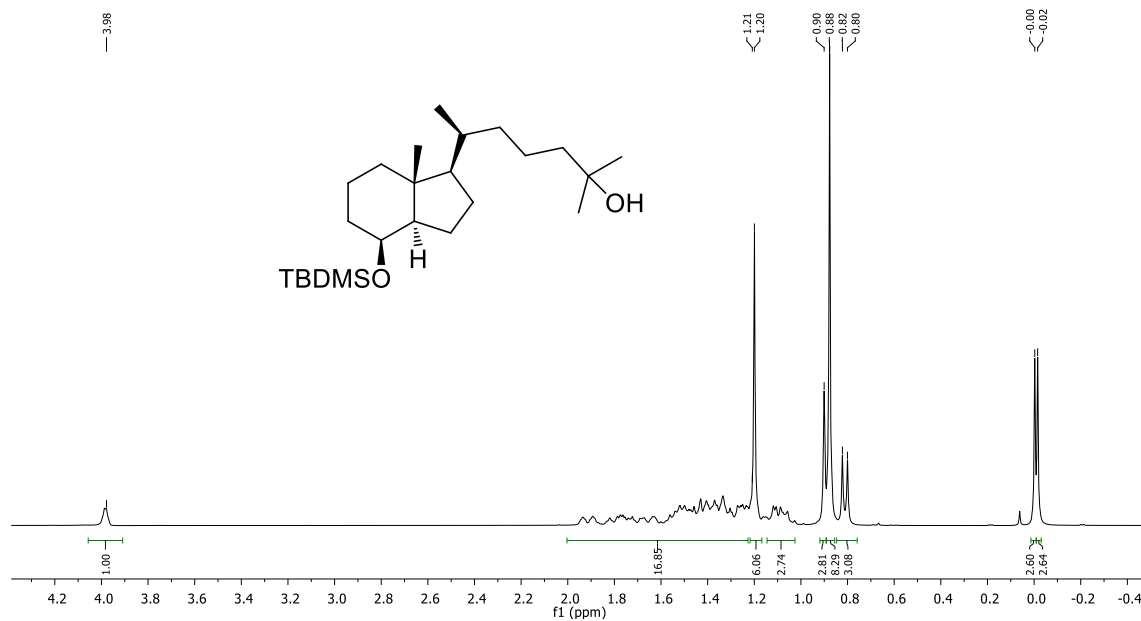
des-A,B-8β-(tert-Butildimetilsilil)oxi-22-yodo-20-epi-23,24-dinorcolano (58)



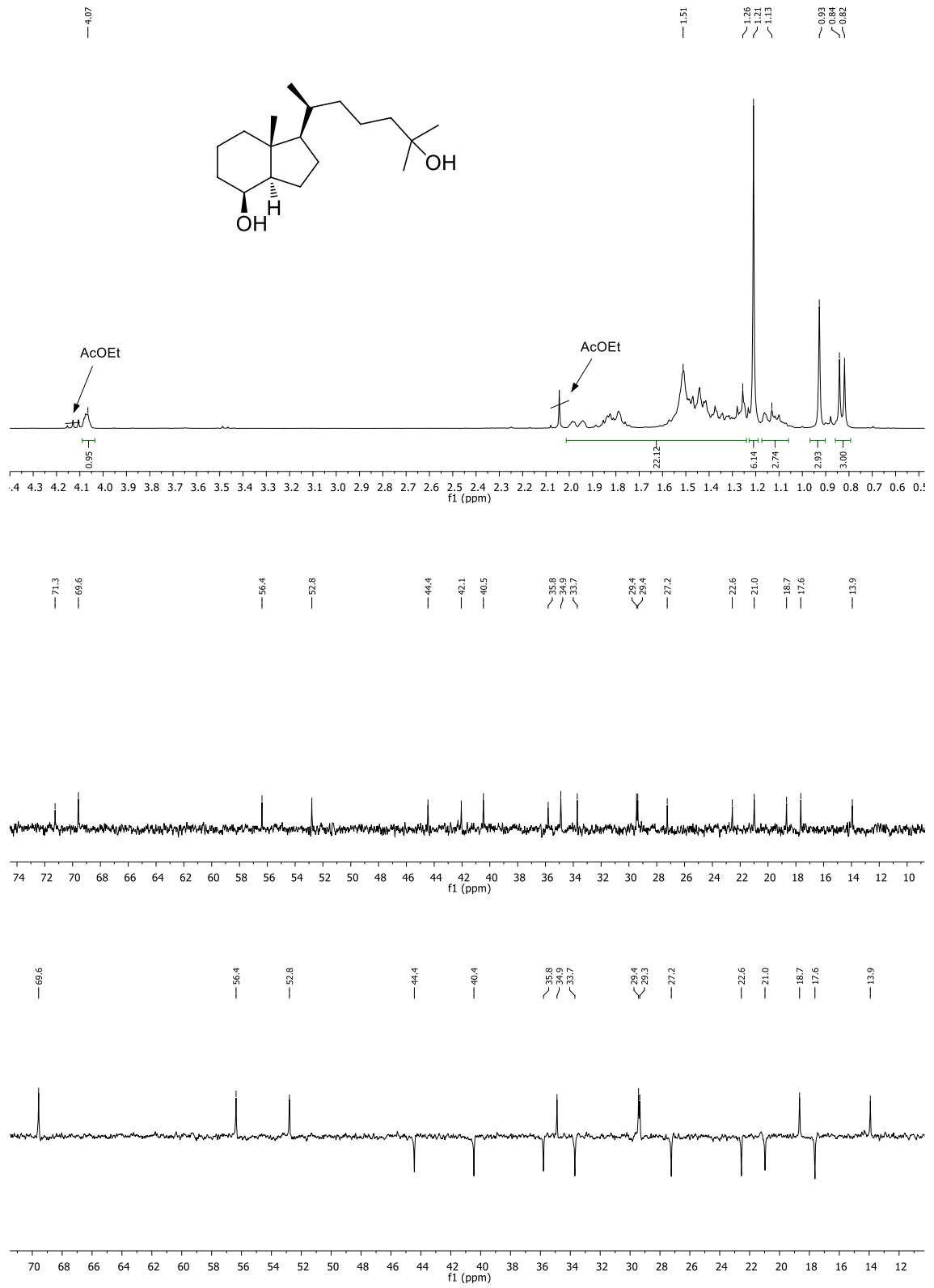
des-A,B-8β-(*tert*-Butildimetilsilil)oxi-20-*epi*-24-metoxicarbonilcolano (59)



des-A,B-8β-(tert-Butildimetilsilil)oxi-20-epi-colestan-25-ol (60)



des-A,B-20-epi-colestan-8 β ,25-diol (61)



des-A,B-25-hidroxi-20-epi-colestan-8-ona (62)

